



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* E *IN VIVO* DO POTENCIAL DE
BIOCONTROLE DE *TRICHODERMA* SPP. A *FUSARIUM* SP.
NA CULTURA DA MELANCIA**

MARIA GILMARA FERREIRA DE OLIVEIRA

POMBAL - PB

2014

MARIA GILMARA FERREIRA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* E *IN VIVO* DO POTENCIAL DE
BIOCONTROLE DE *TRICHODERMA* SPP. A *FUSARIUM* SP.
NA CULTURA DA MELANCIA**

Monografia apresentada à Coordenação Curso de Agronomia da Universidade Federal de Campina Grande, como um dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Agronomia

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Márcia Aparecida Cezar

POMBAL - PB

2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA SETORIAL
CAMPUS POMBAL/CCTA/UFCG

MON
O481a

Oliveira, Maria Gilmar Ferreira de.

Avaliação *in vitro* e *in vivo* do potencial de biocontrole de *Trichoderma* spp. a *Fusarium* sp. na cultura da melancia / Maria Gilmar Ferreira de Oliveira. - Pombal, 2014.

55fls.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, 2014.

"Orientação: Profa. Dra. Márcia Aparecida Cezar".
Referências.

1. Melancia - *Citrullus Lanatus*. 2. Controle Biológico. I. Cezar, Márcia Aparecida. II. Título.

UFCG/CCTA

CDU 635.615

MARIA GILMARA FERREIRA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* E *IN VIVO* DO POTENCIAL DE
BIOCONTROLE DE *TRICHODERMA* SPP. A *FUSARIUM* SP. NA
CULTURA DA MELANCIA**


Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Agronomia da Universidade Federal
de Campina Grande, como um dos requisitos
para obtenção do grau de Bacharel em
Agronomia

Aprovada em: 14/02/2014

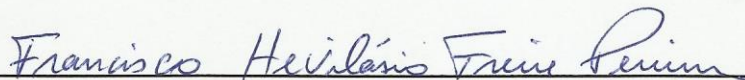
BANCA EXAMINADORA:



Orientadora - Prof^a. Dr^a. Márcia Aparecida Cezar
(UAGRA/CCTA/UFCG)



Membro - Prof^a. Dr^a. Adriana Silva Lima
(UAGRA/CCTA/UFCG)



Membro - Prof. Dr. Francisco Hevilásio Freire Pereira
(UAGRA/CCTA/UFCG)

POMBAL - PB

2014

DEDICATÓRIA

Á Deus, pelo dom da vida e por ter me proporcionado a coragem de vencer os obstáculos encontrados durante o curso;

*Aos meus pais **MARIA SOLANGE FERREIRA DE OLIVEIRA E GERALDO ANTÔNIO DE OLIVEIRA** por sempre me apoiarem em todos os momentos da vida, pela ajuda e incentivo durante essa caminhada;*

*Ao meu esposo **AURIVAN SOARES DE FREITAS** pelo companheirismo, paciência e incentivo em todos os momentos.*

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

A Deus, motivo principal de todos os meus passos dados durante essa caminhada, por sempre me proporcionar força de vontade e coragem em todos os momentos da minha vida.

A universidade Federal de Campina Grande, principalmente ao quadro de todos os professores do curso de Agronomia, e funcionários terceirizados do Centro de Ciências Tecnologia Agroalimentar.

Ao programa PIBIC/CNPq/UFCG, pelos dois anos e meio de bolsa de iniciação científica.

Aos Técnicos de Laboratório Joyce e Roberta que sempre me auxiliaram na execução deste trabalho em especial a Tiago Augusto técnico do laboratório de Fitopatologia, pelas caronas gentileza, ensinamentos, brincadeiras, paciência e fiel amizade.

A minha orientadora, Márcia Aparecida, pelos primeiros passos na pesquisa científica pela amizade, dedicação e os preciosos ensinamentos.

Ao professor, Francisco Hevilásio, por sua valiosa participação no trabalho e ter aceitado o convite para participar da banca.

A professora, Adriana Lima por ter aceitado o singelo convite de participar da banca e por ter contribuído para o melhor aperfeiçoamento deste trabalho.

Aos colegas, Otília, Alfredo, Edno e Jéssica que contribuíram na realização do trabalho.

Aos meus colegas de turma, Késsia, Viviane, Diassis, Cássio, Tádria, Erika, Emanuel, Hamurabi, Play, Marlon, Pixita, Wemerson, Felipe, Francimar e Karlinha (*In memoriam*) e á todos que não mencionei pela amizade e momentos divertidos que nunca esquecerei.

Aos colegas Nayara e Ramon pela amizade e pela ajuda na impressão das cópias da monografia.

Aos meus pais Maria Solange e Geraldo, pelos primeiros ensinamentos e incentivos. Principalmente minha mãe, mulher guerreira, que sempre foi e será minha melhor amiga estando ao meu lado em todos os acontecimentos da minha vida.

As minhas Avós Tereza, Hernestina, e **Avôs** (*in memoriam*) Antônio Saturno e Zé Paiano pelos ensinamentos e carinho.

Aos meus irmãos, Magna Geórgia e Jaires Oliveira, pelos momentos divertidos juntos vividos e pela amizade fiel.

A meu esposo que tanto amo, Aurivan que sempre esteve presente em todas as etapas dessa caminhada me apoiando e incentivando. E por ser esse companheiro maravilhoso, dedicado e paciente e pelos momentos lindos e inesquecíveis que passamos juntos.

A meu sobrinho Gustavo Ryan pelo sincero carinho, um presente de Deus.

A todos os meus primos e primas, especialmente a Andréia Maria minha prima do coração amiga de todas as horas.

Enfim, a todos que me ajudaram de forma direta ou indireta ao longo desta caminhada. **Meu muito Obrigada á todos vocês de coração!**

“O Segredo do sucesso de um futuro promissor pertence àqueles que acreditam na beleza de seus próprios sonhos.” Maria Gilmar

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Coleta das amostras de solo em cultivo de melanciaira proveniente do município de São João do Rio do Peixe-PB.....	23
Figura 2: Placas de Petri com meio BDA+A, contendo palitos de madeira esterilizados colonizados pelo isolado <i>Fusarium</i> sp. obtido de melanciaira (A) e sem fungo (B) utilizada como testemunha na inoculação.....	24
Figura 3: Plantas de melanciaira cv. Crimson sweet inoculadas com palitos de madeira colonizados pelo isolado <i>Fusarium</i> sp. de melanciaira (A), sem fungo utilizada como testemunha na inoculação (B) e exibindo sintomas iniciais de escurecimento no colo aos cinco dias após a inoculação (C).	25
Figura 4: Discos de 0,5 mm dos isolados <i>Fusarium</i> sp. (A) e <i>Trichoderma</i> spp. (B) inseridos em Placa de Petri de 9 cm contendo meio BDA+A.....	26
Figura 5: Erlenmeyers contendo substratos areno-orgânicos para a produção do inóculo de <i>Trichoderma</i> spp. (A), <i>Fusarium</i> sp. (B) e a testemunha (C).	27
Figura 6: Teste de pureza para os substratos orgânicos: testemunha (A), crescimento micelial de <i>Fusarium</i> sp. (B) e <i>Trichoderma</i> spp. (C) e estruturas reprodutivas (esporos) do <i>Fusarium</i> sp. (D) e <i>Trichoderma</i> spp. (E).....	28
Figura 7: Efeito antagônico de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. (FxT1 e FxT2) sobre o crescimento micelial de <i>Fusarium</i> sp.....	31
Figura 8: Efeito antagônico do <i>Trichoderma</i> spp. (FxT1) sobre o <i>Fusarium</i> sp. e o seu respectivo controle (F).....	33
Figura 9: Efeito antagônico do <i>Trichoderma</i> spp. (FxT2) sobre o <i>Fusarium</i> sp. e seu respectivo controle (F).....	34

Figura 10: Porcentagem da incidência de plantas doentes em melanciaira Crimson sweet.....	36
Figura 11: Plantas de melanciaira do tratamento T1 eT2 (testemunhas) e do tratamento T6 apresentando sintomas de lesões escuras no colo.....	37
Figura 12: Severidade da doença em plantas de melanciaira Crimson sweet.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores das médias do peso fresco e seco (g) das plantas de melanciaira var. Crimson sweet..... 40

Tabela 2. Taxa fotossintética (A), Transpiração (E) Condutância estomática (gs) e Concentração intercelular de CO₂ (Ci) em plantas de melanciaira submetidas a duas concentrações de inóculo de *Trichoderma* spp. e *Fusarium* sp..... 42

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 A cultura da melancia.....	16
2.2 Doenças em melancia.....	17
2.3 Patógenos radiculares.....	17
2.4 Fusariose na melancia.....	18
2.5 Controle da fusariose.....	20
2.6 Controle biológico.....	20
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 Considerações gerais.....	22
3.2 Isolamento do <i>Trichoderma</i> spp.....	22
3.3 Obtenção do isolado do <i>Fusarium</i> sp.....	23
3.4 Teste de patogenicidade de <i>Fusarium</i> sp.....	24
3.5 Teste de antagonismo entre os isolados de <i>Trichoderma</i> spp. a <i>Fusarium</i> sp.....	25
3.6 Produção do inóculo de <i>Trichoderma</i> spp. e <i>Fusarium</i> sp.....	26
3.7 Teste <i>in vivo</i> do potencial de <i>Trichoderma</i> spp. a <i>Fusarium</i> sp. em melancia.....	28
3.7.1 Características avaliadas.....	29
3.7.2 Incidência da podridão radicular.....	29
3.7.3 Severidade da doença.....	30
3.7.4 Trocas gasosas.....	30

3.7.5 Massa da matéria fresca e seca da parte aérea.....	30
3.8 Análise estatística.....	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
4.1 Teste de antagonismo de <i>Trichoderma</i> spp. a <i>Fusarium</i> sp.....	31
4.2 Incidência da podridão radicular.....	35
4.3 Severidade da doença.....	37
4.4 Massa da matéria fresca e seca da parte aérea.....	39
4.5 Trocas gasosas.....	41
5. CONCLUSÕES.....	44
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45

RESUMO

MARIA GILMARA FERREIRA DE OLIVEIRA. **AVALIAÇÃO *IN VITRO* E *IN VIVO* DO POTENCIAL DE BIOCONTROLE DE *TRICHODERMA* SPP. A *FUSARIUM* SP. NA CULTURA DA MELANCIA.** Pombal - PB, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, UFCG, Fevereiro de 2014. 55 p. Monografia (Graduação em Agronomia). Orientadora: Prof^a. Dr^a. Márcia Aparecida Cezar.

A melancieira é comumente afetada por doenças radiculares ocasionadas por fungos do gênero *Fusarium* sp. Uma das alternativas promissoras para o controle é a utilização de *Trichoderma* spp. Neste sentido, objetivou-se com este trabalho avaliar o potencial de biocontrole *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma* spp. a *Fusarium* sp. na melancieira. A pesquisa foi desenvolvida no período de agosto de 2012 a setembro de 2013 no Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA), pertencente à Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Dois isolados de *Trichoderma* spp. (T1 e T2) provenientes de amostras de solo coletadas em cultivos de melancieira nos municípios de Pombal e São João do Rio do Peixe-PB, foram confrontados diretamente com um isolado de *Fusarium* sp. patogênico a melancieira. Discos de micélio de 0,5 mm de diâmetro do patógeno e antagonista foram plaqueados em meio batata-dextrose-ágar (BDA), acrescido de antibiótico (A) e incubados em câmara de crescimento do tipo B.O.D a 28 ± 2 °C com fotoperíodo de 12 h. Os diâmetros transversais e longitudinais das colônias foram medidos diariamente durante oito dias. Os inóculos de *Trichoderma* spp. e *Fusarium* sp. foram produzidos em substratos areno-orgânico no período de 15 dias. Em seguida em casa de vegetação foram adicionados nas concentrações de 4% e 6%, individualmente e em conjunto em vasos com capacidade de 0,5 kg contendo substrato comercial esterilizado, onde foram semeadas duas sementes de melancia Crimson sweet por vaso. Foram avaliados os seguintes parâmetros: antagonismo dos isolados, incidência da podridão radicular, severidade da doença, massa fresca e seca da parte aérea e as trocas gasosas. Os isolados de *Trichoderma* spp. apresentaram efeito antagônico sobre o crescimento micelial de *Fusarium* sp. Houve incidência da doença em todos os tratamentos com adição dos inóculos de *Fusarium* sp. e *Trichoderma* spp. Entretanto, *Trichoderma* spp. reduziu a severidade das lesões ocasionadas por *Fusarium* sp. Os maiores valores do peso da matéria fresca e seca da parte aérea foram obtidos nos tratamentos resultantes da interação entre patógeno e antagonista (T9 e T10). Nos tratamentos adicionados com diferentes concentrações de *Trichoderma* spp. (T3 e T4) tiveram maiores valores de fotossíntese. Os maiores valores de transpiração e condutância estomática foram observados nos tratamentos onde adicionaram-se 4% de *Trichoderma* spp. (T3) e 4% de *Fusarium* sp. (T5). O crescimento vegetativo foi mais efetivo quando utilizou-se menor concentração do antagonista e maior concentração do patógeno.

Palavras-chave: *Citrullus lanatus*, controle biológico, antagonismo, podridão radicular.

ABSTRACT

MARIA GILMARA FERREIRA DE OLIVEIRA. **EVALUATION *IN VITRO* AND *IN VIVO* OF POTENTIAL BIOCONTROL OF TRICHODERMA SPP. FUSARIUM SP. THE CULTURE OF WATERMELON.** Pombal – PB, Center for Agri-food Science and Technology, UFCG, February, 2014. 55p.il. Monograph. (Undergraduate Agronomy). Supervisor: Prof. Dr^a. Marcia Aparecida Cezar.

Watermelons are usually affected by root diseases caused by fungi of the genus *Fusarium* sp. One of the control alternatives is the use of *Trichoderma* spp. In this sense, the aim of this study was to evaluate the potential *in vitro* and *in vivo* biocontrol of *Trichoderma* spp. over *Fusarium* sp. in watermelons. The research was carried out from August 2012 to September 2013 in the Centre for Science and Agrifood Technology (CCTA) of the Federal University of Campina Grande (UFCG). Two isolates of *Trichoderma* spp. (T1 and T2) from soil samples collected in watermelons crops in the counties of Pombal and São João do Rio do Peixe-PB, were confronted with an isolate of a pathogenic *Fusarium* sp. Mycelial discs with 0.5 mm diameter of the pathogen and the antagonist were plated on potato dextrose agar (PDA) supplemented with antibiotic (A) and incubated in a growth chamber at 28 ± 2 °C with 12 h of photoperiod. The transverse and longitudinal diameters of colonies were measured daily for eight days. The inocula of *Trichoderma* spp. and *Fusarium* sp. were produced in sandy organic substrates during 15 days. Then, in the greenhouse, were added at concentrations of 4% and 6%, individually and together, in pots with a capacity of 0.5 kg containing commercial sterilized substrate, where two seeds of Crimson Sweet watermelon were sown per pot. The following variables were assessed: antagonism of isolates, incidence of root rot, disease severity, fresh and dry weight of shoots, and gas exchanges. Isolates of *Trichoderma* spp. showed an antagonistic effect on mycelial growth of *Fusarium* sp. The disease arose in all treatments with *Fusarium* sp. and *Trichoderma* spp. However, *Trichoderma* spp. reduced the severity of lesions caused by *Fusarium* sp. The highest values of fresh weight and dry weight of shoots were obtained in treatments with the interaction of pathogen and antagonist (T9 and T10). In the treatments with different concentrations of added *Trichoderma* spp. (T3 and T4) had higher photosynthetic rates. The highest values of transpiration and stomatal conductance were observed in treatments with 4% of *Trichoderma* spp. (T3) and 4% of *Fusarium* sp. (T5). The vegetative growth was more effective when we used a lower concentration of the antagonist and a greater concentration of the pathogen.

Keywords: *Citrullus lanatus*, biological control, antagonism, root rot.

1. INTRODUÇÃO

A melanciaira (*Citrullus lanatus*) apresenta grande importância sócio-econômica, pois é de fácil manejo sendo responsável por grande demanda de mão-de-obra rural, gerando emprego e renda assim como a manutenção do homem no campo oferecendo um bom retorno econômico para o produtor (ROCHA, 2010).

A produção brasileira de melancia em 2011 foi 2.198.624 milhões de toneladas (FAO, 2013). No Estado da Paraíba o cultivo da melanciaira é realizado em praticamente todas as microrregiões, sendo que no ano de 2011 o sertão paraibano foi responsável por 38,24 % da produção no estado (IBGE, 2013).

As cucurbitáceas estão sujeitas ao ataque de várias doenças causadas por fitopatógenos que podem reduzir substancialmente a sua produtividade, tanto de forma quantitativa como qualitativamente (VIEIRA et al., 2005).

Em um estudo sobre a ocorrência de fungos fitopatogênicos em melanciaira cultivada no sertão paraibano foram constatadas as presenças de diversos patógenos causadores de podridões radiculares e murchas vasculares, sobretudo do gênero *Fusarium* sp. que teve alta incidência nos campos de produção dos municípios de Patos, São João do Rio do Peixe, Pombal, Lagoa e Paulista, situados no sertão da Paraíba (OLIVEIRA et al., 2012).

Além da melanciaira diversas culturas de interesse agrônômico podem ser afetadas por inúmeros fungos fitopatogênicos que são veiculados pelo solo. Geralmente tais patógenos têm capacidade de sobreviver por longos períodos nesse ambiente por meio da formação de estruturas de resistência, as quais garantem condições ideais de sobrevivência na ausência da planta hospedeira.

O gênero *Fusarium* é composto por várias espécies fúngicas que se enquadram nas características citadas acima, sendo capazes de causar diversas doenças em plantas, como as podridões radiculares, de caules e frutos, além das murchas vasculares. Esse gênero apresenta ampla distribuição geográfica, com ocorrência em todas as regiões do mundo (POLETTTO et al., 2006).

O controle das doenças causadas por patógenos veiculados pelo solo é considerado uma tarefa difícil, pois o solo é um ambiente complexo, onde medidas de controle têm sua eficiência bastante prejudicada ou sua aplicação dificultada (BEDENDO, 2011).

Uma das alternativas para reduzir o efeito negativo de patógenos radiculares e promover respostas positivas em plantas é o controle biológico, uma prática tradicional, que aliada a novos conhecimentos da microbiologia, é atualmente muito estudada, para o controle de fitopatógenos (VINALE et al., 2008).

Dentre os muitos agentes com potencial biocontrole, o fungo *Trichoderma* spp. tem sido um dos mais estudados e comercialmente vendidos como biofungicidas, biofertilizantes e inoculantes de solo. Para a agricultura, além do controle de patógenos, o uso de *Trichoderma* spp. pode oferecer várias vantagens como: decomposição de matéria orgânica, uma microflora competitiva deletéria através da colonização da rizosfera e melhoria da saúde e crescimento das plantas (HARMAN, 2000; HARMAN et al., 2004).

Espécies de *Trichoderma* são antagonistas de diversos fungos fitopatogênicos, e apresentam vários mecanismos de ação, dentre os quais, destacam-se a produção de metabólitos e enzimas com propriedades antifúngicas, o hiperparasitismo e a competição por nutrientes (HARMAN et al., 2004).

Diante do exposto um estudo visando o isolamento de *Trichoderma* spp. do solo proveniente de cultivos de melancia situados no sertão paraibano é de extrema importância para verificar a sua eficiência a patógenos veiculados pelo solo causadores de doenças radiculares em melancia.

Nesse contexto, objetivou-se avaliar o potencial de biocontrole *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma* spp. a *Fusarium* sp. na melancia.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura da melanciaira

A melanciaira (*Citrullus lanatus*) pertence à família Cucurbitaceae, e teve origem no continente africano. É cultivada atualmente em todos os continentes e seus frutos são apreciados por consumidores de todo o mundo, principalmente nas regiões de clima quente (SANTOS et al., 2005).

A cultura foi introduzida na América no século XVI provavelmente pelos escravos, embora estudos tenham evidenciado ser o Nordeste do Brasil um centro de diversidade da espécie (PUITATTI & SILVA, 2005).

Em 2011, a produção mundial de melancia atingiu 89.153.514 milhões de toneladas, os maiores produtores mundiais, China, Irã e Turquia foram responsáveis por 78,1% da produção, sendo o Brasil o quarto maior produtor mundial (FAO, 2013). No Brasil, esta hortaliça fruto é produzida em volume de exportação sendo as regiões Sul e Nordeste responsáveis por quase 80% da produção nacional. Os estados do Rio Grande do Sul (346.454t), Bahia (338.365t), Goiás (268.530t) e São Paulo (191.884t) foram considerados os maiores produtores nacionais (IBGE, 2013).

No Brasil, a melancia é uma das principais hortaliças produzidas, superada apenas pelas culturas do tomate (*Solanum lycopersici* L.), batata (*Solanum tuberosum* L.) e a cebola (*Allium cepa* L.) (ANDRADE JUNIOR et al., 2007).

No Nordeste brasileiro, o plantio da melanciaira pode ser realizado em qualquer época do ano, em cultivo de sequeiro ou irrigado. Durante o período chuvoso, predomina o cultivo tradicional de sequeiro em consórcio com outras culturas alimentares como o milho e feijão. Segundo esses autores no período mais seco, que compreendem os meses de junho a dezembro, na região do submédio do Vale do São Francisco e no agropolo Assu-Mossoró concentram a produção irrigada para o mercado interno e externo. Nesse período, a cultura apresenta um melhor desempenho em rendimento e qualidade de frutos em relação às condições climáticas mais adequadas com menor incidência de pragas e doenças (RESENDE et al., 2006).

Na Paraíba, as condições edafoclimáticas são favoráveis para o cultivo da melancia sendo este exercido praticamente por pequenos produtores que concentram a sua produção em regime de agricultura familiar, representando desta forma uma cultura de grande importância econômica, nutricional e social.

2.2 Doenças em melancia

Algumas doenças infecciosas causadas por fungos, vírus, bactérias e nematóides são consideradas limitantes a produção de cucurbitáceas, podendo muitas vezes inviabilizar o cultivo em função de diversos fatores como o aumento de custo da produção, e a redução na renda do produtor rural.

Dentre as principais doenças, que causam prejuízos consideráveis à cultura, destacam-se as viroses ocasionadas pelo vírus da mancha anelar do mamoeiro, estirpe melancia (*Papaya ring spot virus – type watermelon – PRSV-W*), vírus do mosaico da melancia (*Watermelon mosaic virus – WMV*) e vírus do mosaico do pepino (*Cucumber mosaic virus – CMV*); doenças fúngicas como o crestamento gomoso do caule ocasionado por *Didymella bryoniae*, antracnose por *Colletotrichum lagenarium*, podridão de esclerotium (*Sclerotium rolfsii*), míldio (*Pseudoperonospora cubensis*), tombamento de plântulas ocasionado pelos patógenos *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora* e *Rhizoctonia*, mela (*Rhizoctonia solani*), cercosporiose (*Cercospora citrullina*), oídio (*Sphaerotheca fuliginea*) e a mancha de alternaria (*Alternaria cucumerina*) doenças bacterianas como a mancha-bacteriana ocasionada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (SANTOS et al., 2005).

As doenças radiculares estão entre as principais causas de redução na produtividade de culturas de interesse alimentar no mundo, provocam perdas através de tombamentos de plântulas, podridões do colo e raízes, murchas vasculares e galhas (MICHEREFF et al., 2005).

2.3 Patógenos radiculares

Os patógenos radiculares podem ser definidos como organismos que passam a maior parte de seu ciclo de vida no solo, infectam órgãos

subterrâneos ou caules das plantas, e têm capacidade de sobreviver no solo por um longo período na ausência de seus hospedeiros (MICHEREFF et al., 2005).

Os fungos constituem o maior grupo de patógenos radiculares, ocorrendo em todos os tipos de sistemas agrícolas e causando doenças nas principais espécies cultivadas, com uma variada e ampla gama de sintomas (MICHEREFF et al., 2005). Entre os principais gêneros de patógenos fúngicos são citados *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium rolfsii*, *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Verticillium* e *Fusarium* no qual provoca o ataque dos vasos lenhosos, a partir das raízes, provocando murcha generalizada e morte rápida das plantas (MICHEREFF & BARROS, 2001).

2.4 Fusariose na melanciaira

O gênero *Fusarium* é considerado um dos mais importantes, pois engloba diversas espécies, desde as saprofíticas até aquelas patogênicas, capazes de causar doenças e sérios danos em plantas afetando a sua produção (MENEZES, 2009).

Além disso, possui ampla distribuição geográfica, com representativa ocorrência em todas as regiões do mundo. Apresenta como principais características sua sobrevivência no solo na forma de clamidósporos, e a produção de macroconídios fusiformes como uma das estruturas de reprodução assexuada (MASSOLA Jr & KRUGNER, 2011).

Patógenos como *Fusarium* são classificados como necrotróficos, ou seja, destroem os tecidos vegetais por meio da ação de toxinas ou enzimas que promovem a lise e morte da célula hospedeira, permitindo o acesso a nutrientes e o crescimento do patógeno (AGRIOS, 2005; OKUBARA & PAULITZ, 2005).

Quanto à reprodução algumas espécies completam o ciclo sexual, possuindo o estado teleomórfico, e tecnicamente passam a ter outra denominação de gênero. Para a maioria das espécies ainda se conhece

somente o estado anamórfico, onde há somente a produção de esporos assexuados (DI PIETRO et al., 2003; LESLIE & SUMMEREL, 2006).

As doenças provocadas por *Fusarium* sp. podem estar associadas ao tombamento de plântulas denominado de “damping-off”, podridões radiculares, murchas vasculares e podridão de sementes. Algumas espécies são altamente micotoxigênicas, ou seja, possuem capacidade de produzir toxinas que afetam desde animais selvagens e domésticos, até mesmo a espécie humana (LARANJEIRA, 2001).

Esses fungos provocam sintomas característicos de murcha que surgem devido ao estresse hídrico da planta, em decorrência da obstrução dos vasos do xilema. Vale ressaltar que além de *Fusarium*, a murcha vascular de plantas causada por fungos é restrita somente a outros três gêneros: *Ceratocystis*, *Ophiostoma* e *Verticillium* (AGRIOS, 2005).

Geralmente tais patógenos têm capacidade de sobreviver por longos períodos nesse ambiente por meio da formação de estruturas de resistência, as quais garantem condições ideais na ausência da planta hospedeira. Além de atacar várias cucurbitáceas, esses agentes patogênicos infectam outras diversas culturas de interesse agrônômico.

As condições ideais para o desenvolvimento desses patógenos são altas temperaturas de 20 a 30 °C, com a ótima situando-se em torno de 28 °C, baixo teor de matéria orgânica e menor diversidade biológica (Lima et al., 2001). Além disso, a alta umidade e clima quente também favorecem o progresso da doença (MICHEREFF et al., 2005).

A importância desse fungo como patógeno vegetal está relacionada a dois fatores: o primeiro se refere ao hospedeiro vegetal, onde a complexidade genética da resistência a esse patógeno torna difícil o trabalho de melhoramento de plantas. O segundo se refere ao patógeno, *Fusarium* em que pode persistir no solo por um longo período de tempo como conídio, na superfície radicular do hospedeiro vegetal, ou como clamidósporo, em estágio dormente na ausência do hospedeiro. Isso justifica o interesse na investigação das bases genéticas de resistência de plantas a esse importante patógeno na agricultura principalmente nos solos (BERROCAL-LOBO & MOLINA, 2008).

2.5 Controle da fusariose

Doenças ocasionadas por *Fusarium* sp. são de controle difícil, pois os fitopatógenos habitantes do solo são bem adaptados e os fungicidas apresentam baixa eficiência, além do potencial efeito deletério que causam ao ambiente (MAFFIA & MIZUBUTI, 2004).

As estratégias de controle da fusariose descritas por Michereff & Barros (2001) baseiam-se no uso do controle cultural com a eliminação de plantas doentes, preparo e irrigação do solo de forma adequada, rotação de cultura, época e densidade de plantio, barreiras físicas (quebra-ventos), cultivo em ambiente protegido, e incorporação de matéria orgânica no solo; controle genético com a resistência genética; o controle físico utilizando tratamento térmico com vapor, técnica da solarização e a termoterapia, e o controle biológico o mais sustentável possível com o uso de organismos benéficos para reduzir o efeito negativo ocasionado por patógenos radiculares.

2.6 Controle biológico

A preocupação com o efeito ocasionado na saúde humana e na contaminação ambiental associada com a utilização excessiva de fungicidas no controle de doenças de plantas e o surgimento de patógenos resistentes aos produtos químicos aplicados tem contribuído para o aumento do interesse em alternativas como o uso do controle biológico.

Zambolim (2010) define controle biológico, como o uso de um microrganismo para controle de um organismo patogênico, podendo o agente apresentar efeito biocida, causando a morte do alvo, ou biostático, inibindo seu desenvolvimento.

O emprego de microrganismos antagonistas como agente de biocontrole de patógenos veiculados pelo solo constitui uma das alternativas a serem utilizadas na destruição das unidades propagativas desses patógenos.

No controle biológico de doenças de plantas *Trichoderma* é um dos fungos mais utilizados e estudados, que pode ser encontrado naturalmente em

todos os solos do mundo, onde vive e se alimenta de matéria orgânica ou de outros microrganismos (HARMAN, 2000; HARMAN et al, 2004).

Esse fungo é capaz de inibir o desenvolvimento de vários patógenos por mecanismos diversos, tais como antibiose, competição, parasitismo direto, produção de metabólitos secundários de efeito antibiótico e enzimas líticas, melhoria na absorção de nutrientes, indução de resistência e promoção de crescimento de plantas devido a fácil colonização do sistema radicular (WOO et al., 2007; VINALE et al., 2008; HARMAN, 2011).

O gênero *Trichoderma* pertence ao Reino Fungi, Filo Ascomycota, fase imperfeita ou anamorfa de *Hypocrea*, Classe Ascomycetes, Ordem Hypocreales e Família Hypocreaceae (KIRK, 2012).

Dentre os antagonistas, *Trichoderma* é certamente o mais utilizado no Brasil, com dezenas de produtos disponíveis no mercado. As doenças mais dirigidas são as podridões radiculares e as murchas vasculares causadas por *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Phytium* e *Phytophthora* entre outras (LOPES, 2009).

A presença de *Trichoderma* spp. em solo rizosférico e não rizosférico cultivado com tomateiro e pepineiro, em horta e estufa foi demonstrada por Ethur (2006) onde verificou que em solo rizosférico a incidência deste fungo é maior.

A seleção de isolados de *Trichoderma* spp. para controle de *Sclerotium rolfsii* em soja foi realizada por Lohmann et al. (2007) que constataram que tais isolados foram eficientes na redução de “damping-off” em soja.

A verificação do potencial antagônico *in vitro* de *Trichoderma* a *Colletotrichum gloeosporioides* em acerola foi realizada por Araújo et al. (2011) que demonstraram a esporulação de *Trichoderma* sobre o patógeno.

Os fungos do gênero *Trichoderma* são de grande importância econômica para a agricultura, uma vez que são capazes de atuarem como agentes de controle de doenças de várias plantas cultivadas, promotores de crescimento e indutores de resistência de plantas a doenças (MOHAMED & HAGGAG 2006, FORTES et al., 2007).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Considerações Gerais

A pesquisa foi desenvolvida no período de agosto de 2012 a setembro de 2013 no Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA), pertencente à Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). O experimento foi conduzido em duas etapas, onde inicialmente foi realizada a coleta de isolados de *Trichoderma* spp. em solo rizosférico e avaliou *in vitro* o potencial de antagonismo de *Trichoderma* spp. a *Fusarium* sp. na melancia conduzido no Laboratório de Fitopatologia do CCTA/ UFCG. Na segunda etapa foi realizada a avaliação *in vivo* do potencial de antagonismo de *Trichoderma* spp. a *Fusarium* sp. na melancia em casa de vegetação.

3.2 Isolamento do *Trichoderma* spp.

Com a finalidade de obter isolados de *Trichoderma* spp. provenientes do solo rizosférico foram realizadas visitas a campos de produção de melancia 'Crimson Sweet' nos municípios de São João do Rio do Peixe e Pombal onde foram coletadas 10 amostras do solo de cada local sendo estas obtidas da mistura de três subamostras retiradas na região rizosférica ao redor do colo das plantas de melancia com 10 cm de profundidade e 5 cm de distância da planta (Figura 1). Em seguida o solo coletado foi transportado para o Laboratório de Fitopatologia do CCTA/UFCG, *campus* de Pombal para posterior isolamento.

O isolamento de *Trichoderma* das amostras coletadas deu-se de acordo com o método da diluição em série, sendo retiradas de cada amostra composta de solo dez gramas e colocadas em erlenmeyers com 90 ml de água destilada esterilizada. As soluções foram homogeneizadas em agitador mecânico a 170 rpm por 30 minutos. Em seguida, foram preparadas diluições em série 10^{-2} e 10^{-3} a partir da suspensão do tubo, onde foram retiradas alíquotas de 0,1 ml, e depositadas em placas de Petri (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006), contendo

meio batata-dextrose-ágar (BDA), acrescido da dose 0,03 g/L de antibiótico (A) e espalhadas com o auxílio da alça de Drigalsky, com três repetições para cada diluição. As placas posteriormente foram mantidas em câmara climatizada tipo B.O.D a 28 °C ± 2°C com 12 horas de fotoperíodo por um período de oito dias.



Figura 1: Coleta das amostras de solo em cultivo de melancia proveniente do município de São João do Rio do Peixe-PB.

3.3 Obtenção do isolado de *Fusarium* sp.

Plantas de melancia cultivadas no município de Pombal-PB, apresentando sintomas de murcha e podridão no colo foram utilizadas para obtenção do isolado de *Fusarium* sp.. Para confirmação da presença do patógeno nas amostras de melancia, estas foram submetidas ao isolamento (MENEZES & SILVA-HANLIN, 1997), onde foram retirados pequenos fragmentos superficiais das margens das lesões. Em seguida foi feita a desinfestação superficial em álcool 70% por 30 segundos, hipoclorito de sódio 2% por um minuto e duas lavagens em água destilada esterilizada, dispostos em papel filtro esterilizado para secar, seguido do plaqueamento em meio BDA, acrescido de antibiótico (A) na dose 0,03 g/L. As placas foram mantidas à temperatura de 28°C durante sete dias, seguida da identificação com o auxílio de um microscópio óptico e visualização das características morfológicas, tais

com estruturas as reprodutivas (esporos), culturais como pigmentação e estrutura do micélio.

3.4 Teste de patogenicidade do *Fusarium* sp.

Para confirmação do agente causal da podridão radicular observada em melanciaira, o *Fusarium* sp. obtido no isolamento foi cultivado em meio BDA, acrescido de antibiótico (A) contendo palitos de madeira esterilizados e fixados no meio de cultura (Figura 2A) e utilizando apenas o palito com o BDA+A como o controle negativo (testemunha) (Figura 2B).

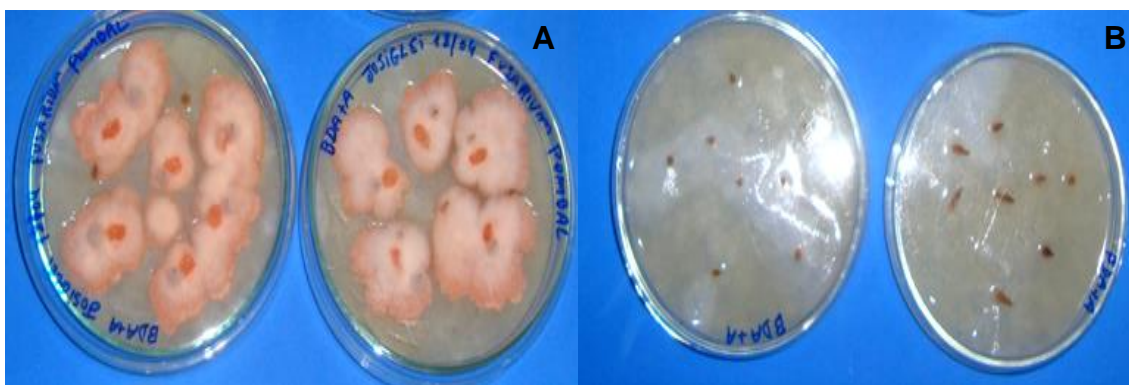


Figura 2: Placas de Petri com meio BDA+A, contendo palitos de madeira esterilizados colonizados pelo isolado *Fusarium* sp. obtido de melanciaira (A) e sem fungo (B) utilizada como testemunha na inoculação.

Para atestar a patogenicidade realizou-se o teste do palito que consistiu na inoculação de plantas de melanciaira cv. 'Crimson Sweet' com 15 dias de idade, afixando-se discos de meio de cultura contendo micélio e conídios no colo das plantas, com auxílio de palito esterilizado (Figura 3A) e como testemunha foi utilizado apenas palitos de madeira contendo o BDA+A sem fungo (Figura 3B). As plantas inoculadas foram submetidas à câmara úmida por 48 h e mantidas em casa de vegetação até o aparecimento dos sintomas (Figura 3C). Após a reprodução dos sintomas procedeu-se o reisolamento do patógeno, em BDA+A e nas condições descritas anteriormente, confirmando-se a patogenicidade de *Fusarium* sp. em melanciaira.

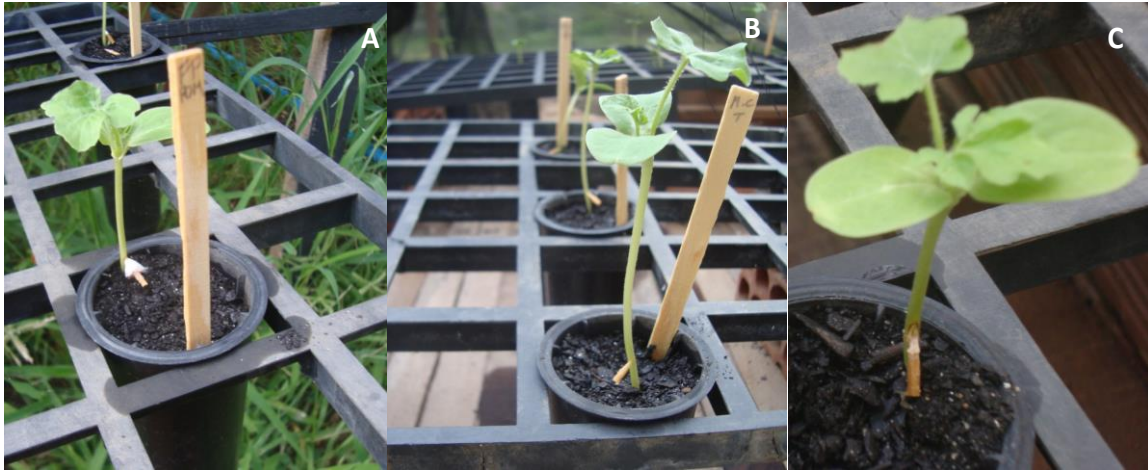


Figura 3: Plantas de melancia cv. 'Crimson Sweet' inoculadas com palitos de madeira colonizados por *Fusarium* sp. isolado de melancia (A), sem fungo utilizado como testemunha na inoculação (B) e exibindo sintomas iniciais de escurecimento no colo aos cinco dias após a inoculação (C).

3.5 Teste de antagonismo dos isolados de *Trichoderma* spp. a *Fusarium* sp.

A interação *in vitro* dos isolados de *Trichoderma* spp. (T1 e T2) com o isolado de *Fusarium* sp. foi realizada no laboratório de Fitopatologia do CCTA onde os antagonistas e patógeno foram submetidos ao método da confrontação direta (BELL et al., 1982; ETHUR et al., 2005).

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado constituído de três tratamentos e seis repetições, sendo os tratamentos distribuídos da seguinte forma: 1: *Trichoderma* spp. (T1) pareado com *Fusarium* sp.; 2: *Trichoderma* spp. (T2) pareado com *Fusarium* sp. e 3: *Fusarium* (controle). Os dados provenientes das áreas média das colônias de *Trichoderma* spp. e *Fusarium* sp. foram submetidos ao teste T com 5% de probabilidade.

Discos de 0,5 mm de diâmetro contendo micélio do patógeno e antagonista foram pareados individualmente em lados opostos, próximos às bordas das placas de Petri de 9 cm contendo meio BDA+A (Figura 4), e o crescimento micelial foi avaliado diariamente através das medições dos diâmetros transversal e longitudinal utilizando um paquímetro digital. As placas foram mantidas em câmara climatizada tipo B.O.D a 24 °C ± 2°C com fotoperíodo de 12 horas por oito dias.

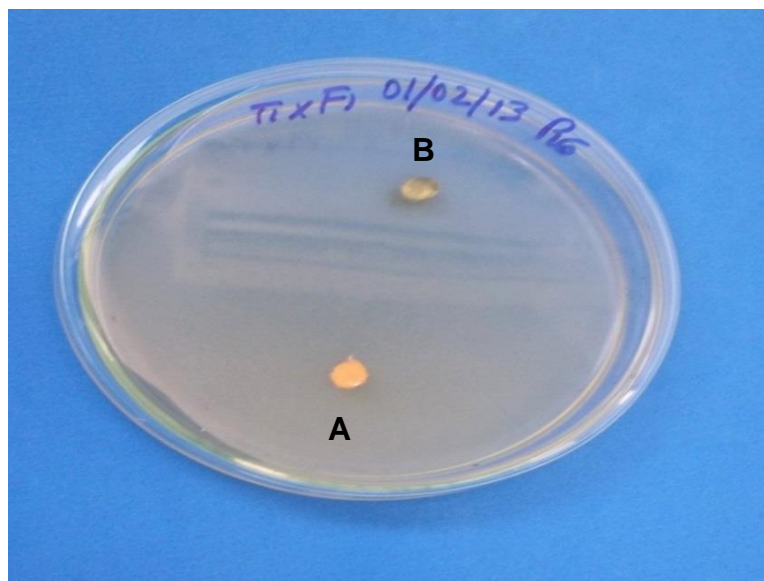


Figura 4: Discos de 0,5 mm dos isolados *Fusarium* sp. (A) e *Trichoderma* spp. (B) inseridos em Placa de Petri de 9 cm contendo meio BDA+A.

Após a avaliação diária do crescimento micelial das colônias dos isolados, foi verificado o antagonismo de acordo com os critérios propostos por Bell et al. (1982) com escalas de notas variando de 1 a 5, sendo 1 (antagonista cresce por toda a placa de Petri), 2 (antagonista cresce sobre 2/3 da placa), 3 (antagonista e patógeno crescem até a metade da placa), 4 (patógeno cresce sobre 2/3 da placa) e 5 (patógeno cresce por toda a placa de Petri).

3.6 Produção do inóculo de *Trichoderma* spp. e *Fusarium* sp.

Para a avaliação *in vivo* da ação do *Trichoderma* spp. a *Fusarium* sp. os inóculos dos fungos foram produzidos conforme a metodologia adaptada por Lefèvre & Souza (1993) que é amplamente utilizada para os patógenos *Macrophomina phaseolina* e *Rhizoctonia solani*, ambos causadores de podridões radiculares, habitantes do solo por meio de estruturas de resistência semelhantemente ao fungo *Fusarium* estudado no presente trabalho.

Dessa forma, os inóculos do antagonista e patógeno foram cultivados em erlenmeyers de 1L contendo substrato areno-orgânico composto de três partes de esterco curtido, uma parte de areia lavada e 2% de aveia (v/p), e adicionados 20 ml de água destilada para cada 100 ml do substrato. O substrato foi autoclavado duas vezes, em intervalos de 24 horas, durante uma

hora a 120 °C. Posteriormente, em câmara asséptica, foram transferidos dez discos de 0,5 mm de diâmetro retirados das bordas das colônias dos fungos em crescimento, para os frascos contendo substrato areno-orgânico. Os erlenmeyers contendo o inóculo com *Trichoderma* spp. (Figura 5A) e *Fusarium* sp. (Figura 5B) foram mantidos em câmara climatizada tipo B.O.D a 30° ± 2 °C no escuro, por quinze dias, sendo periodicamente agitados com o objetivo de homogeneizar a colonização. Também, foi mantido um erlenmeyer sem o fungo, nas mesmas condições dos frascos contendo o micélio, utilizado como testemunha (Figura 5C) e agitados periodicamente durante 15 dias.

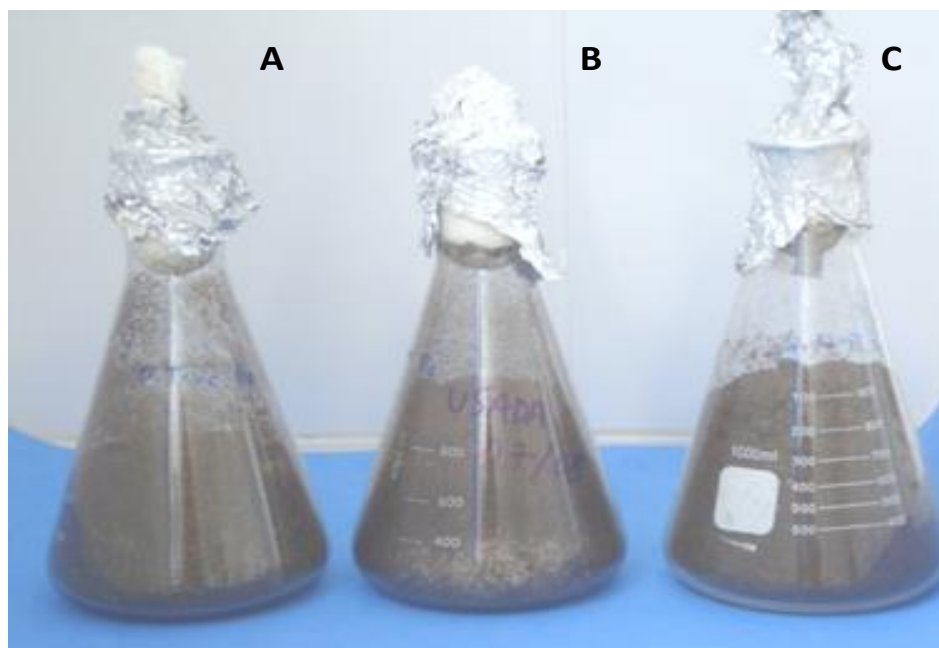


Figura 5: Erlenmeyers contendo substratos areno - orgânicos para a produção do inóculo de *Trichoderma* spp. (A), *Fusarium* sp. (B) e a testemunha (C).

Com a finalidade de verificar possíveis contaminações nos substratos pequenas porções dos isolados de *Trichoderma* spp. e *Fusarium* sp. juntamente com a testemunha foram plaqueadas individualmente em condições assépticas em meio BDA+A, e mantidos em B.O.D a 28 ± 2 °C com fotoperíodo de 12 horas por cinco dias. Posteriormente verificou-se que na testemunha não houve crescimento micelial comprovando a pureza dos substratos (Figura 6A) enquanto que nas demais placas ocorreu o crescimento micelial das colônias típicas de *Fusarium* sp. (Figura 6B) e *Trichoderma* spp. (Figura 6C). Em

seguida foram preparadas lâminas não permanentes das colônias desses isolados e verificadas em microscópio óptico a presença das estruturas reprodutivas (esporos) do *Fusarium* sp. (Figura 6D) e *Trichoderma* spp. (Figura 6E).

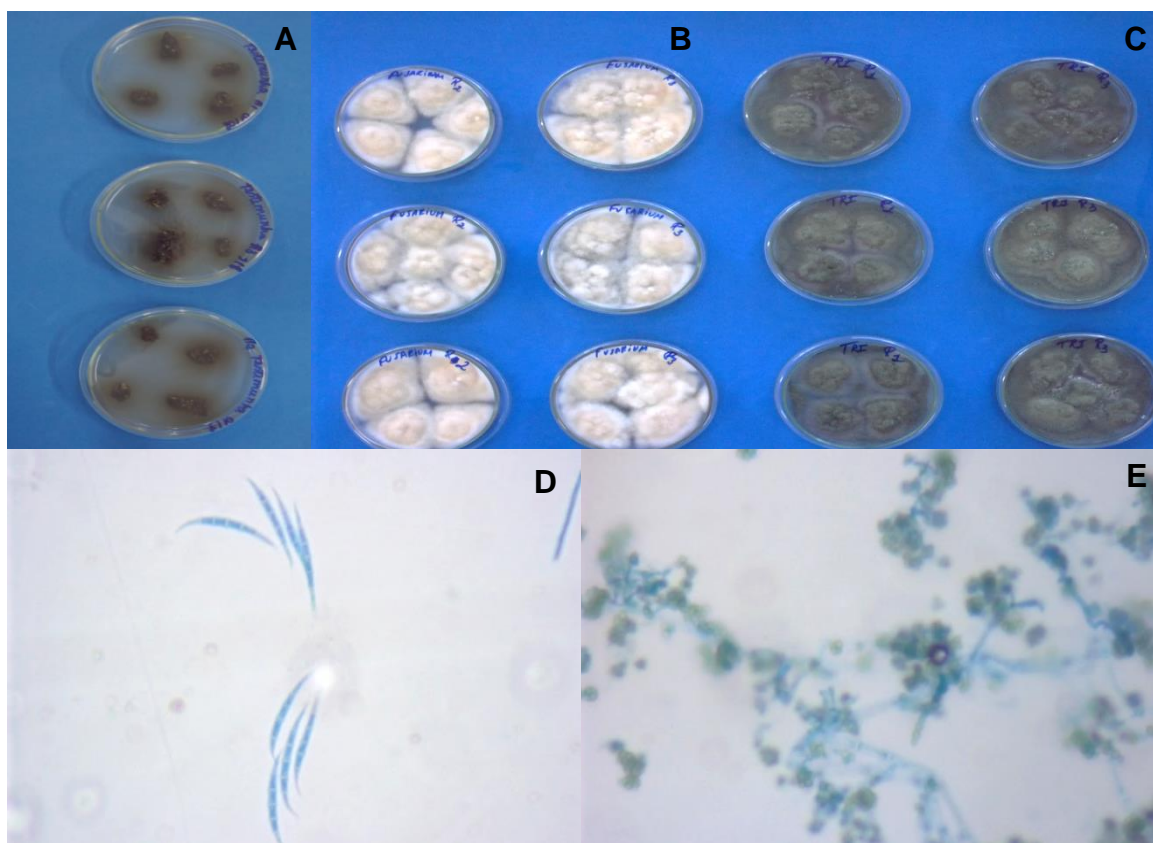


Figura 6: Teste de pureza para os substratos orgânicos: testemunha (A), crescimento micelial de *Fusarium* sp. (B) e *Trichoderma* spp. (C) e estruturas reprodutivas (esporos) do *Fusarium* sp. (D) e *Trichoderma* spp. (E).

3.7 Teste *in vivo* do biocontrole de *Trichoderma* spp. a *Fusarium* spp. em melanciaira

O experimento *in vivo* foi conduzido em casa de vegetação durante um período de 43 dias. Foram utilizados vasos com capacidade de 0,5 Kg, preenchidos com substrato comercial esterilizado, e em seguida adicionados os inóculos de *Fusarium* sp. e *Trichoderma* spp. nas concentrações de 4% e 6%, sendo posteriormente semeadas duas sementes de melancia em cada vaso, as plantas foram irrigadas duas vezes ao dia com solução nutritiva à 75% baseada em Hoagland & Arnon (1950).

O delineamento experimental foi em blocos casualizados constituídos de dez tratamentos e cinco repetições distribuídos da seguinte forma: T1: aplicação de 4% do substrato sem patógeno e antagonista; T2: aplicação de 6% de substrato sem patógeno e antagonista; T3: aplicação de 4% de substrato acrescido com *Trichoderma* spp.; T4: aplicação de 6% de substrato acrescido com *Trichoderma* spp.; T5: aplicação de 4% de substrato acrescido com *Fusarium* sp.; T6: aplicação de 6% de substrato acrescido com *Fusarium* sp.; T7: aplicação de 6% de substrato acrescido com *Fusarium* sp. e aplicação de 6% de substrato acrescido de *Trichoderma* spp.; T8: aplicação de 4% de substrato acrescido com *Fusarium* sp. e aplicação de 4% de substrato acrescido de *Trichoderma* spp.; T9: aplicação de 6% de substrato acrescido com *Fusarium* sp. e aplicação de 4% de substrato acrescido de *Trichoderma* spp. e T10: aplicação de 4% de substrato acrescido com *Fusarium* sp. e aplicação de 6% de substrato acrescido de *Trichoderma* spp.

3.7.1 Características avaliadas

3.7.2 Incidência da podridão radicular

Para a avaliação da incidência da doença foi considerada a porcentagem de plantas com sintomas visíveis da doença em relação ao número total de plantas. Foram coletadas todas as plantas e levadas ao laboratório de Fitopatologia do CCTA/UFCG e, posteriormente foram lavadas e avaliadas quanto à presença de sintomas de podridão na raiz, no colo e sistema vascular. Foram realizados isolamentos dos patógenos de todas as plantas sintomáticas, por meio da retirada de fragmentos da área limítrofe, que foram submetidos à desinfestação superficial (álcool 70%, hipoclorito de sódio 2% por 1 minuto e água destilada esterilizada). A seguir, realizou-se o plaqueamento dos fragmentos em meio de cultura BDA (Batata-dextrose-ágar), acrescido de antibiótico. As placas foram mantidas em câmara climatizada tipo B.O.D por sete dias, com fotoperíodo de 12 horas. Após este período, identificaram-se os patógenos que ocorreram nas plantas sintomáticas, com auxílio do microscópio óptico.

3.7.3 Severidade da doença

Para a análise da severidade da doença, foi utilizada uma escala de notas subjetiva proposta por Shoonhoven & Pastor-Corrales (1987) e adaptada por Cruz (2013). Onde: 0= sem sintomas visíveis; 1, 3, 5, 7 = aproximadamente 10, 25, 50 e 75% dos tecidos do hipocótilo e da raiz cobertos com lesões, respectivamente e 9= plantas mortas.

3.7.4 Trocas gasosas

As avaliações foram realizadas aos 43 dias após a semeadura (DAS). Nesta ocasião foram medidas a fotossíntese (A), a condutância estomática (gs), a transpiração (E) e a concentração intercelular de CO₂ utilizando um analisador de gás infravermelho (IRGA) LC pro (Analytical Development, Kings Lynn, UK), com fonte de luz constante de 1.200 μmol de fótons $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e concentração de CO₂ a 370 ppm. Para a realização das leituras no IRGA, foram escolhidas as folhas intermediárias, entre a quarta e sexta folha contadas do ápice para a base do ramo.

3.7.5 Massa da matéria fresca e seca da parte aérea

Após a avaliação da incidência e severidade da doença, a parte aérea das plantas foi pesada em balança analítica, para averiguação do peso fresco. Posteriormente, as mesmas foram acondicionadas em saco de papel e colocadas em estufa de circulação forçada de ar a temperatura de 65 °C por 48 h até a obtenção de peso constante. Em seguida, foram pesadas para obtenção da massa seca.

3.8 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste Scott-Knott à 5% de probabilidade, utilizando o programa SAEG versão 9.1 (Sistema para Análises Estatísticas, 2007).

4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Teste de antagonismo de *Trichoderma* spp. a *Fusarium* sp.

Após a verificação do antagonismo *in vitro* constatou-se que os dois isolados de *Trichoderma* (T1 e T2) inibiram o crescimento micelial de *Fusarium* sp. (Figura 7), não havendo diferença significativa no comportamento antagônico dos mesmos, no período analisado de oito dias.

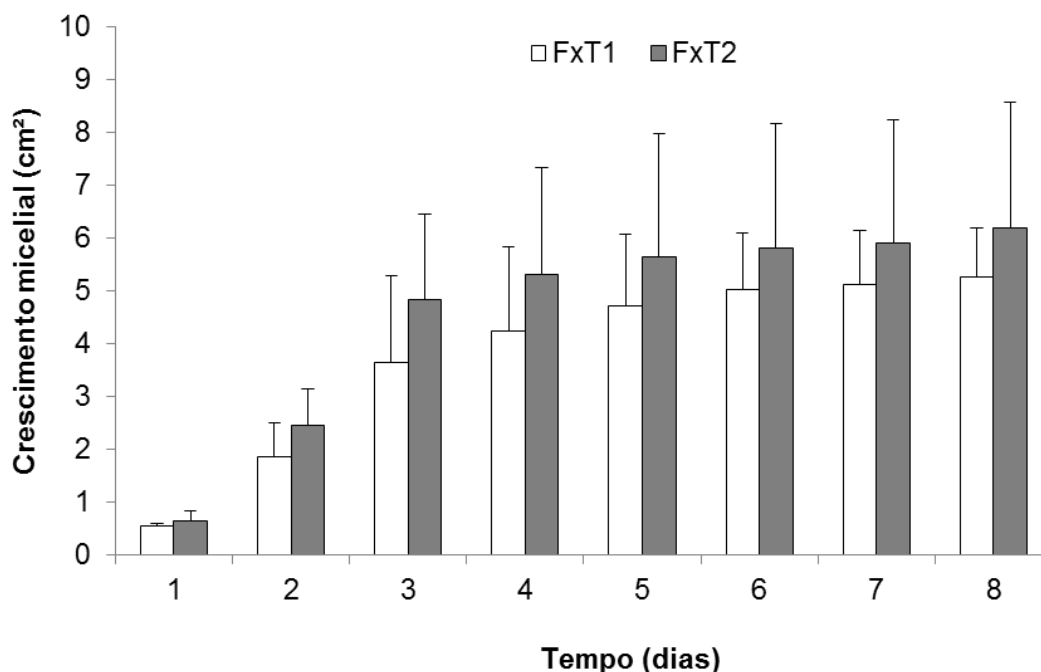


Figura 7: Efeito antagônico de isolados de *Trichoderma* spp. (FxT1 e FxT2) sobre o crescimento micelial de *Fusarium* sp. As médias não diferiram estatisticamente pelo teste T a 5% de probabilidade.

Resultados semelhantes foram observados por Broetto et al. (2012) que avaliando *in vitro* isolados de *Trichoderma* sp no controle de *Fusarium* sp. do milho verificaram que todos os isolados de *Trichoderma* apresentaram rápido

crescimento micelial e, com apenas cinco dias de incubação, os antagonistas inibiram o desenvolvimento do patógeno. Outros resultados obtidos por Kupper et al. (2003) estudando a potencialidade antagônica *in vitro* de 64 isolados de *Bacillus subtilis* a *Colletotrichum acutatum* verificaram que todos os isolados de *Bacillus* spp. produziram, metabólitos capazes de inibir o crescimento micelial do patógeno não havendo diferenças significativas entre eles.

Eficiência na inibição do crescimento micelial de *Fusarium* sp. por *Trichoderma* spp. foi demonstrada por Menezes (2007) que avaliando o potencial antagônico de 100 isolados de *Trichoderma* spp. verificou que três destes se destacaram no teste de confrontação direta, sendo que o isolado UFSMT16, obtido de amostras de solo de parcelas com sintomas de murcha em crisântemo, foi um dos melhores na redução do *Fusarium oxysporum*.

Inúmeros casos de inibição do crescimento micelial de fungos fitopatogênicos por espécies de *Trichoderma* têm sido apontados na literatura, tais como Remuska & Pria (2007) avaliando o potencial antagônico da bactéria *Bacillus thuringiensis* e do fungo *Trichoderma* sobre diferentes fungos fitopatogênicos como *Sclerotium rolfsii*, *Diaporthepha seolorum*, *Pythium aphanidermatum*, *Monilinia fructicola*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani* e *Bipolaris sorokiniana* constataram a eficiência *Trichoderma* sp., apresentando inibição significativa de 33,9% para *S. rolfsii*.

Na figura 8 pode-se observar que *Fusarium* sp. pareado com *Trichoderma* spp. (FxT1) teve uma redução no crescimento micelial quando comparado com a testemunha (patógeno sozinho na placa sem o antagonista), sendo verificada diferença significativa entre os diâmetros das colônias de patógeno e antagonista a partir do quarto dia de avaliação.

Trabalho realizado por Tabaranã et al. (2006) mostram resultados semelhantes a esses quando comprovaram que o *Trichoderma* spp inibiu o crescimento de *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum* isolados de Macaxeira, Bananeira, e Pimenta. Outro resultado semelhante foi obtido por Bomfim (2007), onde testou vários isolados de *Trichoderma* spp. e todos apresentaram rápido crescimento micelial, diferindo estatisticamente da testemunha ao inibir o desenvolvimento de *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro.

Herzog et al. (2012) utilizando *Trichoderma* sp. no controle biológico da fusariose em pimenta-do-reino concluíram que o antagonismo apresentou um grande potencial no controle da fusariose (*Fusarium solani* f. sp. *piperis*).

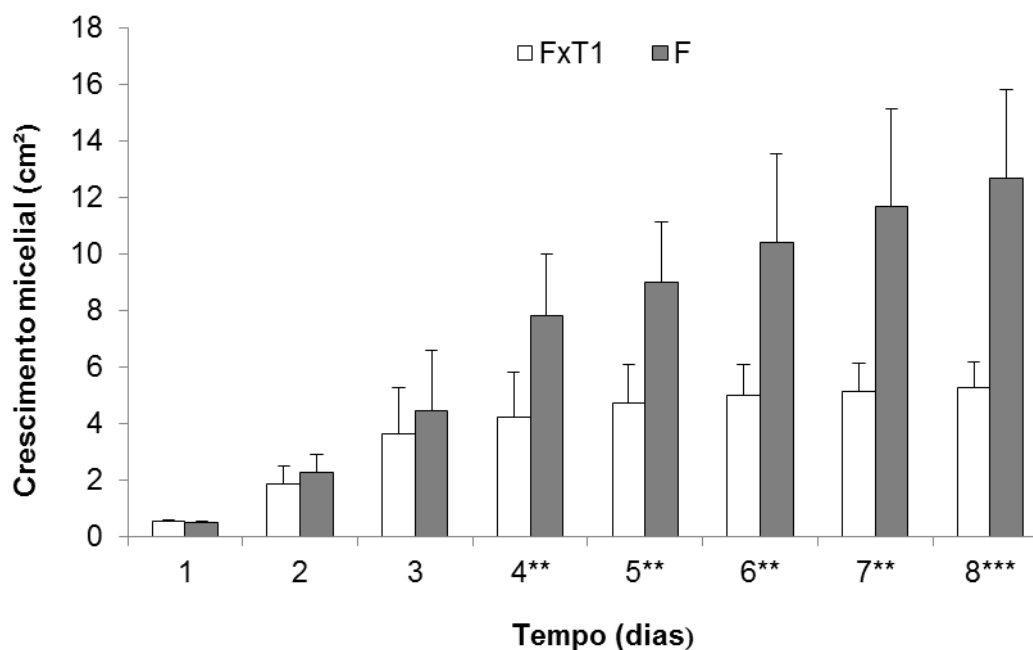


Figura 8: Efeito antagônico do *Trichoderma* spp. (FxT1) sobre o *Fusarium* sp. e o seu respectivo controle (F). Teste T: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

O *Trichoderma* spp é um dos fungos capaz de exercer controle em grande diversidade de espécies de fungos fitopatogênicos. Estudo realizado por Morais & Valdirene (2010) concluíram que 13 isolados de *Trichoderma* spp. obtiveram excelente potencial antagônico contra os patógenos *Macrophomina phaseolina* e *Fusarium solani*.

O isolado T2 também exerceu efeito antagônico sobre o *Fusarium* sp., semelhante ao isolado T1, entretanto, foi observada a diferença significativa entre os crescimentos miceliais do antagonista e o controle (patógeno sozinho na placa) apenas a partir do quinto dia de avaliação (Figura 9).

O antagonismo *in vitro* de 34 isolados de *Trichoderma* spp. a *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii* foi constatado após sete dias de avaliação, sendo observada diferença estatística entre o raio médio dos patógenos

comparados com a testemunha ocasionando a redução do crescimento micelial dos mesmos (MONTALVÃO, 2012).

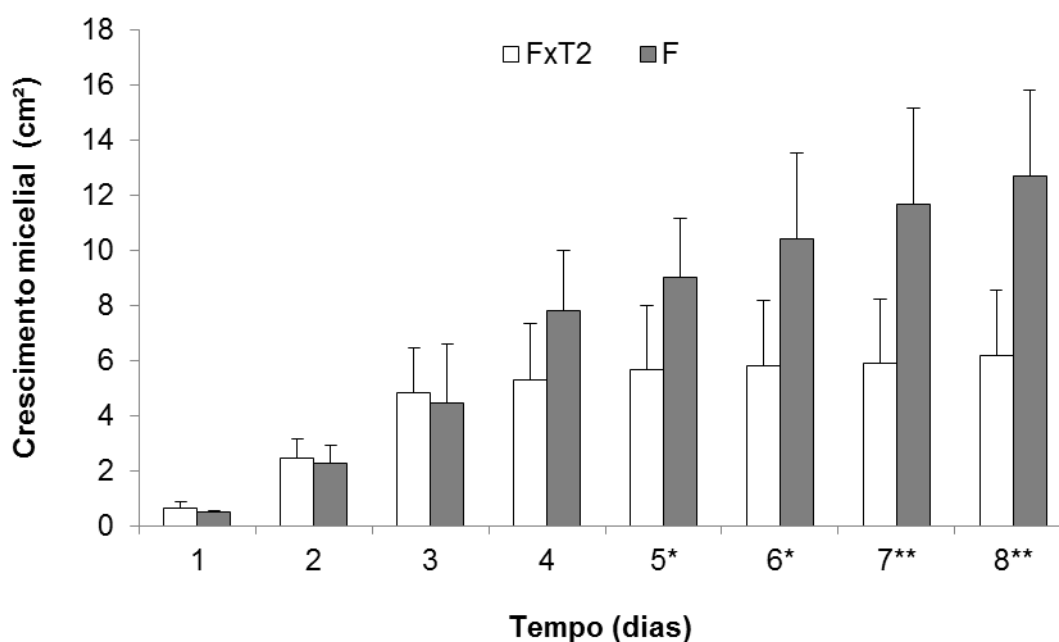


Figura 9: Efeito antagônico do *Trichoderma* spp. (FxT2) sobre o *Fusarium* sp. e seu respectivo controle (F). Teste T: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

Resultados constatados por Silva (2009) avaliando o efeito antagônico de *Trichoderma* a patógenos de diferentes frutíferas corroboram com os observados no presente trabalho onde foi verificado que *Trichoderma* spp. controlou o crescimento de *Colletotrichum* spp. (proveniente de mamoeiro, abacateiro, cajueiro, mangueira e bananeira), *Cercospora musae* (bananeira) e *Asperisporium caricae* (mamoeiro) enquanto as respectivas testemunhas cresceram em menos de cinco dias.

Outros trabalhos já apontaram a eficiência de *Trichoderma* spp. no controle de fitopatógenos em diferentes culturas anuais como é o caso de *Sclerotium rolfsii* em tomateiro, *Rhizoctonia solani* em alface e *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* no feijoeiro-comum, sendo observado a redução de 100% para *R. solani* (DIAS, 2011).

Ao término do experimento *in vitro* o antagonismo também foi avaliado seguindo os critérios adotados por Bell et al. (1982) sendo atribuída a nota 1 (antagonista cresceu por toda a placa de Petri) para ambos isolados de

Trichoderma spp., enquanto na testemunha foi aplicada a nota 4 (patógeno cresceu sobre 2/3 da placa).

Resultados semelhantes foram obtidos por Santos et al. (2008) que avaliaram 10 isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *Fusarium oxysporum* e concluíram que 6 isolados apresentaram nota 1 e os demais receberam nota 2 colonizaram 2/3 da placa.

Estudos realizados por Louzada et al. (2009) diferem dos apresentados nesse tópico, onde isolados de *Trichoderma* spp. apresentaram nota 3 (ocupando aproximadamente metade da superfície do meio).

Quando Silva (2011) avaliou *Trichoderma* spp. no controle *Fusarium solani* constatou que a nota predominante foi 1 seguida da nota 2. Outros trabalhos apontam que o *Trichoderma* spp. exerceu excelente ação antagônica sobre o patógeno crescendo por toda a placa obtendo nota 1. Moraes & Valdirene (2010) aplicaram a nota 1 na avaliação de 13 isolados de *Trichoderma* spp..

4.2 Incidência da podridão radicular

Quando se avaliou a porcentagem de plantas com sintomas (PPS) observa-se na Figura 10 que nas testemunhas dispostas nos tratamentos (T1 e T2) e no tratamento onde se adicionaram 4% do inóculo de *Trichoderma* spp. (T3) houve ausência de sintomas típicos da doença nas plantas avaliadas, embora no T4 composto da adição de 6% do inóculo de *Trichoderma* spp. foi verificado uma planta infectada (Figura 10).

Resultados semelhantes a estes foram obtidos por Ludwig et al. (2012) que avaliando o efeito do *Trichoderma* spp. associado ao uso de substrato na incidência de podridão de estacas em *Eucalyptus urograndis* comprovaram diferenças significativas entre os tratamentos analisados, sendo que, a testemunha apresentou menor incidência de podridão de estacas causada pelo fungo *Rhizoctonia solani*.

Estudo realizado com *Trichoderma* spp. no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo mostrou que nos tratamentos utilizando antagonista

ocorreu menor incidência apresentando valores de 24,7 e 28,6% inferiores ao controle (GAVA & MENEZES, 2012).

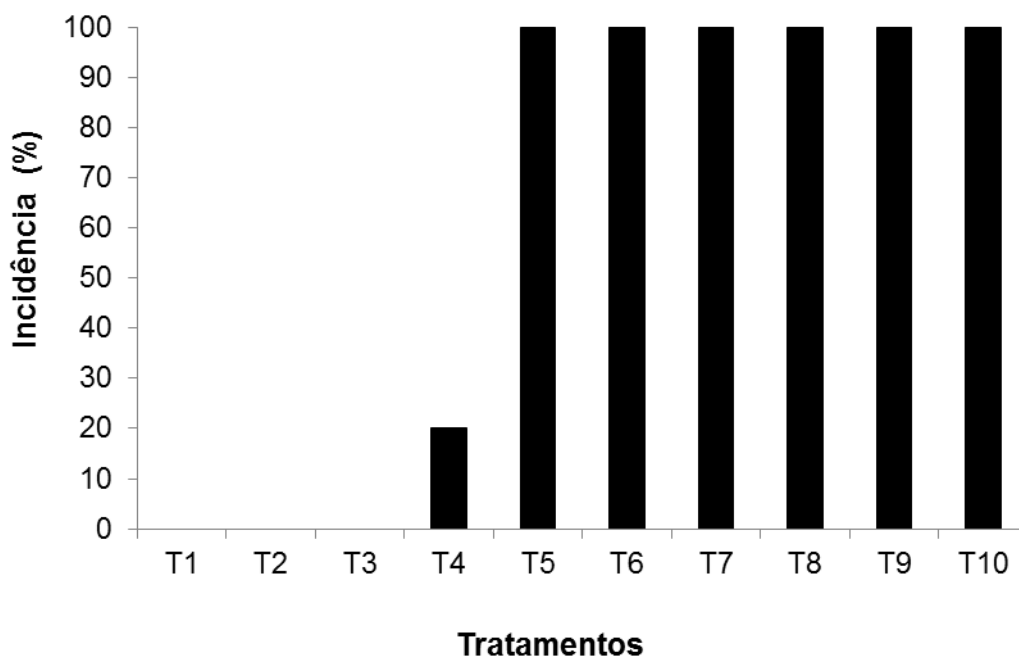


Figura 10: Porcentagem da incidência de plantas doentes em melanciaira 'Crimson Sweet'. **T1 e T2:** 4% e 6% de substrato (Testemunhas); **T3 e T4:** 4% e 6% do inóculo de *Trichoderma* spp. **T5 e T6:** 4% e 6% do inóculo de *Fusarium* sp. **T7:** 6% do inóculo de *Trichoderma* spp. + 6% do inóculo de *Fusarium* sp. **T8:** 4% do inóculo de *Trichoderma* spp. + 4% do inóculo de *Fusarium* sp. **T9:** 6% do inóculo de *Fusarium* sp. e 4% do inóculo de *Trichoderma* spp. **T10:** 4% do inóculo de *Fusarium* sp. e 6% do inóculo de *Trichoderma* spp.

Apesar de na Figura 10 verificar-se que nos tratamentos de T5 a T10 houve 100% de incidência de plantas com sintomas, cabe ressaltar que os tratamentos T5 e T6 acrescidos com inóculo de *Fusarium* sp. nas concentrações de 4% e 6% respectivamente apresentaram sintomas mais severos como lesões na cor escura e podridões no colo quando comparados com as testemunhas T1 e T2 com adição de 4% e 6% do substrato areno-orgânico (Figura 11), e com os demais tratamentos resultante da interação *Trichoderma* spp. e *Fusarium* sp. Morais et al. (2013) constataram em levantamentos de doenças na mandioca que houve maior incidência do fungo *Fusarium oxysporum*. Entretanto Cavalcanti et al. (2005) obtiveram uma maior

redução na incidência de vassoura-de-bruxa nas plantas pulverizadas com o acibenzolar-S-metil (ASM), aos 30 dias antes da inoculação do patógeno.



Figura 11: Plantas de melancia de do tratamento T1 e T2 (testemunhas) e do tratamento T6 apresentando sintomas de lesões no colo.

4.3 Severidade da doença

Em relação à severidade da doença os tratamentos T4 e T10 apresentaram a menor nota na escala, não diferindo estatisticamente dos tratamentos T1, T2 e T3, os quais representam as testemunhas negativas sem adição do inóculo do patógeno (Figura 12) mostrando a eficiência do *Trichoderma* spp. na redução da severidade da doença.

Resultados semelhantes foram observados por Silveira et al. (2003) onde não verificaram influência significativa dos isolados de *Acidovorax avenae* sub sp. *citrulli* e dos híbridos de meloeiro na severidade da mancha-aquosa. Ramos et al. (2013) verificaram que a maior dose de silicato de potássio ocasionou redução da severidade de oídio em abobrinha de moita com médias 7,25 e 6,25% inferiores a testemunha.

Nos tratamentos da interação entre antagonista e patógeno (T7 e T9) que utilizaram a maior concentração do inóculo de *Fusarium* sp. verificou-se que a nota da severidade foi a mesma em ambos os tratamentos independentemente da concentração do inóculo de *Trichoderma* spp. (Figura12). Esses resultados

apontam que a adição do antagonista em menor ou maior concentração atuou negativamente sobre o patógeno.

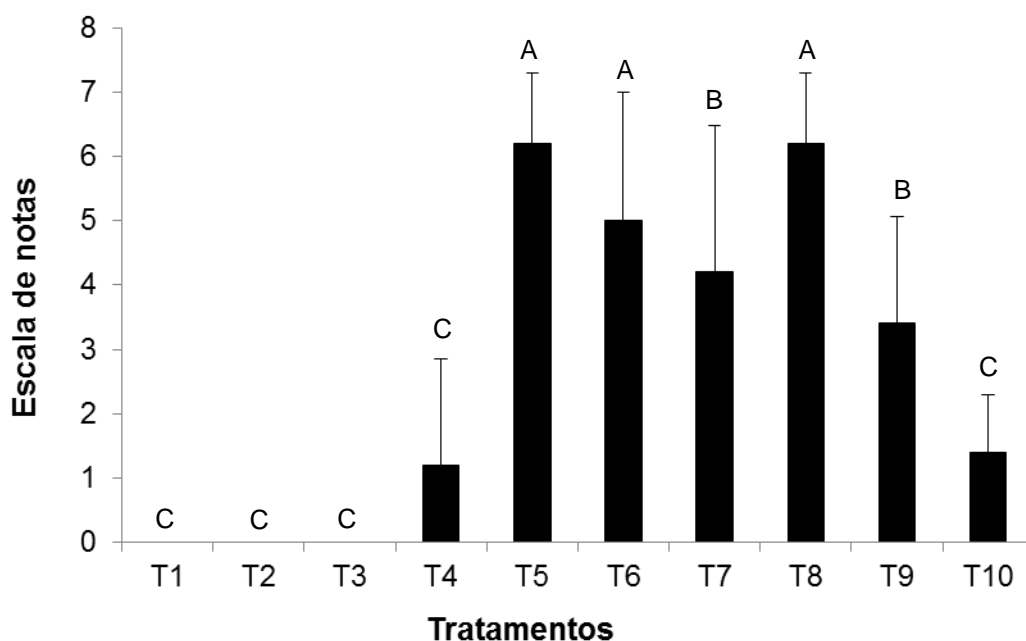


Figura 12: Severidade da doença em plantas de melanciaira 'Crimson Sweet'. Notas seguidas de mesma letra não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste Skott-Knot. **T1 e T2:** 4% e 6% de substrato (Testemunhas); **T3 e T4:** 4% e 6% do inóculo de *Trichoderma* spp. **T5 e T6:** 4% e 6% do inóculo de *Fusarium* sp. **T7:** 6% do inóculo de *Trichoderma* spp. + 6% do inóculo de *Fusarium* sp. **T8:** 4% do inóculo de *Trichoderma* spp. + 4% do inóculo de *Fusarium* sp. **T9:** 6% do inóculo de *Fusarium* sp. e 4% do inóculo de *Trichoderma* spp. **T10:** 4% do inóculo de *Fusarium* sp. e 6% do inóculo de *Trichoderma* spp.

Resultados comprovados por Santos et al. (2005) diferem dos obtidos no presente estudo pois verificaram o aumento da severidade do crestamento gomoso a partir de 74 dias após o plantio ocorrendo na testemunha do ensaio perdas de 26,5% em plantas de melanciaira.

Vários autores apontam a utilização de *Trichoderma* spp. e seu efeito na redução da severidade da doença. Pedro et al. (2012) avaliando a promoção de crescimento e controle da antracnose no feijoeiro verificaram redução significativa da severidade da doença entre 63 e 98%. Abeysinghe (2009) observaram em plantas de feijão reduções de 44 a 47% da severidade da ferrugem. Sriram et al. (2009) constataram em pimenta vermelha reduções entre 48 e 62%, proporcionada por *Trichoderma harzianum*, na infecção causada por *Phytophthora capsici*, enquanto Bae et al. (2011) detectaram que

o isolado DIS 376f de *Trichoderma theobromicola* foi capaz de atrasar o desenvolvimento de sintomas de doença causados por *P. capsici* em pimentão. Esses autores atribuíram a redução dos sintomas da doença à indução de resistência ativada pelo antagonista.

O teste Skott-Knot aponta que as maiores notas da severidade 5,0 e 6,2 foram observadas nos tratamentos T5 e T6 acrescidos com 4% e 6 % de *Fusarium* sp. respectivamente e o tratamento T8 resultado da interação da menor concentração de antagonista e patógeno (Figura 12).

Autores como Silveira et al. (2003) observaram aumento na média da severidade em função da concentração de inóculo. Isso ressalta a importância do controle desse patógeno removendo as possíveis fontes de inóculo que contribuem para o surgimento da doença, além de promover o equilíbrio da microbiota do solo favorecendo a ocorrência de microrganismos antagonistas em detrimento da população do patógeno.

4.4 Massa da matéria fresca e seca da parte aérea

Após a separação do material vegetal e pesagem da parte aérea foi comprovado através do teste de média Skott-Knot que não ocorreu diferença significativa em nenhum dos tratamentos para a massa fresca (Tabela 1).

Trabalho semelhante realizado por Jadão et al. (2004) avaliando a fotossíntese e área foliar de cultivares de alface inoculadas com vírus verificaram que não ocorreu diferença significativa para a variável peso fresco entre as testemunhas e as duas cultivares testadas. Outro estudo feito por Cavalcanti et al. (2005) confirma esses resultados onde não observaram diferença significativa em relação ao peso fresco das plantas somente inoculadas com *Verticillium dahliae*.

A maior média do peso fresco foi constatada no tratamento T10 (Tabela 1) quando utilizou-se 4% de *Fusarium* sp. e 6% de *Trichoderma* spp. seguido do tratamento T9. Ressalta-se que esse resultado está em concordância com os dados obtidos na análise da severidade da doença, onde para este tratamento observou-se a menor nota, comprovando que a aplicação do *Trichoderma* spp. proporcionou um efeito negativo sobre o patógeno não

alterando a massa fresca das plantas submetidas a interação, confirmando que o antagonista atuou benéficamente nas mesmas.

Tabela 1: Valores das médias do peso fresco e seco (g) das plantas de melanciaira var. 'Crimson Sweet'.

Tratamentos	Peso fresco (g planta⁻¹)	DP	Peso seco* (g planta⁻¹)	DP
T1 testemunha	56,12 ns	39,71	5,36 b	3,44
T2 testemunha	65,44 ns	24,20	5,90 b	2,04
T3 4% T	43,84 ns	33,03	4,87 b	4,28
T4 6% T	57,13 ns	16,19	5,27 b	1,33
T5 4% F	53,07 ns	22,70	4,85 b	2,31
T6 6% F	68,27 ns	8,32	6,83 b	0,78
T7 6% T e F	62,15 ns	24,79	6,10 b	2,82
T8 4% T e F	59,59 ns	23,12	6,53 b	2,66
T9 4%T, 6% F	83,35 ns	8,96	8,71 a	0,76
T10 6%T, 4%F	85,87 ns	21,67	9,47 a	2,08

ns, respectivamente não significativo, ($p < 0,05$). *Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo Teste Skott-Knot ao nível de 5% de Probabilidade. DP- Desvio Padrão.

Na tabela 1 observa-se que houve diferença significativa entre os valores das médias dos pesos secos da parte aérea da melanciaira.

Estudos realizados por Gurgel et al. (2010) observou-se resultados semelhantes dos encontrados no presente trabalho onde concluíram que aos 21 dias após a semeadura de plantas de melão, constatou-se diferença no acúmulo da massa seca total da parte aérea, utilizando na irrigação água com diferentes concentrações de sais. Porém Lessin (2008) observou que o peso da matéria seca não se alterou significativamente em plantas de soja infectadas por *Phakopsora pachyrhizi*.

Semelhantemente aos resultados obtidos para a massa fresca, as maiores médias da massa seca das plantas ocorreram nos tratamentos T9 e T10 apresentando 9,47g e 8,71g respectivamente, os quais não apresentaram diferença significativa entre si (Tabela 1).

Botelho et al. (2011) avaliando o efeito do silício na intensidade da cercosporiose e na nutrição mineral de mudas de cafeeiro obtiveram resultados que diferem do presente estudo, onde o peso da matéria seca da parte aérea das mudas de cafeeiro não diferiram para os tratamentos testados.

A menor média foi de 4,85 g obtida no tratamento T5 acrescido de 4% de *Fusarium* sp. o mesmo contribuiu para uma menor área foliar, e conseqüentemente redução na massa seca das plantas (Tabela 1).

Inúmeros trabalhos com aplicação de *Trichoderma* spp. mostraram aumentos no peso seco das plantas. Pedro et al.(2012) comprovaram isso em plantas de feijão proporcionando um aumento significativo superior a 30% da massa seca. Carvalho et al. (2011) testaram o efeito de seis isolados de *Trichoderma* spp. no crescimento de plantas de feijão e observaram que quatro deles proporcionaram aumentos na massa da matéria seca da parte aérea das plantas entre 4,42 e 5,71%, médias semelhantes aos menores valores verificados no presente trabalho.

O efeito de *Trichoderma* spp. no crescimento de plantas tem sido relacionado a diversos fatores, tais como proteção de plantas contra patógenos primários e secundários da rizosfera, produção de hormônios de crescimento de plantas, aumento da absorção e da translocação de nutrientes minerais (YEDIDIA et al., 2001).

4.5 Trocas gasosas

Houve interação significativa para todos os parâmetros testados Fotossíntese (A), transpiração (E), condutância estomática (gs) e concentração intercelular de CO₂ (Ci) (Tabela 2).

Os maiores valores da fotossíntese observados foram 8,35 e 7,04 $\mu\text{mol m}^2\text{s}^{-1}$ nos tratamentos T3 e T4 acrescidos com 4% e 6% do inóculo de *Trichoderma* spp. respectivamente demonstrando que o antagonista pode ter proporcionado o aumento da fotossíntese (Tabela 2). Entretanto o tratamento T5 com 4% do inóculo do patógeno não diferiu estatisticamente dos tratamentos citados acima. Isso pode ser atribuído ao período no qual as plantas foram avaliadas (43 dias após o plantio) de certa forma o *Fusarium* sp.

em baixa concentração neste período não alterou a taxa fotossintética das plantas. Por outro lado a maior concentração do inóculo do patógeno (T6) apresentou valor inferior ao observado anteriormente proporcionando alteração na fotossíntese das plantas com aumento de manchas cloróticas (Tabela 2).

Em trabalhos realizados Bezerra et al. (2004) observaram redução na taxa fotossintética em plantas de melão infectadas pelo vírus amarelão. Godoy et al. (2001) verificaram redução na taxa fotossintética líquida de folhas de milho infectadas por *Phaeosphaeria maydis* com severidade em torno de 10 a 20 %.

A transpiração e a condutância estomática foram estatisticamente semelhantes apresentaram padrões similares com médias maiores não significativas para os tratamentos T3 e T5 respectivamente (Tabela 2). À medida que aumentou a fotossíntese ocorreu à evolução na abertura dos estômatos, e conseqüentemente as plantas passaram a transpirar mais com maior perda de água pelas folhas.

Tabela 2: Taxa fotossintética (A), Transpiração (E) Condutância estomática (gs) e Concentração intercelular de CO₂ (Ci) em plantas de melancia submetidas a duas concentrações de inóculo de *Trichoderma* spp. e *Fusarium* sp.

Tratamentos	Fotossíntese* ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Transpiração* ($\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Condutância* estomática ($\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Concentração* inter. de CO ₂ ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)
T1 testemunha	7,0150 a	2,9069 b	0,1040 a	225,8000 b
T2 testemunha	4,0083 b	2,0585 b	0,0730 b	221,7000 b
T3 4% T	8,3516 a	4,2102 a	0,1397 a	240,7000 a
T4 6% T	7,0420 a	3,0040 b	0,1047 a	236,7000 b
T5 4% F	6,4733 a	3,4352 a	0,1180 a	244,9000 a
T6 6% F	5,4633 b	2,2530 b	0,0730 b	258,5000 a
T7 6% T e F	4,8625 b	2,4731 b	0,0744 b	263,0222 a
T8 4% T e F	4,8860 b	2,2920 b	0,0710 b	259,1889 a
T9 4%T, 6% F	6,2860 a	2,7320 b	0,0860 b	213,1889 b
T10 6%T, 4%F	4,0930 b	1,9870 b	0,0580 b	219,3889 b

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste Skott-Knot ao nível de 5% de Probabilidade.

Bezerra et al. (2003) estudando o efeito da Resinose na fotossíntese do cajueiro constatou que não houve interação significativa para a transpiração entretanto ocorreu fechamento estomático, afetando o processo fotossintético.

Os maiores valores da concentração intercelular de CO₂ foram de 263,02 e 259,18 μmol mol⁻¹ observados nos tratamentos T7 e T8 respectivamente que compreendem a interação entre patógeno e antagonista (Tabela 2). Sendo o último tratamento citado teve maior nota na análise da severidade. Esse parâmetro fisiológico pode ter sido devidamente alterado em função das concentrações acrescidas com inóculo do *Fusarium* sp..

Resultados semelhantes foram comprovados por Lessin (2008) em plantas de soja com o aumento da concentração de CO₂ foi resultante do aumento da severidade do oídio das cultivares analisadas em conjunto, tanto nas folhas primárias quanto na planta inteira.

Entretanto nos tratamentos T9 e T10 diferentes dos anteriores apresentaram melhores respostas fisiológicas quanto à assimilação de CO₂ com média não significativa menor (Tabela 2). Cabe ressaltar que os mesmos apresentaram menores notas na severidade da doença provavelmente devido a ação do antagonista sobre o patógeno.

Os menores valores de CO₂ proporcionam à planta estímulo a abertura dos estômatos, permitindo maior influxo de CO₂ para a cavidade subestomática (RASCHKE, 1979), o que tende a um equilíbrio entre consumo e entrada de CO₂ mantendo sua assimilação aproximadamente constante.

As trocas gasosas realizadas pelas plantas como a fotossíntese, transpiração, condutância estomática e a concentração intercelular de CO₂ são parâmetros complementares e que servem para diagnosticar alterações fisiológicas nas plantas quando submetidas às condições adversas provocadas por fungos agressivos, como os ocasionados pelo gênero *Fusarium* sp..

Assim como outros patógenos causadores de murchas vasculares, fungos do gênero *Fusarium* causam danos ao sistema vascular, tornando-o obstruído, resultando em alterações na absorção, translocação e distribuição de água e nutrientes para a parte superior das plantas (MICHEREFF et al. 2005).

5. CONCLUSÕES

Os isolados de *Trichoderma* spp (T1 e T2) foram efetivos na redução do crescimento micelial de *Fusarium* sp. no teste *in vitro*;

Houve a incidência da doença em todos os tratamentos onde foi aplicado *Fusarium* sp. e *Trichoderma* spp.;

Os menores valores da severidade da doença foram observados na maior concentração (6%) do inóculo do *Trichoderma* spp.;

A efetividade do *Trichoderma* spp. no controle do *Fusarium* sp. aumentou quando a concentração do inóculo do patógeno foi menor;

Os maiores valores do peso da matéria fresca e seca da parte aérea foram obtidos nos tratamentos resultantes da interação entre patógeno e antagonista (T9 e T10);

Nos tratamentos onde foram adicionadas diferentes concentrações de *Trichoderma* spp. (T3 e T4) tiveram maiores valores de fotossíntese;

O crescimento vegetativo foi mais efetivo quando utilizou-se menor concentração do antagonista e maior concentração do *Fusarium* sp.;

Os maiores valores de transpiração e condutância estomática foram observados nos tratamentos submetidos da adição de 4% de *Trichoderma* spp. (T3) e 4% de *Fusarium* sp. (T5);

Os melhores valores da concentração intercelular de CO₂ foram obtidos nos tratamentos acrescidos de 4 e 6% de *Trichoderma* spp. (T9 e T10).

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEYSINGHE, S. Systemic resistance induced by *Trichoderma harzianum* RU01 against *Uromyces appendiculatus* on *Phaseolus vulgaris*. **Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka** , v.37, p.203 -207, 2009.

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5ª ed. San Diego: Elsevier, p 948, 2005.

ANDRADE JUNIOR, A. S.; RODRIGUES, B. H. N.; SOBRINHO, C. A.; BASTOS, E. A.; MELO, F. B.; CARDOSO, M. J.; SILVA, P. H. S.; DUARTE, R. L. R. A cultura da melancia. EMPRAPA Meio- Norte, **Coleção Plantar**, 2ª Ed, p.85, 2007.

ARAÚJO, M. A. G.; COSTA, P. M. O.; SANTOS, A. C. Potencial antagônico in vitro de *Trichoderma* spp., originários de um sistema agroflorestal, contra *Colletotrichum gloeosporioides*. **X Congresso de Ecologia do Brasil**, 16 a 22 de Setembro de 2011, São Lourenço – MG.

BAE, H.; ROBERTS, D. P.; LIM, H. S.; STREM, M. D.; PARK, S. C.; RYU, C. M.; MELNICK, R. L.; BAILEY, B. A. Endophytic *Trichoderma* isolates from tropical environments delay disease onset and induce resistance against *Phytophthora capsici* in hot pepper using multiple mechanisms. **Molecular Plant Microbe Interactions**, v.24, p.336 -351, 2011.

BEDENDO, I. Podridões de raiz e colo. IN.: AMORIN, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos. v. 1, **Ceres**, São Paulo, 704p., 2011.

BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, v. 72, p. 397-382, 1982.

BERROCAL-LOBO, M.; MOLINA, A. Arabidopsis defense response against *Fusarium oxysporum*. **Trends in Plant Science**, London, v. 13, n.3, p. 145-150, 2008.

BEZERRA, M. A.; CARDOSO, J. E.; SANTOS, A. D.; VIDAL, J. C.; ALENCAR, E. D. S. **Efeito da resinose na fotossíntese do cajueiro-anão precoce**. Embrapa Agroindústria Tropical 2003.

BEZERRA, M. A.; SANTOS, A. A.; CARDOSO, J. E. **Taxa fotossintética, produção e teor de sólidos solúveis totais de frutos de meloeiro afetados por amarelão e por mosca branca** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2004.

BOMFIM, M. P. **Antagonismo *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stolonifer* em Maracujazeiro amarelo**. 76p. (Dissertação de Mestrado) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Vitória da Conquista - BA, 2007.

BOTELHO, D. M. S.; POZZA, E. A.; ALVES, E.; BOTELHO, C. E.; POZZA, A. A. A.; RIBEIRO JÚNIOR, P. M. SOUZA, P.E. Efeito do silício na intensidade da cercosporiose e na nutrição mineral de mudas de cafeeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.78, n.1, p.23-29, 2011.

BROETTO, L.; PAZDIORA, P. C.; RAVAGNANI, L. K.; MEINERZ, C.C.; COLTRO, S.; KUHN, O. J. **Avaliação *in vitro* de isolados de *Trichoderma* sp. no controle de *Fusarium* sp. do Milho**, XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO Águas de Lindóia, Agosto de 2012.

CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; LOBO JÚNIOR, M.; SILVA, M. C. Controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* *in vitro* e em sementes, e promoção de crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, v.36, p.28-34, 2011.

CAVALCANTI, L. S.; RESENDE, M. L. V. Efeito da época de aplicação e dosagem do acibenzolar-S-metil na indução de resistência à murcha-de-Verticillium em cacauero. **Fitopatologia Brasileira** v.29, p.67-71. 2005.

CRUZ, B. L. S. **Efeito de adubos verdes sobre a fusariose do meloeiro.** Monografia (Graduação) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Graduação em Agronomia, 40 f. 2013.

DIAS, P. P. **Controle biológico de fitopatógenos de solo por meio de isolados de fungos do gênero *Trichoderma* e sua contribuição no crescimento de plantas.** 2011. 101f. Tese (Doutorado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

DI PIETRO, A.; MADRID, M. P.; CARACUEL, Z.; DELGADO-JARANA, J.; RONCERO, M. I. G. *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 4, n 5, p.315-325, 2003.

ETHUR, L. Z.; BLUME, E.; MUNIZ, M.; SILVA, A. C. F.; STEFANELO, D. R.; ROCHA, E. K. Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* em pepineiro cultivado em estufa. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 127-133, 2005.

ETHUR, L. Z. **Dinâmica populacional e ação de *Trichoderma* no controle de fusariose em mudas de tomateiro e pepineiro.**Tese (Doutorado em Agronomia) UFSM Santa Maria RS, 2006.

FAO. (2011) Food and Agriculture Organization of the United Nations. Internet Resource: <http://www.fao.org/> (verified Sep 26, 2013).

FORTES, F. O.; SILVA, A. C. F.; ALMANÇA, M. A. K. & TEDESCO, S. B.. Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de Eucalyptus por *Trichoderma* spp. **Revista Árvore** v. 31, n. 2, p. 221-228. 2007.

GAVA, C. A. T.; MENEZES, M. E. L. Eficiência de isolados de *Trichoderma* spp no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 4, p. 633-640, 2012.

GODOY, C.V.; AMORIM, L. BERGAMIN FILHO, A. Alterações na fotossíntese e na transpiração de folhas de milho infetadas por *Phaeosphaeria maydis*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 209-215, 2001.

GURGEL, M. T.; UYEDA, C. A.; GHEYI, H. R., OLIVEIRA, F. D.; FERNANDES, P. D.; SILVA, F. D. Crescimento de meloeiro sob estresse salino e doses de potássio. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, n.1, p. 3–10, 2010.

HARMAN, G. E. Multifunctional fungal plant symbionts: new tools to enhance plant growth and productivity. **New Phytologist**, v.189, p. 647- 649, 2011.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol: Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v.84, p. 377-392, 2000.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO. A.; CHET, I.; LORITO. M. *Trichoderma* species -opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology** v. 2, p. 43-56, 2004.

HERZOG, T. T.; ROCHA, N. F. C.; SILVA, B. S. O.; CALVI, D. P.; DRUMOND, Neto, A. P.; SILVA, M. B. Utilização do *Trichoderma* sp. no controle biológico da fusariose em pimenta-do-reino (*Piper nigrum*). **Tropical Plant Pathology**, 38 (Suplemento), Manaus, AM agosto, 2012.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. **The water culture method for growing plants without soil**. Berkrlry: California Agriculture Exp. Station, 32p, 1950.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Produção Agrícola - SIDRA. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em 10 de março de 2013.

KIRK, P. Index Fungorum. CABI Bioscience, CBS and Landcare Research, available online, ed. 2012. Disponível em <www.indexfungorum.org> Acesso em: 17/02/2012.

KUPPER, K. C.; GIMENES-FERNANDES, N.; GOES, A. de. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira** v. 28, p.251-257, 2003.

JADÃO, A. S.; PAVAN, M. A.; KRAUSE-SAKATE, R.; ZERBINI, F. M. Efeitos na fotossíntese e área foliar de cultivares de alface inoculadas mecanicamente com patótipos do *Lettuce mosaic virus* e *Lettuce mottle virus*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n.1, p. 11-15, 2004.

LARANJEIRA, D. Situação atual do controle biológico de *Fusarium* sp.. In: REUNIÃO DE CONTROLE BIOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: UFSM e EMBRAPA Uva e Vinho. 2001.

LEFÈVRE, A. F.; SOUZA, N. L. de. Determinação da temperatura letal para *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* e efeito da solarização sobre a temperatura do solo. **Summa Phytopathologica**, v. 19, n. 2, p.107-112, 1993.

LESLIE, J. F.; SUMMEREL, B. A. (Eds.). The *Fusarium* laboratory manual. Ames: **Wiley-Blackwell**, p.388, 2006.

LESSIN, R. C. **Efeito do aumento da concentração de CO₂ atmosférico sobre o oídio, a ferrugem e o desenvolvimento de plantas de soja**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista Botucatu-SP, 2008.

LIMA, G. S. A.; ASSUNÇÃO, I. P.; VALLE, L. A. C. Controle genético de patógenos radiculares. In: Michereff, S. J.; Andrade, D. E. G. T.; Menezes, M. (Eds.) Patógenos radiculares em solos tropicais. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2001.

LOHMANN, T. R.; PAZUCH, D., STANGARLIN, J. R. SELZLEIN, C. NACKE, H. Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. para controle de *Sclerotium rolfsii* em soja. **Revista Brasileira de Agroecologia**. v. 2, n. 2, 2007.

LOPES, R. B. A Indústria no Controle Biológico: Produção e Comercialização de Microrganismos no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. Biocontrole de doenças de plantas: Uso e Perspectivas. 1ª edição. Jaguariúna-SP: **Embrapa Meio Ambiente**, p.15-28, 2009.

LOUZADA, G. A. S., CARVALHO, D. D. C., MELLO, S. C. M., LOBO JÚNIOR, M., MARTINS, I.; BRAÚNA, L. M. Antagonist potential of *Trichoderma* spp. from distinct agricultural ecosystem against *Sclerotinia sclerotiorum* and *Fusarium solani* **Biota Neotrop.**, v. 9, n. 3, 2009.

LUDWIG, J.; PEDRINHO, D. R.; PINHEIRO, P. I. S.; MATIAS, R. Efeito do uso de substrato contendo *Trichoderma* spp. na incidência de podridão de estacas causada pelo fungo *Rhizoctonia solani* e no desenvolvimento de mudas de *Eucalyptus urograndis*. **Tropical Plant Pathology** 37 (Suplemento), 45º Congresso Brasileiro de Fitopatologia - Manaus, AM, agosto 2012.

MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, E. S. G. **Epidemiologia de doenças radiculares**. In: Michereff, S. J., Andrade, D. E. G. T. Menezes, M. (Eds.) Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais. Recife. Universidade Federal Rural de Pernambuco p.198-234, 2004.

MASSOLA Jr, N. S.; KRUGNER, T. L. Fungos Fitopatogênicos. In: AMORIM, L; REZENDE, J. A. M; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia:**

princípios e conceitos. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres v. 1, p.149-206, 2011.

MENEZES, M.; SILVA-HANLIN, D. M. W. **Guia Prático para fungos fitopatogênicos**, Recife, Imprensa Universitária, UFRPE, p.106, 1997.

MENEZES, J. P. **Caracterização populacional e molecular, e seleção de *Trichoderma* spp. para biocontrole de *Fusarium* *Fusarium* sp. em crisântemo.** 2007.112p. Tese de Doutorado (Programa de Pós-Graduação em Agronomia). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

MENEZES, V.O. **Inoculação de *Fusarium* moniliforme (sheld.) em sementes de duas cultivares de pepino através da técnica da restrição hídrica e sua influencia sobre a qualidade fisiológica.** 2009. 85 p. Tese de Doutorado (Programa de Pós-Graduação em Agronomia). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

MICHEREFF, S. J.; BARROS, R. **Proteção de plantas na agricultura sustentável.** Recife: Universidade Federal e Rural de Pernambuco, 2001.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais.** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, Imprensa Universitária, 2005. P.153-180.

MOHAMED, H. A. L. A.; HAGGAG, W. M. Biocontrol potential of salinity tolerant mutants of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37 n .2, p.181-191, 2006.

MONTALVÃO, S. C. L. **Potencial de *Trichoderma* spp. no biocontrole de doenças do tomateiro.** 2012. 105 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, DF 2012.

MORAIS, J. R.; VALDIRENE, N. M. Avaliação do Potencial Antagônico de Espécies de *Trichoderma* Isolados de Vários Agroecossistemas, **Anais do VIII Seminário de Iniciação Científica e V Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS** novembro de 2010.

MORAIS, M. S.; NASCIMENTO, L. C.; MOREIRA, K. A.; CAVALCANTI, M. S.; OLIVEIRA, N.T. Levantamento e avaliação da incidência das doenças da mandioca no estado da Paraíba. **Summa Phytopathologica**, v. 39, n. 3, p.204-206, 2013.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2º Ed. Atual. Lavras : Editora UFLA, p.729, 2006.

OKUBARA, P.; PAULITZ, T. Root defense responses to fungal pathogens: a molecular perspective. **Plant and Soil, Dordrecht**, v. 274, n. 1-2, p.215-226, 2005.

OLIVEIRA, M. G. F.; SOARES, J. A.; CEZAR, M. A.; FREIRE, M. S.; VASCONCELOS, W. S.; CARDOSO, T. A. L. Ocorrência de fungos fitopatogênicos em melancia cultivada na Paraíba. **Tropical Plant Pathology**, 38 (Suplemento), Manaus, AM agosto, 2012.

PEDRO, E. A. S.; HAKAKAVA, R.; LUCON, C. M. M.; GUZZO, S. D. Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. **Pesquisa. Agropecuária. Brasileira**. Brasília, v.47, n.11, p.1589-1595, 2012.

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

PUIATTI, M.; SILVA, D. J. H. **Cultura da melancia**. In: FONTES, PCR. (Ed.) Olericultura: teoria e prática. Viçosa (MG), p.385-406, 2005.

RAMOS, A. R. P.; SANTOS, R. L.; AMARO, A. C. E.; FUME, S. L. A. A.; BOARO, C. S. F.; CARDOSO, A. I. I. Eficiência do silicato de potássio no controle do oídio e no desenvolvimento de abobrinha de moita. **Horticultura Brasileira**, v. 31, p. 432-438, 2013.

RASCHKE, K. Movements using turgor mechanisms: movements of stomata. In: HAUPT, W.; FEINLEIB, M.E. (Ed.). **Encyclopedia of Plant Physiology**. Berlin: Springer-Verlag, 1979. p.383-441. (Physiology of movements. New series, 7).

REMUSKA, A. C.; PRIA, M. D. **Efeito de *Bacillus thuringiensis* e *Trichoderma* sp. no crescimento de fungos fitopatogênicos**, Exatas Terra, Ci. Agr. Eng., Ponta Grossa, v. 13, n.3, p.31-36, 2007.

RESENDE, G. M.; COSTA, N. D.; DIAS, R. C. S. Densidade de plantio na cultura da melancia no vale do São Francisco. Petrolina: EMBRAPA/CPATSA, (Comunicado Técnico, 125). p.4, 2006.

ROCHA, M. R. **Sistemas de cultivo para a cultura da melancia**. 2010. 76p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

SAEG. **Sistema para Análises Estatísticas**, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

SANTOS, G. R.; ZAMBOLIM, L.; REZENDE, J. A. M.; COSTA, H. **Manejo integrado de doenças da melancia**. Viçosa: p. 62. 2005

SANTOS, G. R.; CAFÉ-FILHO, A. C.; LEÃO, F. F.; CÉSAR, M.; FERNANDES, L. E. Progresso do crestamento gomoso e perdas na cultura da melancia. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 2, p. 228-232, 2005.

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

SHOONHOVEN, A. V.; PASTOR-CORRALES, M. A. **Sistema estándar para la evaluación de germoplasma de frijol** . Cali: CIAT, 1987.

SILVA, W. K. D.; Antagonismo de *Trichoderma viride* Sobre Fungos Fitopatogênicos, *Colletotrichum* spp., *Cercospora musae* e *Asperisporium caricae* em Fruteiras Tropicais, **Revista Brasileira De Agroecologia** No. 2 Vol. 4 nov. 2009.

SILVA, A. N. **Efeito de produtos químicos e de *Trichoderma* spp. no controle de *Fusarium solani* do maracujazeiro** . Vitória da Conquista–BA: UESB, 2011. 58p. (Dissertação–Mestrado em Agronomia, Área de concentração em Fitotecnia) 2011.

SILVEIRA, E. B.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. Severidade da mancha-aquosa em meloeiro sob diferentes condições de molhamento foliar e concentração de inóculo de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 2, 2003.

SRIRAM, S.; MANASA, S. B.; SAVITHA, M. J. Potential use of elicitors from *Trichoderma* in induced systemic resistance for the management of *Phytophthora capsici* in red pepper. **Journal of Biological Control**, v.23, p.449-456, 2009.

TABARANÃ, M. G. F.; DUARTE, M. L. R, **Efeito de *Trichoderma* spp. na redução da população de patógenos causadores de doenças radiculares em pimenteira-do-reino**, Embrapa Amazônia Oriental/2006.

VIEIRA, J. V.; AVILA, A. C.; PINTO, M. N.; SILVA, B. M. DA; BORGES, C. L. Avaliação da coleção de germoplasma de melancia da Embrapa Hortaliças para tolerância a viroses. Brasília: Embrapa Hortaliças (**Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**), 2005.

VINALE, F.; SIVASITHAM PARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; WOO, S.L.; LORITO, M. *Trichoderma* - plant -pathogen interactions. **Soil Biology and Biochemistry** , v. 40, p.1-10, 2008.

WOO, S. L.; LORITO, M. Exploiting the interactions between fungal antagonists, pathogens and the plant for biocontrol. In: VURRO, M.; GRESSEL, J. (Ed.). **Novel biotechnologies for biocontrol agent enhancement and management**. Amsterdam: Springer, p.107-130, 2007. (NATO security through science series).

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

ZAMBOLIM, L. Proteção de plantas: **Manejo Integrado de Doenças de Plantas**. Viçosa, 88 p., 2010.

