

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

***TRICHODERMA SPP. COMO PROMOTORES DE CRESCIMENTO EM  
PLANTAS E COMO ANTAGONISTAS A *FUSARIUM OXYSPOURUM****

**HUGO ALMEIDA DOS SANTOS**

**ORIENTADOR: JOSÉ RICARDO PEIXOTO**  
**CO-ORIENTADOR: SUELI CORREIA M. MELLO.**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**PUBLICAÇÃO EM: 306**

**BRASÍLIA/DF**  
**MAIO/2008**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**TRICHODERMA SPP. COMO PROMOTORES DE CRESCIMENTO EM  
PLANTAS E COMO ANTAGONISTAS A *FUSARIUM OXYSPORUM***

**HUGO ALMEIDA DOS SANTOS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA À FACULDADE DE  
AGRONOMIA E VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, COMO  
PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE  
MESTRE EM AGRONOMIA NA ÁREA DE CONCENTRAÇÃO DE  
PRODUÇÃO VEGETAL.**

---

**SUELI CORRÊA MARQUES DE MELLO**  
(Co-orientadora) (Embrapa Cenargen)

**APROVADA POR:**

---

**José Ricardo Peixoto (Universidade de Brasília-FAV)**  
(Orientador) CPF: 354.356.236-34 E-mail: peixoto@unb.br

---

**Adalberto Corrêa Café Filho (Universidade de Brasília-IB)**  
(Examinador Externo) CPF: 210332691-15. E-mail: cafeilh@unb.br

---

**Alan William Vilela Pomella (Sementes Farroupilha)**  
(Examinador Externo) CPF: 819.337.206-97  
E-mail: alan@sementesfarroupilha.com.br

**BRASÍLIA/DF, 16 de maio de 2008**

## FICHA CATALOGRÁFICA

**Santos, Hugo Almeida**

**Título:** *Trichoderma* spp. como promotores de crescimento em plantas e como antagonistas a *Fusarium oxysporum*

**Hugo Almeida dos Santos; orientação de José Ricardo Peixoto- Brasília, 2008**

**Dissertação de mestrado(M)- Universidade de Brasília/Faculdade de agronomia e medicina veterinária, 2008.**

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

**SANTOS, H. A.** *Trichoderma* spp. como promotores de crescimento em plantas e como antagonistas a *Fusarium oxysporum*. Universidade de Brasília, 2008, 89p. (Dissertação de Mestrado).

## CESSÃO DE DIREITOS

**NOME DO AUTOR:** Hugo Almeida dos Santos

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO:**

**GRAU:** Mestre

**ANO:** 2008

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte dessa dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização do autor.

---

**Hugo Almeida dos santos**

**877.868.931-72**

**Quadra 2 conjunto H casa 201 setor norte Gama-DF**

**(61) 81687914 [hugolum@bol.com.br](mailto:hugolum@bol.com.br)**

**“A adversidade não é motivo para inação”**

## **AGRADECIMENTOS**

**Primeiramente a Deus.**

**A minha mãe e a toda minha família.**

**Aos meus orientadores Sueli Corrêa Marques de Mello e José Ricardo Peixoto pela confiança, acolhimento e apoio.**

**Às estudantes de graduação Gisele Marques, Mônica Macedo e Danilo Alvarenga pelo auxílio na condução dos ensaios de laboratório.**

**Aos amigos do mestrado Magno, Gisele, Leonardo e Márcio, aos analistas Irene e José Eustáquio e estagiários do Laboratório da Embrapa, pelo companheirismo e auxílio na condução dos trabalhos.**

**Aos amigos do programa lesado medular da Rede Sarah de Hospitais, pelo apoio e compreensão.**

**À Gabrielle e Michelle Marques pelo auxílio na condução dos ensaios de campo.**

**À Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia pela infra-estrutura e recursos materiais que possibilitaram a realização dos ensaios de laboratório e casa de vegetação.**

**À FAL/UnB pelos recursos mobilizados na realização dos ensaios de campo.**

## ÍNDICE

<b>RESUMO.GERAL</b>	<b>x</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>xiii</b>
<b>INTRODUÇÃO GERAL</b>	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>2</b>
<b>REVISÃO BLIOGRAFICA</b>	<b>3</b>
<b>Soja aspectos gerais</b>	<b>3</b>
<b>Milho aspectos gerais</b>	<b>4</b>
<b>Feijão aspectos gerais</b>	<b>5</b>
<b>Maracujá aspectos gerais</b>	<b>7</b>
<b>Interação planta – fungo</b>	<b>8</b>
<b>Controle biológico</b>	<b>9</b>
<b>Trichoderma - Aspectos gerais</b>	<b>10</b>
<b>Importância de metabólitos produzidos por Trichoderma spp</b>	<b>12</b>
<b>Fusarium aspectos gerais</b>	<b>14</b>
<b>Propagação vegetativa</b>	<b>16</b>
<b>Fitohormônios</b>	<b>18</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>23</b>
<b>1º CAPITULO</b>	
<b>Isolados de Trichoderma spp. como promotores de enraizamento de estacas de maracujazeiro (<i>Passiflora edulis</i> F. <i>flavicarpa</i> Deg.).</b>	<b>34</b>
<b>Resumo</b>	<b>34</b>
<b>Abstract</b>	<b>35</b>
<b>Introdução</b>	<b>36</b>
<b>Material e métodos</b>	<b>38</b>
<b>Resultados e discussão</b>	<b>41</b>
<b>Conclusão</b>	<b>46</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>47</b>
<b>2º CAPITULO</b>	
<b>Trichoderma como promotor de desenvolvimento de plantas de feijoeiro, soja e milho.</b>	<b>50</b>
<b>Resumo</b>	<b>50</b>
<b>Abstract</b>	<b>52</b>
<b>Introdução</b>	<b>53</b>
<b>Metodologia</b>	<b>55</b>
<b>Resultados e discussão</b>	<b>57</b>
<b>Conclusão</b>	<b>67</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>68</b>

<b>3° CAPITULO</b>	
<b>Inibição de esporulação de <i>Fusarium oxysporum</i> por <i>Trichoderma</i> spp.</b>	<b>70</b>
<b>Resumo</b>	<b>71</b>
<b>Abstract</b>	<b>72</b>
<b>Introdução</b>	<b>74</b>
<b>Material e métodos</b>	<b>76</b>
<b>Resultados e discussão</b>	<b>78</b>
<b>Conclusões</b>	<b>85</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>86</b>
<b>Considerações finais</b>	<b>89</b>
<b>Anexos</b>	<b>90</b>

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 cap.1	Valores médios de matéria fresca (g) obtida em mudas de maracujazeiro produzidas por estacas submetidas a tratamento com diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> , com e sem hormônio (AIB).	42
Tabela 2 cap. 1	Efeito do <i>Trichoderma</i> no enraizamento de estacas de maracujá independente do uso de AIB.	44
Tabela 3 cap. 1	Efeito de isolados de <i>Trichoderma</i> como indutor de enraizamento de estacas de maracujá com e sem AIB.	45
Tabela 1 cap. 3	Classificação em conformidade com a escala de Bell et al.	80
Tabela 2 cap. 3	Esporulação de colônias de <i>Fusarium oxysporum</i> desenvolvidas em meio contendo filtrados de colônias contendo metabólitos produzidos por isolados de <i>Trichoderma</i> .	81
Tabela 3 cap. 3	Comparação entre metabólitos não termoestáveis (MNT) e metabólitos termoestáveis (MT) de todos os isolados.	81

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 cap. 1	Efeito do <i>Trichoderma</i> no peso da matéria fresca (g) em plantas oriundas de estacas de maracujá independente do uso de AIB.	42
Figura 2 cap. 1	Valores médios de matéria seca (g) de maracujá obtido pelo tratamento das estacas com isolados de <i>Trichoderma</i> independente do uso de AIB.	43
Figura 1 cap. 2	Efeito de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. sobre a massa seca (g) da parte aérea de plantas de soja sob casa de vegetação	59
Figura 2 cap. 2	Efeito de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. na produção de massa seca (g) de raízes de soja sob casa de vegetação	59
Figura 3 cap. 2	Efeito de isolados de <i>Trichoderma</i> sp. na produção de massa seca (g) da parte aérea de milho sob casa de vegetação	60
Figura 4 cap. 2	Efeito de <i>Trichoderma</i> sp. na produção de massa seca (g) de raízes de milho sob casa de vegetação	61
Figura 5 cap. 2	Efeito de <i>Trichoderma</i> sp. no desenvolvimento da massa seca (g) da parte aérea de feijão em casa de vegetação	62
Figura 6 cap. 2	Efeito de <i>Trichoderma</i> sp. na massa seca (g) de raízes de feijoeiro sob casa de vegetação	63
Figura 7 cap. 2	Efeito de <i>Trichoderma</i> sp. na massa seca (g) da parte aérea do feijoeiro em campo. Brasília (DF), 2008	64
Figura 8 cap. 2	Efeito de isolados de <i>Trichoderma</i> sp. na massa seca (g) de raízes de feijoeiro em campo. Brasília (DF), 2008	65
Figura 9 cap. 2	Efeito de isolados de <i>Trichoderma</i> sp. no número de vagens de plantas de feijão oriundas de sementes inoculadas	67
Figura 1 cap. 3	Esporulação de culturas de <i>Fusarium oxysporum</i> expostas a metabólitos voláteis de isolados de <i>Trichoderma</i>	82
Figura 2 cap. 3	Efeito de metabólitos não termoestáveis produzidos por <i>Trichoderma</i> spp. na esporulação de <i>Fusarium oxysporum</i>	83
Figura 3 cap. 3	Efeito de metabólitos termoestáveis produzidos por <i>Trichoderma</i> spp. na esporulação de <i>Fusarium oxysporum</i> .	83

## Resumo geral

O Brasil é um dos maiores produtores de feijão, soja, milho e maracujá. Dentre as novas tecnologias de produção, o uso de agentes biológicos vem sendo empregado desde no controle de fitopatógenos como na indução do desenvolvimento de plantas. Os fungos do gênero *Trichoderma* se destacam como agente de controle biológico, bem como, na promoção de crescimento de plantas. Este trabalho buscou a avaliação da capacidade de isolados de *Trichoderma* (*Trichoderma harzianum* (CEN151), *Trichoderma harzianum* (CEN 129), -*Trichoderma, saparellum* (CEN 162), *Trichoderma pseudokoningii* (CEN 209) -- *Trichoderma harzianum* (CEN 223) - *Trichoderma harzianum* (CEN 240) - *Trichoderma longibrachiatum* (CEN 280), *Trichoderma* sp. (CEN 523)- *Trichoderma asperellum* (CEN 201) - *Trichoderma harzianum* (CEN 251), - *Trichoderma* sp. (CEN 524) - *Trichoderma harzianum* (CEN 262)) pertencentes à coleção de Fungos para Controle Biológico e Plantas Daninhas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia no enraizamento de estacas de maracujá, na promoção de crescimento de plantas, nas culturas de soja, milho e feijão, e biocontrole de *Fusarium oxysporum*. O primeiro. Trabalho teve como objetivo estudar o efeito de isolados de *Trichoderma* no enraizamento e no desenvolvimento de estacas de *P. edulis* Sins f. *flavicarpa* (Deg.) juntamente com Ácido indol butírico (AIB). O experimento foi realizado em casa-de-vegetação, adotando o delineamento experimental em blocos casualizados com esquema fatorial (6x2), utilizando os seguintes tratamentos: cinco isolados de *Trichoderma*, com e sem aplicação do hormônio AIB, com quatro repetições. A parcela experimental constituiu-se de um vaso com quatro plantas. A análise

dos dados obtidos revelou diferença significativa entre os tratamentos quanto ao peso de matéria seca e fresca das plantas de maracujazeiro. Os cinco isolados de *Trichoderma* mostraram efeito positivo no incremento de matéria seca e fresca. Houve interação significativa entre os fatores com e sem hormônio. Não foi detectado efeito significativo do uso de *Trichoderma*, quanto ao enraizamento de estacas. O segundo trabalho teve como objetivo de estudar o potencial de isolados de *Trichoderma*, como promotores de desenvolvimento de raízes e de partes aéreas, nas culturas de feijão, soja e milho. Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação, sendo que com o feijão, o trabalho também consistiu em experimentos de campo. As sementes para plantio foram tratadas com suspensões contendo  $10^7$  conídios/ml de *Trichoderma*. As variáveis analisadas foram: matéria seca da parte aérea e de raízes. Para a cultura do feijoeiro, determinou-se, também, o número de vagens produzidas. Os ensaios foram conduzidos em blocos ao acaso com quatro repetições. Em casa de vegetação, a unidade experimental foi constituída por um vaso de 5 kg de capacidade, semeadas com quatro sementes. O ensaio realizado no campo com feijão, o delineamento foi em quatro blocos casualizados contendo 11 tratamentos com isolados de *Trichoderma* spp. e cada tratamento com 24 plantas. Nos ensaios com soja o melhor resultado foi obtido pelo isolado CEN 201 tanto para raiz como para parte aérea. Para milho os isolados CEN 262 e CEN 280 apresentaram resultados positivos para parte aérea e CEN 129, CEN 151, CEN 201, CEN 240, CEN 262, CEN 280 para raiz, na cultura de feijão os melhores resultados foram obtido pelos isolados CEN 280 e CEN 151 para parte aérea e CEN 280 para raiz. Em campo os isolados CEN 201, CEN 151 CEN 523 e CEN 262 se

destacaram para parte aérea, e CEN 129, CEN 151, CEN201, CEN 240, CEN 262, CEN 280 se destacaram para raiz. Na contagem do número de vagens de feijão plantado em campo os isolados CEN 151, CEN 201, CEN 209 e CEN 262 se destacaram em relação aos demais. No terceiro trabalho objetivou-se avaliar o potencial antagônico de isolados de *Trichoderma* spp. por meio de cultivo pareado e produção de metabólitos termoestáveis (MT), não termoestáveis (MNT) e voláteis (MV) na inibição da esporulação de *Fusarium oxysporum*. Nos ensaios MT e MNT os isolados foram cultivados em meio líquido (batata-dextrose) sob agitação a 150 rpm a 25°C, no escuro. Após 10 dias, a parte líquida foi filtrada. Para o experimento MT, o filtrado foi adicionado ao meio BDA na proporção de 25% (v/v), antes da autoclavagem. Para o MNT, o filtrado foi esterilizado em membrana milipore 0,45µm e adicionado ao meio BDA na proporção de 25% (v/v). Em ambos os casos, o meio foi distribuído em placa de Petri e inoculado com disco (5mm de diâmetro) do patógeno. No ensaio MV discos de micélio (5 mm) do patógeno e do antagonista foram inoculados em meio BDA e incubados por 12 horas, sendo então depositadas, as de *F. oxysporum* sobre as de *Trichoderma* spp. Avaliou-se o crescimento e produção de esporos do *F. oxysporum*. após nove dias. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente ao acaso com quatro repetições. Todos os isolados inibiram o crescimento de *F. oxysporum* em cultivo pareado. Todos os testes feitos com metabólitos influenciaram negativamente na esporulação de *F. oxysporum*. Nos testes com MNT os isolados CEN 151 e CEN 162 foram os que mais se destacaram não apresentando diferença estatística entre si. Nos testes com MT, o isolado CEN 201 e CEN 162 foram os que apresentaram melhor resultado. No ensaio MV o isolado que mais se destacou foi o CEN 129.

Os solados testados no biocontrole de *F. oxysporum*, no desenvolvimento de plantas e como indutores de enraizamento de estacas de maracujá são promissores para uso em grande escala.

**Palavra chave:** *Trichoderma*, enraizamento, biocontrole, desenvolvimento.

## Abstract

Brazil is one of the biggest producers of bean, soybean, corn, and passion fruit in the world. Among new technologies of cultivation, the usage of biological agents has been used to control several pathogens in different crops and to induce plant growth. The *Trichoderma sp* fungus is used as a biocontrol agent and to increase the development of plant growth. This research intends to evaluate the capacity of *Trichoderma sp* isolates, (CEN262, CEN 151, CEN 162, CEN 209, CEN 223, CEN 201, CEN 129, CEN 240, CEN 280 and CEN 523, CEN 524) belonging to the collection “Fungi for Biocontrol and Weeds” from Genetic Resources and Biotechnology – Embrapa – working on the promotion of bean, corn, and soybean cultivation growth; on rooting of passion fruit cuttings, and on the biocontrol of *Fusarium Oxysporum*.

The first objective was to study the effect of *Trichoderma ssp.* fungus on root and cutting growth of *P. edulis* Sins f. *flavicarpa* (Deg.) with added Indol butirico Acid (IBA). The experiment was carried out in a greenhouse, adopting random block experimental design in a factorial system (6X2), with the following treatments: five isolates from *Trichoderma sp.* with or without the use of IBA hormones, in four replications. The experimental part was composed of a pot with four plants. The results showed a great difference compared to other treatments in terms of the weight of dry and fresh plant matter. The five species of *Trichoderma* presented an increase in the weight (dry and fresh matter) of plants, as well as presenting a significant interaction between those with and without hormone. No relevant effect of using *Trichoderma* was detected in the

rooting of cuttings. This work concludes that the isolates are promising for development of passion fruit.

The second study was carried out to examine isolates from *Trichoderma* to promote development of the aboveground dry plant matter and root growth in soybean, bean and corn cultivation. This was carried out in greenhouses and bean fields, using microbiolised seed, at concentrations of  $10^7$  conidia of *Trichoderma*/ml in solution. The analyzed variables were: weight of aboveground dry plant matter and dry root matter; for beans, the number of pods produced was also recorded. The experimental unit in the greenhouse was composed of one pot of five kilograms with four seeds, which were randomly distributed in four repetitions. In the bean-field crop, eleven treatments with fourteen plants in each one were randomly distributed in four blocs. For the assays with soybean, the best result was obtained from the isolate CEN 201 for the root and aboveground dry plant matter. In corn analyses, the isolates from CEN 262 and CEN 280 presented positive results for the aboveground dry plant matter, and the isolates from CEN 129, CEN 151, CEN 201, CEN 240, CEN 262 and CEN 280 for the root. For the cultivation of bean the best result was obtained with isolates from CEN 201 and CEN 151 for aboveground dry plant matter and with isolate from 280 for the root. In the field, the isolates from CEN 201, CEN 151 CEN 523 and CEN 262 stood out for the aboveground dry plant matter, and CEN 129, CEN 151, CEN201, CEN 240, CEN 262, CEN 280 for the root. When pods planted in the field were planted, the isolates from CEN 151, CEN 201, CEN 209 and CEN 262 stood out. This work concluded that the selected isolates are excellent candidates for use in promoting plant growth.

The third objective was to evaluate the antagonistic potential of isolates from *Trichoderma* sp. (CEN 262, CEN 151, CEN 162, CEN 209, CEN 223, CEN 201, CEN 129, CEN 240, CEN 280 and CEN 523), belonging to the collection “Fungi for Biocontrol and Weeds” from Genetic Resources and Biotechnology – Embrapa – working to produce thermo-stable (MT), non-thermo-stable (MNT) and volatile (MV) metabolites for the inhibition of sporulation of *Fusarium Oxysporum* sp.fungus. In the MT and MNT assays, the isolate was cultivated in liquid environment (potato-dextrose) under agitation of 150 rpm at 25°C, in the dark. After 10 days, the liquid part was filtered. For the MT experiment, the liquid part was filtered and added to the PDA medium in the proportion of 25% (v/v), before autoclaving. For the MNT assay, the filtered liquid was sterilized in 0.45µm Millipore membrane and added to the PDA medium in the proportion of 25% (v/v). In both cases, the medium was distributed in Petri dishes and inoculated with a disc (5 mm of diameter) of pathogen. In the MV assay, mycelial discs (5mm) of the pathogen and of the antagonist were inoculated in the PDA medium and incubated for 12 hours; the *F. oxysporum* was then added to the *Trichoderma* spp. After nine days the growth and production of the spores of *F. oxysporum* was observed. The assay was in a random design, with four replications. All isolates inhibited the growth of *F. oxisporum* in paired culture. All tests with metabolites negatively influenced the sporulation of *F. oxysporum*. In the MNT tests, the isolates CEN 151 and CEN 162 stood out. In the MT tests, the isolates CEN 201 and CEN 162 showed best results. In the MV assay, the isolate from CEN 129 stood out. This research concludes that the selected isolates have high potential for the control of *Fusarium* pathogen. The isolates

tested in biocontrol of *F. oxysporum*, in the development of plants and to induce the rooting of passion fruit are promising for use on a large scale.

**Key Words** *Trichoderma*, rooting, biocontrol, development

## Introdução geral

Os fungos apresentam uma série de características biológicas que os transformam em organismos indispensáveis para todo e qualquer ecossistema, apresentando funções que resultam em produtos e benefícios para a sociedade, como na produção de pães, bebidas, queijos, medicamentos, como também na degradação ou reciclagem de nutrientes (Puntke & Puntzke, 2002).

Muitos deles vêm sendo investigados para fins econômicos. Um deles é o gênero *Fusarium* que compreende espécies habitantes do solo com ampla distribuição pelo mundo, conhecido por causar podridões de raízes, murchas vasculares, amarelecimento e necrose foliar, possuem ampla gama de hospedeiros, incidindo tanto na parte vegetativa como reprodutiva dos vegetais, ocasionando grandes prejuízos aos produtores (Edel et. al., 1997).

Outro gênero de interesse econômico é o *Trichoderma*, onde se encontram algumas espécies estudadas como agentes de controle biológico e como promotores de desenvolvimento de plantas (Baker & Cook, 1974; Benitez et. al., 2004).

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de feijão e de milho. Esta posição de destaque na produção dessas culturas no cenário mundial, esta relacionada ao fato destes serem os alimentos básicos da população, constituindo uma das principais fontes de proteína da dieta alimentar tanto humana quanto animal. (Embrapa, 2007). O país desponta-se também como principal produtor de maracujá no âmbito internacional. O mercado interno não absorve toda a produção,

sendo o excedente exportado (Agrianual, 2007). A Europa importa cerca de 90% do suco concentrado produzido pelas indústrias brasileiras (Ruggiero et. al., 1996). Existem, também, boas perspectivas para o mercado americano, japonês e canadense (Lima, 1994). A soja é um dos principais produtos do agronegócio brasileiro. O Brasil ocupa o segundo lugar no cenário mundial de produção dessa leguminosa, que é exportada para diversas partes do mundo. (IEA 2007).

Com este trabalho, buscou-se avaliar o potencial de uso agrícola dos isolados de *Trichoderma*, em diferentes aspectos: no enraizamento e desenvolvimento de estacas de maracujá, na promoção de crescimento de plantas de feijão, milho e soja e na inibição de esporulação de *Fusarium oxysporum*, causador da murcha de fusarium em plantas de maracujá, por meio de produção de metabólitos secundários.

## Revisão bibliográfica

### 1 - Soja aspectos gerais

A soja (*Glicine max* L.) da forma hoje cultivada é muito diferente dos seus ancestrais, que eram plantas rasteiras que se desenvolviam na costa leste da Ásia, principalmente ao longo do rio Yangtse, na China (Embrapa, 2007; Costa 2006).

Pertencente a família *Fabacea*, representada por mais de 600 gêneros reunindo mais de 13.000 espécies, sendo considerada uma das maiores famílias dentre as dicotiledôneas. Sua distribuição é mundial, especialmente nas regiões tropicais. Uma das características típicas dessa família é apresentar o fruto do tipo legume, também conhecido como vagem (Joly,1983).

No Brasil, o grão foi introduzido na Bahia por Gustavo D'Utra, em 1882, importado dos Estados Unidos (Costa, 1996). Hoje o país é o segundo maior produtor de soja, só perdendo para os Estados Unidos. A produção brasileira na safra 2007/08 do grão foi de 59.988,7 milhões de toneladas, ocupando uma área de 21.158,5 milhões de hectares, totalizando uma produtividade de 2.835,5 kg/Ha (Conab, 2008). As regiões centro-oeste e sul foram as que mais produziram nesta safra, com destaque para estado do Mato Grosso, que alcançou uma produção de 17.677,3 milhões de toneladas em uma área de 5.609,7 milhões de hectares, seguido pelo Paraná que ocupou o segundo lugar com a produção de 11.894,7 milhões de toneladas numa área de 3.932,2 milhões de Hectares, o estado do Rio Grande do Sul ocupa o terceiro lugar com uma produção média de 8.122,1 milhões toneladas em 3.834,0 milhões de hectares.

A variedade dos processos de produção da soja decorre das diversidades de sua utilização, tais como: óleo, farelo, farinha, leite, queijo, entre outros. (Chiarello, 2002). Há também uma variedade de alimentos derivado da soja, de grande importância e que tem seu consumo aumentado desde o final da década de 1990, graças à combinação com sucos de frutas, e o leite de soja, apresentando-se como uma nova forma de demanda desses produtos no Brasil (Behrens & Silva, 2004).

Além das propriedades nutricionais, a soja tem sido reconhecida pela versatilidade de consumo, dado pela origem dos mais diversos alimentos funcionais (Lima Filho et al. 2005). Essa característica decorre de componentes como as isoflavonas, que possuem ação estrógena, os flavonóides que têm propriedades anti-cancerígenas e as proteínas que atuam na redução do colesterol Salgado (2007).

### 1.1 - Milho aspectos gerais

O milho (*Zea mays* L.) pertence à família *Graminaceae*, que é uma das maiores famílias de angiospermas e provavelmente a de maior importância econômica. Os representantes dessa família estão espalhados por todo mundo. Ela apresenta cerca de 700 gêneros dentre as quais são reconhecidos 8.000 espécies.

Atualmente, o milho é uma das principais espécies da agricultura brasileira, não somente pelo aspecto quantitativo, como também pela sua importância estratégica, como base da alimentação animal e humana (López-Ovejero, 2003).

De acordo com os dados da última safra (2007/2008), o Brasil produziu 56.233,2 milhões de toneladas numa área de aproximadamente 14.469,8 milhões de hectares, apresentando uma produtividade de 3.886 kg/Ha. A Região Sul aparece

em primeiro lugar com uma produção de 25.179,5 milhões de toneladas, destacando-se o Estado do Paraná que produziu 15.622,3 milhões de toneladas. O Estado do Mato grosso ocupou o segundo lugar com uma produção de 6.944,0 milhões de toneladas. O estado de Minas gerais ocupou o terceiro lugar com uma produção de 6.413,8 milhões de toneladas em uma área de 1.333,1 milhões de hectares.

O cultivo do milho no Brasil é caracterizado pela sua divisão em duas épocas de plantio. Os plantios de verão, ou primeira safra, são realizados na época tradicional, durante o período chuvoso, e o cultivo da safrinha, ou segunda safra que tem se tornado popular. A safrinha refere-se ao milho de sequeiro, plantado em fevereiro ou março (Embrapa, 2007).

Em termos nutricionais, o milho é considerado um dos alimentos mais energéticos, trazendo em sua composição proteínas, gorduras, carboidratos, vitaminas A e do complexo B, cálcio, ferro, fósforo e amido. Podendo ser consumido puro ou como ingredientes de outros produtos, possuindo grande versatilidade para o aproveitamento como componente para a fabricação de balas, biscoitos, pães, chocolates, geléias, sorvetes, maionese e até cerveja. Entretanto, a maior parte de sua produção é utilizada na alimentação animal (ALBIMILHO, 2007).

## 1.2 - Feijão aspectos gerais

O Feijão comum é o nome atribuído aos grãos produzidos por plantas, da espécie *Phaseolus vulgaris* L., pertencente à família *Fabacea*, esse gênero possui cerca de 55 espécies (Santos & Gavilanes, 1977). Dentre as empregadas na alimentação estão (*P. vulgaris* L., *P. coccineus* L., *P. lunatus* L., *P. acutifolius* A.

Gray) o feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é o mais cultivado, sendo responsável por aproximadamente 95% da produção anual (CEPEF, 2001).

O Brasil é o maior produtor de feijão, seguido pelo México (Yokoyama & Stone, 2000). Dependendo da região, o plantio é feito em três períodos do ano, contribuindo para o abastecimento interno (Yokoyama & Stone, 2000). O cultivo dessa leguminosa é bastante variável. É reconhecida como cultura de subsistência, em pequenas áreas e com uso limitado de insumos (Borém & Carneiro, 1998).

A produção nacional foi estimada em 3.437,3 milhões de toneladas em uma área de 3.830,8 milhões de hectares, alcançou uma produtividade de 897 kg/Ha. A região nordeste foi a maior produtora de feijão com 1.122,2 milhões de toneladas, no entanto, o estado que obteve a maior produção foi o Paraná com 780,3 toneladas em 623,4 mil hectares. O estado de Minas Gerais aparece em seguida, com 512,1 mil toneladas em uma área de 403,9 mil hectares. O estado da Bahia ocupa o terceiro lugar com 322,6 mil de toneladas em 635,2 mil hectares.

O feijão é consumido em todas as classes sociais, sendo a principal fonte de proteínas, minerais, vitaminas e fibras para as classes com menor poder aquisitivo. Quando comparada com as proteínas de origem animal, apresenta um custo menor, fornecendo cerca de 20% das necessidades de um adulto para uma série de nutrientes (Bassinello, 2007). O amido é o principal carboidrato armazenado constituindo cerca de 60 a 65% da sua composição total. As fibras encontradas em forma de celulose e hemicelulose variam, no feijão cozido, entre 3% e 7%. Essas fibras possuem importantes implicações terapêuticas em certas condições de saúde como diabetes e hiperglicemia, entre outros (Bassinello, 2007). É também uma importante fonte de ferro, fósforo, magnésio, manganês e, em menor grau, de zinco, cobre e cálcio (Bassinello, 2007).

### 1.3 - Maracujá aspectos gerais

O gênero *Passiflora* é originário da América da Sul, sendo seu principal centro de origem e distribuição o centro do Brasil (Manica, 1981). Pertence a família *Passifloraceae* que é composta de 12 gêneros, dentre esses o gênero *Passiflora* é o de maior expressão econômica, com cerca de 600 espécies (Joly, 1983; Braga & Junqueira 2000; Sousa & Meletti, 1997).

A espécie de maracujá mais cultivada é a *P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg. que tem como nome vulgar, maracujá- amarelo ou maracujá- azedo, seguido pela *P. alata* Curtis ou maracujá-doce. (Junqueira et al., 2005). É uma planta trepadeira, semilenhosa, de crescimento rápido e frutificação precoce, podendo atingir 5 a 10 metros de comprimento (Ruggieiro et al., 1996).

É utilizado principalmente para consumo “fresco” e na fabricação de sucos, que além de abastecer ao mercado interno, é exportado principalmente para a Europa. Os frutos frescos têm sido comercializados nas feiras livres, Ceasas e nos supermercados (Lima et. al., 1999).

O Brasil se destaca como um dos maiores produtores e consumidor mundial de maracujá. Em 2004 sua produção foi de 491.619 toneladas em uma área de 36.576 Ha. A Região Nordeste contribuiu com 209.401 toneladas desse total, sendo que, só o Estado da Bahia produziu 114.627 toneladas, em uma área colhida de 8.895 Ha. O Espírito Santo ocupou o segundo lugar com uma produção de 81.180 toneladas em 3.243 Ha e São Paulo, o terceiro, com 46.917 toneladas, em 2.641 Ha. (Agrianual, 2007).

No entanto, as exportações do fruto e do suco ainda não apresentam grande expressão para a economia do País, que perde para o Equador e a

Colômbia, com cerca de 50% e 30%, respectivamente, das exportações mundiais de suco concentrado (Cabral et. al., 2004).

## 2 - Interação planta – fungo

Os fungos representam um grupo heterogêneo, formado por diversos organismos unicelulares ou pluricelulares que se alimentam através da absorção direta de nutrientes. Os alimentos dissolvem-se por causa das enzimas que eles secretam e em seguida, são absorvidos através da parede celular, distribuindo-se por difusão simples no protoplasma. Esses organismos vivem como saprófitas, parasitas ou simbiontes. Os fitopatógenos atacam tecidos vivos de plantas, enquanto os saprófitas vivem em tecidos mortos e são importantes na ciclagem de nutrientes. Entre os simbiontes existem diferentes grupos funcionais de fungos benéficos, classificados de acordo com a sua aplicação: biofertilizantes (como os rizóbios), fitoestimuladores (auxinas produzidas por *Azospirillum* sp.), rizoremediadores (ex: *Pseudomonas*) (Reis, 2005).

As interações entre plantas e microrganismos são de extremo interesse para humanidade, uma vez que uma parte da economia mundial tem por base a utilização de espécies vegetais (Barbieri & Carvalho, 2001). Grande parte dos fungos, como os endófitos, estabelece relações simbióticas com plantas. Microrganismos endofíticos são aqueles que vivem parte ou todo o seu ciclo de vida no interior de órgão ou tecidos de plantas e não causam danos aparentes ao hospedeiro (Azevedo, 1998; Sturz et. al., 2000).

## 2.1 - Controle biológico

Controle biológico é definido por Baker & Cook (1974) como “a redução da densidade de inóculo ou das atividades determinantes da doença causada por patógenos ou parasitas nos seus estados de atividade ou dormência, por um ou mais organismos antagônicos realizada naturalmente ou através da manipulação do ambiente, hospedeiro ou antagonista, ou ainda, por introdução em massa de um ou mais antagonistas”. Posteriormente Baker & Cook (1983) redefiniram o controle biológico como sendo “a redução da soma do inóculo ou das atividades determinantes da doença provocada por um patógeno, realizada por ou através de um ou mais organismos que não o homem”.

A introdução de antagonistas adaptados ao microhabitat do patógeno é um aspecto relevante para muitos sistemas planta – patógeno. Antagonistas podem ser introduzidos em outro ambiente diferente daquele onde foi isolado, estabelecer e parasitar o patógeno. O sucesso do biocontrole, no entanto, dependerá da natureza das propriedades antagonistas e dos mecanismos de ação (Melo & Azevedo, 1998).

Os princípios dos mecanismos de controle biológico baseiam-se em relações antagônicas como: competição, predação, amensalismo, parasitismo, resistência induzida ou pela produção de metabólitos que inibem o desenvolvimento do outro. O parasitismo parece ser o mecanismo mais eficiente de antagonismo no controle biológico, pois os hiperparasitas dependem dos seus hospedeiros para sobrevivência e estão sujeitos as mesmas variações ambientais (Grigoletti, 2000).

O controle biológico inclui práticas culturais com o objetivo de criar um ambiente favorável ao antagonista e a introdução em massa de antagonistas, (Bettiol & Ghini, 1995). Esses métodos visam manter um equilíbrio no

agroecossistema, de modo que a planta, na presença do patógeno, não sofra danos significativos, em função da ação controladora dos antagonistas (Bizi, 2005).

Desta forma o controle biológico de fitopatógeno se destaca por não se restringir a estudar apenas a relação entre o fitoparasita e o hospedeiro, mas também considerar os antagonistas, a microflora adjacente ao local da infecção e o relacionamento desse complexo em todo o ecossistema (Bettiol, 1991).

## 2.2 - *Trichoderma* - Aspectos gerais

*Trichoderma* spp. são fungos de ocorrência natural nos solos, especialmente os orgânicos, podendo viver saprofiticamente ou parasitando outros fungos. São fungos mitospóricos, agrupados na, ordem *Moniliales*, família *Moniliaceae*. Produzindo conídios em abundância a partir de células conidiogênicas determinadas como fialídicas, estas células originadas de estruturas denominadas conidióforos que são formadas diretamente das hifas vegetativas. Em seu estado teleomorfo, quando conhecido, pertencem à ordem *Hypocreales* (Melo & Azevedo, 1991; Samuels, 2006).

Em meio de cultura, as colônias de *Trichoderma* crescem rapidamente, apresentando inicialmente uma superfície lisa e quase translúcida. Posteriormente, as colônias podem se tornar flocosa ou compacta com tufo. Sua coloração verde ou amarelada deve-se à pigmentação dos conídios e à quantidade destes produzidos. O micélio é composto por hifas hialinas, ramificadas e de parede lisa. A maioria das espécies forma clamidósporos, intercalado nas hifas ou terminais. Os conidióforos são muitos ramificados, de formato cônico ou piramidal, e quase sempre são formados em anéis sazonais, produzindo zonas concêntricas. As células conidiogênicas são fialídicas. Os conídios têm formatos subglobosos, ovóides,

elipsóides ou elíptico-cilíndricos, sendo produzidos em série e acumulados no ápice das fíalides, com variação da coloração de verde amarelo ou verde claro (Melo, 1991).

Uma característica que se destaca nesse gênero é a capacidade de se associar as raízes de plantas. Esta simbiose ocorre por mecanismos similares àqueles de fungos micorrízicos (Benítez et al., 2004). Essa interação se inicia com a colonização da superfície externa das raízes, e pode ser restrita ou ocorrer por todo o rizoplane, seguida da produção de celulases (Ahmad & Baker, 1987) e da invasão da primeira ou da segunda camada de células da epiderme pelas hifas, com a produção de hidrofobinas, que são proteínas que permitem a adesão a superfícies hidrofóbicas (Kershaw & Talbot, 1998).

Os mecanismos utilizados pelos fungos do gênero *Trichoderma* são: amensalismo, parasitismo, competição e indução de resistência da planta. Antibióticos são metabólitos, com os quais, o antagonista destrói ou inibe o crescimento do patógeno (Denis & Webster, 1971; Benitez, 2004); parasitismo é um mecanismo pelo qual o fungo é capaz de penetrar as estruturas do patógeno, especialmente às hifas, utilizando enzimas que degradam componentes da parede celular. Desta forma, ocorre a degradação enzimática e o consumo de nutrientes oriundos da degradação das estruturas dos fitopatógenos. Por esse fato, os antagonistas que atuam por este mecanismo são denominados hiperparasitas ou hiperpatógenos (Blum et al., 2006); Competição é a interação entre dois ou mais organismos empenhados na disputa principalmente por alimentos, espaço e oxigênio (Weller, 1988; Benitez, 2004); A indução de resistência das plantas ocorre com a penetração do *Trichoderma* nas raízes, induzindo a planta a produzir uma resposta à invasão, acumulando fitolexinas, flavonóides, terpenóides, derivados

fenólicos, agloconas e outras substâncias antimicrobianas, dos quais o *Trichoderma* apresenta grande capacidade de tolerância. (Benítez, et al., 2004).

Além de ser utilizado em controle de patógenos os fungos do gênero *Trichoderma* são também utilizados como agentes promotores de crescimento. Esse mecanismo se refere ao desenvolvimento das plantas de forma geral, incluindo os efeitos benéficos na germinação de sementes, emergência e desenvolvimento das plântulas e produção de grãos e frutos. Os nutrientes solubilizados tornam-se disponíveis para absorção pelas raízes, desta forma, reduz-se a necessidade de adubação, fenômeno que vem despertando o interesse para pesquisa. (Harman, 2000; Altomare et al. 1999; Kleifeld & Chet 1992)

### 2.3 - Importância de metabólitos produzidos por *Trichoderma* spp.

Um dos mecanismos de competição utilizados pelos microrganismos do solo é a competição química, mediada por substâncias (sólidas, líquidas ou gasosas) produzidas por uma espécie que podem inibir ou estimular o crescimento de outra. A maioria dessas substâncias é caracterizada como antibióticos (Putzke & Putzke, 2002).

Os antibióticos definem-se como substâncias orgânicas produzidas por microrganismos que, em concentrações baixas, são deletérias ao crescimento ou atividade metabólicas de outros microrganismos (Baker & Cook, 1974). O controle biológico pode resultar da ação de um ou vários mecanismos simultaneamente, neste último caso, resulta em maior eficiência no antagonista (Lorito et al., 1994). De acordo com Claydon et al. (1987), antibióticos são produtos do metabolismo secundário de seus produtores, e podem ser mais importantes na inibição de outros organismos do que a competição por nutrientes.

Certos metabólitos antifúngicos são produzidos por microrganismos que sobrevivem no solo, principalmente fungos, bactérias e actinomicetos, podendo exercer importante papel no antagonismo entre microrganismos. Dentre os fungos que possuem informação genética para a produção de substâncias inibidoras, antibióticas ou não, destaca-se o gênero *Trichoderma* além de outros gêneros (Melo, 1991).

Espécies de *Trichoderma* são consideradas eficientes antagonistas contra uma série de fungos fitopatogênicos, atuando pela produção de metabólitos voláteis e de não voláteis com atividade antimicrobiana (Claydon et al., 1987; Ghisalberti & Rowland, 1993). Os metabólitos voláteis possuem vantagens sobre aqueles não voláteis (Mangenot & Dien, 1979 citado por Lobo Júnior, 2000), como a capacidade de difusão em interstícios e de solubilização entre as partículas do solo. Não são sujeitos à absorção e à biodegradação, como também, não têm seu efeito limitado pela diluição. A natureza volátil confere uma vantagem distinta sobre inibidores não voláteis, já que sua ação pode atingir microrganismos fisicamente distantes dos sítios de produção. A permeação por inibidores não voláteis pode ser altamente restrita, especialmente para metabólitos de baixa solubilidade em água. (Lobo Júnior & Abrel, 2000).

Os primeiros trabalhos científicos comprovando a produção de antibióticos por *Trichoderma* spp. foram realizados por Weidling (1934), que conseguiu identificar os antibióticos gliotoxina e viridina.

### 3 – *Fusarium* aspectos gerais

O gênero *Fusarium* Link é um dos fungos de grande importância econômica com várias espécies capazes de causar doenças em plantas, dentre as quais, a podridões em raízes, caules e frutos, além das murchas vasculares. O gênero possui ampla distribuição geográfica, ocorrendo em todas as regiões do mundo (Laranjeira, 2001; Poletto et al., 2006). O gênero apresenta duas principais formas de esporos: os microconídios que são unicelulares e os macroconídios que são multicelulares. Os núcleos dos esporos são descendentes mitóticos de um mesmo núcleo progenitor, portanto idênticos (Puhalla, 1981). Algumas espécies são particularmente comuns no solo, onde podem persistir sob a forma de clamidósporos ou como hifas, enquanto que outras espécies produzem apenas conídios (Edel, 1997; Ventura, 1999).

Esse gênero fúngico é formado por várias espécies e *formae speciales*, com capacidade de adaptação e sobrevivência por longos períodos no solo, na forma de clamidósporo. Estes podem se manter viáveis por longos períodos e serem disseminados através da movimentação de solos provocada pelo vento, água ou implementos agrícolas (Bedendo, 1995; Ventura, 1999). Dentre as principais espécies que causam prejuízos em diversas culturas, podem ser citadas: *F. moniliforme*, na cultura de milho (Cavalho et al., 1993); *F. solani* f. sp. *piperis* Alb. na cultura de pimenta-do-reino (Carnaúba, 2007); *F. subglutinans* na cultura do abacaxi; *F. graminearum*, no trigo (Angelotti, 2006) e *F. oxysporum* e *F. solani* em maracujazeiro (Viana 2003).

A severidade das doenças causadas por *Fusarium* spp. está condicionada a fatores ambientais favoráveis, tais como: temperatura, umidade, plantio em solos

arenosos, presença de nematóides, ocorrência de pH baixo e adubação com baixo teor de potássio; além da falta de resistência do hospedeiro (Bedendo, 1995).

A identificação de espécies de *Fusarium* é realizada, tradicionalmente, com base na morfologia do fungo, o que além de constituir uma tarefa difícil de ser executada, também pode gerar controvérsias devido à variabilidade dos caracteres fenotípicos empregados na classificação taxonômica desse gênero (Ventura 2000). Segundo Puhalla (1981) os estágios sexuais do *Fusarium* são ascomicetos, onde o esporo sexual é o ascósporo. Alguns, na forma perfeita, formam ascósporos bicelulares e são alocados no gênero *Nectria*. Outros estados perfeitos como é o caso em *Gibberella*, formam ascósporos multicelulares.

Vários fatores tornam a taxonomia do gênero confusa como a difícil distinção das espécies através de características morfológicas e a mutação dentro da cultura, o que resulta num sistema taxonômico que não reflete a diversidade da espécie. (Dugall et al. 1997; Gêiser et al.,1994).

Os métodos mais utilizados no controle de isolados patogênicos de *Fusarium* são: desinfestação do solo com fungicidas químicos, utilização de cultivares resistentes e rotação de cultura (Agris, 1988). No entanto, o controle químico da fusariose não é totalmente eficiente, uma vez que o patógeno atua penetrando no tecido vascular da planta hospedeira. Segundo Laranjeiras (2001), esse patógeno raramente é erradicado por meio do controle químico, além de apresentar grande capacidade de sobrevivência no solo através de estruturas de resistência, os clamidósporos. Ainda, os produtos químicos vêm causando impactos negativos no ecossistema, como também, danos na saúde humana (Tokeshi, 2000). A utilização de cultivares resistentes seria uma grande alternativa de controle, porém, dificuldades na identificação de um gene de resistência e a habilidade de

adaptação do patógeno a novos genótipos, podem tornar a resistência uma solução temporária (Sutton, 2000). Sendo o patógeno um fungo de solo, capaz de sobreviver a restos de cultura e apresentar várias espécies vegetais como hospedeiros, a alternativa de rotação de cultura não seria de grande eficiência (Sutton, 2000).

#### 4 - Propagação vegetativa

A propagação de plantas pode ser sexual ou assexual. A reprodução sexual ocorre quando a semente é utilizada como estrutura reprodutiva na produção de novas plantas (Lopes, 2002), pela propagação sexuada obtém-se maior taxa de variação entre as mudas produzidas, devido à recombinação gênica que altera o genótipo original (Kampf, 2000). A propagação por sementes aumenta a variabilidade das progênes resultantes, o que é importante para o melhoramento genético, no entanto, é indesejável no cultivo da maioria das fruteiras tropicais. (Sousa & Araújo, 1999).

Entende-se por propagação vegetativa ou assexual, o processo de regeneração de partes da planta a partir de células somáticas, dependentes de duas características básicas: totipotência e diferenciação (Simão, 1998) no qual ocorre a indução do enraizamento adventício em segmentos destacados da planta matriz, que, submetidos a condições favoráveis, originam uma muda, aumentando o número de indivíduos e preservando as características desejáveis. Não há fusão dos gametas, conseqüentemente, não ocorre à recombinação gênica, permitindo assim a reprodução fiel da planta mãe (Lopes, 2000; Fachinello et al., 1995). Este é o método mais recomendado para multiplicação comercial das fruteiras tropicais perenes, especialmente daquelas de polinização cruzada, justamente por transmitir

o patrimônio genético das plantas matrizes para as plantas clonadas e aumentar a precocidade e a uniformidade fenotípica dos pomares (Sousa e Araújo, 1999).

Segundo Xavier (2002), a propagação vegetativa só é possível devido à capacidade relativa à totipotência das células vegetais, ou seja, capacidade de algumas células do organismo vegetal conter em seu núcleo toda a informação necessária à regeneração de uma planta completa, através da reprodução somática (reprodução assexuada ou vegetativa), baseada exclusivamente na mitose.

A propagação vegetativa em plantas pode ser feita por vários métodos, um deles é a estaquia, que é a regeneração de plantas através do enraizamento adventício na regeneração dos tecidos e na emissão de raízes. As estacas, contendo ao menos uma gema, podem ser obtidas de órgãos aéreos ou subterrâneos. Segundo Nass et al. (2001) segmentos destacados da planta-mãe colocados sob condições adequadas formam raízes adventícias, originando uma nova planta idêntica àquela que lhe deu origem (Valio, 1986).

O potencial de enraizamento, assim como a qualidade e a quantidade de raízes nas estacas, pode variar com a espécie, cultivar, condições ambientais e condições internas da própria planta, como aspecto fenológico da planta matriz, tipo de ramo e de estaca, e tratamento concedido (Albuquerque & Albuquerque, 1982; Souza & Lima, 2005). Outros fatores também são importantes para o enraizamento, entre eles a nebulização, o estado nutricional e a utilização de hormônios (Silva, 2008).

Segundo Silva (2008) a maior dificuldade da propagação vegetativa de plantas adultas é o enraizamento, sendo necessário trabalhar com material fisiologicamente juvenil ou rejuvenescido. Ojima e Rigitano (1969) verificaram que estacas precoces propiciaram formação de plantas mais bem desenvolvidas. O

mesmo afirma Pereira et al. (1984), que também observaram maior enraizamento e desenvolvimento das plantas quando estaqueadas mais cedo. Para que a reprodução aconteça na estaquia, é necessário que as células do propágulo se diferenciem, regenerando cada um dos tecidos da planta adulta, processo chamado de organogênese (Xavier, 2002). A desdiferenciação consiste na perda das características e funções específicas de células diferenciadas, reassumindo as funções de uma célula meristemática (Kerbaudy, 1999).

A obtenção de mudas de alta qualidade é estratégica para tornar a produção mais competitiva e atender ao mercado interno e às exportações, considerando 60% do sucesso (Minami et al., 1994). A técnica de propagação vegetativa é a mais utilizada na produção comercial de diversas culturas ornamentais, florestais e frutíferas, tendo como vantagens: reprodução de características desejáveis; multiplicação de indivíduos mais vigorosos e resistentes a determinadas doenças; ganho de tempo relacionado aos ciclos de produção e uniformidade nas populações possibilitando a obtenção de produtos padronizados, de alta qualidade e de rápido incremento no número de plantas. (Ferri, 1997; Higashi, 2000). Outro aspecto importante a ser considerado é que essa técnica provê suporte em programas de melhoramento genético e na multiplicação de plantas geneticamente modificadas (Barrueto Cid, 2001; Hartmann et al., 2002).

#### 4.1- Fitohormônios

Os hormônios vegetais, ou fitormônios são substâncias orgânicas que desempenham a principal função no regulamento do crescimento. Sendo ativos em pequenas quantidades. Seus sinais químicos carregam informações sobre o desenvolvimento ou estado fisiológico das células, dos tecidos e, em alguns casos,

de sistemas de órgãos extensamente separados. Alguns deles são produzidos em determinado tecido e transportados para locais onde induzem respostas fisiológicas específicas. Outros agem dentro do próprio tecido em que são produzidos. (Raven, 2001).

Os fitohormônios podem ser classificados como: citocinina, giberelina, ácido abscísico, etileno e auxina. Em 1941, Johanes Van Overbeek descobriu na água de coco um potente fator de crescimento, acelerador do desenvolvimento de embriões do coqueiro e promotor do crescimento de tecidos isolados e células em tubo de ensaio. No início da década de 50, Folke Skoog e colaboradores conseguiram isolar e identificar a natureza química desse fator, nomeando-o de *cinetina*, dando o nome do grupo de citocininas, devido ao envolvimento na citocinese, ou divisão celular (Raven, 2001).

As citocininas atuam em associação com as auxinas no controle da dominância apical e, também, retardam o envelhecimento das plantas. Essa combinação pode ser empregada *in vitro* para induzir o desenvolvimento da raiz (Skoog & Moleiro, 1957). O tratamento com a auxina pode rapidamente inibir a biossíntese de citocinina. *In vitro*, esse dois hormônios são inversamente correlacionados (Eklöf et al., 2000; Nordström et al., 2004).

Em 1926, no mesmo ano em que Went isolou auxina em Coleóptilo de aveia (*Avena*), um cientista japonês chamado E. Kurosawa descobriu uma doença em plantas de arroz (*Oryza sativa*) denominada “doença da plantinha boba” na qual a planta crescia rapidamente, tornando-se estiolada, de cor pálida e tendia a cair, associou esses sintomas à substância produzida por um fungo chamado *Giberella fujikuri*. Em 1934 os químicos T.Yabuta e Y. Sumiki isolou essa substancia e nomeou-a de giberelina (Raven, 2001). Estudos posteriores mostraram que

substâncias semelhantes à giberelina estão presentes normalmente em plantas, onde controlam diversas funções (Malonek et al., 2005).

As giberelinas são hormônios produzidos principalmente nas raízes e nos brotos foliares. Eles atuam como estimuladores do crescimento de caules e folhas, mas têm pouco efeito sobre o crescimento das raízes. Juntamente com as auxinas, as giberelinas atuam no desenvolvimento dos frutos. Em conjunto com as citocininas desempenham importante papel no processo de germinação das sementes (Ross et al., 2000). Mais de 84 giberelinas já foram isoladas e identificadas quimicamente, apresentam pouca variação na estrutura e atividade biológica (Raven, 2001).

Em 1949, Paul F. Wareing descobriu que freixo de batata contém grandes quantidades de um inibidor de crescimento, a que denominou de “dormina”. Durante a década de 1960, Frederick T. Addicott descobriu a mesma substância em folhas e frutos, que era capaz de acelerar a abscisão, a qual denominou “abscisina”, composto hoje conhecido como Ácido abscísico (ABA). Sabe-se que essa substância não possui um papel direto na abscisão e sim na germinação prematura de frutos e fechamento de estômatos (Raven, 2001).

O etileno é único fitohormônio na forma de gás, é produzido em diversas partes da planta e difunde-se no ar existente entre as células (Morgan, 1962). Sua descoberta ocorreu em 1901 por Dimitry Neljubov que notou um crescimento horizontal no caule de plantas de ervilha expostas ao tratamento com gás de iluminação. As descobertas de Neljubov levaram a conclusão de que o etileno influencia o crescimento e desenvolvimento vegetal, incluindo abscisão de frutos e folhas (Ferri, 1979).

As auxinas são substâncias capazes de controlar vários processos distintos, tais como alongação celular, inicialização da divisão celular (Pasqual, 2001). É

formada no ápice caulinar e radicular, de onde se movimenta para o resto da planta. No entanto, a sua distribuição não é uniforme. A concentração de auxina resultante tem sido correlacionada à inibição e ao estímulo para o crescimento, assim como à diferenciação de órgão ou tecidos (Janick, 1966).

Um dos primeiros experimentos documentados sobre substâncias reguladoras de crescimento foi realizado por Charles Darwin que foi publicado no livro “O poder do movimento das plantas”, em 1888. Em 1926, Frits W. Went um fisiologista vegetal, observou a influência de uma substância no envergamento de ápices de coleóptilo de plântulas de aveia (*Avena sativa*), e chamou de auxina, do grego *auxein*, que significa “crescer”. Sabe-se hoje que essa curvatura era causada pelo alongamento celular diferencial (Raven, 2001; Ferri, 1979).

A auxina endógena encontrada nas plantas é o ácido indolacético (AIA), em níveis que variam conforme a velocidade das reações de síntese, destruição e inativação. Sua concentração é afetada por alguns fatores, como idade fisiológica do órgão e da planta, condições ambientais, e parte da planta que foi utilizada. Segundo Fachinello et al. (1995), é necessário que haja balanço adequado, especialmente entre auxinas, giberelinas e citocininas, ou seja, equilíbrio entre promotores e inibidores do processo de iniciação radicular. Quando o balanço hormonal entre promotores e inibidores é favorável aos promotores, ocorre o processo de iniciação radicular. (Santos, 1994).

Além do AIA, outros compostos sintéticos também favorecem o crescimento das células, dentre eles, o ácido indolbutírico (AIB), que se destaca como o mais eficiente em promover o enraizamento de estacas, por apresentar estabilidade a fotodegradação, ser imune a ação biológica e possuir boa capacidade de promover o enraizamento. Têm sido utilizados em estacas de várias espécies, principalmente

aquelas que apresentam dificuldades em emitir raízes, promovendo, assim, a diferenciação celular e a formação de raízes (Tonietto et al., 1997). Segundo Kramer e Kozlowski (1979), o efeito das auxinas endógenas no enraizamento de estacas pode ser aumentado pela aplicação de reguladores do crescimento como ácido indolbutírico (AIB) ou ácido naftalenoacético (ANA). Esses produtos podem ser aplicados pelos métodos da imersão prolongada em solução diluída e imersão rápida em solução concentrada ou em pó (Hartmann et al., 1997).

Na estaquia, a auxina natural produzida nas folhas novas e nas gemas move-se naturalmente para a parte inferior da planta, acumulando-se na base do corte, junto com açúcares e outras substâncias nutritivas. A formação natural de raízes é, aparentemente, dependente de um nível ótimo de auxina, é aumentado pela adição de auxinas sintéticas, sendo o fitorregulador de maior sucesso, o AIB (Janick, 1966).

Conforme Alvarenga & Carvalho (1983), o objetivo principal de tratar estacas com reguladores de crescimento é proporcionar uma maior porcentagem de enraizamento, maior uniformidade do material, produtividade em menor espaço de tempo e menor permanência da estaca no leito de enraizamento. Segundo Fachinello et al. (1995) a maneira mais comum de promover esse equilíbrio e induzir a formação de raízes pela aplicação exógena de reguladores de crescimento sintéticos, como AIA, AIB e ANA, que podem elevar o teor de auxina no tecido.

A utilização de reguladores de crescimento no enraizamento é prática já bastante difundida e, em muitas espécies, viabiliza a produção de mudas por meio da estaquia (Fachinello et al., 1995).

## BIBLIOGRAFIA

- AGRIOS, G.N. **Plant Patology**. 3 ed., (Ed.) New York: Academic Press, 803 p, 1988.
- AGRIANUAL: **Anuário da agricultura Brasileira**, São Paulo. (Ed) FNP Consultoria & comércio, 2007. 516p.
- AHMAD, J. S. & BAKER, R. Competitive saprophytic Ability and Celullolytic Activit of Rhizosphere-Compnente Mutants of *Trichoderma harzianum*. **Phytopatology**,v.77, p.358, 1987.
- ALBUQUERQUE, C. C.; CÂMARA, T. R.; MENEZES M.; WILLADINO L.; MEUNIER, I.; ULISSES, C. Cultivo *in vitro* de ápices caulinares de abacaxizeiro para limpeza clonal em relação à fusariose. **Scientia Agricola**, v.57, n.2, p.363-366. 2000.
- ALBUQUERQUE, T.E.S.; ALBUQUERQUE, J.A.S. Influência do tipo de estaca e de alguns reguladores de crescimento no enraizamento e desenvolvimento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.) In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 6., 1981, Recife. **Anais**, Recife: SBF, v.4, p.762-770, 1982.
- ALVARENGA, L. R.; CARVALHO, V. D. Uso de substâncias promotoras de enraizamento de estacas frutíferas. **Informe Agropecuário**, v. 9, n. 101, p. 47-55, 1983.
- ANGELOTTI, F.; TESSMANN, D. J; ALVES, T. C. A.; VIDA, J. B.; JACCOUD FILHO, D. S.; HAKAKAVA, R. Caracterização morfológica e identificação molecular de isolados de *Fusarium graminearum* associados à *giberela* do trigo e *triticale* no sul do Brasil. **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. 2, p. 177-179, 2006.
- AZEVEDO, J. L. Microorganismos endofíticos. In: Melo, I. S.; Azevedo, J. L. (Ed.) **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: Embrapa meio-ambiente. p. 117-137, 1998.

BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Biological Control of Plant Pathogens**, San Francisco: W. H. Freeman, 433p. 1974.

BARBIERI, R. L.; CARVALHO F.I.F. Coevolução de plantas e fungos patogênicos. **Revista brasileira de agrociência**, v 7, p.79-83, 2001.

BARRUETO CID, L. P. A **propagação *in vitro* de plantas, O que é isso? Biotecnologia, Ciências e Desenvolvimento**, Brasília. n. 19, p. 16-22. 2001.

BEDENDO, I. P. Podridões de raiz e colo. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**, 3. ed. São Paulo. (Ed.) Agronômica Ceres. p. 829-837, 1995.

BEHRENS, J. H.; SILVA, M. A. A. P. **Atitude do consumidor em relação à soja e produtos derivados. Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 3, p. 431-439, jul./set. 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v24n3/21939.pdf>>. Acesso em: jul. 2007.

BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C. & CODÓN, A. C. Biocontrol, Mechanisms of *Trichoderma* Strains. **International Microbiology**, v. 7, p. 249-260, 2004.

BENTTIOL, W. Componentes do controle biológico de doenças de plantas. In: BENTTIOL, (org) **Controle biológico de doenças de plantas**. EMBRAPA Defesa da Agricultura, São Paulo-SP. 1991.

BETTIOL, W. & GHINI, R. Controle Biológico. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H. & Amorim, L. (Ed.) **Manual de fitopatologia**. 3° ed. Agronômica Ceres. P. 919. 1995.

BIZI, R. M; GRIGOLETTI JR.; A; AUER, C. G. Seleção de Fungicidas para Controle de Oídio em Eucalipto. **Pesquisa Florestal**, v. 51, p.165-170, 2005.

BLUM, L. E. B.; CARES J. E. & UESGI C. H. **Fitopatologia: o estudo das doenças de plantas**. 1 edição. (Ed.) Brasília Otimismo. 2006. 265p.

BORÉM, A. & CARNEIRO, J.E.S. A Cultura. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T.J.; BORÉM, A. **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. Viçosa. (Ed.) UFV, 596p. p.13-17. 1998.

CARNAÚBA J. P., SOBRAL M. F., AMORIM, E. P. R., SILVA, I. O. Ocorrência de *Fusarium solani* f. sp. *piperis* em *Piper nigrum* no estado de Alagoas **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 1, p. 96-97. 2007.

CARVALHO M.L. M; BILIA D.A.C.; SILVA W.R. & MENEZES J.R.efeitos do beneficiamento na qualidade de sementes de milho infectados por *Fusarium moniliforme* Sheld **Scientia Agricola**, piracicaba SP, v.50, n.2, 295-302, 1993.

CEPEF. **Recomendações técnicas para cultivo de feijão no Rio Grande do Sul**. (Ed.) Erechim: São Cristóvão. 2001. 112 p.

CHAVES PARA IDENTIFICAÇÃO. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.8, p.303-338, 2000.

CHIARELLO, M.D. **A soja e os alimentos funcionais: oportunidades de parcerias em P&D para os setores público e privado. Parcerias Estratégicas**, Brasília, n. 15, p. 45-60, out. 2002. Disponível em: <[http://www.cgee.org.br/arquivos/pe\\_15.pdf](http://www.cgee.org.br/arquivos/pe_15.pdf)>. Acesso em: jul. 2007.

CLAYDON, N.; ALLAN, M.; HANSON, J.R. Antifungal alkyl - pyrones produced by *Trichoderma harzianum*. **Transactions of the British Mycological Society**, v.88, pt-4, p.503 – 513, 1987.

CONAB. Disponível em [http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/estudo\\_safra.pdf](http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/estudo_safra.pdf). Acesso em 18 abr. 2008.

DENNIS C., WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. III- Hyphal interaction. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 57, p.368-369. 1971.

EMBRAPA. Disponível em:  
[http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op\\_page=22&cod\\_pai=16](http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op_page=22&cod_pai=16) Acesso em: 17 de dez.2007.

EDEL, V.; STEINBERG, C.; GAUTHERON, N.; ALABOUVETTE, C. Populations of non pathogenic *Fusarium oxysporum* associated with roots of four plant species compared to soilborne populations. **Phytopathology**, St. Paul, v. 87, p. 693-697, 1997.

EZZIYYANI M., SÁNCHEZ C. P., AHMED A.S., REQUENA M. E. & CANDELA, M. E. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.). **Anales de Biología**, v. 26, p.35-45, 2004.

EKLÖF, S.; ÅSTOT, C.; SITBON, F.; MORITZ, T.; OLSSON, O.; SANDBERG, G. Transgenic tobacco plants co-expressing *Agrobacterium* *iaa* and *ipt* genes have wild-type hormone levels but display both auxin- and cytokinin-overproducing phenotypes. **Plant Journal**, v.23, p. 279–284, 2000.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G. R. de L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2.ed. Pelotas: (Ed.)Universitária, 178p. 1995.

FERREIRA, M. E.; KAVATI,; PEREIRA, V. de. **Maracujá para exportação: aspectos técnicos de produção**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 62 P.1996. (publicações técnicas FRUPEX, 19).

FERRI, M. G.1979. **Fisiologia vegetal 2**. (Ed.) ADUSP. SP. 1996. 392p.

FERRI, C. P. Enraizamento de estacas de citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 19, n.1 p. 113-121, 1997.

GHISALBERTI, E.L. & ROWLAND, C. Y. Antifungal metabolite from *Trichoderma harzianum*. **Journal of Natural Products**, v.56, n.10: 1799-1804, 1993.

GRIGOLETTI Jr, A.; Santos, A. F. dos; Auer, C. G. **Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais**. In: Floresta, v. 30. 200 p.2000 (Edição especial).

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR., F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 6. ed. New Jersey: (Ed.) Prentice Hall, 1997. 770 p.

HARTMANN, H. T.; KERSTER, D. E. **Propagation de plantas: princípios y practicas**. México. (Ed.) continental. 1990. 760 p.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V.A.; GONÇALVES, A. N. **Propagação vegetativa de Eucalyptus: princípios básicos e a sua evolução no Brasil**. Instituto de pesquisas e Estudos Florestais. n. 192, 2000. 14 p. (Circular Técnica).

IEA (Instituto de economia agrícola)  
<http://www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?codTexto=9073> acesso em 03 de dez. 2007.

JANICK, J. **A ciência da horticultura**. Rio de Janeiro: (Ed.)F. Bastos, 1966. 485 p.

LARANJEIRA, D. Situação atual do controle biológico de *Fusarium* spp. In: VII Reunião de Controle Biológico de Fitopatógenos. Bento Gonçalves. **Anais**. Bento Gonçalves: UFSM e EMBRAPA Uva e Vinho. 2001.

LOBO JUNIOR M. & ABREU M. S. Inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia Sclerotiorum* por metabólitos voláteis produzidos por alguns antagonistas em

diferentes temperaturas e pH's. **Ciência Agrotec**, Lavras, v.24, n.2, p.521-526. 2000.

LORITO, M.;PETERBAUER, C.; HAYES, C.K.; HARMAN, G.E. Synergistic Interaction between fungal cell wall-degrading enzymes and different antifungal compounds enhances inhibition of spore germination. **Mycrobiology**, v.140, n.623-629, 1994.

LIMA FILHO, D.O. **Alimentos funcionais: construção de conceitos e disponibilidade de lácteos nos supermercados de Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul**, 2004. Informações Econômicas, São Paulo, v. 25, n. 11, p. 7-17, 2005.

LIMA, A. de A. **A pesquisa no Brasil com a cultura do maracujá**. Cruz das almas: EMBRAPA-CNPMP, (EMBRAPA-CNPMP, 55). 1994. 14p.

LOPES ,L. & BARBOSA, J. G. **Propagação de plantas ornamentais**. (Ed.) UFV, Viçosa, p.7-9, 2002.

KAMPFT, A. N. **produção comercial de plantas ornamentais**. (Ed.) Agropecuária, Guaíba. Rio grande do sul RS. 2000. 254p.

KERBAUY, G. B. Competência e determinação celular em cultura de células e tecidos de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. & BUSO, J. A (Ed). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, (Ed.) CBAB/EMBRAPA, p. 519-531,1999.

KERSHAW, M. J. & TALBOT, N.J. Hydrophobins and repellants: Proteins with Fundamental Roles in Fungal Morphogenesis. **Fungal genetics Biology**, v.23, p.8-33. 1998.

KRAMER, P. J.; KOZLOWSKI, T. T. Internal factors affecting growth. In: KRAMER, P.J.; KOZLOWSKI, T.T. Physiology of wood plants. Orlando, Florida: **Academic Press**, cap. 16, p. 546-627, 1979.

KUBICEK C. P., HARMAN G. E. & ONDIK K. L. *Trichoderma e gliocladium*. Vol 1. Net Library publication. 271 p. 1998.

MALONEK S, BOMKE C, BORNBERG-BAUER E, ROJAS MC, HEDDEN P, HOPKINS P, TUDZYNSKI B. Distribution of gibberellin biosynthetic genes and gibberellin production in the *Gibberella fujikuroi* species complex. **Phytochemistry**, v.66, n.11, p.1296-1311. 2005.

MELO, I. S. Potencialidades na utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Brasília: (Ed.) EMBRAPA/ CNPMA. 1991. 388p.

MELO I. S. & Azevedo J. L. **Controle biológico**. Vol. 1 (Ed.) EMBRAPA 264p. 1998.

MINAMI, K.; TESSARIOLI NETO, J.; PENTEADO, S.R.; ESCARPARI FILHO, J.A **Produção de mudas hortícolas de alta qualidade**. Piracicaba: (Ed.) ESALQ/SEBRAE. 1994. 155p.

MORGAN, P.W. Effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on the production of thylene by cotton and grain sorghum. **Physiologia Plantarum**, v.15 p.420–427. 1962.

NASS, L. L. Utilização de recursos genéticos vegetais no melhoramento. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. **Recursos genéticos e melhoramento: plantas**. Rondonópolis. (Ed.) Fundação MT. p. 29-56. 2001.

NORDSTRÖM A, TARKOWSKI P, TARKOWSKA D, NORBAEK R, ÅSTOT C, DOLEZAL K, SANDBERG G. Auxin regulation of cytokinin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*: a factor of potential importance for auxin-cytokinin-regulated

development. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA.** v.101, p.8039–8044, 2004.

OJIMA, M.; RIGITANO, O. **Influência da época e profundidade de plantio no enraizamento de estacas de figueira.** *Bragantina*, Campinas, v.28, n.21, p.255-260, 1969.

PASQUAL, M. **Introdução: fundamentos básicos.** Lavras: Centro de (Ed.) FAEPE. 97p. 2001.

PEREIRA, F. M.; ABE, M. E.; MARTINEZ J., M.; PERECIN, D. influência da época de estaquia, em recipiente, no pegamento e desenvolvimento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.). In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 7. 1983, Florianópolis. **Anais.** Florianópolis: EMPASC/SBF, v.2, p.446-452, 1984.

PIRES, M. C. **Propagação do maracujazeiro por estaquia e enxertia em estacas enraizadas.** Brasília. Faculdade de agronomia e medicina veterinária. 2007. 87p. (dissertação) mestrado. Universidade de Brasília - Brasília.

POLETTO, I.; MUNIZ, M. F. B.; CECONI, D. E.; SANTIN, D.; WEBER, M. N. D.; BLUME, E. Zoneamento e identificação de *Fusarium* spp. causadores de podridão de raízes em plantios de erva-mate (*Ilex paraguariensis* a. St.-Hil.) na região do Vale do Taquarí – RS. **Ciência Florestal**, v. 16, n. 1, p. 1-10. 2006.

PUTZKE J. & PUTZKE M. T. L. **Os reinos dos fungos.** Vol .1. 2 edição (Ed.) EDUNISC. RS. 603 p. 2004.

RAVEN, P. H.; EVERT, R.; EICHORN, S. E. **Biologia vegetal.** 6º (Ed.) Guanabara Koogan. Rio de janeiro. 906p. 2001.

REIS, V.M. **Interações entre Plantas e Microrganismos.** Documento 194.RJ (Ed.) embrapa. 2005. 13p.

ROSS, J.J.; O'NEILL, D.P.; SMITH, J.J.; KERCKHOFFS, L.H.J; ELLIOTT, R.C. Evidence that auxin promotes gibberellin A1 biosynthesis in pea. **Plant Journal**,V.21, p. 547–552, 2000.

RUGGIERO, C.; SÃO JOSÉ. A.R.; VOLPE, C. A.; OLIVEIRA, J.C. de.; DURIGAN, J.F.; BUAMGATNER, J.G.; SILVA,J.R. da; NAKAMURA, K; SAMUELS, G. J. *Trichoderma*: systematics, the Sexual State, and Ecology. **Phytopatology**, v.96, n.2, p.195-206, 2006.

SANTOS, J.B. & GAVILANES, M.L. Botânica. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. Viçosa. (Ed.) UFV. 596p. 1998.

SANTOS, S. C. **Efeitos de épocas de poda sobre a produção e qualidade dos frutos da figueira (*Ficus carica* L.), cultivada em Selvíria-MS** . Ilha Solteira: UNESP, 50p. 1994. (Trabalho de Graduação apresentado a Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira).

SEAGRI. **Cultura do maracujá**. Disponível em: <http://www.seagri.ba.gov.br/Maracuja.htm>. Acesso em: 15 ago. 2007.

SALGADO, J. M. **Alimentos funcionais**. Disponível em: [http://www.sbaf.org.br/sbaf/\\_alimentos/200506\\_Alimentos\\_Funcionais.htm](http://www.sbaf.org.br/sbaf/_alimentos/200506_Alimentos_Funcionais.htm). Acesso em: 29 ago. 2007.

SKOOG, F. & MOLEIRO, C.O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. **Symposia of the Society for Experimental Biolog**, v.11, p.118–131, 1957.

SILVA P. H. M. 2008 **Instituto de pesquisa e estudos florestais**. <http://www.ipef.br/silvicultura/producaomudaspropagacao.asp>. acesso em 02 fev. 2008.

- SIMÃO, S. **Tratado de fruticultura**. Piracicaba: (Ed.)FEALQ, 760 P, 1998.
- SOUZA F. X. & ARAÚJO C. A. T. **Avaliação dos métodos de propagação de algumas spondias agroindustriais**. Embrapa Agroindústria Tropical. p.1-4. 1999. (Comunicado Técnico).
- SOUZA F. X. & LIMA R. N. Enraizamento de estacas de diferentes matrizes de cajazeira tratadas com ácido indolbutírico. **Revista Ciência Agronômica**, v.36, n.2, p.189 – 194, 2005.
- SUTTON, J. C. Strategies for biological control of necrotrophic pathogens crops. **Fitopatologia Brasileira**, v. 25, p. 235-238, 2000.
- STURZ, A. V.; CHRISTIE, B. R.; NOWAK, J. Bacterial endophyte: potential role in developing sustainable systems of crop production. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.19. p. 1-30, 2000.
- TOKESHI, H. Doenças e pragas agrícolas geradas e multiplicadas pelos agrotóxicos. **Fitopatologia brasileira**, v. 25, p 264-271, 2000.
- TONIETTO, A.; DUTRA, L.F.; KERSTEN, E. Influência do ácido indolbutírico e etefhon no enraizamento de estacas de pessegueiro (*Prunus persica* (L) Batsch.). **Ciência Rural**, v. 27, n. 4, p. 567-569, 1997.
- VÁLIO, I. F. M. Auxinas. In: FERRI, M. G. **Fisiologia vegetal**. São Paulo: (Ed.) EPU, v. 2, p. 39-72, 1986.
- VENTURA, J. A. Taxonomia de *Fusarium* e seus segregados: I – história, meios e procedimentos de cultivo. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 7, p. 271-297, 1999.
- VIANA, F. M. P; FREIRE, F. C. O. ; CARDOSO J. E.; VIDAL J. C. **Principais doenças do maracujazeiro na região nordeste e seu controle**. Fortaleza-CE. n. 86 11p. 2003. (Comunicado técnico).

XAVIER, A. Silvicultura Clonal I: **Princípios e Técnicas de Propagação Vegetativa. Caderno Didático**, (Ed.) UFV, Viçosa – MG, v.92, 64p. 2002.

WAGNER, B. L. & LEWIS L. C. Colonization of corn *Zea mays*, by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. **Applied Environmental Microbiology**, v.66, p. 3468-3473, 2000.

WELLER, D. M. Biological control of soil plant pathogens in the rizosphere with bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, v.26, p.379-40, 1988.

WEIDLING, R. Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. **Phytopathology**, St Paul. v.24, p.1153-1179, 1934.

## **Isolados de *Trichoderma* spp. como promotores de enraizamento de estacas de maracujazeiro (*Passiflora edulis* F. *flavicarpa* Deg.).**

Hugo A. Santos<sup>1</sup>; Sueli C. M. Mello<sup>1</sup>; José R. Peixoto<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, W5 Norte, 70770-900, Brasília (DF), E-mail: hugoosan@cenargen.embrapa.br .

<sup>2</sup> Universidade de Brasília, Asa Norte, Brasília-DF.

### **Resumo**

Este trabalho teve como objetivo estudar o efeito de isolados de *Trichoderma* no enraizamento e no desenvolvimento de estacas de *P. edulis* Sins f. *flavicarpa* (Deg.) juntamente com ácido indol butírico (AIB). O experimento foi realizado em casa-de-vegetação, adotando o delineamento experimental em blocos casualizados com esquema fatorial (6x2), utilizando os seguintes tratamentos: cinco isolados de *Trichoderma*, com e sem aplicação do hormônio AIB, com quatro repetições. A parcela experimental constituiu-se de um vaso com quatro plantas. A análise dos dados obtidos revelou diferença significativa entre os tratamentos quanto ao peso de matéria seca e fresca das plantas de maracujazeiro. Os cinco isolados de *Trichoderma* mostraram efeito positivo no incremento de matéria seca e fresca. Houve interação significativa entre os fatores com e sem hormônio. Não foi detectado efeito significativo do uso de *Trichoderma*, quanto ao enraizamento de estacas. Concluiu-se que esses isolados são promissores para o uso na promoção de desenvolvimento e enraizamento de estacas de maracujazeiro.

**Palavras chave: Fungo, promoção de crescimento, AIB.**

## **Abstract**

This work was carried out in order to study the effect of *Trichoderma* ssp. fungus joined with Indol butirico Acid (IBA) in promoting root and cutting growth of *P. edulis* Sins f. *flavicarpa* (Deg.). The experience was carried out in the greenhouse, adopting the block experimental design in a factorial system (6X2), with the follow treatments: five isolates from *Trichoderma* sp. with or without the use of IBA hormones, in four replications. The experiment used a pot with four plants. The original data showed a great difference from other treatments in terms of the weight of dry and fresh plant matter. The five species of *Trichoderma* increased the weight (dry and fresh matter) of plants compared to the control. There was an interaction between treatments with and without hormone. No significant effect on the rooting of cuttings was detected when *Trichoderma* was used. To conclude, these isolates are promising for use in promoting passion fruit development.

**Keywords: Fungus, plant growth-promoting, IBA Hormones.**

## INTRODUÇÃO

O maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) constitui uma das principais espécies frutíferas cultivadas no Brasil. A maior parte da produção concentra-se nas regiões Nordeste e Sudeste, que foram responsáveis, em 2006, por aproximadamente 83% da produção nacional, seguidas pelas regiões Norte e Centro-Oeste, com 13%. O país tem se destacado no cenário mundial, com uma produção em torno de 491.619 toneladas. (Agrianual, 2007).

A obtenção de mudas de alta qualidade é estratégica para uma maior competitividade da cultura, tendo em vista tanto o mercado interno como o externo. Considera-se que 60% do sucesso de uma cultura reside na sua implantação (Minami et al., 1994).

A propagação vegetativa por estaquia é o processo pelo qual segmentos destacados da planta-mãe são colocados sob condições adequadas, originando novas plantas idênticas àquela que lhes deu origem (Valio, 1986). Este é o método mais recomendado para multiplicação comercial das fruteiras tropicais perenes, especialmente daquelas de polinização cruzada, justamente por transmitir o patrimônio genético das plantas matrizes para as plantas clonadas aumentando a precocidade e a uniformidade fenotípica dos pomares (Sousa e Araújo, 1999). As estacas para enraizamento podem ser tratadas com auxinas, que são hormônios vegetais capazes de controlar vários processos distintos como a alongação e divisão celular. As auxinas iniciam a divisão celular e estão envolvidas na origem do meristema, promovendo o crescimento de tecidos desorganizados e de tecidos definidos (Pasqual, 2001). O tratamento hormonal das estacas proporciona maior

porcentagem de enraizamento, uniformidade fenológica do material e produção em menor tempo, reduzindo assim, a permanência da estaca no leito de enraizamento (Alvarenga & Carvalho, 1983). O ácido 3-indolacético (AIA) e o ácido indolbutírico (AIB) são auxinas e apresentam importante papel no enraizamento de plantas (Valio, 1986).

Fungos do gênero *Trichoderma* estão entre os microrganismos mais comumente estudados como agentes de biocontrole de doenças e apresentam, também, atividade como promotores de crescimento de plantas (Altmore et al., 1999). Muitas dessas espécies possuem a capacidade de se associar às raízes, formando uma interação interespecífica de simbiose, por mecanismos similares àqueles de fungos micorrízicos (Benítez et al., 2004).

O presente trabalho teve por objetivo estudar o efeito de isolados de *Trichoderma* no enraizamento de estacas de maracujazeiro-azedo e seu desempenho associado ao ácido indolbutírico (AIB).

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados os isolados CEN 280 (*T. longibrachiatum*), CEN 201 (*T. asperellum*), CEN 251 (*T. harzianum*), CEN 523 (*Trichoderma* sp.) e CEN 524 (*Trichoderma* sp.) pertencentes à Coleção de Fungos para Controle Biológico de Fitopatógenos e Plantas Daninhas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estes dois últimos foram obtidos a partir de amostras de solo, retiradas da rizosfera de maracujazeiro. Os isolamentos foram realizados pelo método de diluição em série de partículas de solo (Wollum, 1982). Utilizou-se o meio de Martin para o isolamento e obtenção das amostras. Para o armazenamento e manutenção das colônias, utilizou-se o meio de batata-dextrose-ágar (BDA). Em ambas as etapas, as placas de Petri foram mantidas em incubadora do tipo B.O.D., regulada para temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas.

Três discos (9 mm de diâmetro) contendo as estruturas fúngicas, retirados de culturas com sete dias de idade, foram transferidos para sacos plásticos autoclaváveis (42 cm de comprimento e 28 cm de largura) contendo o substrato sólido. Este consistiu de 200 g de arroz parboilizado, previamente umedecido com 120 ml de água destilada e autoclavado a 120°C durante 25 minutos. O cultivo ocorreu em sala de incubação, onde a temperatura se manteve a 25 °C e o fotoperíodo de 12 horas, durante 10 dias.

Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação da estação biológica de Universidade de Brasília, onde a temperatura variou de 23–25°C e umidade relativa foi mantida em torno de 80%. Estacas com 15 cm de comprimento e sem folhas (Nogueira, 2007) foram obtidas de clones de maracujazeiro-azedo da

variedade MAR 2050, pertencentes à coleção da Faculdade de Agronomia e Veterinária da Universidade de Brasília – UnB. Estas estacas foram mergulhadas por 10 min em solução de AIB 1000 ppm (Souza, 2006) e em seguida, plantadas, numa profundidade de 5 centímetros, em substrato comercial à base de vermiculita mais casca de *Pinus* sp. (Plantmax®), previamente inoculado com os isolados de *Trichoderma* spp. na proporção de 5g de arroz colonizado / kg de substrato. Nos tratamentos sem AIB, as estacas foram mergulhadas por 10 min em água destilada e, então, plantadas em substrato, previamente inoculado com *Trichoderma*, na mesma proporção a cima. Foi incluído um tratamento controle, com estacas mergulhadas em água destilada e plantadas em substrato sem *Trichoderma*. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 6 x 2, totalizando 12 tratamentos, sendo cinco isolados de *Trichoderma* + controle (fator a), com (1000 ppm) e sem AIB (fator b), com quatro repetições. A parcela experimental foi constituída de um vaso com quatro plantas. Aos 90 dias as estacas foram coletadas, determinando-se a porcentagem de enraizamento, fazendo-se a contagem de plantas vivas; o incremento de matéria fresca foi realizado fazendo-as a pesagem em balança; e o incremento de matéria seca, pegando-se as plantas após pesagem de matéria fresca, acondicionando-as em sacos de papel e levando-as para secagem em estufa por 72 horas a 50°C.

Também foram feitas análises de correlação linear entre todas as variáveis avaliadas, baseando-se na significância de seus coeficientes. A classificação de intensidade da correlação para  $p \leq 0,01$ , considerou muito forte ( $r \pm 0,91$  a  $\pm 1,00$ ), forte ( $r \pm 0,71$  a  $\pm 0,90$ ), média ( $r \pm 0,51$  a  $\pm 0,70$ ) e fraca ( $r \pm 0,31$  a  $\pm 0,50$ ), de acordo com Gonçalves e Gonçalves (1985), citado por Guerra e Livera (1999).

Os cálculos referentes às análises estatísticas foram executados, utilizando o *software* “SANEST”, de autoria de Zonta e Machado (1995). Os dados foram submetidos à análise da variância e as médias dos fatores comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos evidenciaram efeito diferenciado de isolados do fungo *Trichodema* sobre enraizamento e incremento de matéria fresca e seca nas estacas de maracujazeiro (Figuras 1, 2 e 3, Tabelas 1).

De acordo com a Figura 1, os maiores rendimentos de matéria fresca foram verificados com os isolados CEN 523 e CEN 524. Este último, no entanto, não diferiu significativamente dos isolados CEN 201 e CEN 280, que por sua vez, não diferiram do CEN 251 e do controle. Com relação ao acúmulo de matéria seca, os maiores valores médios foram verificados com os isolados CEN 280 e CEN 523, que não diferiram do CEN 524. Tais isolados diferiram do controle (Figura 2).

Ao serem comparados os tratamentos com e sem AIB em matéria fresca (Tabela 1), efeito positivo com a adição do fitohormônio foi verificado apenas com o isolado CEN 251. Este dado obtido corrobora com resultados relatados por Pires (2007) ao demonstrar que estacas tratadas com AIB apresentaram maior índice de massa fresca de parte aérea. No entanto, para os demais isolados aqui estudados e para o controle (sem o fungo) os valores médios de peso de matéria fresca obtidos com adição do fitohormônio, foram inferiores aos obtidos sem hormônio, embora este efeito tenha sido significativo apenas com o isolado CEN 280.

Três dos cinco isolados testados apresentaram efeitos positivos significativos, em relação ao controle, com relação ao acúmulo de matéria seca: CEN 280, CEN 523 e CEN 524. (Figura 2). Neste caso, o efeito do AIB não se mostrou significativo e, por isso, são apresentadas as médias gerais, na Tabela 2. Estudos realizados por Santos et al. (dados não publicados) demonstraram, além desses três isolados, CEN 201 também se destacou como promotor de crescimento

em ensaios conduzidos em casa de vegetação com as culturas de soja, feijão e milho.

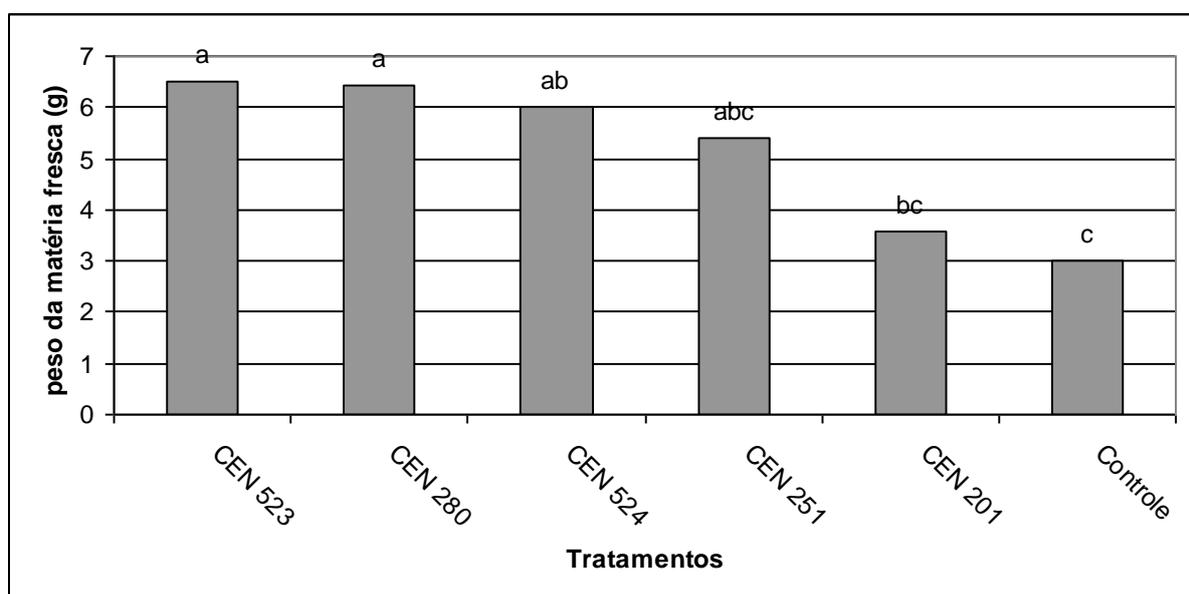


Figura 1 – Efeito do *Trichoderma* no peso da matéria fresca (g) em plantas oriundas de estacas de maracujazeiro, independente do uso de AIB. (CV 42,9)

Tabela 1 – Valores médios de matéria fresca (g) obtida em mudas de maracujazeiro produzidas por estacas submetidas a tratamento com diferentes isolados de *Trichoderma*, com e sem hormônio (AIB).

Hormônio	CEN 280	CEN 523	CEN524	CEN 201	CEN251	CONTROLE
0 AIB	35,07 a A	32,55 a A	30,90 ab A	18,10 bc B	15,47 c B	10 c A
1000 ppm AIB	21,65 ab B	21,92 ab A	22,97 a A	6,95 c A	30,87 a A	8,42 bc A

\* Médias seguidas de mesma letra, maiúsculas na vertical e minúsculas na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 0,01. (CV 2,9)

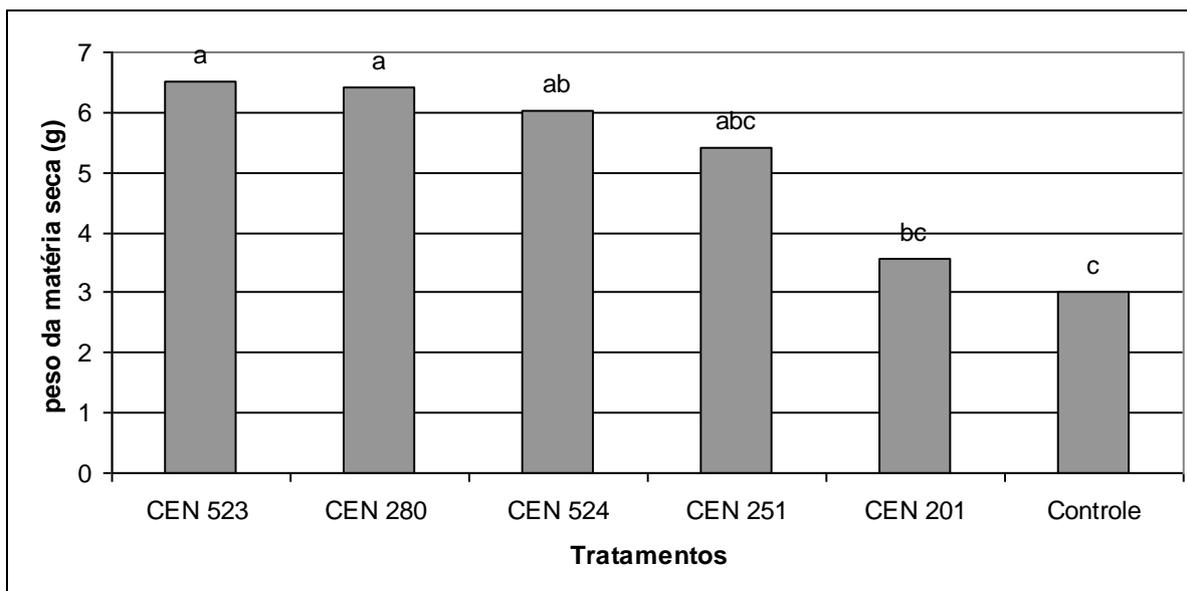


FIGURA 2 – Valores médios de matéria seca (g) de maracujá obtidos pelo tratamento das estacas com isolados de *Trichoderma*, independente do uso de AIB. (CV 45,5)

Com relação ao enraizamento das estacas, não foi detectado efeito significativo do uso de *Trichoderma*, quando se desconsiderou o uso de AIB, nas análises (Tabela 2).

Na presença de AIB os isolados CEN 524 e CEN 201 apresentaram os maiores valores médios de porcentagem de estacas enraizadas. Porém, esses valores não diferiram significativamente dos obtidos com os isolados CEN 251 e CEN 523. Este, por sua vez, não diferiu do CEN 280 e do controle (sem o fungo). O CEN 524 foi o único, para o qual, o efeito da adição de hormônio se distinguiu significativamente (Tabela 3).

Esses dados estão de acordo com relatos de Fachinello et al. (1995), cujos resultados indicaram a eficiência, tanto de AIB quanto de ANA, em promover enraizamento de estacas de maracujazeiro. De acordo com esses autores, os dois

hormônios citados como eficientes superaram o efeito de outro hormônio (AIA) também avaliado.

Harman (2000) desenvolveu vários experimentos com a cepa T-22 de *T. harzianum*, cujos resultados relatados indicam que essa cepa é altamente eficiente como promotora de crescimento de raízes em plantas de soja e milho, tendo também proporcionado incremento na produção de frutos de pimentão, comparativamente às testemunhas não tratadas. Essa cepa vem sendo utilizada comercialmente, em vários países, como princípio ativo de inoculantes de efeito biofúngica e promotor de desenvolvimento de plantas. De acordo com Altmore et al. (1999) a promoção de desenvolvimento, pelo menos no caso da cepa T-22, reside na sua capacidade para solubilizar nutrientes importantes para a planta. Trabalhos nesta linha de pesquisa já haviam sido conduzidos por Chet (1992), que relatou um aumento na produção de massa seca de pepineiro, tratados com *T. harzianum*, tanto em solo autoclavado (26%) quanto em solo não autoclavado (43%).

Tabela 2 – Efeito do *Trichoderma* no enraizamento de estacas de maracujá independente do uso de AIB.

Tratamentos	CEN 201	CEN 251	CEN 280	CEN 523	CEN 524	Controle
Peso (g)	67,79 a	66,66 a	66,66 a	65,62 a	62,5 a	57,26 a

\* Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si ao nível de 0,05%, pelo teste de Tukey.

Tabela 3 – Efeito de isolados de *Trichoderma* como indutor de enraizamento de estacas de maracujá com e sem AIB.

	CEN 524	CEN 201	CEN 251	CEN 523	CEN 280	CONTROLE
COM	88,33 a A	79,16 a A	77,08 ab A	58,33 abc A	52,08 bc A	50 c A
SEM	50 a B	60,41 a A	56,25 a A	72,91 a A	72,91 a A	64,58 a A

\* Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na vertical e minúscula na horizontal, não diferem entre si ao nível de 0,05%, pelo teste de Tukey.

A utilização de reguladores de crescimento é indicada com o objetivo de acelerar a formação de raízes, aumentar o percentual de enraizamento das estacas, promover a melhoria da qualidade das raízes e aumentar a uniformidade no viveiro (Albuquerque & Albuquerque, 1981). O teor adequado de auxina exógena para estímulo do enraizamento depende da espécie e da concentração de auxina existente no tecido. Pires (2007) obteve bons resultados no enraizamento de maracujazeiro utilizando AIB. Trabalhos realizados por Chaves et al. (2004) demonstram um enraizamento de 100% em estacas de maracujazeiro tratadas com AIA. Resultado semelhante conseguiu Junqueira et al. (2006) ao utilizar esse hormônio em estacas de espécies de *Passiflora* nativas do cerrado. No presente trabalho foi demonstrado que o efeito do AIB foi potencializado, quando associado ao uso de *Trichoderma*, pelo menos com alguns dos isolados estudados, com respeito ao enraizamento de estacas. A adição somente do *Trichoderma* não mostrou efeito positivo. Segundo Baker (1988) aumento do crescimento induzido por espécies de *Trichoderma*, resulta, aparentemente, no controle de patógenos secundários, aliado à produção de fatores estimulantes de crescimento.

## CONCLUSÃO

O uso simultâneo de *Trichoderma* spp. e AIB não se fez necessário, com a maioria dos isolados.

De um modo geral o uso de *Trichoderma* spp. proporcionou resultados positivos no incremento de matéria fresca e seca de plantas de maracujá oriundas de estacas.

Os isolados CEN 523 e CEN 524 se destacaram no incremento de matéria fresca e seca

O uso de *Trichoderma* spp. associado ou não a AIB não apresentou diferenças em relação ao uso somente de AIB no enraizamento de estacas.

## BIBLIOGRAFIA

ALBUQUERQUE, T. C. S. de & ALBUQUERQUE, J. A. S. de. Influência do tipo de estaca e de alguns reguladores de crescimento no enraizamento e desenvolvimento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. 6. Recife. **Anais**. Recife: UFPE, n. 3, p. 762-770. 1981.

AGRIANUAL: **Anuário da agricultura Brasileira**, São Paulo. (Ed) FNP Consultoria & comércio, 2007. 516p.

ALVARENGA, L. R. & CARVALHO, V. D. Uso de substâncias promotoras de enraizamento de estacas frutíferas. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, v. 9, n. 101, p. 47-55, 1983.

ALTOMARE, C. *et al.* Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 7, p. 2926-2933, 1999.

BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C. & CODÓN, A. C. Biocontrol, Mechanisms of *Trichoderma* Strains. **International Microbiology**, v. 7, p. 249-260. 2004.

CABRAL, L. M. C.; MATTA, V. M.; PENHA E. M.; MODESTA R. C. D.; SILVA T. T. **Processamento do maracujá orgânico por microfiltração**. Embrapa. 2004. (Comunicado técnico 74.).

CHAVES, R. C.; JUNQUEIRA, M. T. V.; MANICA, I.; PEIXOTO, J. R.; PEREIRA, A. V.; FIALHO J. F. Enxertia de maracujazeiro-azedo em estacas herbáceas enraizadas de espécies de passiflora nativas. **Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal**, v. 26, n.1, p. 120-124, 2004.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G. R. de L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2.ed. Pelotas: (Ed.) Universitária, 178p. 1995.

GUERRA, N.B. & LIVERA, A.V.S. Correlação entre o perfil sensorial e determinações físicas e químicas do abacaxi cv. pérola. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Cruz das Almas, v.21,n.1,p.32-35, abril 1999.

HARMAN, G.E. Myth and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v.84, p.377-393, 2000.

IBGE. **Produção agrícola municipal**.

<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/acervo2.asp?e=v&p=PA&z=t&o=10>.

Disponível em: 7 de jan. 2008.

JUNQUEIRA, N. T. V.; LAGE, D. A. C.; BRAGA, M. F. ; PEIXOTO, J. R.; BORGES, T. A.; ANDRADE, S. R.M. Reação a doenças e produtividade um clone de maracujazeiro-azedo propagado por estaquia e enxertia em estacas herbáceas de *Passiflora silvestre*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 28, n. 1, p. 97-100, 2006.

KLEIFELD, O. & CHET, I. *Trichoderma*: plant interaction and its effects on increased growth response. **Plant Soil**, v.144, n. 2, p. 267-272. 1992.

MINAMI, K.; TESSARIOLI NETO, J.; PENTEADO, S.R.; ESCARPARI FILHO, J.A. **Produção de mudas hortícolas de alta qualidade**. Piracicaba: ESALQ/SEBRAE.155p, 1994.

PASQUAL, M. **Introdução: fundamentos básicos**. Lavras: Centro de (Ed).FAEPE, 97 p, 2001.

PIRES, M. C. **Propagação do maracujazeiro por estaquia e enxertia em estacas enraizadas. Brasília. Faculdade de agronomia e medicina veterinária. 2007. 87p.** (dissertação) mestrado. Universidade de Brasília - Brasília.

SOUZA, P. V. D.; CARNIEL, E.; FOCESATO, M. L. Efeito da composição do substrato no enraizamento de estacas de maracujazeiro azedo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.28, n.2, 2006.

SOUZA, F. X. & ARAÚJO, C. A. T. **Avaliação dos métodos de propagação de algumas Spondias agroindustriais**, Fortaleza: Embrapa-CNPAT, 1999. p. 1-4 (Comunicado técnico, 31).

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Plant physiology**, 2. (Ed.) Sunderland: Sinauer Associates. 792 p. 1998.

VÁLIO, I. F. M. Auxinas. In: FERRI, M. G. **Fisiologia vegetal**. (Ed.)EPU. São Paulo. v.2, p. 39-72. 1986.

ZONTA, E.P. & MACHADO, A. A. Sistema de análises estatísticas (SANEST) para microcomputadores. In: SIMPÓSIO DE ESTATÍSTICA APLICADA À EXPERIMENTAÇÃO, 1995. Piracicaba, **anais**. Campinas, Fundação Cargill, p.17-18, 1995.

## Capítulo 2

***Trichoderma* como promotor de desenvolvimento de plantas de feijoeiro, soja e milho.**

**Hugo A. Santos<sup>1</sup>; Sueli C. M. Mello<sup>1</sup>; José R. Peixoto<sup>2</sup>.**

1Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, W5 Norte, 70770-900, Brasília (DF), E-mail: hugoosan@cenargen.embrapa.br .

2 Universidade de Brasília, Asa Norte, Brasília-DF.

### Resumo

Este trabalho foi realizado com o objetivo de estudar o potencial de isolados de *Trichoderma*, como promotores de desenvolvimento de raízes e de partes aéreas, nas culturas de feijão, soja e milho. Com o feijoeiro, os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação e campo. As sementes para plantio foram tratadas com suspensões contendo  $10^7$  conídios de *Trichoderma*/mL. As variáveis analisadas foram: matéria seca da parte aérea e de raízes. Para a cultura do feijoeiro, determinou-se, também, o número de vagens produzidas. Os ensaios em casa de vegetação foram conduzidos em blocos ao acaso com quatro repetições. Em casa de vegetação, a unidade experimental foi constituída por um vaso de 5 kg de capacidade, semeadas com quatro sementes. Para o ensaio realizado no campo com feijão o delineamento foi em quatro blocos casualizados contendo 11

tratamentos com isolados de *Trichoderma sp.* e cada tratamento com 24 plantas. Nos ensaios com soja o melhor resultado foi obtido pelo isolado CEN 201 tanto para raiz como para parte aérea. Para milho os isolados CEN 262 e CEN 280 apresentaram resultados positivos para parte aérea e CEN 129, CEN 151, CEN 201, CEN 240, CEN 262, CEN 280 para raiz, na cultura de feijão os melhores resultados foram obtido pelos isolados CEN 280 e CEN 151 para parte aérea e CEN 280 para raiz. Em campo os isolados CEN 201, CEN 151 CEN 523 e CEN 262 se destacaram para parte aérea, e CEN 129, CEN 151, CEN 201, CEN 240, CEN 262, CEN 280 para raiz. Na contagem do número de vagens de feijão plantado em campo os isolados CEN 151, CEN 201, CEN 209 e CEN 262 se destacaram em relação aos demais. Concluiu-se que os isolados selecionados são microorganismos potenciais para uso como promotores de desenvolvimento de plantas.

**Palavras chave: promotor, desenvolvimento, culturas**

## Abstract

This work was carried out to examine isolates from *Trichoderma* to promote development of the aboveground dry plant matter and root growth in soybean, bean and corn cultivation. This was carried out in greenhouses and bean fields, using microbiolised seed, at concentrations of  $10^7$  conidia of *Trichoderma*/ml in solution. The analyzed variables were: weight of aboveground dry plant matter and dry root matter; for beans, the number of pods produced was also recorded. The experimental unit in the greenhouse was composed of one pot of five kilograms with four seeds, which were randomly distributed in four repetitions. In the bean-field crop, eleven treatments with fourteen plants in each one were randomly distributed in four blocs. For the assays with soybean, the best result was obtained from the isolate CEN 201 for the root and aboveground dry plant matter. In corn analyses, the isolates from CEN 262 and CEN 280 presented positive results for the aboveground dry plant matter, and the isolates from CEN 129, CEN 151, CEN 201, CEN 240, CEN 262 and CEN 280 for the root. For the cultivation of bean the best result was obtained with isolates from CEN 201 and CEN 151 for aboveground dry plant matter and with isolate from 280 for the root. In the field, the isolates from CEN 201, CEN 151 CEN 523 and CEN 262 stood out for the aboveground dry plant matter, and CEN 129, CEN 151, CEN201, CEN 240, CEN 262, CEN 280 for the root. When pods planted in the field were planted, the isolates from CEN 151, CEN 201, CEN 209 and CEN 262 stood out. This work concluded that the selected isolates are excellent candidates for use in promoting plant growth.

**Keywords: promoter, development, cultures.**

## Introdução

A microbiolização de semente é uma técnica de aplicação de microrganismos vivos às sementes para o controle de doenças e/ou para promover o crescimento de plantas (Melo, 1996). Esta promoção se refere ao desenvolvimento das plantas de forma geral, incluindo os efeitos benéficos na germinação de sementes, emergência e desenvolvimento das plântulas e produção de grãos e frutos (Harman, 2000).

Microrganismos promotores de crescimento de plantas são capazes de colonizar a zona radicular e atuar como agentes de controle biológico de fitopatógenos. Segundo Luz (1996) a promoção de crescimento é realizada por mecanismos diretos de promoção de crescimento ou por mecanismos indiretos, como a eliminação de microrganismos deletérios do rizoplaneo.

O tratamento biológico, pela inoculação das sementes, tem sido utilizado com sucesso. Soave e Moraes (1987) afirmam que essa técnica resulta em vantagem econômica por apresentar eficiência nas fases iniciais de desenvolvimento da planta, sem os efeitos danosos ao meio ambiente verificados com o uso de certos agroquímicos.

Fungos do gênero *Trichoderma* estão entre os microrganismos mais comumente estudados como agentes de biocontrole e apresentam, também, atividade como promotores de crescimento em plantas. Harman & Björklman (1998) revelaram que esses fungos são capazes de colonizar todas as partes do sistema radicular nas mais diversas espécies de plantas tais como as ornamentais, feijão (*Phaseolus vulgaris* L) e milho (*Zea mays* L), entre outras. Baker (1988) relatou o

efeito direto de diferentes espécies de *Trichoderma*, como estimuladores de crescimento e no florescimento de hortaliças.

O objetivo deste trabalho foi avaliar isolados de *Trichoderma* como promotores de desenvolvimento de parte aérea e raiz de plantas de soja, milho e feijão, em casa de vegetação e em campo.

## METODOLOGIA

### 1. Ensaio em casa de vegetação

Os ensaios foram conduzidos na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen). A temperatura na casa de vegetação variou entre 23 e 25°C e a umidade relativa foi mantida em torno de 70%.

Os isolados de *Trichoderma* spp. testados como promotores de desenvolvimento de plantas, das culturas: de milho, feijão e soja foram: CEN151, CEN 129, CEN 223, CEN 240 e CEN 251 (*T. harzianum*), CEN 162 e CEN 202 (*T. asparellum*), (CEN 209) (*T. pseudokoningii*), CEN280 (*T. longibrachiatum*), (CEN 523 (*T. harzianum*) e CEN 524 (*T. harzianum*), todos pertencentes à Coleção de Fungos para Controle Biológico de Fitopatógenos e Plantas Daninhas do Cenargen.

Para o cultivo do fungo, três discos de micélio (9 mm de diâmetro) retirados da zona de maior crescimento de culturas com sete dias de idade, foram transferidos para sacos plásticos autoclaváveis (42 cm de comprimento e 28 cm de largura), contendo o substrato sólido. Este consistiu de 200 g de arroz parboilizado, previamente umedecido com 120 mL de água destilada e autoclavado a 120 °C durante 25 minutos. O cultivo ocorreu em sala de incubação, onde a temperatura se manteve a 25 °C e o fotoperíodo de 12 horas. Após 10 dias de incubação, os esporos de cada isolado de *Trichoderma* foram extraídos do substrato com água mais Tween a 0,02 % (v/v) e a concentração de conídios na suspensão foi

padronizada à  $10^7$  conídios/mL, com base em leitura sob lente de 40x, com auxílio de câmara de Neubauer.

As sementes de feijão, soja e milho foram lavadas nas suspensões fúngicas em sacos plásticos contendo furos e deixadas a secar ao ar, antes de serem semeadas em vasos de 4 Litros, contendo solo autoclavado. Foram semeadas quatro sementes por vaso. O solo utilizado consistiu-se de uma mistura autoclavada de esterco, areia e terra, na proporção de 1:1:3, adicionada de cal (1,25g/L) e adubo químico (4-14-8).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 12 tratamentos (isolados de *Trichoderma* mais o controle) e quatro repetições. Constituiu-se a unidade experimental, um vaso.

Para as três culturas, a coleta dos dados ocorreu aos 60 dias para plantio em casa de vegetação e 90 dias para campo, após o plantio. As avaliações foram feitas com base no peso da matéria seca de partes aéreas e de raízes separadas, lavadas, então acomodadas em sacos de papel em postas para secar estufa por 72hs a 50°C.

## **2. Ensaio em campo**

Ensaio de campo foram conduzidos com a cultura do feijoeiro, na fazenda Água Limpa pertencente à Universidade de Brasília, no período de 3 de outubro de 2007 a 3 dezembro de 2008, quando a temperatura variou em torno de 25°C, umidade relativa do ar de 11% e precipitações pluviométricas em média de 25mm.

Antes do plantio, as sementes foram tratadas como descrito para o experimento de casa de vegetação, e foi utilizada a mesma concentração de inóculo ( $10^7$  conídios/mL). Distribuíram-se 12 sementes tratadas por metro linear, em sulcos abertos no solo, obedecendo-se o espaçamento de 0,50cm. Após 30 dias foi feito a

adubação de cobertura contendo com 10 g de cloreto de potássio, 27g de sulfato de amônia e 30g de super simples (17% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>).

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com quatro repetições. A parcela útil foi constituída de duas fileiras (por repetição), mantidas uma fileira de bordadura.

A coleta dos dados ocorreu após 60 dias, por amostragem de 10 plantas, em cada repetição. Foram avaliados: peso da matéria seca da parte aérea e de raízes, após secagem em estufa a 50 °C, por 72h. Determinou-se, também, o número de vagens, por planta amostrada, considerando-se as vagens que tinham mais de cinco centímetros.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de variância.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Baseando-se na classificação de intensidade da correlação de Gonçalves e Gonçalves (1985), citado por Guerra e Livera (1999) constata-se que houve correlação linear positiva forte entre a massa seca da parte aérea e a massa seca da raiz do feijão, soja e milho, indicando que o crescimento da raiz dessas plantas foi proporcional ao crescimento da parte aérea.

### **1. Soja em casa de vegetação**

De acordo com a Figura 1, referentes aos dados obtidos em casa de vegetação com a cultura da soja, O isolado CEN 201 proporcionou a maior quantidade de massa seca da parte aérea e diferiu significativamente de todos os demais. O isolado CEN 262 ficou em segundo lugar, mas não diferiu estatisticamente dos isolados CEN 523, CEN 240, CEN 223 e CEN 209.

Com relação à massa seca de raízes, novamente, o isolado CEN 201 apresentou o valor médio mais elevado que, entretanto, não diferiu do isolado CEN 262. Os demais isolados não diferiram do controle (Figura 2).

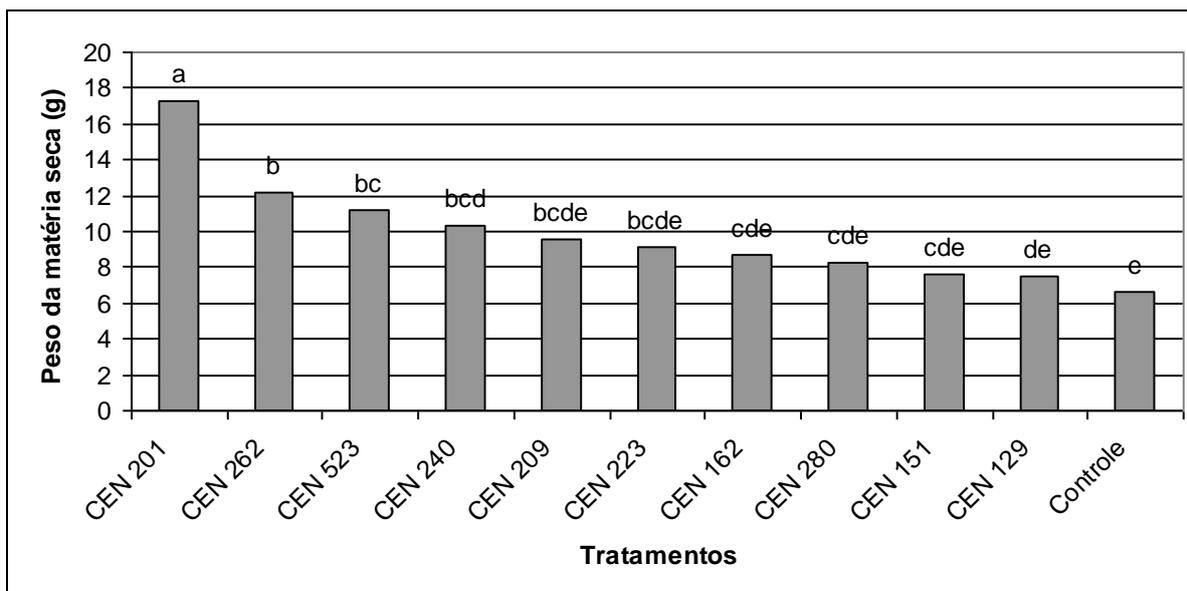


Figura 1 – Efeito de isolados de *Trichoderma* spp. sobre a massa seca (g) da parte aérea de plantas de soja sob casa de vegetação. (CV 11,3)

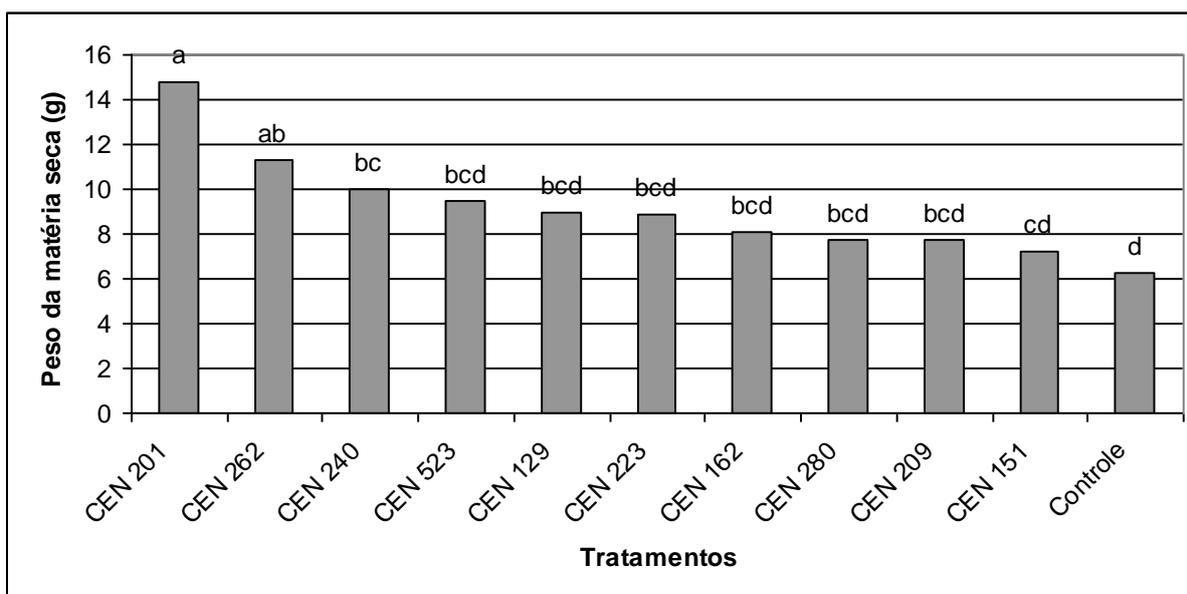


Figura 2 – Efeito de isolados de *Trichoderma* spp. na produção de massa seca (g) de raízes de soja sob casa de vegetação.(CV 11,3)

Esses dados corroboram resultados obtidos por Menezes (1992), com incremento de peso em plantas de pimentão, para o qual o tratamento de semente com *Trichoderma* apresentou efeito positivo no desenvolvimento das plantas. Lynck

(1992) e Yedidia *et al.* (2001), trabalhando com alface e pimentão respectivamente, também observaram esse efeito com a aplicação de *Trichoderma*.

## 2. Milho em casa de vegetação

Os resultados da massa seca de parte aérea das plantas de milho, oriundos de sementes tratadas com *Trichoderma*, nos ensaios conduzidos em casa de vegetação, são apresentados na (Figura 3). Destacaram-se os isolados CEN 262 e CEN 280, que entretanto não diferiram dos isolados CEN 240 e CEN 151. Estes, por sua vez, não diferiram dos isolados CEN 201, CEN 209 e CEN 129. O isolado CEN 223, não apresentou diferença significativa em relação ao controle.

A Figura 4 apresenta os dados de matéria seca das raízes obtidos, onde, o maior acúmulo de matéria seca nas plantas tratadas ocorreu com isolado CEN 280. Os isolados CEN 162 e CEN 223 foram os únicos que não diferiram significativamente do controle, sem *Trichoderma*.

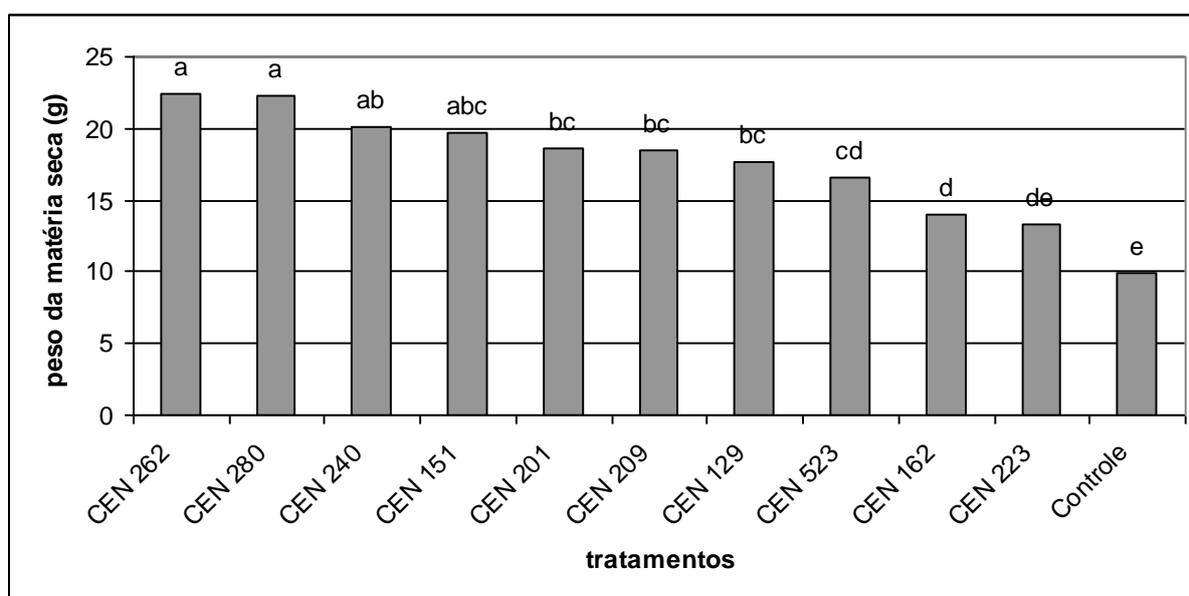


Figura 3 – Efeito de isolados de *Trichoderma* sp. na produção de massa seca (g) da parte aérea de milho sob casa de vegetação (CV 11,3).

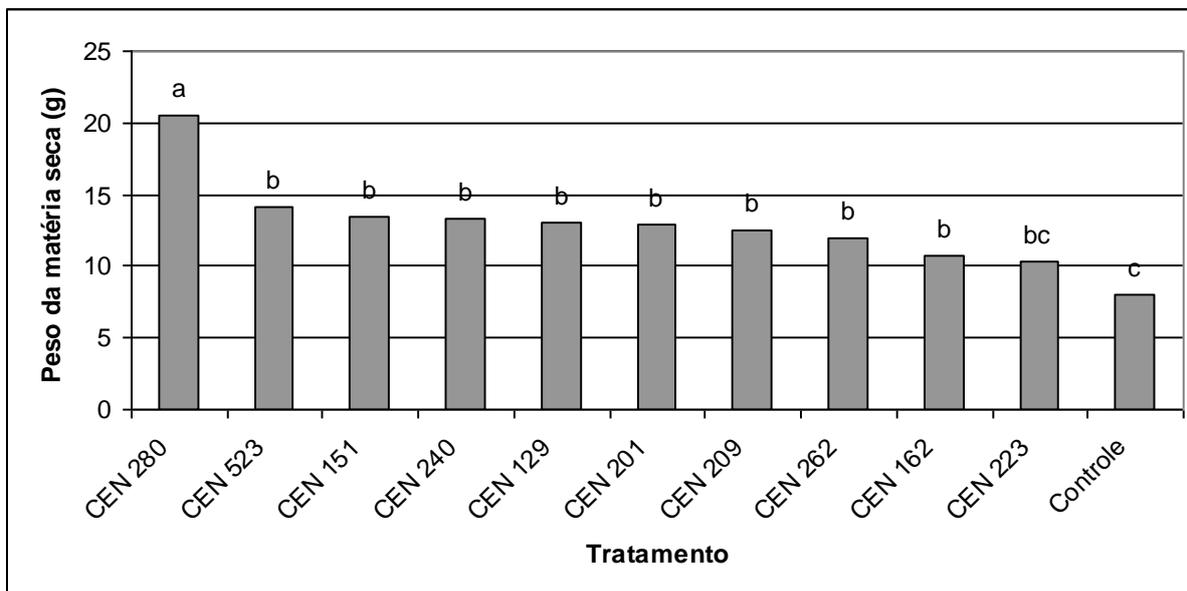


Figura 4 – Efeito de *Trichoderma* sp. na produção de massa seca (g) de raízes de milho sob casa de vegetação (CV 11,3).

Tais resultados corroboram resultados obtidos por Harman et al. (1989), ao constatarem, aumento significativo no crescimento das plantas de milho oriundas de sementes inoculadas com *Trichoderma*. Resende et al. (2004), verificaram maior acúmulo de matéria seca nas raízes de milho provenientes de sementes microbiolizadas. Sivan & Harman (1991) também trabalhando com milho tratado com *Trichoderma* demonstraram um aumento no crescimento de raízes em 31,4%.

### 3. Feijão em casa de vegetação

Os testes realizados com sementes de feijão tratadas com *Trichoderma* em casa de vegetação mostram que os melhores resultados no aumento de massa seca de parte aérea foram obtidos pelos isolados CEN 280 e CEN 151. Entretanto, este

último não diferiu dos isolados CEN 201 e CEN 523 que, por sua vez, não diferiram do controle (Figura 5).

A Figura 6 apresenta os resultados obtidos de matéria seca das raízes do feijoeiro. O melhor resultado obtido, em termos de incremento de matéria seca foi com o CEN 280 seguido pelos isolados CEN 151, CEN 201, e CEN 523 que, entretanto, não diferiram significativamente dos isolados CEN 129, CEN 162, CEN 209, CEN 223, CEN 240, os quais não diferiram do isolado CEN 262 e do controle.

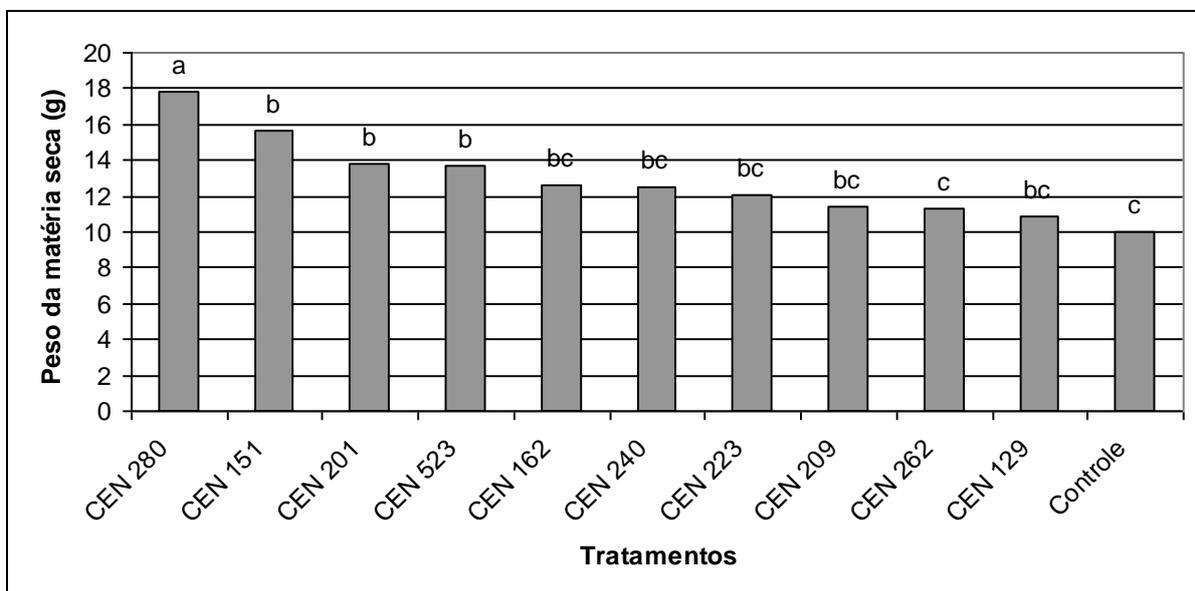


Figura 5 – Efeito de *Trichoderma* sp. no desenvolvimento da massa seca (g) da parte aérea de feijão em casa de vegetação (CV 11,3).

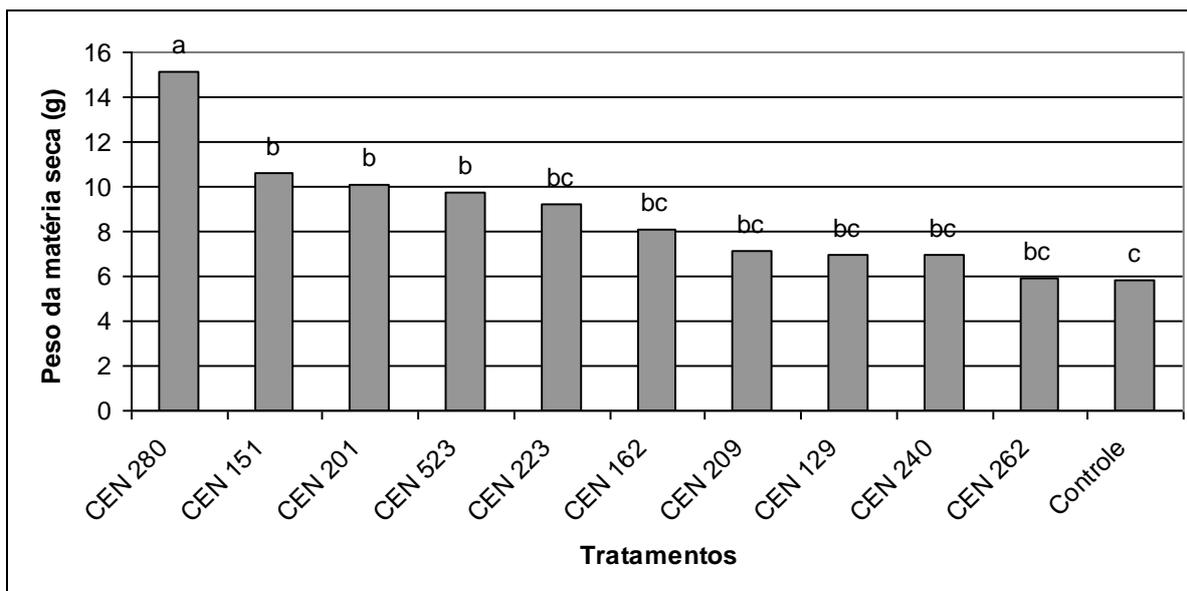


Figura 6 – Efeito de *Trichoderma* sp. na massa seca (g) de raízes de feijoeiro sob casa de vegetação (CV 11,3).

Similarmente, Chang et al. (1986), utilizando tratamento de solo com suspensão de conídios de *T. harzianum*, observaram promoção de crescimento, traduzida em incremento de massa seca, comparada à testemunha, no feijão, de 10,3%, no rabanete, de 8,3%, no tomateiro, de 36,8%, na pimenteira, de 41,7% e no pepineiro de 93,3%. Assim como Paulitz (1990), que também observou efeito benéfico do *Trichoderma harzianum*, no aumento incremento de massa seca em plântulas de pepino.

#### 4. Experimento de campo com a cultura do feijoeiro

A análise dos dados relativos ao experimento de campo, sobre o tratamento das sementes de feijoeiro com isolados de *Trichoderma*, evidenciaram efeito significativo com respeito à produção de massa seca de parte aérea e de raízes.

Quanto ao experimento de campo realizado na fazenda Água Limpa (UNB), com plantas de feijão obtidas a partir de sementes microbiolizadas com

*Trichoderma*, os dados relativos à matéria seca de parte aérea e raízes, encontram-se nas Figuras 7 e 8.

Os isolados CEN 201, CEN 151 CEN 523 e CEN 262 proporcionaram significativos aumento de massa seca de parte aérea. Apesar de não diferirem dos demais, que por sua vez não diferiram estatisticamente do controle.

No teste de avaliação de peso seco de raízes de feijão, Os isolados CEN 129, CEN 151, CEN 201, CEN 240, CEN 262, CEN 280 apresentaram melhores resultados no incremento de matéria seca de raiz, apesar de não diferirem estatisticamente dos isolados CEN162, CEN 209, CEN 223 e CEN 523, que não diferiram do controle (figura 8).

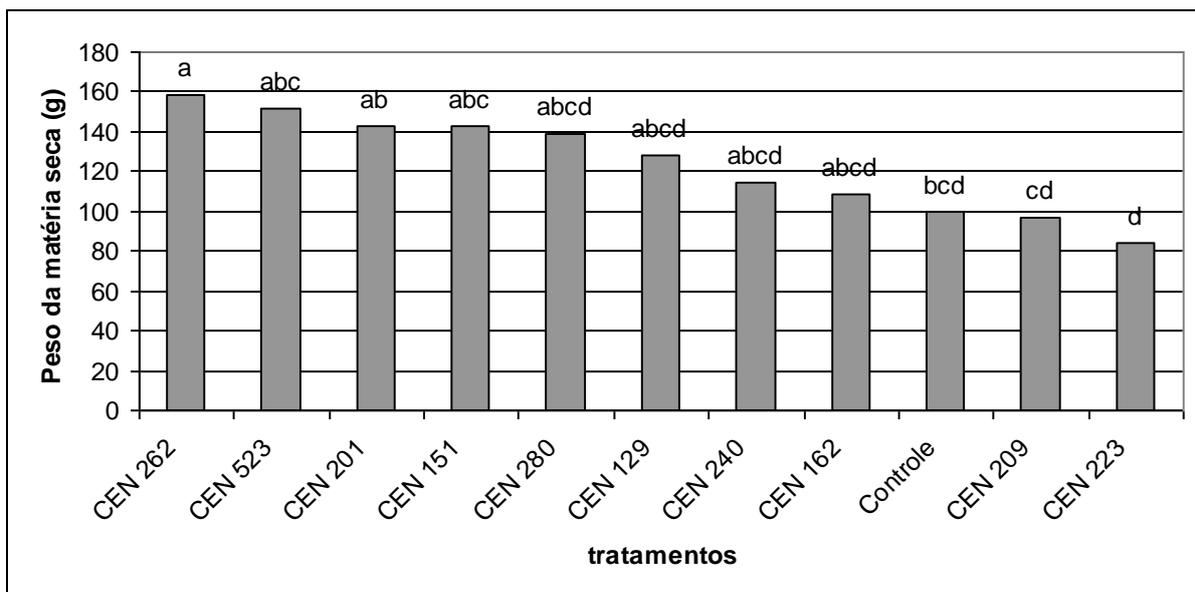


Figura 7 – Efeito de *Trichoderma* sp. na massa seca (g) da parte aérea do feijoeiro em campo. Brasília (DF), 2008. (CV 18,7).

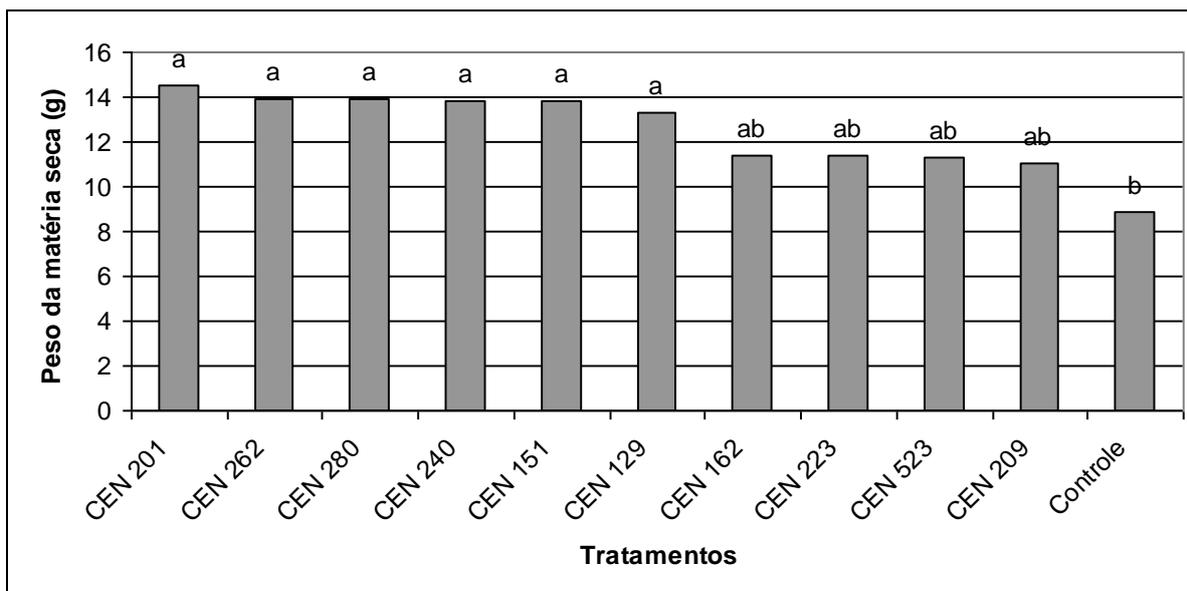


Figura 8 – Efeito de isolados de *Trichoderma* sp. na massa seca (g) de raízes de feijoeiro em campo. Brasília (DF), 2008. (CV 18,7).

Kleifeld & Chet (1992) observaram aumento na produção de massa seca de pepineiros tratados com isolados de *Trichoderma harzianum*, tanto em solo autoclavado (26%) quanto em solo não autoclavado (43%). Resultados positivos também demonstrou Meneses (1992) em trabalhos realizados com feijão e soja microbiolizadas com *Trichoderma*. Entretanto, Jungues et al. (2007) trabalhando com formulado líquido de *Trichoderma* sp. obteve resultado negativo na germinação de sementes de arroz.

Com respeito ao número de vagens por planta de feijão, os dados do ensaio de campo mostraram, também, efeito significativo dos tratamentos,

Os isolados, CEN 151, CEN 201, CEN 209 e CEN 262 apresentaram maiores valores médios do número de vagens por planta, apesar de não diferirem estatisticamente dos isolados CEN 129, CEN 162, CEN 223, CEN 240, CEN 280 e CEN 523 que não diferiram estatisticamente do controle. (Figura 9).

Os isolados CEN 201 e CEN 262 se mostraram promissores no incremento de matéria seca nas culturas de soja e milho, pois foram os que mais se destacaram, apesar de, os outros isolados também apresentarem resultados positivos e alguns não apresentarem diferenças estatísticas em relação ao controle. O isolado CEN 208 apresentou melhor resultado para cultura de feijão, tanto em casa de vegetação como para campo. De um modo geral os isolados testados com feijão quando submetidos a condições de campo apresentaram melhores resultados em relação aos seus efeitos em casa de vegetação.

Segundo Harman (2000) o tratamento de sementes com alguns microrganismos tem sido utilizado, pois, além de proteger as plantas contra fitopatógenos, pode promover o seu crescimento. Esse mecanismo se refere ao desenvolvimento das plantas de forma geral, incluindo os efeitos benéficos na germinação de sementes, emergência e desenvolvimento das plântulas e produção de grãos e frutos.

A habilidade dos fungos do gênero *Trichoderma* na promoção de desenvolvimento de plantas pode estar relacionada à sua capacidade de associação simbiótica às raízes das plantas, juntamente com sua ação decompositora, disponibilizando nutrientes prontamente absorvíveis para as plantas, e, ainda, habilidade como agente de controle biológico, inibindo a ação de fitopatógenos, que podem interferir de forma direta no desenvolvimento normal da planta.

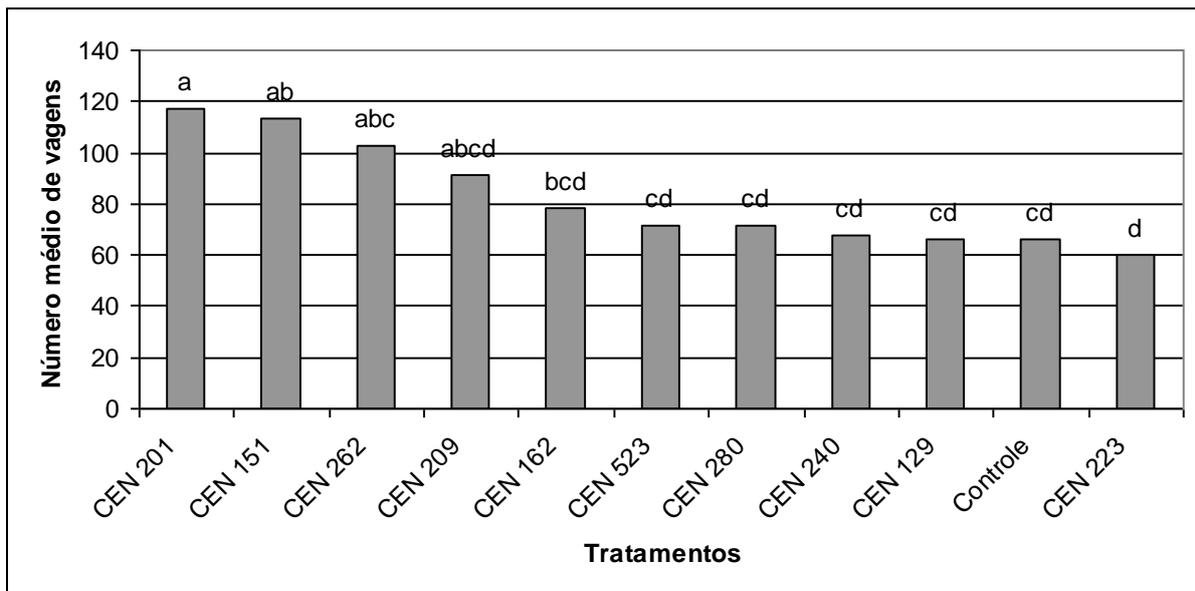


Figura 9 – Efeito de isolados de *Trichoderma* sp. no número de vagens de plantas de feijão oriundas de sementes inoculadas.

## CONCLUSÕES

De um modo geral as plantas inoculadas com isolados de *Trichoderma* apresentaram incremento em sua matéria seca.

Os isolados CEN 201, CEN 262 e CEN 280 se destacaram no incremento de matéria seca de parte aérea e raiz, apresentando resultados positivos nas 3 culturas avaliadas em casa de vegetação e em campo para o feijoeiro.

Os isolados de *Trichoderma* testados mostraram-se promissores no uso como promotores de desenvolvimento em plantas.

## BIBLIOGRAFIA

- ALTOMARE, C. et al. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295- 22. **Applied and Environmental Microbiology**, V.6, n. 7, p. 2926-2933. 1999.
- BAKER, R. *Trichoderma* spp. as plant growth stimulants. **Critical Reviews in Biotechnology**, Boca Raton. V.7, n. 1, p. 97-105. 1988.
- CHANG, YA-CHUN; CHANG, YIH-CHANG; BAKER, R. Increased Growth of plants. In: the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. **Plant Disease**, V.70, n.2, p. 145-148, 1986.
- GUERRA, N.B. e LIVERA, A.V.S. Correlação entre o perfil sensorial e determinações físicas e químicas do abacaxi cv. pérola. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.21,n.1,p.32-35, abril 1999.
- HARMAN, G. E.; TAYLOR, A. G.; STASK, T. E. Combining effective strains of *Trichoderma harzianum* and soil matrix priming to improve biological seed treatment. **Plant Disease**, Saint Paul. V.73, n. 8, p. 631-637, 1989.
- HARMAN, G. E. Myth and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 84, p. 377-393, 2000.
- HARMAN, G. E.; BJÖRKMAN, T. Potential and existing uses of *Trichoderma* and *Gliocladium* for plant disease control and plant growth enhancement. In: HARMAN, G. E.; KUBICEK, C. P. **Trichoderma and Gliocladium**. London: Taylor & Francis. v. 2: p. 229-265, 1998.
- JUNGES, E.; MILANESI, P. M.; DURIGON, M.R.; BRAND, S. C.; MANZONI, C. G.; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B. Germinação e vigor de sementes de arroz semeadas

em substrato tratado com o bioprotetor *Trichoderma* spp. em formulação líquida ou pó. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.1,n.1,2007.

LYNCK, J. Pesquisa inglesa com agentes biológicos. **Jornal Agroceres**, São Paulo, v. 212, p. 2, 1992.

KLEIFELD, O.; CHET, I. *Trichoderma*: plant interaction and its effects on increased growth response. **Plant Soil**, v. 144, n. 2, p. 267-272, 1992.

MELO, I. S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, V.4, p. 261-295, 1996.

MENEZES, M. Avaliação de espécies de *Trichoderma* no tratamento de feijão e do solo, visando o controle de *Macrophomina phaseolina*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 25, 1992, Gramado, RS. **anais**. Brasília: SBS, p. 159,1992.

PAULITZ, T. C. Biochemical and ecological aspects of competition in biological control. In: BAKER, R. R. (Ed.). **New directions in biological control: alternatives for suppressing agricultural pests and diseases**. New York: Liss, p. 713-724, 1990.

SIVAN, A. & HARMAN, G.E. Improved rhizosphere competence in a protoplast fusion progeny of *Trichoderma harzianum*. **Journal of General Microbiology**, v. 137, p. 23-29, 1991.

YEDIDIA, I.; SRIVASTVA, K. Y.; CHET, I. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. **Plant and Soil, Dordrecht**, v. 235, n. 2, p. 235- 242, 2001.

### Capítulo 3

#### Inibição de esporulação de *Fusarium oxysporum* por *Trichoderma* spp.

**Hugo A. Santos<sup>2</sup>; Sueli C. M. Mello<sup>1</sup>; José R. Peixoto<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, W5 Norte, 70770-900, Brasília (DF), E-mail: hugoosan@cenargen.embrapa.br .

<sup>2</sup> Universidade de Brasília, Asa Norte, Brasília-DF.

#### Resumo

A podridão do colo do maracujazeiro tem como agente causador o fungo do gênero *Fusarium*, sendo responsável pela redução da produtividade em diversas culturas. O controle desta doença é preventivo, já que não existe ainda um tratamento eficaz, uma vez estabelecida. Espécies do gênero *Trichoderma* são micoparasitas que agem inibindo o desenvolvimento de fungos fitopatogênicos seja por parasitismo, competição ou produção de metabólitos. Este trabalho objetivou avaliar o potencial antagônico de isolados de *Trichoderma* sp. (CEN 262, CEN 151, CEN 162, CEN 209, CEN 223, CEN 201, CEN 129, CEN 240, CEN 280 e CEN 523), pertencentes à Coleção de Fungos para Controle Biológico de Fitopatógenos e Plantas Daninhas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, por meio de cultivo pareado e produção de metabólitos termoestáveis (MT), não termoestáveis (MNT) e voláteis (MV) na inibição da esporulação de *F. oxysporum*. Nos ensaios MT e MNT os isolados foram cultivados em meio líquido (batata-dextrose) sob agitação a 150 rpm a 25°C, no escuro. Após 10 dias, a parte líquida foi filtrada.

Para o experimento MT, o filtrado foi adicionado ao meio BDA na proporção de 25% (v/v), antes da autoclavagem. Para o MNT, o filtrado foi esterilizado em membrana milipore 0,45µm e adicionado ao meio BDA na proporção de 25% (v/v). Em ambos os casos, o meio foi distribuído em placa de Petri e inoculado com disco (5mm de diâmetro) do patógeno. No ensaio MV discos de micélio (5 mm) do patógeno e do antagonista foram inoculados em meio BDA e incubados por 12 horas, sendo então depositadas, as de *F. oxysporum* sobre as de *Trichoderma* spp. Avaliou-se a produção de esporos do *F. oxysporum* após nove dias. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente ao acaso com quatro repetições. Todos os isolados inibiram o crescimento de *F. oxysporum* em cultivo pareado. Todos os testes feitos com metabólitos influenciaram negativamente na esporulação de *Fusarium* sp. Nos testes com MNT os isolados CEN 151 e CEN 162 foram os que mais se destacaram. Nos testes com MT, o isolado CEN 201 e CEN 162 foram os que apresentaram melhor resultado. No ensaio MV o isolado que mais se destacou foi o CEN 129. Concluiu-se que os isolados selecionados são microorganismos potenciais para o controle da Fusariose.

**Palavras-chave:** *Trichoderma*, *Fusarium*, cultivo pareado

## Abstract

The causal agent of collar rot of passion fruit is *Fusarium spp* fungus, responsible for reducing productivity in many crops. Control of this plant disease involves prevention, since there is no efficient treatment yet. The species of the *Trichoderma* genera are micoparasites which act to inhibit the development of several fungal pathogens in different crops by parasitism, competition or production of metabolites. This research aimed to evaluate the antagonistic potential of isolates from *Trichoderma* sp. (CEN 262, CEN 151, CEN 162, CEN 209, CEN 223, CEN 201, CEN 129, CEN 240, CEN 280 and CEN 523), belonging to the collection “Fungi for Biocontrol and Weeds” from Genetic Resources and Biotechnology – Embrapa – – working to produce thermo-stable (MT), non-thermo-stable (MNT) and volatile (MV) metabolites for the inhibition of sporulation of *Fusarium Oxysporum sp.fungus*. In the MT and MNT assays, the isolate was cultivated in liquid environment (potato-dextrose) under agitation of 150 rpm at 25°C, in the dark. After 10 days, the liquid part was filtered. For the MT experiment, the liquid part was filtered and added to the PDA medium in the proportion of 25% (v/v), before autoclaving. For the MNT assay, the filtered liquid was sterilized in 0.45µm Millipore membrane and added to the PDA medium in the proportion of 25% (v/v). In both cases, the medium was distributed in Petri dishes and inoculated with a disc (5 mm of diameter) of pathogen. In the MV assay, mycelial discs (5mm) of the pathogen and of the antagonist were inoculated in the PDA medium and incubated for 12 hours; the *F. oxysporum* was then added to the *Trichoderma* spp. After nine days the growth and production of the spores of *F. oxysporum* was observed. The assay

was in a random design, with four replications. All isolates inhibited the growth of *F. oxysporum* in paired culture. All tests with metabolites negatively influenced the sporulation of *F. oxysporum*. In the MNT tests, the isolates CEN 151 and CEN 162 stood out. In the MT tests, the isolates CEN 201 and CEN 162 showed best results. In the MVassay, the isolate from CEN 129 stood out. This research concludes that the selected isolates have high potential for the control of *Fusarium* pathogen.

**Key Words:** *Trichoderma*, *Fusarium*, paired culture

## INTRODUÇÃO

O *Fusarium* é um dos gêneros de fungos mais importantes que existem, com várias espécies capazes de causar doenças em plantas, sendo comuns às podridões de raízes, caules e frutos, além das murchas vasculares (Nelson et al., 1983).

A murcha de fusarium do maracujazeiro é um dos principais fatores limitantes da cultura de maracujá (Pio-Ribeiro & Mariano, 1997). Essa doença ocorre em todas as regiões produtoras de maracujá, tendo como principal característica, o difícil controle devido à colonização vascular da planta pelo fungo (Lima et al., 1999). Normalmente, as plantas infectadas exibem escurecimento dos vasos condutores na região da raiz, colo e caule onde o patógeno coloniza os vasos do xilema, matando a planta através da obstrução dos vasos (Ruggieiro, 1996; Pio-Ribeiro & Mariano, 1997).

O manejo de doenças causadas por patógenos de solo é um contínuo desafio para os produtores e pesquisadores. Diversos microrganismos vêm sendo testados no controle biológico de várias doenças de plantas. Entre os agentes de controle biológico usados contra patógenos do solo tem-se destacado *Trichoderma* uma vez que esse fungo inibe vários patógenos através de competição, parasitismo direto e produção de metabólitos secundários, como enzimas líticas e antibióticos (Baker & Kook, 1974; Melo, 1998).

*Trichoderma* spp. é um fungo natural do solo, especialmente em solos orgânicos, podendo viver saprofiticamente ou parasitando outros fungos. Pertence a ordem Moniliales, família Moniliaceae, produz conídios em abundância a partir de

células conidiogênicas determinadas como fialídicas, estas células originadas de estruturas denominadas conidióforos que são formadas diretamente das hifas vegetativas. Em seu estado teleomorfo, quando conhecido, pertence à classe *Hypocreales* (Melo & Azevedo, 1991; Samuels, 2006).

Metabólitos antifúngicos, muitas vezes, são produzidos por microrganismos que sobrevivem no solo, principalmente fungos, bactérias e actinomicetos, e exercem um grande papel no antagonismo entre microrganismos. Dentre os fungos que possuem informação genética para a produção de substâncias inibidoras, antibióticas ou não, destaca-se o gênero *Trichoderma*. (Melo, 1991).

Neste trabalho, avaliou o potencial antagônico de isolados de *Trichoderma* sp. [*Trichoderma harzianum* (CEN151), *Trichoderma harzianum* (CEN 129), - *Trichoderma, saparellum* (CEN 162), *Trichoderma pseudokoningii* (CEN 209) -- *Trichoderma harzianum* (CEN 223) - *Trichoderma harzianum* (CEN 240) - *Trichoderma longibrachiatum* (CEN 280), *Trichoderma* sp. (CEN 523)- *Trichoderma asperellum* (CEN 201) - *Trichoderma harzianum* (CEN 251), - *Trichoderma* sp. (CEN 524) - *Trichoderma harzianum* (CEN 262), pertencentes à Coleção de Fungos para Controle Biológico de Fitopatógenos e Plantas Daninhas Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, com atenção à produção de metabólitos termoestáveis (MT), não termoestáveis (MNT) e voláteis (MV) e seus efeitos na inibição da esporulação de *Fusarium oxysporum*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para estudar o efeito antagônico dos isolados de *Trichoderma* spp. sobre crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* (CEN 545), utilizou-se a técnica de cultivo pareado em placa de petri contendo BDA (Dennis & Webster, 1971). Para isso, disco de 5 mm de diâmetro, contendo meio e micelio de *F. oxysporum*, foi repicado a 1 cm de uma das bordas da placa de Petri contendo BDA, quatro dias após, disco de 5 mm de diâmetro, contendo meio e colônia do isolado de *Trichoderma*, foi colocado no lado oposto onde fora repicado os discos de *F. oxysporum*. As culturas foram acondicionadas em câmara de crescimento do tipo B.O.D., à temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas, durante sete dias, foram estabelecidas quatro repetições.

Para as avaliações, foram atribuídas notas de acordo com estabelecida por Bell et al. (1982):

Nota 1 – Sobreposição de *Trichoderma*, que colonizou toda a superfície do meio e reduziu a colônia do patógeno.

Nota 2 – Sobreposição de *Trichoderma*, que colonizou pelo menos 2/3 da superfície do meio.

Nota 3 – *Trichoderma* e patógeno colonizaram mais que 1/3 e menos que 2/3 da superfície do meio.

Nota 4 – Patógeno colonizou ao menos 2/3 da superfície do meio e resistiu a invasão por *Trichoderma*.

Nota 5 – Sobreposição do patógeno que colonizou toda a superfície do meio.

## 1. Avaliação dos metabólitos produzidos por *Trichoderma* sobre *Fusarium oxysporum*.

Nos ensaios MT e MNT foram utilizadas as técnicas de Ezziyyani (2004), modificando-se a rotação e os dias de incubação, sendo assim, os isolados foram cultivados em meio líquido (batata-dextrose) sob agitação a 150 rpm à 25°C, no escuro. Após 10 dias, a parte líquida foi filtrada. Para o experimento MT, o filtrado foi adicionado ao meio BDA na proporção de 25% (v/v), antes da autoclavagem, seguindo a técnica utilizada por Kupper (2003). Para o MNT, o filtrado foi esterilizado em membrana milipore 0,45 µm e adicionado ao meio BDA autoclavado, na proporção de 25% (v/v). Em ambos os casos, o meio foi distribuído em placa de Petri e inoculado com disco (5mm de diâmetro) do patógeno. No ensaio MV, discos de cultura (5 mm) do patógeno e do antagonista foram inoculados em meio BDA e incubados por 12 horas, sendo então as placas sobrepostas, as de *F. oxysporum* sobre as de *Trichoderma* spp. Avaliou-se o número de esporos produzidos por *F. oxysporum* após nove dias, Colocando-se 10 ml de água destilada na placa contendo as amostras e retirando-se uma gota com o auxílio de um conta gotas e aplicando na câmara de Neubauer. A quantificação do inóculo foi realizada pela técnica de contagem direta em microscópio óptico. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente ao acaso com quatro repetições e uma placa por repetição, em arranjo simples com 10 isolados de *Trichoderma* mais controle e arranjo fatorial 11 x 2, sendo 10 isolados de *Trichoderma* mais controle e 2 metabólitos (estável e termo-estável),

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os isolados de *Trichoderma* spp. provocaram forte inibição no crescimento micelial do fitopatógeno. Os isolados CEN 109, CEN 162, CEN 201, CEN 251, CEN 262, CEN 280, apresentaram excelente ação antagônica, pois foram capazes de esporular sobre toda superfície do meio e inibiram o crescimento micelial do fitopatógeno, obtendo nota 1, de acordo com a escala de classificação de Bell et al. (1982) (tabela 1). Já os isolados CEN 151, CEN 209, CEN 240 e CEN 523, colonizaram pelo menos 2/3 da superfície do meio, obtendo nota 2 (tabela 1). De acordo com Mello (1998) a ação de *Trichoderma* se dá pela associação ou não dos mecanismos de parasitismo, antibiose ou competição. Foi constatado um halo de coloração escura ao longo da linha de contato entre as colônias do antagonista e do patógeno, fato também presenciado por Bell et al. (1982) e Ethur (2001), utilizando isolados de *Trichoderma* spp. em confronto direto com *S. sclerotiorum*. Resultados satisfatórios também foram conseguidos por Corabi-Adell et. al. (2002) no controle de *Pythium aphanidermatum*, utilizando isolados de *Trichoderma*. Etebarian (2000) et al., utilizou linhagens de *T. harzianum* e *T. virens* na inibição do crescimento micelial de *Phytophthora erythroseptica*.

Tabela 1 – Classificação em conformidade com a escala de Bell et al. (1982).

<b>Isolado de Trichoderma</b>	<b>Nota (Bell et al. 1982)</b>
129- <i>Trichoderma harzianum</i>	<b>1</b>
151- <i>Trichoderma harzianum</i>	<b>2</b>
162- <i>Trichoderma saparellum</i>	<b>1</b>
201- <i>Trichoderma asperellum</i>	<b>1</b>
209- <i>Trichoderma pseudokoningi</i>	<b>2</b>
240- <i>Trichoderma harzianum</i>	<b>2</b>
251- <i>Trichoderma harzianum</i>	<b>1</b>
262- <i>Trichoderma harzianum</i>	<b>1</b>
280- <i>Trichoderma longibrachiatum</i>	<b>1</b>
523- <i>Trichoderma harzianum</i>	<b>2</b>

### **1. Efeito de metabólitos produzidos por *Trichoderma* na inibição de esporulação de *Fusarium oxysporum*.**

Nos testes de metabólitos produzido por *Trichoderma* sobre a esporulação de *Fusarium oxysporum*, observa-se na tabela 2, 3 e 4 anexo 3 que houve interação significativa entre os tratamentos MV, MNT e MT.

O uso de MT apresentou melhores resultados em relação aos MNT, apresentando diferenças significativas entre os tratamentos (tabela 2).

Todos os isolados foram capazes de inibir a esporulação do patógeno em todos os testes demonstrando, assim, que a produção de metabólitos tanto MT, MNT e MV foram prejudiciais ao desenvolvimento do *F. oxysporum*.( figura 1, 2 e 3). Segundo Melo (1998) muitas espécies de *Trichoderma* já estudadas possuem a capacidade de produzir metabólitos tóxicos, tais como antibióticos e enzimas líticas capazes de inibir propágulos de fungos fitopatogênicos. A produção de metabólitos por *Trichoderma* foi evidenciada em trabalhos de Bell et al. (1982), Reis et al. (1995) e Aparecido & Figueiredo (1999).

Quando o patógeno foi exposto aos compostos voláteis produzidos pelos isolados de *Trichoderma* testados sua esporulação foi inibida por todos os isolados (Figura 1).

A natureza volátil de certos antibióticos, como as pironas, produzidas por *Trichoderma harzianum* confere uma vantagem distinta sobre inibidores não voláteis, já que sua ação pode atingir microrganismos fisicamente distantes dos sítios de produção. (Claydon et al., 1987).

Tabela 2 – Esporulação de colônias de *Fusarium oxysporum* desenvolvidas em meio contendo filtrados de colônias contendo metabólitos produzidos por isolados de *Trichoderma*.

Tratamentos	Número médio de contagem de esporos
Termoestáveis	7,02 x 10 <sup>5</sup> /ml a
Não termoestáveis	12,05 x 10 <sup>5</sup> /ml b
Controle	19,5 x 10 <sup>5</sup> /ml c

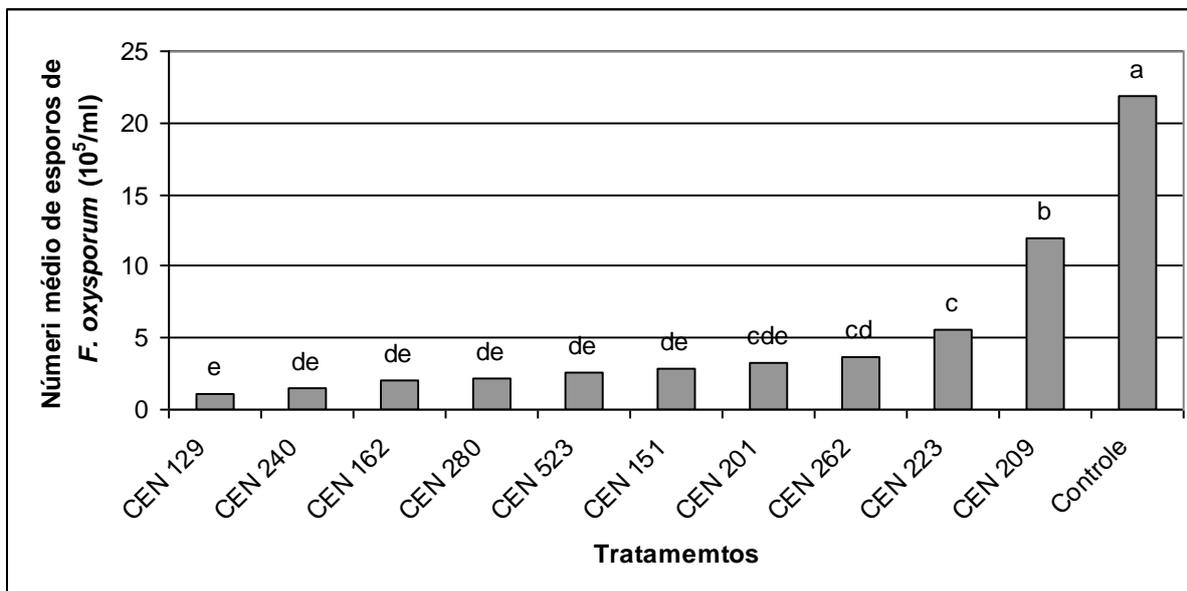


Figura 1 – Esporulação de culturas de *Fusarium oxysporum* expostas a metabólitos voláteis de isolados de *Trichoderma*. (CV 18.66)

Nos ensaios MNT todos os isolados foram capazes de inibir esporulação de *F. oxysporum*. Os isolados CEN 162 e CEN 201 foram os que mais se destacaram na inibição da esporulação do patógeno, Mello et. al. (2007) descreve alternâncias de inibição micelial em metabólitos não voláteis de *Trichoderma* contra *Sclerotium rolfsii*.

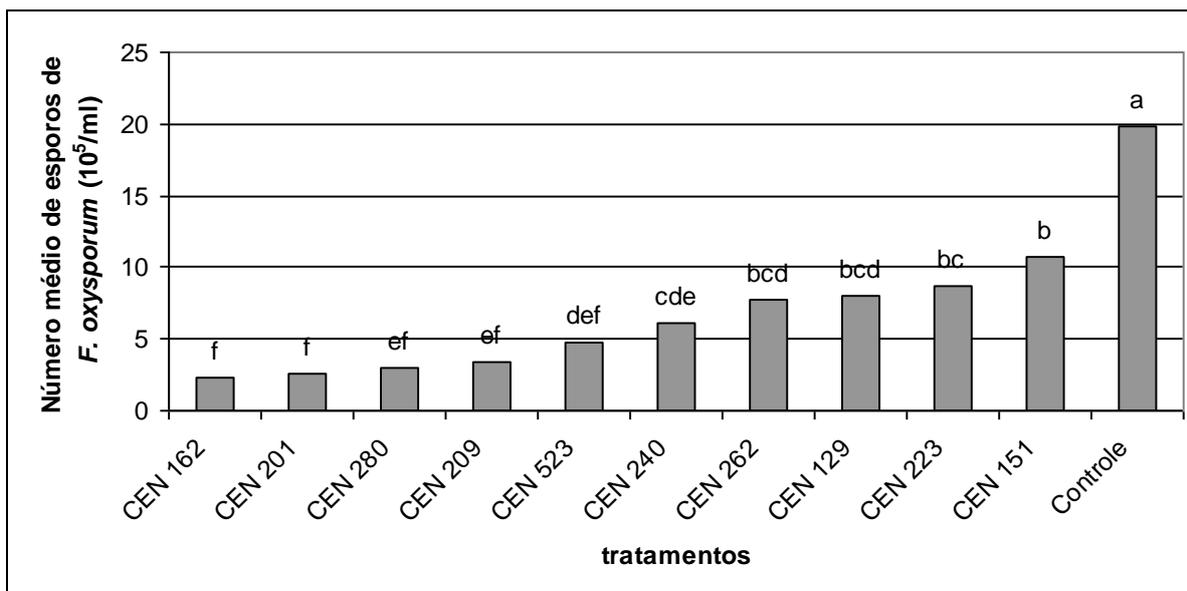


Figura 2 – Efeito de metabólitos não termoestáveis produzidos por *Trichoderma* spp. na esporulação de *Fusarium oxysporum* (CV 18.8).

Nos ensaios MT todos os isolados apresentaram bons resultados, sendo que CEN 151 e CEN 162 obtiveram os melhores desempenhos em relação aos demais, esses por sua vez não apresentaram sob o ponto de vista estatístico, diferenças significativas entre si.

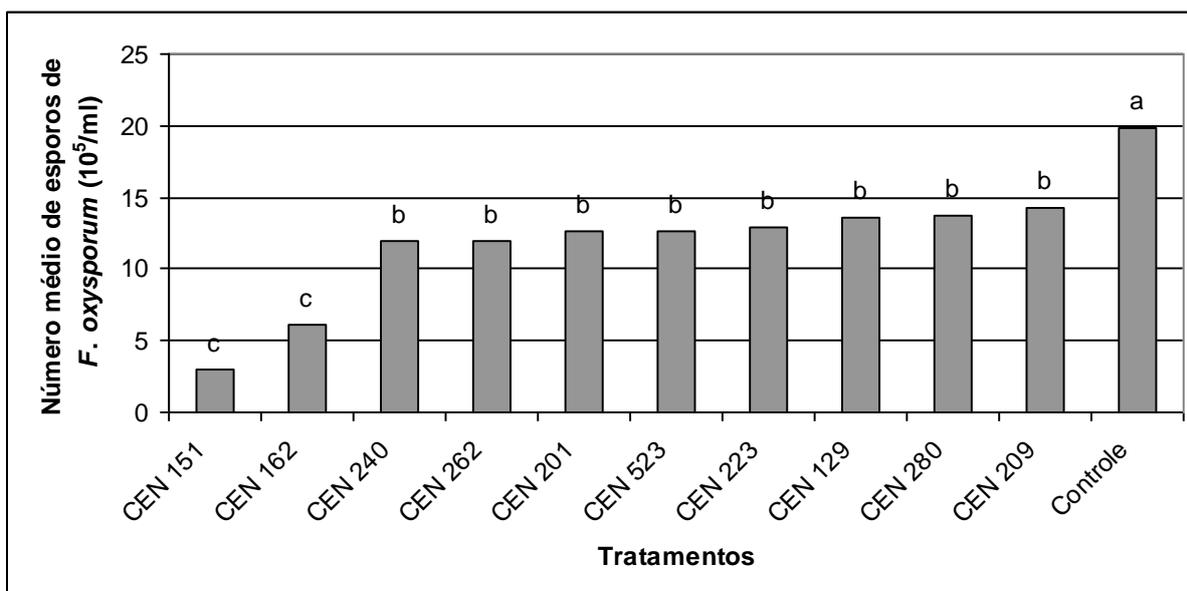


Figura 3 – Efeito de metabólitos termoestáveis produzidos por *Trichoderma* spp. na esporulação de *Fusarium oxysporum*. (CV 13.0)

Comparando-se os testes MNT e MT observa-se que o patógeno quando submetido aos tratamentos com metabólitos autoclavados (MNT) de qualquer um dos isolados de *Trichoderma*, exceto o CEN 151, apresentou menor esporulação, (Tabela 3). Gomes et. al., (2001) obteve diferentes resultados na inibição de *Cylindrocladium spathulatum*, sendo que os metabólitos não voláteis não inibiram e até estimularam o crescimento do patógeno, enquanto os metabólitos voláteis foram capazes de inibir o crescimento micelial do patógeno. Ao contrario de Melo e Faull (2000) que em seus trabalhos observaram que metabólitos não voláteis de *Trichoderma koningii* foram eficientes no controle do desenvolvimento micelial de *Rhizoctonia solani in vitro*.

Os Metabólitos voláteis produzidos pelos isolados testados mostraram eficiência na inibição da esporulação de *F. oxysporum*, resultado semelhante com a utilização de metabólitos voláteis foi conseguido por Ethur et al (2001), no entanto, utilizando a técnica de papel celofane obtendo inibição de crescimento de *S. sclerotiorum*.

Metabolitos secundários pode ser mais importante na inibição de outros organismos do que a competição por nutrientes (Claydon et al.,1987). Os resultados *in vitro* obtidos nesses quatro experimentos demonstraram que todos isolados de *Trichoderma* foram capazes de inibir em graus variados o crescimento micelial dos patógenos. O isolado de *Trichoderma* CEN 162 demonstrou maior capacidade de controle de esporulação do isolados de *F. oxysporum* (CEN 545). nos experimentos de MT e MNT, apresentando também bom desempenho no cultivo pareado.

Fungos do gênero *Trichoderma* apresentam grande potencial no controle da Fusariose. Conhecer os mecanismos de ação, que devem ser determinados para cada isolado, é fundamental para implementação de programas de controle

biológico. Neste aspecto, testes de produção de metabólitos são úteis, pois permitem inferir sobre esses mecanismos. As avaliações de potencial de uso, no entanto, devem ser conduzidas em condições reais de agricultura.

Tabela 3 – Comparação entre metabólitos não termoestáveis (MNT) e metabólitos termoestáveis (MT) de todos os isolados.

	Cen 129	Cen 151	Cen 162	Cen 201	Cen 209	Cen 223	Cen 240	Cen 262	Cen 280	Cen 523
MNT	8,2 b	10,79a	2,37 a	2,6 b	3,45 b	8,72 b	6,05 b	7,7 b	3,05 a	4,7 b
MT	13,65a	3,02 b	6,17 b	12,57a	14,25a	12,92a	11,92a	11,99a	13,67b	12,65a

## CONCLUSÕES

Todos os isolados no ensaio de cultivo pareado foram capazes de inibir o crescimento micelial do patógeno. O mesmo resultado foi demonstrado quando este foi exposto a metabólitos voláteis e não voláteis produzidos pelos mesmos isolados de *Trichoderma*.

Os isolados testados foram promissores para teste de controle biológico *in vivo* para controle de *F. oxysporum*.

## BIBLIOGRAFIA

APARECIDO, C. C., FIGUEIREDO, M.B. Antagonismo de *Trichoderma viride* a diferentes fungos fitopatogênicos. In: CONGRESSO PAULISTA DE FIPATOLOGIA, 22, 1999, Jaboticabal, SP. **Anais**. Jaboticabal: Grupo Paulista de Fitopatologia, 1999.

BELL, D. K., WELLS, H. D., MARKHAM, C. R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, v.7, n.4, p.379-382, 1982.

CLAYDON, N.; ALLAN, M.; HANSON, J.R. et al. Antifungal alkyl - pyrones produced by *Trichoderma harzianum*. **Transactions of the British Mycological Society**, v.88, pt.4, p.503 -513, 1987.

Corabi-Adell, C.; Lucon, C. M. M & Koike, C.M. Biodiversidade do gênero *Trichoderma* no estado de São Paulo – aspectos enzimáticos e potencial biocontrolador. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, p. 158-191. 2002.

DENNIS, C. & WEBSTER J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*, III Hyphal interactions. **Transactions British Mycological Society**, v. 57, p. 363-369, 1971.

ETEBARIAN, H. R.; SCOTT, E. S. & WICKS, T. J. *Trichoderma harzianum* T39 and *T. virens* DAR 74290 as potential biological control agents for *Phytophthora erythroseptica*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 106, p. 329–337. 2000.

ETHUR L. Z., CEMBRANEL C. Z. & SILVA A. C. F. Seleção de *Trichoderma* spp. Visando o controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, *in vitro*. **Ciência Rural**, Santa Maria. v31, n.5, p.885-887, 2001.

- EZZIYYANI, M., SÁNCHEZ, C. P., AHMED A. S., REQUENA M. E. & CANDELA M. E. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.); **Anales de Biología**, v.26, p.35-45, 2004.
- HORST, R. K.; NELSON, P. E. **Compendium of chrysanthemum disease**. St.Paul: APS Press. 62 p. 1997.
- KUPPER K. C.; GIMENES-FERNANDES N.; GÓES A. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia. Brasileira**,v.28, n.3, 2003.
- LIMA, A. A.; CARDOSO, C. E. L. **Mercado e comercialização do maracujazeiro-azedo**. Cruz das Almas: Centro Nacional de Pesquisa da Mandioca e Fruti- cultura- EMBRAPA, . 2p. 1999. (Maracujá em foco, 3).
- MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. Cap. 1. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L.de. **Controle biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998.
- MELO, I.S. de. 1998. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL,W. (org.) **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna : EMBRAPA-CNPDA, 1991. Cap. 9. 388p. (EMBRAPA-CNPDA. Documentos,15).
- MELO, I. S. & FAULL, J. L. Parasitismo f *Rhizoctonia solani* by strains of *Trichoderma* spp. **Scientia Agrícola**, v. 57, p. 55 – 59. 2000.
- MELLO, S.C.M.; ÁVILA, Z.R.; BRAÚNA, L.M.; PÁDUA, R.R. & GOMES, D. Cepas de *Trichoderma* spp., para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* SACC. **Fitosanidade**, v. 11, p. 3-9. 2007.

PIO-RIBEIRO, G.; MARIANO, R.L.R. Doenças do maracujazeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J.A.M. (Ed.).

**Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas.** 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres. v. 2, p. 525-534, 1997.

RUGGIERO, C.; SÃO JOSÉ, A. R.; VOLPE, C.A.; OLIVEIRA, J. C.; DURIGAN, J. F.; BAUMGARTNER, J. G.; SILVA, J. R.; NAKAMURA, K.; FERREIRA, M. E.; KAVATI, R.; PEREIRA, V. P. **Maracujá para exportação: aspecto técnico da produção.** Brasília: Serviço de Produção de Informação- EMBRAPA, 64 p,1996.. (FRUPEX-Publicações Técnicas).

REIS, A., OLIVEIRA, S. M. A. de, MENEZES, M. *et al.* Potencial de isolados de *Trichoderma* para biocontrole da murcha de *Fusarium* do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.21, n.1, p.16-20, 1995.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A validação do uso de isolados de *Trichoderma* na agricultura como agentes benéficos às plantas deve ser realizada por meio de experimentos de campo. Seus mecanismos de ação básicos vêm sendo elucidados e as metodologias para determiná-los em cada situação encontram-se em desenvolvimento. A diversidade de ação desse fungo como biofungicida, promotor de crescimento e indutor de resistência poderá adquirir grande significado, pela redução da quantidade de agroquímicos durante o ciclo de cultivo e, conseqüentemente, dos impactos ambientais.

O controle biológico não deve ser tratado com uma tecnologia individualizada. Ele deve ser associado a outras tecnologias disponíveis, como a Integração Lavoura-Pecuária e manejo cultural, na busca de uma agricultura amigável com o meio ambiente e que, ao mesmo tempo, possibilite ganhos em produção e renda ao agricultor. O aproveitamento adequado dos recursos naturais contribui para redução da emissão de gases na atmosfera, constituindo assim, uma arma importante contra o aquecimento global. Embora o uso de *Trichoderma*, e outros agentes de biocontrole, esteja em sintonia com os princípios da agricultura sustentável, regida por lei, são necessários ainda investimentos em pesquisa e difusão de informação, para que essas tecnologias tornem-se realidade.

## Anexo 1

Tabela 1 – Resultado da análise de variância da medida de matéria seca.

Causas da variação	GL	SQ	QM	valor de F	Prob> F
Tratamento	5	91.7241671	18.3448334	3.3260	0.01522
Hormônio	1	22.6874974	22.6874974	4.1134	0.04800
Tra* Hor	5	63.9449995	12.7889999	2.3187	0.06489
Blocos	3	18.3283346	6.1094449	1.1077	0.36040
Resíduo	33	182.0116659	5.5155050		
<b>Total</b>	<b>47</b>	<b>378.6966645</b>			

Média geral = 5.158333  
 Coeficiente de variação = 45.528 %

Tabela 2 – Resultado da análise de variância da medida de matéria fresca.

Causas da variação	GL	SQ	QM	valor de F	Prob> F
Tra	5	2261.2847222	452.2569444	0.4986	0.77871
Hor	1	525.1736111	525.1736111	0.5789	0.54514
Epo	2	2977.4305556	1488.7152778	1.6411	0.19687
Tra*Hor	5	16011.2847222	3202.2569444	3.5301	0.00572
Tra*Epo	10	13480.9027778	1348.0902778	1.4861	0.15443
Hor*Epo	2	789.9305556	394.9652778	0.4354	0.65399
<b>Total</b>	<b>143</b>	<b>141766.4930556</b>			

Média geral = 64.756943  
 Coeficiente de variação = 46.510 %

Tabela 2 – Resultado da análise de variância da medida de quantidade de estacas enraizadas

Causas da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
Trat	5	2261.2847222	452.2569444	0.4986	0.77871
Hor	1	525.1736111	525.1736111	0.5789	0.54514
Epo	2	2977.4305556	1488.7152778	1.6411	0.19687
Trat*Hor	5	16011.2847222	3202.2569444	3.5301	0.00572
Trat*Epo	10	13480.9027778	1348.0902778	1.4861	0.15443
Hor*Epo	2	789.9305556	394.9652778	0.4354	0.65399
Tra*Hor*Epo	10	7439.2361111	743.9236111	0.8201	0.61099
Bloc	3	3033.8541667	1011.2847222	1.1148	0.34672
Res	105	95247.3958333	907.1180556		
<b>Total</b>	<b>143</b>	<b>141766.4930556</b>			

Média geral = 64.756943  
 Coeficiente de variação = 46.510 %

## Anexo 2

Tabela 1 – Análise de variância de peso da matéria seca da parte aérea das culturas de feijão, milho e soja provenientes de sementes microbiolizadas com *Trichoderma*.

Causas da variação	GL	SQ	QM	valor de F	Prob> F
Tra	10	600.9540928	60.0954093	25.8658	0.00001
Cul	2	1324.0165868	662.0082934	284.9362	0.00001
Tra*Cul	20	548.2918001	27.4145900	11.7996	0.00001
Res	99	230.0123013	2.3233566		
<hr/>					
Total	131	2703.2747810			
Média geral		=13.429545			
Coeficiente de variação		=11.350 %			

Tabela 2 – Análise de variância de peso da matéria seca de raízes de feijão, milho e soja provenientes de sementes microbiolizadas com *Trichoderma*.

Causas da variação	GL	SQ	QM	valor de F	Prob> F
Tra	10	489.2698790	48.9269879	19.2333	0.00001
Cul	2	445.9412091	222.9706046	87.6504	0.00001
Tra*Cul	20	405.4237731	20.2711887	7.9687	0.00001
Res	99	251.8423610	2.5438622		
<hr/>					
Total	131	1592.4772222			
Média geral		= 10.209848			
Coeficiente de variação		= 15.622 %			

Tabela 3 – Análise de variância de peso da matéria seca de parte aérea de feijão, plantado em campo proveniente de sementes microbiolizadas com *Trichoderma*.

Causas da variação	GL	SQ	QM	valor de F	Prob> F
Tra	10	27559.80	2755.98	4.97	0.00046
Blo	3	1390.91	63.63	0.8377	0.51355
Res	30	6604.88	553.49		
<hr/>					
Total	43	45555.60			
Média geral		=125.599998			
Coeficiente de variação		= 18.731 %			

Tabela 4 – Análise de variância de peso da matéria seca de parte aérea de feijão, plantado em campo proveniente de sementes microbiolizadas com *Trichoderma*.

Causas da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
Tra	10	124.54	12.45	4.86	0.00054
Blo	3	1.03	0.344	0.13	0.93797
Res	30	76.80	2.56		
Total	43	202.37			
Média geral		=12.48			
Coeficiente de variação		= 12.817 %			

Tabela 5 – Análise de variância do número de vagem produzido por plantas de feijão plantados em campo provenientes de sementes microbiolizadas com *Trichoderma* spp.

Causas da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
Tra	10	16775.40	1677.54	7.23	0.00005
Blo	3	518.54	172.84	0.74	0.53642
Res	30	6958.95	231.96		
Total	43	24252.90			
Média geral		=82.45			
Coeficiente de variação		=18.471 %			

### Anexo 3

Tabela 1 – Análise de variância do efeito de metabólitos voláteis produzidos por *Trichoderma* na inibição de esporulação de *Fusarium oxysporum*.

Causas da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tra	10	1572.56	157.25	159.05 **
Res	33	32.62	9887	
Total	43	1605.19		
Média geral		= 5.3295		
Coeficiente de variação		=18.66		

Tabela 2 – Análise de variância do efeito de metabólitos não termoestáveis produzidos por *Trichoderma* na inibição de esporulação de *Fusarium oxysporum*.

Causas da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
Tra	10	1031.74	103.17	58.5892	0.00001
Res	33	58.11	1.76		
TOTAL	43	1089.86			
Média geral		= 7.025000			
Coeficiente de variação		= 18.890 %			

Tabela 3 – Análise de variância do efeito de metabólitos termoestáveis produzidos por *Trichoderma* na inibição de esporulação de *Fusarium oxysporum*.

Causas da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
Tra	10	749.95	74.99	30.4726	0.00001
Res	33	81.21	2.46		
Total	43	831.16			
Média geral		= 12.05			
Coeficiente de variação		= 13.009 %			