

***Trichoderma* spp NO BIOCONTROLE DE *Cylindrocladium candelabrum* EM MUDAS DE *Eucalyptus saligna*¹**

Caciara Gonzatto Maciel², Marília Lazarotto³, Ricardo Mezzomo³, Igor Poletto⁴, Marlove Fátima Brião Muniz⁵ e Diogo Belmonte Lippert³

RESUMO – Este trabalho teve como objetivo testar os efeitos *in vitro* e *in vivo* de bioprotetores à base de *Trichoderma* spp. no controle do fungo *Cylindrocladium candelabrum* Viegas. Os testes *in vitro* (confronto direto e inoculação em folhas destacadas) foram compostos pelos seguintes tratamentos: T₁ - somente *C. candelabrum*; T₂ - isolado 06006S x *C. candelabrum*; T₃ - isolado 53RR x *C. candelabrum*; T₄ - isolado 5D x *C. candelabrum*; T₅ - Agrotrich® x *C. candelabrum*; e T₆ - Trichodel® x *C. candelabrum*. Todos os tratamentos foram eficientes inibindo o crescimento do fungo *C. candelabrum* em confrontação direta, e os isolados de *Trichoderma* spp. 53RR e 06006S, bem como o produto comercial Trichodel®, controlaram a mancha-foliar em folhas destacadas. Para complementar os testes *in vitro*, os produtos comerciais Agrotrich® e Trichodel® foram testados em mudas de *E. saligna* cultivadas em casa de vegetação, com os seguintes tratamentos: T₁ - Testemunha: sem inoculação; T₂ - inoculação de *C. candelabrum*; T₃ - inoculação de *C. candelabrum* x Agrotrich®; T₄ - inoculação de *C. candelabrum* x Trichodel®; T₅ - somente Agrotrich®; e T₆ - somente Trichodel®. Este produto apresentou os melhores resultados na redução dos danos causados pelo patógeno em mudas de *E. saligna*.

Palavras-chave: Bioprotetores, Fungo e Mancha-foliar.

CONTROL OF Cylindrocladium candelabrum BY Trichoderma spp IN Eucalyptus saligna SEEDLINGS

ABSTRACT – This study tested the effects of commercial biocontrol products on *in vitro* and *in vivo* trials against the fungal pathogen *Cylindrocladium candelabrum* Viegas, leaf blight agent on *Eucalyptus saligna*. The *in vitro* tests (direct confrontation and inoculation on detached leaves of *E. saligna*) were composed by the following treatments: T₁ – only *C. candelabrum*, T₂ – 06006S isolate x *C. candelabrum*, T₃ – 53RR isolate x *C. candelabrum*, T₄ – 5D isolate x *C. candelabrum*; T₅ - Agrotrich® x *C. candelabrum* and T₆ - Trichodel® x *C. candelabrum*. All isolates were efficient in controlling the growth of the pathogen during the direct confrontation test; similarly, *Trichoderma* spp. 53RR and 06006S, as well as the commercial product Trichodel®, controlled the symptoms on the detached leaves. In order to complement the *in vitro* tests, the commercial products Agrotrich® and Trichodel® were tested on *E. saligna* seedlings cultivated in greenhouse. The following treatments were applied: T₁ - control – plants without inoculation; T₂ – plants inoculated with *C. candelabrum*; T₃ – plants inoculated with *C. candelabrum* x Agrotrich®; T₄ – plants inoculated with *C. candelabrum* x Trichodel®; T₅ - plants inoculated with Agrotrich® and T₆ – plants inoculated with Trichodel®. Trichodel® reduced *C. candelabrum* damage on *E. saligna* seedlings.

Keywords: Bioprotectors, Fungus and Leaf spot.

¹ Recebido em 30.08.2011 aceito para publicação em 04.06.2012.

² Mestrado na Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Defesa Fitossanitária, UFSM. E-mail: <caciaraconzatto@gmail.com>.

³ Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal pela Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Defesa Fitossanitária, UFSM. E-mail: <lilalazarotto@yahoo.com.br>, <ricadom@gmail.com> e <diogo_b_lippert@hotmail.com>.

⁴ Universidade Federal do Pampa. E-mail: <igorpoletto@yahoo.com.br>.

⁵ Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Defesa Fitossanitária, UFSM. E-mail: <marlovemuniz@yahoo.com.br>.

1. INTRODUÇÃO

A clonagem por miniestquia vem sendo adotada na maioria das empresas do setor florestal. Embora essa técnica seja muito eficiente, durante a fase de enraizamento das miniestacas ocorre a incidência de patógenos devido às condições ambientais propícias. Segundo Ferreira (2006), as miniestacas são mantidas em condições de elevada umidade e temperatura amena durante 20 a 25 dias na casa de enraizamento. Nessas condições é comum a ocorrência de fungos fitopatogênicos como *Botrytis cinerea* Pers., *Cylindrocladium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Pestalotiopsis* sp. e *Hainesia* sp.

Entre as muitas espécies de *Cylindrocladium* que frequentemente causam doenças em viveiros no Brasil, *C. candelabrum* apresenta alta ocorrência. Esse fungo é um dos principais responsáveis por doenças em mudas de eucalipto, como podridão-de-estacas, “damping-off” e manchas-foliaves (ALFENAS et al., 2004).

A mancha-foliar em mudas de eucalipto, causada por *Cylindrocladium*, ocasiona necrose nas folhas, afetando o desenvolvimento da plântula. Dessa maneira, torna-a incapaz de resistir às condições de campo. Essas lesões são caracterizadas como manchas acinzentadas, circulares a alongadas, individuais e pequenas (1 a 7 mm de diâmetro) (FERREIRA et al., 1992). Em estágios avançados, verificou-se a presença de micélio cottonoso (CARVALHO FILHO, 2008).

O uso de antagonistas biológicos como *Trichoderma* spp. tem apresentado bons resultados no controle de fitopatógenos. Para Chet et al. (1997), o sucesso no uso de espécies de *Trichoderma* se deve à sua alta capacidade reprodutiva, habilidade de sobreviver em condições desfavoráveis, eficiência na mobilização e na absorção de nutrientes, eficácia como promotor de enraizamento de plântulas e agressividade contra fungos patogênicos. Quanto à ação benéfica de *Trichoderma* spp. em manchas-foliaves, pode-se citar o controle de *Pythium* sp. (NASEBY et al., 2000) e de *Cylindrocladium spathulatum* em erva-mate (GOMES et al., 2001).

Bioprotetores comerciais à base de *Trichoderma* spp. estão sendo utilizados em larga escala, entre eles o Agrotich® e o Trichodel®. O primeiro é um agente biológico que se apresenta como um pó, que pode ser aplicado via substrato, semente, adubo ou via solo. Já o Trichodel® se apresenta na forma líquida e deve ser incorporado ao substrato utilizado.

Testes complementares em laboratório, como confronto direto e avaliação de severidade em folhas destacadas, são de grande importância para a seleção de isolados de *Trichoderma* spp. ativos no controle de fungos fitopatogênicos. Carvalho Filho (2008) encontrou cinco isolados de *Trichoderma* spp. compatíveis com o controle de *C. scoparium* quando testados no cultivo pareado e na supressão da mancha em folhas destacadas de *Eucalyptus urophylla*.

Diante do exposto, este trabalho teve por objetivos testar a eficiência *in vitro* de bioprotetores comerciais e isolados de *Trichoderma* spp. com potencial antagonista ao fungo *C. candelabrum* e avaliar a capacidade de ação *in vivo* dos bioprotetores comerciais no controle de *C. candelabrum* em mudas de *Eucalyptus saligna*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos *in vitro* foram realizados no Laboratório de Fitopatologia do Departamento de Defesa Fitossanitária, no Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), em Santa Maria, RS. A parte *in vivo* dos trabalhos foi realizada na Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO – Florestas), localizada em Santa Maria, RS.

2.1. Isolados de *Trichoderma* spp. e *Cylindrocladium candelabrum*

O isolado de *Cylindrocladium candelabrum* foi fornecido pelo Laboratório de Patologia Florestal e Genética da Interação Planta-Patógeno da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG.

Utilizaram-se três isolados (06006S, 53RR e 5D) de *Trichoderma* spp. disponíveis no banco de isolados do Laboratório de Fitopatologia da UFSM. Eles foram obtidos de diluições de solo rizosférico de plantas de soja com sintomas de podridão-vermelha-da-raiz (PVR) e dois produtos comerciais, Agrotich® e Trichodel®.

2.2. *In vitro*: avaliação da ação antagonista de *Trichoderma* spp. sobre *Cylindrocladium candelabrum* em confronto direto

Neste estudo foram realizados testes de confronto direto com os seguintes tratamentos: T₁ - somente *C. candelabrum*; T₂ - isolado 06006S x *C. candelabrum*; T₃ - isolado 53RR x *C. candelabrum*; T₄ - isolado 5D x *C. candelabrum*; T₅ - Agrotich® x *C. candelabrum*; e T₆ - Trichodel® x *C. candelabrum*. Cada tratamento foi realizado com quatro repetições.

Inicialmente, fez-se a multiplicação do patógeno e dos isolados de *Trichoderma* spp. em placas de Petri contendo meio BDA (batata-dextrose-ágar), incubadas a 25 °C e com fotoperíodo de 12 h, durante sete dias.

Um disco de 5 mm de diâmetro da cultura pura do patógeno foi retirado do centro da placa e transferido para uma placa contendo apenas BDA. Após 48 h, um disco do isolado de *Trichoderma* spp. de mesmo diâmetro, retirado do centro da placa crescida com cultura pura do antagonista, foi posicionado no lado oposto ao patógeno. As placas foram mantidas em incubadora a 25 °C e com fotoperíodo de 12 h, por sete dias.

A avaliação foi baseada na escala de Bell et al. (1982), que apresenta variação de notas de 1 a 5. A nota 1 é atribuída quando o antagonista ocupa completamente a placa, suprimindo o patógeno; nota 2, o antagonista invade no mínimo 2/3 da superfície do meio; nota 3, a metade da placa é colonizada pelo antagonista e, a outra metade, pelo patógeno; nota 4, quando o patógeno coloniza no mínimo 2/3 da superfície da placa; e nota 5, quando o patógeno ocupa toda a placa, suprimindo o antagonista.

2.3. *In vitro*: avaliação da supressão da mancha-foliar de *Cylindrocladium candelabrum* por *Trichoderma* spp. em folhas destacadas de *Eucalyptus saligna*

O experimento dividiu-se em seis tratamentos: T₁ - somente *C. candelabrum* (testemunha); T₂ - isolado 06006S x *C. candelabrum*; T₃ - isolado 53RR x *C. candelabrum*; T₄ - isolado 5D x *C. candelabrum*; T₅ - Agrot rich® x *C. candelabrum*; e T₆ - Trichodel® x *C. candelabrum*. Cada tratamento foi realizado com duas repetições (caixas gerbox) contendo quatro folhas em cada caixa.

Para a produção da suspensão de *Trichoderma* spp., 50 g de grãos de arroz e 25 mL de água destilada foram colocados em erlenmeyers e esterilizados por duas vezes, com um intervalo de 24 h, em autoclave a 120 °C (1 atm) por 1 h. Em seguida, quatro discos de BDA de aproximadamente 12 mm de diâmetro, contendo micélio e, ou, esporos dos diferentes isolados, foram adicionados aos erlenmeyers e incubados a 25 °C e com fotoperíodo de 12 h. Após 20 dias de crescimento, o arroz com *Trichoderma* spp. foi retirado dos erlenmeyers, colocado em envelopes de papel e levado ao forno a 30 °C, por aproximadamente 72 h. Depois de secos, os grãos foram triturados em liquidificador

até se tornarem pó, fino e homogêneo. Para o preparo da suspensão, a cada grama de pó foi adicionado 1 mL de água destilada.

Para a obtenção da suspensão de esporos de *Cylindrocladium candelabrum*, adicionaram-se 20 ml de água destilada nas placas com a cultura fúngica (crescida por 10 dias em meio BDA), e raspou-se suavemente a superfície com um pincel. As contagens das concentrações de esporos dos isolados de *Trichoderma* spp. e do isolado de *C. candelabrum* foram realizadas em câmara de Neubauer e ajustadas para 7 x 10⁶ esporos.mL⁻¹ e 10⁵ esporos.mL⁻¹, respectivamente.

Para obtenção das suspensões de *Trichoderma* spp. a partir dos produtos comerciais Agrot rich® e Trichodel®, usaram-se 1 g do produto por 100 mL de água e 1 mL do produto por 100 mL de água, respectivamente.

As folhas usadas no experimento foram retiradas de mudas de *E. saligna* cultivadas no viveiro da Universidade Federal de Santa Maria. Foram utilizadas folhas jovens, medindo aproximadamente 6,5 cm (comprimento) e 2,3 cm (largura) e livres de doenças. Estas foram lavadas com água esterilizada e dispostas sobre papel-filtro umedecido em caixas gerbox.

As folhas destacadas foram inoculadas com as suspensões de *C. candelabrum* e *Trichoderma* spp., mediante pulverizações com o auxílio de um pulverizador manual, de acordo com a metodologia proposta por Ferreira (2006). Patógeno e antagonista foram inoculados sequencialmente. Em seguida, as caixas gerbox foram vedadas e mantidas na temperatura ambiente.

Após cinco dias de inoculação, foram atribuídas notas para cada grau de severidade nas folhas destacadas de acordo com a escala proposta por Poletto (2008) e apresentada na Tabela 1.

2.4. *In vivo*: ação de agentes de controle biológico no controle da mancha-foliar causada por *Cylindrocladium candelabrum* em mudas de *Eucalyptus saligna*

A partir dos resultados obtidos nos itens 2.2 e 2.3, testou-se o efeito *in vivo* dos produtos comerciais Agrot rich® e Trichodel® no controle da mancha-foliar de *C. candelabrum* em *E. saligna*. Ambos os produtos

registrados comercialmente apresentaram resultados promissores na supressão do fungo *C. candelabrum in vitro*.

Os tratamentos utilizados foram: T₁ - Testemunha, sem inoculação; T₂ - inoculação de *C. candelabrum*; T₃ - inoculação de *C. candelabrum* x Agrotich®; T₄ - inoculação de *C. candelabrum* x Trichodel®; T₅ - somente Agrotich®; e T₆ - somente Trichodel®. Cada tratamento foi constituído de quatro repetições com 25 mudas.

As mudas de *Eucalyptus saligna* utilizadas foram produzidas a partir de sementes que foram previamente desinfestadas em álcool (70%) por 5 seg e solução de hipoclorito de sódio (0,5%) por 30 seg e imediatamente lavadas com água destilada esterilizada. A semeadura foi realizada em tubetes suspensos mantidos em condições de viveiro nas instalações da FEPAGRO – Florestas. O substrato utilizado no experimento foi Argissolo Vermelho-Amarelo (STRECK et al., 2002) coletado no horizonte A (0-20 cm), peneirado (malha 0,5 cm) e seco à sombra. Os testes tiveram início quando as mudas, com quatro meses de idade, mediam aproximadamente 11 cm, com diâmetro de colo médio de 0,4 cm e com 11 folhas.

Os bioprotetores foram aplicados via substrato: 1g do produto.100 mL⁻¹ de água e 1 mL⁻¹ do produto.100 mL⁻¹ de água para Agrotich® e Trichodel®, respectivamente. Ambos os produtos foram injetados nos primeiros 10 cm de substrato, com o auxílio de uma seringa manual, 10 dias antes da inoculação do patógeno.

As mudas foram inoculadas com a suspensão de esporos de *C. candelabrum* (produzida de acordo com a metodologia descrita no Item 2.3), mediante

Tabela 1 – Notas atribuídas aos graus de severidade causada por *C. candelabrum* em miniestacas de *E. saligna*
Table 1 – Rates given to the degree of severity caused by *C. candelabrum* in cuttings of *E. saligna*.

Notas*	Grau de severidade (%)
0	Ausência de Sintoma
1	1 a 20
2	21 a 40
3	41 a 60
4	61 a 80
5	81 a 100

*Em caso de variação da nota para mais ou para menos, no decorrer da avaliação optou-se pela nota maior.

pulverizações (direcionadas preferencialmente para as folhas) com o auxílio de um pulverizador manual, de acordo com a metodologia proposta por Ferreira (2006).

Foram realizadas avaliações durante 60 dias, sendo a primeira aos 10 dias após a inoculação. Analisou-se, visualmente, o aparecimento de sintomas na parte aérea de cada muda. Foram atribuídas notas para cada grau de severidade, de acordo com escala proposta por Poletto (2008) e apresentada na Tabela 1.

Aos 60 dias foi contabilizado o número de folhas de cada muda e, com o auxílio de um paquímetro digital, foi determinada a altura da muda (cm). A massa verde das mudas foi determinada com o auxílio de uma balança analítica com precisão de 0,01 g. Para isso, as mudas foram retiradas do substrato e suas raízes, lavadas em água corrente e pesadas. Para a determinação da biomassa seca (g), as mudas foram acondicionadas em sacos de papel e levadas ao forno a uma temperatura de 70 °C até atingir massa constante.

2.5. Análise estatística

Realizou-se a análise de variância dos experimentos, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o software SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2010). Para análise dos resultados, os dados em porcentagem foram transformados em arcosseno da raiz quadrada ($x \cdot 100^{-1}$).

3. RESULTADOS

No teste de confrontação direta, os bioprotetores à base de *Trichoderma* spp. foram eficientes no controle do fungo *C. candelabrum* (Tabela 2). A relação antagonista de *Trichoderma* spp. sobre o patógeno recebeu notas que variaram de 1 a 2,25, correspondendo, respectivamente, à ocupação completa da placa pelo antagonista e antagonista ocupando no mínimo 2/3 da superfície do meio.

A utilização do teste em folhas destacadas complementou os resultados do teste *in vitro*, apresentado no item 2.3. Tanto os isolados de *Trichoderma* spp. quanto os compostos comerciais à base do antagonista foram eficientes na supressão da mancha-foliar em folhas destacadas, apresentando índices de severidade inferiores aos ocorridos na testemunha (Tabela 3).

Tabela 2 – Eficiência dos isolados de *Trichoderma* spp. sobre *Cylindrocladium candelabrum*, de acordo com a escala de Bell et al. (1982) e a capacidade de crescimento (cm) do patógeno.**Table 2** – Efficiency of *Trichoderma* spp. on *Cylindrocladium candelabrum*, according to the scale of Bell et al. (1982) and growth capacity (cm) of the pathogen.

Tratamentos	Nota escala de Bell et al. (1982)	Crescimento <i>C. candelabrum</i> (cm)
T ₁	5,25 c *	5,3 b*
T ₂	1,25 ab	3,5 a
T ₃	1,0 a	3,8 a
T ₄	2,25 b	3,43 a
T ₅	1,5 ab	3,7 a
T ₆	1,5 ab	3,3 a

Tabela 3 – Efeito de *Trichoderma* spp. na supressão da mancha foliar causada por *C. candelabrum* em folhas destacadas de *E. saligna*.**Table 3** – Effect of *Trichoderma* spp. in the suppression of leaf spot caused by *C. candelabrum* in detached leaves of *E. saligna*.

Tratamentos	Severidade média (%)
T ₁	73,4 a*
T ₂	8,0 b
T ₃	6,0 b
T ₄	45,0 ab
T ₅	40,0 ab
T ₆	19,0 b

Em que: T₁ - somente *C. candelabrum* (testemunha); T₂ - isolado 06006S x *C. candelabrum*; T₃ - isolado 53RR x *C. candelabrum*; T₄ - isolado 5D x *C. candelabrum*; T₅ - Agrotrich® x *C. candelabrum*; e T₆ - Trichodel® x *C. candelabrum*.

* Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância.

O isolado 53RR (T₃) foi o que apresentou menor índice de severidade (6%), seguido do 06006S (T₂, 8%) e do Trichodel® (T₆, 19%). Os tratamentos com o isolado 5D (T₄) e com o Agrotrich® (T₅) alcançaram graus de severidade de 45 e 40%, respectivamente, não diferindo estatisticamente da testemunha (T₁, 73%).

No teste *in vivo*, observou-se que os tratamentos que não foram inoculados com o patógeno (T₅ e T₆) não apresentaram qualquer sintoma da doença. Já nos tratamentos inoculados (T₂, T₃ e T₄) a severidade da doença ficou bem evidente (Tabela 4).

Aos 45 dias após a inoculação, T₂ (somente inoculação de *C. candelabrum*), seguido do T₃ (inoculação de *C. candelabrum* + Agrotrich®), foi o que apresentou maior severidade nos sintomas

Tabela 4 – Porcentagem de mancha foliar causada por *Cylindrocladium candelabrum* em mudas de *Eucalyptus saligna*.**Table 4** – Percentage of leaf spot caused by *Cylindrocladium candelabrum* in *Eucalyptus saligna* seedlings.

	Dias após a inoculação		
	10 dias	21 dias	45 dias
T ₁	0,0 a*	0,0 a	0,0 a
T ₂	15,72 c	25,72 c	67,35 c
T ₃	17,55 c	24,35 c	64,38 c
T ₄	10,2 b	18,5 b	32,9 b
T ₅	0,0 a	0,0 a	0,0 a
T ₆	0,0 a	0,0 a	0,0 a

T₁ - Testemunha - sem inoculação; T₂ - inoculação de *C. candelabrum*; T₃ - inoculação de *C. candelabrum* x Agrotrich®; T₄ - inoculação de *C. candelabrum* x Trichodel®; T₅ - somente Agrotrich®, e T₆ - somente Trichodel®.

* Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância.

(67,35% e 64,38%, respectivamente) (Tabela 4). As manchas-foliareiras eram de tamanhos irregulares e coloração roxa. Em estágios mais avançados, observou-se, no centro das lesões, o desenvolvimento de uma esporulação cristalina, característica do fungo.

O T₄ (inoculação de *C. candelabrum* + Trichodel®) foi o que apresentou menor porcentagem de área foliar atacada com a doença (32,9%), diferindo estatisticamente dos demais.

A Tabela 5 apresenta os resultados de altura da muda, número de folhas, massa verde e massa seca. O tratamento sem inoculação de *C. candelabrum* e com adição de Trichodel® (T₆) apresentou a massa verde (g) superior à dos demais, diferindo estatisticamente daqueles resultados.

Tabela 5 – Parâmetros avaliados em mudas de *Eucalyptus saligna* após diferentes tratamentos.
Table 5 – Parameters evaluated in seedlings of *Eucalyptus saligna* after different treatments.

Tratamentos	Parâmetros avaliados			
	Altura da muda (cm)	Número de folhas	Massa verde (g)	Massa seca (g)
T ₁	11,9 a *	10 ab	0,68 c	0,20 a
T ₂	10,45 a	10 ab	0,37 a	0,23 c
T ₃	11,01 a	9 a	0,47 b	0,21 ab
T ₄	10,70 a	10 ab	0,48 b	0,23 c
T ₅	11,82 a	12 b	0,36 a	0,22 bc
T ₆	12,32 a	11 b	0,96 d	0,26 d

T₁ - sem inoculação (testemunha); T₂ - somente inoculação de *C. candelabrum*; T₃ - inoculação de *C. candelabrum* x *Agrotrich*®; T₄ - inoculação de *C. candelabrum* x *Trichodel*®; T₅ - somente *Agrotrich*®; e T₆ - somente *Trichodel*®.
 *Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância.

4. DISCUSSÃO

As notas atribuídas no teste de confronto direto (1 a 2,5) foram classificadas por Ethur (2006), respectivamente, como muito eficiente e eficiente. A inibição do fungo *Cylindrocladium* spp. *in vitro* sob a ação do antagonista *Trichoderma* spp. foi testada por Santos et al. (2007). Esses autores concluíram que os isolados de *Trichoderma* spp., obtidos da rizosfera de goiabeira, apresentaram elevado potencial antagonista sobre *Cylindrocladium* spp.

Na Tabela 2, observa-se que o crescimento (cm) de *C. candelabrum*, quando confrontado com os bioprotetores, foi inferior estatisticamente ao crescimento da testemunha, em que não houve confronto. Em estudo realizado por Martins-Córder e Melo (1998) foram obtidos resultados semelhantes, no confronto *in vitro* de isolados selvagens de *Trichoderma* spp. com *Verticillium dahliae* (causador de murcha em *Solanum melongena* (berinjela)). Para esses autores, essa ação antagonista do *Trichoderma* spp. pode estar associada à sua capacidade de produzir metabólitos voláteis e não voláteis, que atuam interrompendo o crescimento micelial do patógeno.

Na literatura são encontrados trabalhos que relatam a eficiência do *Trichoderma* spp. como agente antagonista a fitopatógenos. Fortes et al. (2007) estudaram a ação de isolados de *Trichoderma* spp. obtidos do solo, via diluição e pelo método de iscas, em confronto direto com *Cylindrocladium* sp. concluíram que ambos os métodos apresentaram isolados que alcançaram grau máximo (nota 1) na escala de Bell et al. (1982). Louzada et al. (2009) testaram o potencial antagonista de isolados de *Trichoderma* spp. originários de solos de diferentes

agroecossistemas (Rio Grande do Sul, Minas Gerais, Bahia e Tocantins) no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. Entre os 230 isolados testados, 23 se mostraram eficientes no controle dos dois patógenos. Bomfim et al. (2010) destacaram uma rápida ação antagonista de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizopus stolonifer* com apenas 72 h de confronto.

Testes com folhas destacadas têm sido utilizados frequentemente, já que são eficientes e práticos para determinação do potencial dos agentes de biocontrole. Assim como neste estudo, outros autores encontraram resultados promissores com a técnica de biocontrole. Carvalho Filho (2008) selecionou isolados de *Trichoderma asperellum*, *T. pseudokoningii*, *T. harzianum* e *T. atroviride* para supressão de mancha-foliar causada por *Cylindrocladium scoparium* em mudas de eucalipto. Shiomi et al. (2006) selecionaram isolados de bactérias endofíticas dos gêneros *Bacillus*, *Clavibacter*, *Cedecea* e *Klebsiella* para controle da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) em cafeeiro.

Os testes *in vitro* são importantes para seleção de agentes antagonistas, porém os experimentos *in vivo* são fundamentais para a confirmação dos resultados. Stowasser e Ferreira (1997) destacaram a eficiência do antagonista *Gliocladium roseum* (isolado de morangueiro) no controle da incidência de *Botrytis cinerea* em mudas de *Eucalyptus grandis* quando testado *in vivo*.

No experimento em viveiro, verificou-se redução nos sintomas foliares, aos 45 dias, no tratamento que recebeu a adição de *Trichodel*®. Silva et al. (2011), testando a eficiência do *Trichoderma* no controle da antracnose em pepineiro, também encontraram resultados promissores (promoção do crescimento

em até 100% e proteção contra o patógeno em até 88,39%). Segundo esses autores, isso se deve à indução de resistência da planta, proporcionada pela aplicação do antagonista no substrato, antes da inoculação do patógeno.

A massa verde e a massa seca aumentaram quando foi acrescentado o produto à base de *Trichoderma* spp. (Trichodel®). Resultados semelhantes foram obtidos com plântulas de pepino (MELO, 1996) e plantas de milho (RESENDE et al., 2004). Respostas à aplicação de *Trichoderma* spp. podem ser caracterizadas por aumentos significativos na porcentagem de germinação, na área foliar e na massa seca das plantas (KLEIFELD; CHET, 1992).

A altura da muda também foi superior no tratamento com apenas Trichodel®. Segundo Melo (1996), a promoção do enraizamento por fungos envolve produção de hormônios vegetais e substâncias úteis para a planta, assim como favorece a absorção e translocação de minerais, tornando o vegetal mais resistente ao ataque de patógenos.

5. CONCLUSÃO

O produto comercial Trichodel® para biocontrole do fungo *Cylindrocladium candelabrum* apresentou melhor desempenho nos testes de confronto direto e de supressão da mancha-foliar em folhas destacadas, bem como teve resultados positivos na redução dos danos causados pelo fungo em mudas de *Eucalyptus saligna*, no viveiro.

O isolado de *Trichoderma* 5D e o biocontrolador Agrotrich® não foram eficazes nos testes com folhas destacadas de *E. saligna*.

Agrotrich® foi eficaz no teste de confronto direto (*in vitro*), porém não apresentou resultados promissores *in vivo*.

5. AGRADECIMENTOS

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), pelo apoio financeiro.

À Universidade Federal de Viçosa, pelo fornecimento do isolado de *C. candelabrum* utilizado neste trabalho.

À FEPAGRO – Florestas, pela disponibilização das instalações para a realização deste experimento.

6. REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A.C. et al. **Clonagem e doenças de eucalipto**. Viçosa, MG: UFV, 2004. 442 p.
- BELL, D.K.; WELLS, H.D.; MARKHAM, C.R. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 72, n.4, p. 379-382, 1982.
- BOMFIM, M.P. et al. O. Avaliação antagônica *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.36, n.1, p. 61-67, 2010.
- CARVALHO FILHO, M. **Trichoderma spp. como agentes de controle de *Cylindrocladium scoparium* e como promotores de crescimento em mudas de eucalipto**. 2008. 86f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, 2008.
- CHET, I.; INBAR, J.; HADAR, I. Fungal antagonists and mycoparasites. In: WICKLOW, D. T., SODERSTROM, B. (ed.) **The mycota IV: Environmental and microbial relationships**. Berlin: Springer-Verlag. 1997. p. 165-184.
- ETHUR, L.Z. **Dinâmica populacional e ação de *Trichoderma* no controle de fusariose em mudas de tomateiro e pepineiro**. 2006. 154 f. Tese (Doutorado em Agronomia) -Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.
- FERREIRA, D.F. **Sisvar**: versão 5.3. Lavras: UFLA, 2010.
- FERREIRA, F.A. et al. Mancha de folha e desfolha do eucalipto no sudeste da Bahia causada por *Cylindrocladium pteridis*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.17, n. 2, p. 226, 1992.
- FERREIRA, E.M. et al. Eficiência de fungicidas sistêmicos para o controle de *Cylindrocladium candelabrum* em eucalipto. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 31, n.5, p. 468-475, 2006.



- FORTES, F.O. et al. Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. por *Trichoderma* spp. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 221-228, 2007.
- GOMES, N.S.B.; GRIGOLETTI JR, A.; AUER, C.G. Seleção de antagonistas para o controle de *Cylindrocladium spathulatum* em erva-mate. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 43, p. 123-138, 2001.
- KLEIFELD, O.; CHET, I. *Trichoderma*: plant interaction and its effects on increased growth response. **Plant soil**, Dordrecht, v. 144, n. 2. p. 267-272, 1992.
- LOUZADA, G.A.S. et al. Potencial antagonístico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes agroecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biota Neotropica**, Campinas, v.9, n.3, p.145-149, 2009.
- MARTINS-CÓRDER, M.P.; MELO, I. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. sobre *Verticillium dahliae* KLEB. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, n.1, p. 1-7, 1998.
- MELO, I. S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão anual de patologia de plantas**, Passo Fundo, v.4, p. 261-296. 1996.
- NASEBY, D.C.; PASCUAL, J.A., LYNCH, J.M. Effect of biocontrol strains of *Trichoderma* on plant growth, *Pythium ultimum* populations, soil microbial communities and soil enzyme activities. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 88, n.1, p. 161-169, 2000.
- POLETO, I. **Nutrição, sombreamento e antagonismo biológico no controle da podridão-de-raízes da erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill)**. 2008. 123 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.
- RESENDE, M.L. et al. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n.4, p.793-798, 2004.
- SANTOS, R. P. et al. Inibição do crescimento de *Cylindrocladium* *in vitro* por isolados de *Trichoderma*. Encontro Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia 12. 2007, Brasília. **Anais ...Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**. 2007. p. 24.
- SHIOMI, H. F. et al. Bioprospecting endophytic bacteria for biological control of coffee leaf rust. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 36, n.1, p. 32-39, 2006.
- SILVA, V.N. et al. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.46, n.12, p. 1609-1618, 2011.
- STOWASSER, E. S. V.; FERREIRA, F. A. Avaliação de fungos para o biocontrole de *Botrytis cinerea* em viveiros suspensos de eucalipto. **Revista Árvore**, Viçosa, v.21, n.1, p.147-153, 1997.
- STRECK, E.V. et al. **Solos do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: EMATER-RS/UFGRS. Editora UFGRS. 2002. 188 p.