

CONTROLE BIOLÓGICO DA FERRUGEM EM CAFEEIROS SOB CULTIVO ORGÂNICO

Fernando HADDAD¹, E-mail: haddadf@vicosu.ufv.br; Luiz A. MAFFIA¹, E-mail: lamaffia@ufv.br; Eduardo S. G. MIZUBUTI¹, E-mail: mizubuti@ufv.br; Hudson TEIXEIRA¹, E-mail: hteixeira@ufv.br

¹ Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000, Viçosa, MG.

Resumo:

Considerando-se a necessidade de alternativas a fungicidas para controle de doenças em cafézais sob cultivo orgânico, na UFV iniciou-se um programa de pesquisa que objetiva avaliar a eficiência do controle biológico para essas doenças. Apresentar-se-ão os resultados obtidos com o projeto de biocontrole da ferrugem. De amostras de folhas (doentes e sadias), restos de folhas e solo sob a saia de cafeeiros, coletadas em lavouras sob cultivo orgânico, isolaram-se 393 microrganismos (154 bactérias e 239 fungos). Em condições controladas, 19 isolados reduziram, em níveis superiores a 70%, a frequência de infecção e o número de uredinósporos produzidos por folha. Dos 19 isolados, seis de *Bacillus* sp. e um de *Pseudomonas* sp. foram os mais eficientes em reduzir a severidade de ferrugem em mudas de 'Catuai', principalmente quando aplicados antes de inocular *H. vastatrix*. Os sete isolados foram avaliados em experimento de campo em cultivo orgânico em 2005 (E1) e 2006 (E2). Dez tratamentos (os isolados bacterianos, hidróxido de cobre, silicato de cálcio e água) foram aplicados em três (E1) ou quatro (E2) pulverizações mensais, e mensalmente quantificou-se a incidência da ferrugem. Em E1, as pulverizações iniciaram-se em janeiro/2005, e nenhum tratamento reduziu o progresso da ferrugem. Em novembro/2005, a incidência atingiu 5%, e as pulverizações para o E2 iniciaram-se. Houve diferenças entre os tratamentos ($P < 0,0001$) quanto à incidência em junho/2006, incremento na incidência no período dezembro/2005- junho/2006 e área abaixo da curva de progresso da ferrugem. Obtiveram-se menores valores das três variáveis na parcelas tratadas com hidróxido de cobre, um isolado de *Bacillus* sp. e com o isolado de *Pseudomonas* sp. Estudos mais detalhados estão sendo conduzidos com as duas bactérias.

Palavras-chave: *Coffea arabica*, *Hemileia vastatrix*, antagonistas, *Bacillus*, *Pseudomonas*.

BIOLOGICAL CONTROL OF LEAF RUST IN ORGANICALLY-GROWN COFFEE

Abstract:

Alternatives to chemicals are required to disease control on coffee grown organically. Thus we started a research program aiming at leaf rust (*Hemileia vastatrix*) biocontrol. A total of 393 microorganisms (154 bacteria and 239 fungi) were isolated from leaves, debris, and soil samples from organic coffee farms. Under controlled conditions, 17 isolates reduced both the infection frequency and the number of spores produced/leaf by more than 70%. Seven isolates (six *Bacillus* sp. and one *Pseudomonas* sp.) were the most efficient in reducing rust severity on 'Catuai' plants, mainly when applied before *H. vastatrix* inoculation. These seven isolates were evaluated in a field experiment set in an OC farm in 2005 (E1) and 2006 (E2). Ten treatments (the bacterial isolates, copper hydroxide, calcium silicate, and water) were applied via 3 (E1) or 4 monthly sprays (E2) and rust incidence was assessed monthly. At E1, sprays started in January/2005, and no treatment reduced rust progress. In November/2005, rust incidence reached 5%, and treatment sprays for E2 started. Treatments differed ($P < 0,0001$) regarding rust incidence in June/2006, increment in rust incidence from December/2005 to June/2006, and area under disease progress curve. Lowest values of the three variables were recorded in plots treated with copper hydroxide, one isolate of *Bacillus* sp. and the isolate of *Pseudomonas* sp. More detailed studies are being pursued with both bacteria.

Key words: *Coffea arabica*, *Hemileia vastatrix*, antagonists, *Bacillus*, *Pseudomonas*.

Introdução

O café (*Coffea arabica* L.) é uma commodity importante para o Brasil, que é o maior produtor mundial. Ultimamente, a demanda por cafés produzidos organicamente aumentou. Considerando as perspectivas de mercado, é importante investir na aquisição de dados experimentais quanto à cafeicultura orgânica, principalmente visando aumentar a sua produtividade. Para tanto, há que se considerarem as doenças, às quais a maioria das variedades comerciais é suscetível. Independente do sistema de cultivo, a principal doença do cafeeiro é a ferrugem (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.), que pode reduzir a produção em até 40% (Zambolim & Vale, 2000).

Para controle das doenças do cafeeiro, utilizam-se fungicidas intensivamente. Segundo dados do IMA, quase 50% do custo de produção de café é gasto com fertilizantes e agrotóxicos (Caixeta, 2000). Como as lavouras de café orgânico devem estar isentas do uso de agroquímicos, durante 3 anos pelo menos (Carvalho, 2000), devem-se procurar medidas alternativas de manejo de doenças para cultivos orgânicos. Para esses cultivos, uma alternativa é o controle biológico (Harman, 2000).

Há poucos trabalhos de controle biológico de patógenos do cafeeiro. Há alguns fungos frequentemente citados como hiperparasitas de *H. vastatrix*, principalmente espécies de *Verticillium* (Eskes, 1989; Gonzalez & Martinez, 1996; Vizcaino &

Rodriguez, 1996). No Brasil, já se conduziram trabalhos para biocontrole de *H. vastatrix* (Moraes et al., 1976; Guzzo et al., 1987; Roveratti et al., 1989), e se obtiveram resultados promissores com *Bacillus subtilis* (Bettiol et al., 1994). Não se obtiveram relatos da eficiência de biocontrole de patógenos do cafeeiro em condições de campo.

Em vista da necessidade de medidas alternativas de manejo de doenças, levantou-se a hipótese de que microrganismos que ocorrem em cultivos orgânicos são efetivos no controle biológico da ferrugem nesses cultivos. Assim, para esse trabalho, delinear-se os seguintes objetivos: efetuar o isolamento de microrganismos que ocorrem naturalmente em folhas e restos de folhas de cafeeiros cultivados organicamente e testá-los, em condições controladas e de campo quanto à eficiência no biocontrole da ferrugem do cafeeiro em sistemas orgânicos de cultivo.

Material e Métodos

Isolamento de Microrganismos. Coletaram-se amostras de folhas de cafeeiro com e sem ferrugem, restos de folhas e solo sob a saia de cafeeiros, a 5 e 10 cm de profundidade, em lavouras com cultivo orgânico, em três municípios: Manhumirim (Zona da Mata), Machado (Sul de Minas) e Patrocínio (Triângulo Mineiro). Discos das folhas, lavados dos discos e suspensão do solo foram plaqueados por meio de diferentes procedimentos e em diferentes meios de cultura. As colônias de microrganismos que surgiram foram repicadas para BDA em tubos, que foram armazenados a 10°C.

Seleção inicial de potenciais antagonistas. Pulverizou-se suspensão de cada isolado fúngico (10^6 esporos/ml) ou bacteriana ($D.O_{540}=0.2$) na face abaxial de folhas de mudas de 'Catuai' com 6 meses. Após 48h em câmara úmida a 25°C, inoculou-se *H. vastatrix*, as plantas permaneceram em câmara úmida no escuro. Após 48h, foram transferidas para câmara de crescimento a 22°C, fotoperíodo de 12h. Quantificaram-se: período latente médio (PL), frequência de infecção (FI), produção de urediniosporos por folha (ES) e germinação dos urediniosporos produzidos (GU). O experimento foi em delineamento inteiramente casualizado, com duas repetições (uma planta = uma unidade experimental). Compararam-se os tratamentos quanto à eficiência de redução (Efic) das variáveis avaliadas em relação à testemunha não tratada mas inoculada.

Efeito de antagonistas quando aplicados antes da inoculação do patógeno. Os microrganismos selecionados no ítem anterior foram aplicados como já descrito. Após 48 h, as mudas foram retiradas da câmara de nevoeiro, conduzidas à câmara de crescimento a 22°C, e se inoculou *H. vastatrix* na face abaxial do segundo e terceiro pares de folhas (mesmo local da aplicação dos antagonistas) imediatamente após (dia 0), 4, 8, 12 ou 16 dias da aplicação de cada antagonista. Mantiveram-se as mudas em câmara de nevoeiro, a 25°C, no escuro. Após 48 h, foram reconduzidas à câmara de crescimento a 22 °C, fotoperíodo de 12 h. Os tratamentos controle foram similares aos do ensaio anterior, mas incluiu-se o fungicida sulfato de cobre (2 g/l). O experimento foi em delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial (isolados x tempos de aplicação), com quatro repetições (uma planta= uma unidade experimental). Avaliou-se a Efic dos tratamentos, como no ensaio anterior.

Efeito de antagonistas quando aplicados após a inoculação do patógeno. Inoculou-se *H. vastatrix*, mantiveram-se as mudas em câmara de nevoeiro a 25°C, no escuro. Aplicaram-se os antagonistas imediatamente após (dia0), 4, 8, 12 ou 16 dias da inoculação de *H. vastatrix*. Os procedimentos restantes foram similares ao do experimento anterior. Incluiu-se, como comparador, o fungicida sistêmico epoxiconazole,

Eficiência de agentes de biocontrole em condições de campo. O experimento foi conduzido em cultivo orgânico de 'Mundo Novo', com 23 anos de idade, em Machado, MG. A lavoura segue normas e práticas de produção orgânica, segundo certificação do Instituto Biodinâmico. Compararam-se sete isolados bacterianos selecionados anteriormente. Suspensões das bactérias ($D.O_{540}=0,2$), foram aplicadas nas plantas (400mL/planta), com pulverizador costal motorizado com bico tipo cone, quando o produtor efetuava o controle químico da ferrugem. Houve três tratamentos-testemunha, com pulverização de: i - água (0,4 L/planta), ii - hidróxido de cobre (0,88 g/planta) e iii - silicato de cálcio (0,14g Si/planta). O experimento foi no delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições (seis plantas = uma unidade experimental). Em intervalos mensais, durante dois anos, avaliou-se a intensidade da doença. Para tanto, de cada parcela coletaram-se amostras de 60 folhas (10 folhas/planta) em ramos plagiotrópicos do terço médio da planta. Avaliaram-se a incidência (porcentagem de folhas doentes) e a severidade da doença. Registraram-se imagens das folhas e se quantificou a severidade com escala de notas. Os tratamentos foram comparados quanto à redução da incidência e da severidade da ferrugem em relação à testemunha "i" (pulverização de água). Obtiveram-se valores de: área abaixo da curva de progresso da ferrugem (AACPF), incremento da doença e de incidência máxima. Efetuaram-se todas as análises estatísticas com o Programa SAS V. 9.1.

Resultados

Isolamento de Microrganismos. Obtiveram-se 393 microrganismos (154 bactérias e 239 fungos). Isolaram-se 28, 16, 18, 20, 2, 36 e 34 bactérias de lavado de folhas, lavado de folhas tratado a 80 °C por 20 min, lavado de restos, lavado de restos tratado a 80 °C por 20 min, discos de folhas, lavado de solo e lavado de solo tratado a 80 °C por 20 min, respectivamente. Obtiveram-se 36 isolados fúngicos de lavado de folhas, 69 de lavado de restos, 37 de discos de folhas e 97 de lavado de solo.

Seleção inicial de potenciais antagonistas. Os isolados não foram eficientes em reduzir o PL (variou de 26 a 28 dias) nem a GU (variou de 36 a 42%). Quanto à FI, 279 isolados tiveram eficiência menor que 25%, 69 entre 25 e 50%, 25 de 50 a 70% e 19 acima de 70%. Esses 19 isolados também tiveram mais de 70% de eficiência em reduzir a ES. Dois dos 19 isolados eram de fungos filamentosos, que não foram utilizados nos ensaios seguintes, pois perderam a capacidade de esporular após armazenados. Dos 17 isolados restantes, oito eram bactérias e nove, fungos filamentosos.

Efeito de antagonistas quando aplicados antes da inoculação do patógeno. A interação intervalo de aplicação e isolado foi significativa ($P < 0,0001$), para eficiência na redução da FI (Efic-FI) e eficiência na redução da ES (Efic-ES). Seis isolados de *Bacillus* sp. e um de *Pseudomonas* sp. foram os mais eficientes, e não diferiram de sulfato de cobre, em todos os intervalos de aplicação (Tabela 1).

Tabela 1. Eficiência de tratamentos (Trat) em reduzir a frequência de infecção (FI) e o número de urediniosporos produzidos por folha (ES) em mudas de 'Catuai'. Os tratamentos foram aplicados entre 0 e 16 dias antes de inocular *Hemileia vastatrix*

Trat	Eficiência em reduzir a FI (%)					Eficiência em reduzir a ES (%)				
	0 ^{*1}	4	8	12	16	0	4	8	12	16
SC ^{*2}	99a ^{*3}	98a	94a	93a	92a	100a	99a	99a	97a	97a
B157 ^{*4}	100a	88a	90a	85a	84a	100a	92ab	96a	90ab	84a
P286	100a	98a	89a	82a	71a	100a	99a	97a	83ab	81a
B25	100a	97a	76a	79a	77a	100a	99ab	91a	97a	93a
B10	99a	90a	84a	77a	85a	98a	88b	95a	93a	90a
B281	92a	92a	90a	75a	75a	98a	89ab	95a	83ab	88a
B175	99a	94a	86a	77a	68a	97a	98ab	94a	79ab	83a
B205	96a	79a	81a	60a	58a	99a	89ab	85a	52b	39b

^{*1}Dias antes da inoculação; ^{*2}Sulfato de cobre; ^{*3}médias seguidas da mesma letra em cada coluna não diferem estatisticamente (Teste de Tukey, $\alpha=0,05$); ^{*4}B ou P= isolados de *Bacillus* ou *Pseudomonas*, respectivamente.

Efeito de antagonistas quando aplicados após a inoculação de *Hemileia vastatrix*. A interação intervalo de aplicação e isolado foi significativa ($P < 0,0001$), para Efic-FI e Efic-ES. Houve decréscimo acentuado de ambas a partir dos 12 dias de aplicação, para a maioria dos isolados. Um isolado de *Bacillus* sp. e um de *Pseudomonas* sp. foram tão eficientes quanto o fungicida epoxiconazole, até o intervalo de 8 dias. Cinco isolados de *Bacillus* sp. foram tão eficientes quanto o epoxiconazole até o intervalo de 4 dias (dados não mostrados).

Eficiência de agentes de biocontrole em condições de campo. Quando se iniciaram as pulverizações no campo em E1 (janeiro 2005), a incidência da ferrugem (IF) estava acima de 15%. As tendências das curvas de progresso foram similares para todos os tratamentos: a incidência aumentou, atingiu o pico em maio e decresceu posteriormente. Não se detectou diferença significativa entre os tratamentos. Após junho, os valores de RI decresceram. Em novembro, todos os tratamentos tiveram curvas de progresso similares, e a incidência atingiu 5% (limiar para o início do controle químico). Assim, iniciaram-se as pulverizações dos tratamentos para E2. Os tratamentos não diferiram ($P=0,72$) quanto à incidência em dezembro/2005, mas diferiram ($P < 0,0001$) quanto à incidência em junho/2006. Diferiram, também, quanto ao incremento em incidência de dezembro a junho e quanto à AACPF. Em geral, menores valores das três variáveis foram estimados nas parcelas tratadas com hidróxido de cobre, um isolado de *Bacillus* sp. e o isolado de *Pseudomonas* sp. Essas diferenças refletiram em progresso da ferrugem mais lento nesses tratamentos (Tabela 2).

Tabela 2 - Incidência inicial, incidência máxima, incremento médio no período dezembro/2005-junho/2006 e área abaixo da curva de progresso da ferrugem (AACPF), em cafeeiros sob cultivo orgânico em que se pulverizaram diferentes tratamentos (Trat), em dois anos experimentais (E1- 2005 e E2- 2005/2006)

Trat	Incidência Inicial		Incidência Máxima		Incremento Médio		AACPF	
	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2
Cu(OH) ₂ ^{*1}	0,19a ^{*2}	0,07a	0,46a	0,21c	0,27a	0,14d	19,88a	28,43d
B157 ^{*3}	0,24a	0,05a	0,48a	0,28c	0,24a	0,23cd	18,00a	30,20cd
P286	0,27a	0,06a	0,37a	0,39b	0,10a	0,33bc	16,75a	35,24c
B25	0,25a	0,06a	0,52a	0,57a	0,27a	0,51a	20,00a	52,75b
B10	0,28a	0,06a	0,46a	0,50a	0,18a	0,44ab	19,63a	50,45b
B281	0,22a	0,06a	0,38a	0,53a	0,16a	0,47a	16,44a	52,01b
B175	0,31a	0,05a	0,41a	0,50a	0,10a	0,45a	17,87a	49,47b
B205	0,24a	0,06a	0,40a	0,54a	0,16a	0,48a	15,44a	52,25b
Water	0,20a	0,07a	0,64a	0,53a	0,44a	0,46a	19,81a	58,69a

^{*1}Hidróxido de cobre; ^{*2}Em cada coluna, as médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente (Teste de Tukey, $\alpha=0,05$); ^{*3}B ou P= isolados de *Bacillus* ou *Pseudomonas*, respectivamente.

Discussão

Antagonistas a *H. vastatrix* foram obtidos de diferentes localidades e materiais coletados. Agentes de biocontrole de doenças da parte aérea já foram isolados de diversos tipos de materiais. *Pantoea agglomerans* e *Stenotrophomas maltophilia*, eficientes no controle da ferrugem do feijoeiro, provieram de flor de feijão e folha de grama, respectivamente (Yuen *et al.*, 2001). Um isolado de *B. subtilis* obtido de solo controlou a ferrugem do feijoeiro (Baker *et al.*, 1985). *Verticillium lecanii* e *Cladosporium cladosporioides*, micoparasitas de *Uromyces appendiculatus*, provieram do solo (Sultana *et al.*, 2000). Assim, deve-se procurar obter microrganismos de diferentes materiais e localidades. Nesse trabalho, obtiveram-se isolados de onde é previsto o seu uso, o que possivelmente confere vantagens no estabelecimento dos mesmos (Blakemam e Fokkema, 1982).

Sete isolados bacterianos foram de *Bacillus*. *Bacillus* spp. produzem endósporos, que resistem a condições adversas do ambiente e sobrevivem no filoplano, o que facilita obter formulações comerciais (Melo, 1998). Também é importante considerar que *Bacillus* spp. têm vários modos de ação, principalmente antibiose, como *B. subtilis* em *H. vastatrix* (Bettioli *et al.*, 1994) e em *Uromyces appendiculatus* (Baker *et al.*, 1985; Mizubuti *et al.*, 1995). O outro isolado bacteriano é do gênero *Pseudomonas*, que inclui espécies utilizadas no biocontrole de fitopatógenos. *Pseudomonas* spp. têm diferentes modos de ação: indução de crescimento e de resistência sistêmica de plantas, produção de antibióticos, entre outros (Melo, 1998; Teixeira *et al.*, 2005). *Pseudomonas* sp. foi relatada como indutora de resistência de cafeeiro a *H. vastatrix* (Porras, 1999). Em vista dos aspectos apontados, espécies de ambas as bactérias têm potencial em programa de controle biológico da ferrugem do cafeeiro.

Isolados de *Bacillus* e de *Pseudomonas* protegeram mudas de cafeeiro da infecção por *H. vastatrix* por pelo menos 16 dias. Ocorreu proteção sistêmica de cafeeiros a *H. vastatrix* com produto comercial à base de *B. thuringiensis* (Roveratti *et al.*, 1989), que se estendeu até 16 dias após a aplicação (Cristancho & Leguizamón, 1995). Em vista da possibilidade de substituir fungicidas cúpricos por bactérias, executam-se ensaios em que o intervalo entre a aplicação das bactérias e a inoculação de *H. vastatrix* se estenda a 30 dias, intervalo usado na aplicação dos cúpricos para controlar a ferrugem. Seria ideal que o efeito se estendesse até a pós-inoculação. Um isolado de *Bacillus* e um de *Pseudomonas*, mesmo aplicados após 8 dias de inocular *H. vastatrix*, reduziram a intensidade da doença, e o de *Bacillus* ainda foi eficaz quando aplicado após 12 dias da inoculação. Atualmente, averigua-se a possibilidade de esses isolados estarem atuando por meio de indução de resistência.

Aspecto importante na seleção de agentes de biocontrole é validar sua eficiência em condições de campo. Assim, os sete isolados bacterianos selecionados em casa de vegetação foram avaliados em condições de cultivo orgânico comercial, durante dois anos. No primeiro ano, não houve efeito das bactérias em reduzir a taxa de progresso da ferrugem. Porém, a incidência da doença era de 15% quando as aplicações se iniciaram, e nem o fungicida cúprico foi eficiente. No segundo ano, um isolado de *Pseudomonas* e um de *Bacillus* foram tão eficientes quanto o fungicida cúprico em reduzir a intensidade e a taxa de progresso da ferrugem. Como o cafeeiro é cultivo perene e alterna anos de alta e de baixa produção, dados experimentais obtidos em dois anos podem ser insuficientes, e os estudos de campo continuam. Ambas as bactérias continuam a ser avaliadas, quanto a outros aspectos, para uso com segurança e eficiência no campo. Na agricultura orgânica, não se permite o uso de agrotóxicos, e espera-se que o biocontrole seja alternativa viável no manejo racional de doenças do cafeeiro. Mesmo na cafeicultura convencional, a adoção do controle biológico vai minimizar o risco de surgir populações do patógeno resistentes a fungicidas e diminuir a contaminação do homem e do ambiente.

Conclusões

Obtiveram-se antagonistas a *H. vastatrix* de diferentes localidades e materiais coletados. Dentre esses, isolados de *Bacillus* e de *Pseudomonas* protegeram mudas de cafeeiro da infecção por *H. vastatrix* por pelo menos 16 dias. Durante dois anos, avaliaram-se sete isolados de ambos os gêneros, em condições de cultivo orgânico comercial. No primeiro ano, não houve efeito das bactérias em reduzir o progresso da ferrugem. No segundo ano, dois isolados bacterianos (um de *Pseudomonas* e um de *Bacillus*) foram tão eficientes quanto o fungicida cúprico em reduzir a intensidade e a taxa de progresso da ferrugem.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo suporte financeiro, à ACOB (Associação de Cafeicultura Orgânica do Brasil, na pessoa do Prof. Ivan Caixeta, e o Sr. Ivan Caixeta, pelo apoio logístico.

Referências Bibliográficas

Baker, C. J., Stavely, J. R. & Mock, N. E. 1985. Biocontrol of Bean Rust by *Bacillus subtilis* under Field Conditions. Plant Dis. 69: 770-772.

- Bettiol, W., Saito, M.L. & Brandão, M.S.B. 1994. Control of coffee leaf rust with products based on *Bacillus subtilis*. Summa Phytopathol. 20: 119-122.
- Blakeman, J. P., Fokemma, N. J. 1982 Potential for biological control of plant diseases on the phylloplane. Annu. Rev. Phytopath., 20: 167-192.
- Caixeta, I.F. 2000. A produção de café orgânico: alternativa para o desenvolvimento sustentado- o exemplo do Sul de Minas. In: Zambolim L. ed. Café, produtividade, qualidade e sustentabilidade. Viçosa, UFV. 396 p.
- Carvalho, C.A. 2000. A cadeia produtiva de café no Estado do Paraná. Economia Rural 2:24-29.
- Cristancho, A.M.A. & Leguizamón, C.J.E. 1995: Efecto protector de la bacteria *Bacillus thuringiensis* en plantas de café contra el desarrollo de *Hemileia vastatrix* Berk. Y Br. Cenicafe 46: 140-151.
- Enebak, S.A. & Carey, W.A. 2000: Evidence for induced systemic protection to fusiform rust in loblolly pine by plant growth-promoting rhizobacteria. Plant Dis. 84: 306-308.
- Eskes, A.B. 1989. Natural enemies and biological control. In: Kushalappa, A. C.; Eskes, A.B. ed. Coffee rust, epidemiology, resistance, and management. Boca Raton, CRC. 354 p.
- González, E. & Martínez, B. 1996: Effectiveness *in vitro* of two strains of *Verticillium lecanii* (Zimm) Viegas versus *Hemileia vastatrix* Berk and Br. Rev. Protec. Veg. 11: 173-177.
- Guzzo, S.D.; Martins, E.M.F.; Bach, E.E.; Moraes, W.B.C.; Marsiglio, A.F.; Lopes, A.M.Q.; Pucca, E.E. 1987a. Indução de resistência em cafeeiros suscetíveis a *Hemileia vastatrix* por exopolissacarídeos de *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. Fitopat. Bras. 12: 130.
- Harman, E. 2000: Myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Dis. 84: 377-393.
- Melo, I. S. 1998. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: (Ed.) Melo, I. S., Azevedo, J. L. Controle biológico – volume 1. Jaguariúna, SP: EMBRAPA.
- Mizubuti, E.S.G.; Maffia, L.A.; Muchovej, J.J.; Romeiro, R.S.; Batista, U.G. 1995. Epidemiological aspects of *Uromyces appendiculatus* on dry beans (*Phaseolus vulgaris*) after treatment with *Bacillus subtilis*. J. Phytopath. 143: 689-691.
- Moraes, W.B.C; Martins, E.M.F.; Musemeci, M.R.; Beretta, M.J.G. 1976. Induced protection to *Hemileia vastatrix* in coffee plants. Summa Phytopathol. 2:39-43.
- Porrás, N.C., Leguizamón, C.J.E. & Martínez, M.M. 1999: Inducción de resistencia por *Pseudomonas* spp., en plantulas de café contra la roya del caféto *Hemileia vastatrix* Berk. Y Br. Ascolfi Informa: 25, 12-14. .
- Roveratti, D.S., Teixeira, A.R.R., Moraes & W.B.C. 1989: *Bacillus thuringiensis* a new perspective for an induced protection to coffee leaf rust. J. Phytopathol. 126: 149-159.
- Sultana, K., Batra, L.R., Stavely, J.R. & Nasir, M.A. 2000: Hyperparasitism of *Verticillium lecanii* and *Cladosporium cladosporioides* on *Uromyces appendiculatus*, the causal organism for soybean rust. Pakistan J. Phytopat. 12: 42-45.
- Teixeira, D.A., Alfenas, A.C., Maffia, R.C., Maffia, L.A. & Ferreira, E.M. 2005: Evidências de indução sistêmica à ferrugem do eucalipto mediada por rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. Fitopatol. Bras. 30: 350-356.
- Vizcaino, A.M.; Rodriguez, R.P. 1996. Uso de discos de hojas de caféto para identificar organismos con potencial de biocontrol. J. Agric. Univ. Puerto Rico 80:81-84.
- Yuen, G.Y., Steadman, J.R., Lindgren, D.T., Schaff, D. & Jochum, C. 2001: Bean rust biological control using bacterial agents. Crop Prot. 20: 395-402.
- Zambolim, L.; Vale, F. X. R. 2000. Perdas na produtividade e qualidade do cafeeiro causadas por doenças bióticas e abióticas. In: Zambolim L. ed. Café, produtividade, qualidade e sustentabilidade. Viçosa, UFV. 396 p.