



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

CIRO HIDEKI SUMIDA

**BIOCONTROLADORES E SUBSTRATOS NA PRODUÇÃO
DE MUDAS DE TOMATEIRO**

Londrina
2009

CIRO HIDEKI SUMIDA

**BIOCONTROLADORES E SUBSTRATOS NA PRODUÇÃO
DE MUDAS DE TOMATEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação, em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de concentração: Fitossanidade.

Orientador: Prof. Doutor Martin Homechin

Londrina
2009

**Catálogo na publicação elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

S955b Sumida, Ciro Hideki.
Biocontroladores e substratos na produção de mudas de tomateiro /
Ciro Hideki Sumida. – Londrina, 2009.
66 f. : il.

Orientador: Martin Homechin.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual
de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, 2009.

Inclui bibliografia.

1. Tomate – Doenças e pragas – Teses. 2. Agentes no controle
biológico de pragas – Teses. 3. Fitopatologia – Teses. 4. Pragas
agrícolas – Controle biológico – Teses. I. Homechin, Martin. II.
Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias.
Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU 632.937

CIRO HIDEKI SUMIDA

**BIOCONTROLADORES E SUBSTRATOS NA PRODUÇÃO DE
MUDAS DE TOMATEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação, em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de concentração: Fitossanidade.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Martin Homechin – UEL

Prof. Dr. Hideaki Wilson Takahashi – UEL

Prof. Dr. João Batista Vida – UEM

Prof. Dr. Marcelo Giovanetti Canteri – UEL

Dra. Alaíde Aparecida Krzyzanowski – IAPAR

Prof. Dr. Martin Homechim
Orientador
Universidade Estadual de Londrina

Londrina, 19 de fevereiro de 2009.

DEDICATÓRIA

A Deus, aos meus pais e professores.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Takanori Sumida e Sumika Sumida, pelo esforço e pela dedicação que tiveram durante toda a minha formação.

Aos meus irmãos, Célio Norio Sumida, Celso Yukishigue Sumida e Claudio Naoki Sumida, pela amizade e companheirismo durante todos esses anos de vida.

Aos meus orientadores, Dr. Martin Homechin e Dra. Débora Cristina Santiago, responsáveis pela realização deste trabalho, pela amizade e por todos ensinamentos e orientações.

Ao Dr. Léo Pires Ferreira, pela amizade e sugestões, pelos conselhos e pela imensa contribuição no desenvolvimento do trabalho.

À comissão examinadora, Prof. Dr. Hideaki Wilson Takahashi, Prof. Dr. João Batista Vida, Prof. Dr. Marcelo Giovanetti Canteri e Dra. Alaíde Aparecida Krzyzanowski pela cooperação na avaliação da dissertação.

À minha namorada Patrícia Ogino, pela paciência e compreensão nas horas mais difíceis.

Ao Dr. José Hiroshi Ogino e à Dra. Alice Takemoto Ogino da HORTSOL – Comércio de Insumos Agropecuários Ltda, pela colaboração e sugestões no desenvolvimento do trabalho.

À Bióloga Idenize Pedrina Orsina, pela amizade, paciência, atenção e pelo auxílio durante todo processo de elaboração e desenvolvimento do trabalho.

E aos meus amigos e colegas da graduação, mestrado e doutorado, em especial, os graduandos Leonardo Tamanini e Douglas Casaroto Peitl, pela amizade e auxílio na avaliação dos ensaios.

Ao Dr. Celson e Dr. Lécio Kaneko da BALLAGRO – Agro tecnologia, pela paciência, orientação e auxílio no fornecimento de produtos.

Ao Dr. Henrique Heici Sakai da SAKATA e ao Dr. Wilson Andrey Boiko da IHARABRAS S. A. Indústrias Químicas, pelo fornecimento de produtos.

SUMIDA, C.H. **Biocontroladores e substratos na produção de mudas de tomateiro.** 2009. 67f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

RESUMO

A produção de mudas constitui-se em numa das etapas mais importantes, pois influencia diretamente no desempenho final das plantas. São escassas as informações e os conhecimentos a respeito das melhores misturas para elaboração de substratos com boa qualidade. As populações microbianas nativas, presentes em substratos de mudas, desempenham funções similares às do solo, produzindo e liberando substâncias estimuladoras do crescimento vegetal, estabelecendo simbiose mutualista com plantas e participando no controle biológico de pragas e doenças. Na atual situação, a utilização irracional de agroquímicos está sendo repensada e a sociedade se conscientiza cada vez mais com relação à preservação do meio ambiente, buscando novas alternativas para a proteção das plantas contra patógenos. O fungo *Trichoderma* spp. vem sendo utilizado como medida de controle alternativa. Sua eficiência no controle de fitopatógenos é observada principalmente em relação àqueles com estruturas de resistência consideradas difíceis de ser atacadas por microrganismos como esporos, esclerócios, clamidósporos e microesclerócios. Assim, o presente estudo teve como objetivos: a) selecionar isolados de *Trichoderma* spp. com potencial para o controle do tombamento de mudas de tomateiro causado por *Rhizoctonia solani*., *Pythium* sp. e *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*; e b) avaliação da influência dos diferentes tipos de substratos e dos agentes de controle biológico no tombamento de mudas na cultura do tomateiro. O primeiro ensaio foi composto por quatro testes de seleção: confrontação direta, produção de mudas, antibiose de metabólitos voláteis e não-voláteis, onde foram testados vinte dois isolados de *Trichoderma* spp. O segundo ensaio foi a avaliação de seis diferentes substratos e três medidas de controle para produção de mudas de tomateiro. Os isolados de *Trichoderma* spp. Th25 , Th34 e Th37, mostram potencial antagônico para utilização em programas de controle biológico de tombamento na cultura do tomateiro causado por *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Pythium* sp. e *R. solani*, principalmente, devido à produção de metabólitos observada nos testes de antibiose. Para os demais isolados de *Trichoderma* spp., os dados foram inconclusivos devido à falta de correlação dos dados entre os testes *in vitro* e *in vivo*. Nos testes de substratos, a utilização de substratos comerciais com o Bioplant® e Turfa Fértil® é mais indicada e mais segura, devido as características físicas e químicas presentes em cada um. A aplicação de microrganismos biocontroladores, com produtos comerciais ou com isolados selvagens de *Trichoderma* spp., é mais eficiente no controle de tombamento de mudas de tomateiro causado por *Rhizoctonia solani*, diminuindo a incidência do patógeno e favorecendo o desenvolvimento das plântulas. No caso do controle de *Pythium* sp. e *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, a aplicação de produtos químico ou biológico não mostra diferença no controle de tombamento.

Palavras-chave: Controle biológico. *Trichoderma*. *Pythium*. *Fusarium*. *Rhizoctonia*.

SUMIDA, C.H. **Bioprotectants and substrates in the tomato seedling production.** 2009. 67p. Dissertation (Master`s degree in Agronomy) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

ABSTRACT

The seedling production is one of the most important stages, because it directly influences the final development of the plants. There is little information and knowledge about the best mixtures for the elaboration of good quality substrate. The native microbial populations, which are present in seedling substrate, have similar functions as the soil, producing and liberating substances that stimulate the vegetal growth; establishing mutualistic symbiosis with plants and biologic control of plagues and diseases. In the current situation, the irrational use of chemistry products is being reconsidered and the society is more and more concerned about the preservation of the environment, searching for new alternatives for the protection of the plants against pathogen. The fungus *Trichoderma* spp. is being used as an alternative control measure. Its efficiency in the control of phytopathogen is especially observed in relation to those with a defense structure hard of being attacked by microorganisms, like spores, sclerotia, chlamydospore and micro sclerotia. So, the present study has as objective: a) select isolate of *Trichoderma* spp. with potential to tomato seedling damping-off control caused by *Rhizoctonia solani*., *Pythium* sp. and *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*; and b) evaluation of the influence of different types of substrate and biologic control agents in the seedling damping-off in the tomato culture. The first phase was made by four selection tests: confrontation, seedling production, and antibiosis of volatile and non volatile metabolites, where there have been tested isolate of *Trichoderma* spp. The second phase was the evaluation of six different substrate and three measures of control to the tomato seedling production. The isolate of *Trichoderma* spp. Th25 , Th34 and Th37, show antagonist potential for use in programs of biologic control of damping-off in the tomato culture caused by *F. oxysporum*, *Pythium* sp. and *R. solani*, especially duo to the production of metabolites observed in the antibiosis tests. To the other isolate of *Trichoderma* spp. The data were inconclusive duo to the lack of correlation of the data between the tests *in vitro* and *in vivo*. In the substrate tests, the use of commercial substrate with the Bioplant® and Turfa Fértil® is safer and more indicated, duo to the physical and chemical characteristics presented in each one. The application of biottractant microorganisms, with commercial products or with *Trichoderma* spp.wild isolate, is more efficient in the tomato damping-off control caused by *Rhizoctonia solani*, reduction of the pathogen incidence and favouring the seedling development. In the case of *Pythium* sp. and *F. oxysporum* control, the application of chemical or biological products shows no significant difference in the damping-off control.

Keywords: Biologic control. *Trichoderma*. *Pythium*. *Fusarium*. *Rhizoctonia*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1 CULTURA DO TOMATEIRO	11
2.2 PRODUÇÃO DE MUDAS	12
2.3 DOENÇAS DO TOMATEIRO	14
2.4 PATÓGENOS ASSOCIADOS ÀS MUDAS	15
2.5 CONTROLE BIOLÓGICO DE PATÓGENOS	16
2.6 <i>Trichoderma spp</i>	18
3 ARTIGO A	21
RESUMO	21
ABSTRACT	22
INTRODUÇÃO	23
MATERIAL E MÉTODOS	24
RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	37
4 ARTIGO B	40
RESUMO	40
ABSTRACT	41
INTRODUÇÃO	42
MATERIAL E MÉTODOS	43
RESULTADOS	47
DISCUSSÃO	50
CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	56
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	60
REFERÊNCIAS	61

1 INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill) é uma das hortaliças mais importantes do mundo. Trata-se de uma cultura com ciclo relativamente curto e de altos rendimentos, cuja área de cultivo aumenta a cada dia (NAIKA et al., 2006). No Brasil, é considerada uma das principais hortaliças produzidas (MARIN et al., 2005) com produção de 3,299 milhões de toneladas no ano de 2007 (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2008), com destaque para os estados de Goiás, São Paulo e Minas gerais (EPAGRI/C EPA, 2008).

Na tomaticultura, a produção de mudas constitui-se numa das etapas mais importantes, pois dela depende o desempenho das plantas nas áreas de produção, seja do ponto de vista nutricional, ou do tempo necessário à produção (CARMELLO, 1995). São escassas as informações a respeito das melhores misturas para elaboração de substratos com boa qualidade, principalmente por parte dos produtores (PEREIRA; MARTINEZ, 1999). Segundo Fernandes et al. (2006), o substrato tem como função dar suporte às plantas, permitir boa aeração e retenção de água ao sistema radicular, ser de fácil manejo, de baixo custo e, principalmente, isento de fitopatógenos.

A microbiota presente no solo ou no substrato pode exercer efeitos diretos e indiretos na produtividade e na qualidade dos produtos agrícolas (SIQUEIRA; FRANCO, 1988). As populações microbianas nativas, presentes em substratos para mudas desempenham funções similares às do solo, seja decompondo os resíduos orgânicos com liberação de nutrientes e CO₂, seja produzindo e liberando substâncias estimuladoras do crescimento vegetal, seja estabelecendo simbiose mutualista com plantas ou realizando controle biológico de pragas e doenças (SILVEIRA et al., 2002).

O controle biológico pela ação dos microrganismos não patogênicos pode manter o equilíbrio no agroecossistema, de modo que o hospedeiro, quando na presença do patógeno, não sofra danos significativos (GRIGOLETTI JUNIOR et al., 2000). Na atual situação, a utilização excessiva de agroquímicos está sendo repensada e a sociedade se conscientiza cada vez mais com relação à preservação do meio ambiente, buscando novas alternativas para a proteção das plantas contra patógenos (CAVALCANTI et al., 2005). Em períodos anteriores, o objetivo do

controle de doenças de plantas era eliminar completamente o patógeno com o uso contínuo de produtos químicos, muitas vezes, de modo indiscriminado e sem mensurar as conseqüências posteriores. Essa prática levou a modificações no ambiente, como o surgimento de patógenos resistentes, ocorrência de surtos de doenças consideradas anteriormente secundárias, redução da população de microrganismos benéficos, e efeitos deletérios (nocivos) ao homem, aos animais e ao ambiente, devido ao acúmulo de resíduos no solo, na água e nos alimentos (GRIGOLETTI JUNIOR et al., 2000).

O emprego intensivo de agrotóxicos na tomaticultura, além de onerar os custos de produção, favorece a seleção de patógenos resistentes a estes produtos, eliminação da flora e fauna benéficas, e causa impactos negativos no meio ambiente, colocando em risco a saúde dos olericultores e consumidores, seja pela contaminação durante a aplicação de defensivos na cultura, seja pela intoxicação decorrente do consumo *in natura* de tomates contaminados por resíduos (BETTIOL; GHINI, 2003).

O fungo *Trichoderma* spp. vem sendo utilizado como medida de controle alternativa. Sua eficiência no controle de fitopatógenos é observada, principalmente, em relação àqueles com estruturas de resistência consideradas difíceis de ser atacadas por microrganismos como esporos, esclerócios, clamidósporos e microesclerócios (MELO, 1996).

Estudos de Kerkeni et al. (2007) sobre tombamento na cultura do pepino, mostraram redução significativa da doença, através do uso de biocontroladores como *Trichoderma* spp. Recentemente no Brasil, diferentes formulações à base de *Trichoderma* spp. vêm sendo comercializadas para aplicação em substratos destinados à produção de mudas, especialmente de hortaliças e ornamentais, onde têm sido observadas reduções significativas dos danos causados por *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani* Kuhn (BETTIOL, 2006) e *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* Snyder e Hansen (DATNOFF et al., 1995; LARKIN; FRAVEL, 1998; COTXARRERA et al., 2002).

Assim, o presente estudo teve como objetivos: a) selecionar isolados de *Trichoderma* spp. com potencial para o controle do tombamento de mudas de tomateiro causado por *Rhizoctonia solani*., *Pythium* sp. e *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*; e b) avaliar a influência do controle biológico e os diferentes tipos de substratos no tombamento de mudas de tomateiro.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CULTURA DO TOMATEIRO

O tomateiro pertence à família *Solanaceae*, subgênero *Eulycopersicon*, sendo as cultivares comerciais pertencentes ao gênero *Lycopersicon esculentum*. Seu centro de origem é a região Andina, desde o Equador até o norte do Chile, mas sua domesticação ocorreu no México (MINAMI; HAAG, 1989; ALVARENGA, 2004).

É cultivado como cultura anual, classificada como de meia estação, com temperaturas ótimas para o crescimento situando-se entre 21° e 23°C; sob temperaturas menores que 10°C, tem seu crescimento e desenvolvimento paralizados. Nas plantações oriundas de mudas e com cultivares muito precoces, seu ciclo de crescimento e reprodução pode se completar em menos de 100 dias (JONES JUNIOR et al., 1991).

Em 2005, a China foi o maior produtor de tomate, responsável por 25,3% da produção mundial, seguida pelos Estados Unidos, com 10,2%, e pela Turquia, com 7,8% do total mundial. Nesse mesmo ano, o Brasil foi o 9° maior produtor, o 12° em área cultivada e o 4° em produtividade média, com produção de 3,1 milhões de toneladas, 55 mil ha e média de 57,4 toneladas/ha, sendo responsável por 2,6% da produção mundial, em 1,3% da área plantada no mundo (EPAGI/CEPA, 2007).

É uma das hortaliças mais consumidas no mundo, na forma *in natura* ou industrializado, devido ao seu valor nutritivo e baixa perecibilidade, quando comparado a outras hortaliças (TIGHELAAR, 1991). Sua utilização na indústria é por meio de frutos enlatados, secos e molhos, que constituem produtos processados de alta importância econômica. Seu consumo contribui para uma dieta saudável e bem equilibrada, sendo importante fonte de minerais, vitaminas, aminoácidos essenciais, açúcares, fibras dietéticas e, principalmente, de licopeno (DORAIS et al., 2001; NAIKA et al., 2006), substância considerada como o “mais poderoso antioxidante do mundo” e que previne o desenvolvimento de doenças cancerígenas (JONES JUNIOR, 1998).

2.2 PRODUÇÃO DE MUDAS

Para implantação da lavoura, a produção de mudas é uma das etapas mais importantes (CARMELLO, 1995). Segundo Gonçalves (1994), através do emprego de mudas de alta qualidade, pode-se obter excelentes plantas adultas, sejam ornamentais, frutíferas ou hortaliças. Portanto, a muda pode ser considerada como uma estrutura biológica fundamental em empreendimentos hortícolas, a qual deve apresentar características como ter boa constituição genética, não mostrar sintomas ou sinais de doenças, danos mecânicos e físicos, ser isenta de estruturas de propagação de plantas daninhas, ter custo compatível com a necessidade do produtor e ser de fácil transporte e manuseio (MINAMI, 1995). Além disso, ser oriunda de uma boa seleção de matrizes, sementes ou estruturas vegetativas de propagação, produzida adequadamente em substratos com boa nutrição mineral, com tratos fitossanitários eficientes e irrigação bem feita (SCARPARE FILHO, 1994; GONÇALVES, 1994)

O local de produção ou o ambiente de formação das mudas e os tratos culturais devem ser minuciosamente definidos e executados (SOUZA et al., 2007). As mudas do tomateiro são consideradas como tolerantes ao transplante. Essa tolerância está ligada a certas qualidades das mudas e/ou condições em que é realizado o transplante como: estado fisiológico das mudas, tamanho ou idade das mudas, tempo decorrido entre o transplante e o suprimento de água, condições ambientais que afetam as funções fisiológicas até a emissão de folhas, formação de raízes, habilidade das raízes mais velhas em absorver água, profundidade de plantio das mudas e tipos de mudas (MINAMI, 1995).

Atualmente, na produção de mudas, a semeadura vem sendo realizada em bandejas de isopor ou plásticas de polietileno, com vantagens e facilidades para o manejo (MIRANDA, 1998).

Com a crescente demanda e as exigências do sistema produtivo, cada vez mais, a produção de mudas vem sendo realizada por produtores especializados, fornecedores de mudas aos produtores finais (ANDRIOLO et al, 2001).

Na obtenção de mudas de boa qualidade, é necessária a utilização de boas técnicas. Dentre esses fatores importantes, esta o substrato (PEIXOTO,

1986), cuja qualidade depende da sua estrutura física e composição química (MIRANDA, 1998), no sentido de garantir, através da sua fase sólida, a manutenção mecânica do sistema radicular e a estabilidade da planta, por meio da fase líquida, o suprimento de água e nutrientes, e a fase gasosa, o suprimento de oxigênio e o transporte de dióxido de carbono entre as raízes e o ar externo (LAMAIRE, 1995; SOUZA et al., 2007). O substrato exerce mais do que a função de suporte às plantas e, assim, deve apresentar-se isento de fitopatógenos (FERNANDES et al., 2006).

Substratos comerciais orgânicos ou misturas são produzidos por produtores de mudas ou não, empregando-se processos fermentativos em alta temperatura, entretanto sem a adequada avaliação das diferentes proporções de compostos orgânicos e solo, para caracterização das melhores misturas (SOUZA et al., 2007).

A maioria dos substratos comerciais são compostos por casca de *Pinus*, turfa, perlita e vermuculita, apresentando diferenças quanto às proporções utilizadas e à suplementação mineral adicionada. Devido ao pequeno volume de substrato utilizado nas bandejas e a alta lixiviação, a manutenção de níveis adequados de nutriente é prejudicada pela frequência de irrigação, resultando na insuficiência de nutrientes para o bom desenvolvimento das plantas (TAYSA, 2001).

Quanto à qualidade sanitária do substrato, os comerciais geralmente não apresentam problemas com plantas daninhas, nematóides e microrganismos patogênicos. Mas nos substratos a base de solo ou misturas feitas pelo próprio produtor esses problemas ocorrem, principalmente quando não é realizado nenhum tipo de tratamento. A esterilização pode ajudar, mas pode ocorrer a recontaminação por patógenos através do vento, ferramentas e água de irrigação (MINAMI, 1995).

A qualidade dos substratos é um aspecto pouco estudado, quando relacionado à microbiota natural, a qual pode exercer efeitos diretos e indiretos na produtividade e na qualidade dos produtos agrícolas (SIQUEIRA; FRANCO, 1988).

Segundo Silveira (2002), populações microbianas naturais presentes nos substratos destinados à formação de mudas desempenham funções similares às do solo, tais como decomposição de resíduos orgânicos, com a liberação de nutrientes e CO₂, produção de substâncias estimuladoras do crescimento vegetal, estabelecimento de simbiose mutualista com plantas e controle biológico de pragas e doenças.

2.3 DOENÇAS DO TOMATEIRO

Na agricultura, as doenças bióticas são relatadas desde seu início e seus agentes causais disseminaram-se com a prática da monocultura. Mesmo as melhores práticas para controle e as novas tecnologias de cultivo não são suficientes para resolver todos os problemas fitopatológicos (CAVALCANTI et al., 2005).

A importância das doenças, nas diferentes regiões, depende de fatores como temperatura, umidade, época do ano, variedades ou híbridos cultivados, manejo da cultura (KUROZAWA; PAVAN, 1997), nutrição da planta, irrigação, insetos vetores e aplicação de substâncias com ação sobre fungos e bactérias (SILVA, 2006).

Os conhecimentos da etiologia, da sintomatologia e dos métodos gerais de controle permitem a identificação precoce e o tratamento preventivo das doenças. O controle deve ser entendido como prática permanente, com emprego de medidas integradas para evitar a ocorrência da doença ou, pelo menos, diminuir os danos e prejuízos que possam ser causados. Na cultura do tomateiro, são relatadas mais de 200 doenças de diferentes etiologias que resultam em reduções significativas da produtividade. Embora raramente mais de cinco dessas doenças ou distúrbios incidam ao mesmo tempo, sua ocorrência pode resultar em elevados danos e prejuízos, limitando a produção a determinadas épocas de cultivo e regiões do País, principalmente, devido à falta de medidas eficazes para o controle ou pelo elevado custo de produção devido à aplicação de agrotóxicos (LOPES; ÁVILA, 2005).

No sentido de evitar perdas, os produtores empregam produtos químicos, o que, por vezes, elevam os custos de implantação e condução da cultura, devido à grande pressão no mercado para a venda desses produtos. Diante dessa situação, o manejo integrado de doenças torna-se uma ferramenta indispensável para as culturas como o tomateiro, com garantia de maior eficiência no controle das doenças e racionalização do uso de agroquímicos (VALE et al., 2004).

O controle integrado de doenças é a adoção conjunta de diferentes métodos, como uso de sementes saudáveis, erradicação de plantas com sintomas, rotação de culturas, manejo da fertilidade e da irrigação, controle químico e plantio

de cultivares resistentes que, quando empregados de forma conjunta, resultam em maior eficiência do controle e representam menor custo financeiro e ambiental (SILVA, 2006).

2.4 PATÓGENOS ASSOCIADOS ÀS MUDAS

No tomateiro, o tombamento de mudas é causado principalmente por fungos de solo, destacando-se os do gênero *Pythium* sp. e *Rhizoctonia solani* Kuhn (LOPES; SANTOS, 1994) e, em condições de alta umidade, também pode ser causado pelo *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* Snyder e Hansen (VALE et al., 2004).

O *Pythium* sp. sobrevive saprofiticamente como habitante do solo, sendo disseminado pela água e, em épocas chuvosas, pode atacar plantas com até mais de 10cm de altura, formando lesões com aspecto aquoso e escuro, podendo estender-se até 4cm acima do colo da planta. São favorecidos com o plantio sucessivo em um mesmo local, podendo também ocorrer na forma de reboleiras nos canteiro. Em solos com alta densidade de inóculo, geralmente ocorre a destruição do caulículo e da radícula, antes da emergência das plântulas, dando impressão de má germinação das sementes. Os sintomas em plântulas são afinamento, necrose na região do colo, murchamento, tombamento e conseqüente morte (KUROZAWA; PAVAN, 1997).

O fungo *Rhizoctonia solani* pode causar sintomas distintos, como tombamento (pré-emergente, pós-emergente e após o transplântio) e podridão dos frutos. Esse fungo é polífago e pode permanecer no solo como saprófita por longos períodos em restos culturais. Sua ocorrência geralmente está associada a chuvas ou irrigações excessivas e alterações das plantas devido ao excesso de vigor vegetativo favorecidas pela alta umidade no solo ou no substrato (LOPES; SANTOS, 1994). Práticas como espaçamento reduzido entre plantas, irrigação excessiva- e intenso crescimento vegetativo das mudas no viveiro podem favorecer a disseminação e a multiplicação do patógeno. Como fonte de inóculo, tem-se as partes da planta contendo micélio e escleródios do patógeno (ALFENAS et al., 2004).

O *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ocorre praticamente em todas as regiões onde se cultiva o tomateiro (KUROZAWA; PAVAN, 1997). Ataca plantas de espécies do gênero *Lycopersicon*, das espécies *Lycopersicon esculentum* e *L. pimpinellifolium* e solanáceas ornamentais, malváceas e gramíneas. Dissemina-se rapidamente, chegando a destruir até 100% das plantas e reduzir o período de colheita em áreas cultivadas por muito tempo. Sobrevive no solo por vários anos, sendo favorecido pela acidez, pelo teor de areia e pela temperatura elevada no solo. Na produção de mudas pode desenvolver sintomas como clareamento das nervuras das folhas, curvamento de pecíolos e tombamento das mudas. Em condições de campo, o sintoma típico é o amarelecimento das folhas, iniciando-se pelas mais velhas em plantas de início de frutificação (VALE et al., 2004). Com a evolução da doença, pode ocorrer necrose marginal nas folhas, murcha total da planta, queda de folhas, flores e frutos, surgimento de raízes adventícias e, finalmente, a morte (BEDENDO, 1995).

2.5 CONTROLE BIOLÓGICO DE PATÓGENOS

O controle biológico entende-se pela prática da redução do inóculo ou das atividades determinantes dos patógeno que levam a ocorrência de doenças nos seus estados de atividade ou dormência, de um ou mais organismos. Também ocorre naturalmente pela manipulação do ambiente, do hospedeiro ou do antagonista, pela introdução de um ou mais biocontroladores com práticas agrícolas que tornem o ambiente favorável a esses, levando à indução da resistência da planta hospedeira ou ambos. Pode-se ainda adequar o hospedeiro às atividades antagônicas dos microrganismos, pela introdução de massas de antagonistas, linhagens não patogênicas ou outros organismos ou agentes benéficos (BIZI, 2007).

Essa prática de controle tem sido utilizada há muito tempo, desde 5000 a.C, aproximadamente. Os chineses costumavam deixar o solo sob repouso quando ocorria baixa produtividade, no sentido de aumentar intuitivamente as chances da recuperação da população de antagonistas (KHAN et al., 1971).

Cook e Baker (1983) relataram o costume de se recorrer a procedimentos curiosos para tratamento de ferimentos de podas de árvores, como

aplicação de fezes e urina, pincelamento de mistura de esterco, cal e cinza, e até a vedação do ferimento com lama. Esse material aplicado continha uma diversidade de microrganismos desconhecidos, mas que, de alguma forma, exerciam antagonismo contra os patógenos-alvo.

Os primeiros relatos envolvendo a introdução consciente de antagonistas para controle biológico de doenças de plantas tiveram início no século XX, entre as décadas de 1920-1940 (ROMEIRO, 2007). Hartley (1921) introduziu fungos previamente selecionados em viveiros de mudas de essências florestais para controle de tombamento. Henry (1931) selecionou actinomicetos, bactérias e fungos para aplicação em solo estéril, para conferir proteção relativa de plantas de trigo ao *Helminthosporium sativum*.

Estudos documentam a relação existente entre a supressão de doença de planta e a diversidade ou abundância da comunidade microbiana (AGRIOS, 1997). O emprego de agentes de controle biológico se insere no agronegócio, por meio do controle natural de doenças de plantas e pragas, com substituição ou complementação dos produtos químicos nos seus manejos. Sua aplicação melhora e/ou aumenta a qualidade do produto agrícola e contribui para a preservação dos recursos naturais, aumentando a sustentabilidade dos agroecossistemas sem causar poluição ambiental (PEIXOTO, 2005).

Como mecanismos de controle biológico de fitopatogênos por microrganismos antagônicos, estão envolvidos processos como antibiose, competição, parasitismo, hiperparasitismo e hipovirulência. Na antibiose, a interação dos microrganismos resulta na produção de um ou mais metabólitos com efeito antagônico ao outro microrganismo. A competição resulta da interação entre dois ou mais organismos, os quais disputam o mesmo substrato, espaço ou oxigênio. No parasitismo, um microrganismo vive e se alimenta de outro e, no hiperparasitismo, um ataca especificamente as hifas do outro, ou estruturas de reprodução e sobrevivência. Pode ocorrer também a hipovirulência por meio da introdução de uma linhagem do patógeno menos agressiva ou não patogênica, sendo essa característica transmitida para as linhagens patogênicas que levam à indução da defesa do hospedeiro e alteração dos mecanismos bioquímicos de resposta com reflexos na expressão da resistência (BETTIOL; GHINI, 1995). Esses mecanismos podem ocorrer de modo simultâneo, durante o ciclo de vida do antagonista. A capacidade para produzir substâncias e o efeito fungicida ou fungistático podem

variar entre espécies e isolados da mesma espécie. Antes de lançar mão de estratégias para aumentar a efetividade desses agentes, é importante conhecer quais são as características passíveis de ser manipuladas para tornar o biocontrole viável (MARTINS-CORDER; MELO, 1998).

2.6 *Trichoderma* spp.

O gênero *Trichoderma* é classificado como imperfeito (HARMAN et al., 2004), pertencente à Sub-divisão Deuteromycotina, ordem Hifomicetes e família Moniliaceae (MELO, 1991).

Na sua fase teleomórfica, é classificado como ascomiceto da ordem Hypocreales, constituída pelo gênero *Hypocrea*, sendo encontrado colonizando restos de plantas lenhosas e herbáceas (KRUGNER; BACCHI, 1995).

Tem ampla distribuição no mundo, em praticamente todos os tipos de solos e habitats naturais, especialmente, naqueles que contém ou são formados de matéria orgânica. Trata-se de um microrganismo necrotrófico que tem apresentado grande eficácia no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos (MELO, 1998).

Suas colônias desenvolvem-se rapidamente, inicialmente com superfície lisa, quase translúcida, tornando-se posteriormente flocosas ou compactas. A coloração da colônia é variável com tons de verde, amarelo, amarelo esverdeado e, por vezes, com tonalidade muito clara, na cor gelo (GAMS; BISSET, 1998). A coloração é conferida pela pigmentação e pela quantidade de conídios produzidos, podendo ainda ser influenciada pelo pH e componentes do meio de cultivo. Seu micélio compõe-se por hifas hialinas bem ramificadas com parede lisa. Na maioria das espécies, ocorre a formação de clamidósporos, intercalados nas hifas e ocasionalmente terminais (MELO, 1991; HOWELL, 2003). Todas essas características, como crescimento em meios de cultivo, produção de micélio aéreo esparso, com pústulas conidiogênicas brancas ou verdes, tipo de ramificação dos conidióforos e modo de disposição das fialídes, são empregadas na classificação e identificação das espécies do gênero (BISSET, 1991).

Tem sido considerado um micoparasita ideal para o controle de fitopatógenos por apresentar características como ser inócuo ao ser humano, não

causar impactos negativos ao meio ambiente, ter estruturas de reprodução de fácil propagação, possuir um razoável tempo de prateleira quando formulado e com boa viabilidade (MELO, 1996).

Atua como antagonista, por meio de mecanismos de antibiose, produzindo metabólitos voláteis ou não, de micoparasitismo e competição por espaço, nutrientes e oxigênio (HJELJORD; TRONSMO, 2005). Segundo Martins-Corder e Melo (1998), a capacidade para produzir tais metabólitos e o seu efeito fungistático pode variar entre espécies e entre isolados da mesma espécie.

Pode ainda atuar como promotor de crescimento e florescimento de plantas, melhorando o rendimento de grãos (BECKER; COOK, 1988; MELO, 1996). Também pode conferir velocidade e maior porcentagem da germinação de sementes, aumento do peso seco e da altura das plantas (OKLEIFELD; CHET, 1992; LYNCH et al., 1991; MELO, 1996).

O uso de *Trichoderma* vem apresentando resultados animadores em relação ao controle de patógenos radiculares como *Sclerotium rolfsii*, *Rosellinia*, *Pythium* e *Rhizoctonia*. Este biocontrolador pode afetar a viabilidade de esclerócios e parasitar as hifas de *Rhizoctonia solani*, através da produção de uma gama de enzimas líticas e antibióticos. No entanto, para o controle biológico de *Pythium* deve haver um cuidado especial, pois os propágulos desse patógeno respondem rapidamente aos exudados das sementes em germinação e a penetração no tecido do hospedeiro pode ocorrer antes do antagonista se desenvolver na espermosfera. No caso do *Fusarium*, o ataque ocorre vagarosamente, sendo menos importante na espermosfera e mais agressivo no hipocótilo. Nesse contexto, o uso de agentes de biocontrole requer métodos de aplicação e doses adequadas para garantia da proteção em cada caso (MELO, 1996).

Estudos realizados comprovam a eficiência de isolados de *Trichoderma* como antagonistas de *Rhizoctonia solani* (HENIS et al., 1978; CHET; BAKER, 1980; ELAD et al., 1982; ASRAN-AMAL et al. 2005), como no caso de Hadar et al. (1979) que obteve um isolado de *Trichoderma* que atacava diretamente o micélio do patógeno e quando aplicado no solo controlava o tombamento de plantas de feijão, berinjela e tomate. Segundo Ridout et al. (1986), o *Trichoderma* spp. libera β -(1,3) glucanase e quitinase, e enzimas dos complexos celulolíticos (exo e endo- β -1-4-glucanase, β -glucosidase) e hemicelulolíticos (xilanase e β -xilosidase).

Bettioli (2006) relata a eficiência deste antagonista no controle de *Pythium* sp., bem como, Datnoff et al. (1995); Larkin e Fravel (1998); e Cotxarrera et al.(2002) que relataram a redução significativa dos danos causados por *Fusarium oxysporum*.

3 ARTIGO A

Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. para controle do tombamento de mudas de tomateiro

RESUMO

O fungo *Trichoderma* spp. apresenta grande eficácia no controle de inúmeros fitopatógenos, principalmente daqueles com estruturas de resistência consideradas difíceis de ser atacadas por microrganismos, como esporos, esclerócios, clamidósporos e microesclerócios. A seleção de antagonistas para programas de controle biológico é de extrema importância, devido à especificidade no antagonismo entre os fungos, devido a variabilidade genética existente dentro das populações. As principais limitações no desenvolvimento do controle biológico com *Trichoderma* spp. é a falta de correlação entre testes *in vitro* e *in vivo*. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo selecionar isolados de *Trichoderma* spp. de solos com diferentes tipos de cultivo e avaliar o seu potencial antagônico para controle do tombamento de mudas de tomateiro causado por *Rhizoctonia solani.*, *Pythium* sp. e *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Foram desenvolvidos quatro testes de seleção: confrontação direta, teste em mudas *in vivo*, antibiose de metabólitos voláteis e não-voláteis, onde foram testados vinte dois isolados de *Trichoderma* spp. Os isolados de *Trichoderma* spp. Th25, Th34 e Th37, têm potencial antagônico para utilização em programas de controle biológico de tombamento na cultura do tomateiro causado por *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Pythium* sp. e *R. solani*, principalmente devido à produção de metabólitos observada nos testes de antibiose. Para os demais isolados de *Trichoderma* spp., os dados foram inconclusivos, devido à falta de correlação dos dados entre os testes *in vitro* e *in vivo*.

Palavras-chave: Controle biológico. *Trichoderma*. *Pythium*. *Fusarium*. *Rhizoctonia*.

Selection of *Trichoderma* spp. isolate for the control of tomato seedling damping-off

ABSTRACT

The fungus *Trichoderma* spp. show effective control of several phytopathogen, mainly those a with resistance structure considered hard of being attacked by microorganisms, like spores, sclerotia, chlamydospore and microsclerotia. Antagonistic selection to biologic control programs is extremely importante, due the specificity in the antagonism between the fungus, caused by genetic variability existent inside of the populations. The principal limitation in the biologic control development with *Trichoderma* spp. is the absence of correlation between tests *in vitro* and *in vivo*. So, the present paper has as objective select isolate of *Trichoderma* spp. with potential to tomato seedling damping-off control caused by *Rhizoctonia solani*., *Pythium* sp. and *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Were made four selection tests: confrontation, seedling production, and antibiosis of volatile and non volatile metabolites, where there have been tested isolate of *Trichoderma* spp. The isolate of *Trichoderma* spp. Th25 , Th34 and Th37, show antagonist potential for use in programs of biologic control of damping-off in the tomato culture caused by *F. oxysporum*, *Pythium* sp. and *R. solani*, especially duo to the production of metabolites observed in the antibiosis tests. To the other isolate of *Trichoderma* spp. the data were inconclusive duo to the lack of correlation of the data between the tests *in vitro* and *in vivo*.

Keywords: Biologic control. *Trichoderma*. *Pythium*. *Fusarium*. *Rhizoctonia*.

INTRODUÇÃO

Trichoderma spp. são fungos saprófitas de crescimento rápido que podem competir ecológicamente a longo prazo, bem como imediatamente à sua aplicação e são capazes de colonizar tecidos com potenciais infecções, fermentos, ou tecido senescente, ou até mesmo raízes em crescimento; bem como micoparasitar agressivamente patógenos já estabelecidos ou que se estabelecem mais tardiamente (HJELJORD; TRONSMO, 2005). Sua eficiência no controle de fitopatógenos tem sido observada principalmente em relação àqueles com estruturas de resistência como esporos, esclerócios, clamidósporos e microesclerócios, consideradas difíceis de ser atacadas por microrganismos (MELO, 1996); patógenos como a *Rhizoctonia* spp. (HADAR et al., 1979; LEWIS et al., 1987; ASRAN-AMAL et al, 2005, BETTIOL, 2006) e *Pythium* spp. (HARMAN et al., 1980; NASEBY et al., 2000) que são associados, na maioria das vezes, às podridões e ao tombamento de plântulas e *Fusarium* spp. (SIVAN et al., 1986, CORTES, 1990; MACHADO, 1999; FARIA et al, 2002, BETTIOL, 2006) que, em condições de alta umidade e baixas temperaturas, também pode causar tombamento (VALE et al., 2004).

Segundo Faria (2002), a seleção de antagonistas para programas de controle biológico é de extrema importância devido à especificidade existente no antagonismo entre os fungos, causada pela variabilidade genética existente dentro das populações. Existem algumas restrições quanto à eficácia dos testes de seleção *in vitro*, mas são técnicas bastante utilizadas em estudos preliminares na seleção de microrganismos antagônicos, por consumir pouco tempo, espaço e material. No entanto, os testes *in vivo* são essenciais para validação dos resultados de seleção obtidos em laboratório.

A principal limitação no desenvolvimento do controle biológico com *Trichoderma* spp. é a falta de correlação entre testes *in vitro* e ensaios em condições de campo (MELO, 1996).

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo selecionar isolados de *Trichoderma* spp. de solos com diferentes tipos de cultivo e avaliar o seu efeito antagônico, visando o controle do tombamento de mudas de tomateiro causado por *Rhizoctonia solani* Kuhn., *Pythium* sp. e *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* Snyder & Hansen.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados 22 isolados de *Trichoderma* spp. (Tabela.1), dos quais 17 eram isolados selvagens e cinco, produtos comerciais à base de *Trichoderma*, frente a cada um dos fungos patogênicos *Rhizoctonia solani.*, *Pythium* sp. e *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Tabela 1 – Isolados selvagens de *Trichoderma* spp. e produtos comerciais formulados.

Isolado	Nome	Procedência	
		Solo de Cultivo ou Empresa	Cidade
Th02*	TH02	Milho	Londrina-PR
Th04*	TH04	Milho	Londrina-PR
Th07*	TH07	Milho	Londrina-PR
Th16*	TH16	Milho	Londrina-PR
Th20*	TH20	Milho	Londrina-PR
Th22*	TH22	Milho	Londrina-PR
Th25*	DA06	Milho	Londrina-PR
Th26*	CP04	Milho	Londrina-PR
Th28*	Tcaqui	Caqui	Londrina-PR
Th30**	Trichodermil®	Itaforte	Itapetininga-SP
Th31**	Agrotrich®	AgriHaus	Sta Cruz do Sul-RS
Th32**	Biotrich®	Qualifertil	Osasco-SP
Th33**	Ecotrich®	Ballagro	Atibaia-SP
Th34**	Trichobel®	Ballagro	Atibaia-SP
Th37*	THcou	Couve	Londrina-PR
Th38*	THrep	Repolho	Londrina-PR
Th39*	THtom	Tomate	Londrina-PR
Th40*	THtom	Tomate	Londrina-PR
Th41*	THav	Aveia	Londrina-PR
Th42*	T2011	TAM	Londrina-PR
Th54*	KO4	Mata	Londrina-PR
Th59*	G3	Mata	Londrina-PR

*materiais isolados de solo com diferentes tipos de cultivo.

**produtos comerciais

A obtenção dos isolados de *Trichoderma* spp. foi por meio do método de diluição seriada. Foram pesados 10g de solo, colocadas em Erlenmeyer com 90 mL de água destilada e esterilizada, e homogeneizado em agitador a 200 rpm, por 15 minutos. Dessa suspensão, 1,0ml foi transferido para tubo contendo

9,0ml de água destilada e esterilizada e assim sucessivamente, fazendo-se diluições em série até 10^{-3} . Das suspensões foram retiradas alíquotas de 0,1 mL e plaqueadas em meio de Martin modificado (HOMECHIN, 1987), sendo espalhadas uniformemente com alça de Drigalsky e incubados em câmaras BOD, à temperatura de 25°C, por sete dias. Após a formação das colônias, aquelas identificadas como *Trichoderma* spp. através das características morfológicas e estruturais, foram transferidas para placas de Petri contendo meio de cultura BDA.

Os isolados dos patógenos foram obtidos a partir de tecidos sintomáticos de tomateiro, incubados por dois a cinco dias sob câmara úmida, identificados com base nas características morfológicas e, posteriormente, plaqueados em meio BDA (batata-dextrose-ágar).

Teste de Antagonismo de Confrontação Direta

O ensaio foi conduzido *in vitro* no laboratório de fitopatologia no Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina, PR.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com 23 tratamentos e cinco repetições (placas) para cada um dos patógenos.

Procedeu-se a técnica da cultura pareada, de acordo com a metodologia descrita por Bell et al. (1982), em placas de Petri contendo meio BDA (batata-dextrose-ágar). Foi alocado um disco de *Trichoderma* spp. retirado de placas de Petri da região da borda da colônia e na posição oposta da placa, a seis centímetros de distância, foi alocado um disco do patógeno desenvolvido também em BDA (batata-dextrose-ágar). Nas placas testemunhas foram alocados somente discos do patógeno nas bordas, sem o antagonista. As placas foram incubadas em câmaras BOD, em escuro total, à 25°C.

As avaliações foram realizadas utilizando a metodologia descrita por CAMPOROTA (1985), baseada na mensuração do crescimento linear das colônias dos patógenos para posterior cálculo do percentual de inibição em comparação à testemunha, através da fórmula: $I \% = [(C1 - C2)/C1] \times 100$, onde I = % de inibição do patógeno; C1 = crescimento linear do patógeno na placa testemunha (cm) e C2 = crescimento linear do patógeno na placa tratamento. A avaliação se iniciou no

momento em que o crescimento das colônias do patógeno, na placa testemunha, se aproximou da borda oposta.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-knott, em nível de 5% de probabilidade de erro, utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2000).

Teste de Antagonismo em Mudanças.

A condução do ensaio foi em casa-de-vegetação no Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina, PR, no período de 15 outubro a 20 de novembro.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com 24 tratamentos e cinco repetições, para cada um dos patógenos. Cada repetição foi formado por um conjunto de 10 mudas.

A multiplicação do inóculo dos patógenos foi em grãos de milho na proporção de 1:1 (milho: água destilada), os quais foram autoclavados, colocados em sacos plásticos de polipropileno e após resfriamento, foram adicionados 10 discos de colônia do patógeno/saco, crescidos em meio BDA, por sete dias, à temperatura de 25°C, em escuro total. Os sacos plásticos foram mantidos em câmaras BOD por sete dias, à temperatura de 25°C, em escuro total.

A inoculação dos patógenos procedeu-se através da introdução de um grão de milho contaminado no fundo de cada célula. Após, foram preenchidas com substrato comercial Turfafertil®. As mudas de tomateiro foram obtidas pela semeadura de duas sementes/célula da cultivar Kada Gigante® (Sementes Top Seed – AGRISTAR do Brasil Ltda), a uma profundidade de 0,5cm em bandejas plásticas com 200 células com capacidade para 15 ml/célula.

A multiplicação dos isolados de *Trichoderma* foi em palha de arroz e milho triturado, misturados na proporção de 1:4:5 (palha de arroz:milho triturado:água), os quais foram autoclavados em sacos plásticos de polipropileno e após resfriamento, foram adicionados 10 discos de colônia de *Trichoderma*/saco, crescidos em meio BDA, à 25°C, por sete dias. Os sacos de polipropileno foram mantidos em câmaras tipo BOD por sete dias, à temperatura de 25°C. A inoculação dos biocontroladores procedeu-se no 1° dia (semeadura), 7° dia e 14° dia, através

da aplicação de 0,25L de suspensão de esporos por tratamento (50 células), na concentração de 10^8 conídios/ml.

Após a emergência das sementes, foram realizadas avaliações da incidência do tombamento pré-emergente, de acordo com a porcentagem de plântulas germinadas e o desbaste no 10º dia após a semeadura, deixando-se uma planta por célula. Em seguida, foram realizadas avaliações semanais, verificando a ocorrência de tombamento ou não, por meio da contagem de plantas com sintomas, até o 30º após o transplante.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-knott, em nível de 5% de probabilidade de erro, utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2000).

Teste de Antibiose de Metabólitos Voláteis

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com 23 tratamentos e cinco repetições (placas de Petri), para cada um dos patógenos.

O teste foi desenvolvido empregando a metodologia descrita por BHARAT et al. (1980), através do posicionamento de tampas de placas de Petri umas sobre as outras, após ter vertido meio de cultura BDA em cada uma delas. Na extremidade inferior, alocou-se um disco de *Trichoderma* no centro e, na parte superior, um disco do patógeno também no centro, ambos os discos provindos de colônias desenvolvidas em câmaras tipo BOD por sete dias, a temperatura de 25°C. A parte lateral das placas foi vedada com filme plástico de polietileno. Em seguida incubaram-se as placas em temperatura ambiente, por sete dias, sob luz fluorescente contínua.

Após 48 horas, procedeu-se a avaliação por meio da mensuração do diâmetro médio das colônias dos patógenos nas placas testemunhas, e posterior comparação com o crescimento das colônias dos patógenos nos tratamentos com *Trichoderma*.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-knott, em nível de 5% de probabilidade de erro, utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2000).

Teste de Antibiose de Metabólitos Não Voláteis

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com 23 tratamentos e cinco repetições (placas de Petri), para cada um dos patógenos.

O teste procedeu-se em placas de Petri contendo meio BDA, o qual foi coberto com discos de papel celofane de 9 cm de diâmetro. Em seguida, alocou-se um disco de *Trichoderma* ao centro de cada placa, as quais foram incubadas por 48 horas à temperatura ambiente, sob luz contínua. Após a mensuração do diâmetro médio da colônia de *Trichoderma* de cada placa, foi retirado o papel celofane. As placas foram, então, invertidas e adicionaram-se 30ml de clorofórmio na parte interna da tampa, com o objetivo de inativar resíduos estruturais de *Trichoderma*. Após a evaporação do clorofórmio, as placas foram invertidas novamente para posição normal e foram aplicados 0,12ml de uma suspensão de esporos do patógeno, obtida por meio de colônias desenvolvidas em BDA por 12 dias, à 25°C. Após, foram espalhados uniformemente com auxílio da alça de Drigalsk, e incubados a 25°C, na ausência de luz. Nas placas testemunhas, foram alocados somente discos de BDA sobre o papel celofane e sem colônia de *Trichoderma* desenvolvida. Após 48 horas, foi aplicada a suspensão micelial do patógeno.

Após 72 horas de incubação, procedeu-se a mensuração do halo de inibição formado.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-knott, em nível de 5% de probabilidade de erro, utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Teste de Antagonismo em Confrontação Direta (*in vitro*).

Todos os isolados de *Trichoderma* spp. apresentaram inibição do crescimento de *Rhizoctonia solani.*, *Pythium* sp. e *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Tabela.2). Entretanto, os testes mostraram diferentes níveis de inibição para cada um dos patógenos. No teste com *Fusarium*, observou-se taxa de inibição

que variou de 72% a 95%, sendo que no teste com *Pythium*, a inibição foi de 25,9% a 53,3%, e com *R.solani*, de 49,1% a 65,8%. Em resultados obtidos por Asran-Amal et al.(2005), avaliando 20 isolados de *Trichoderma* spp. e dois de *R. solani*, observaram diferença na porcentagem de inibição entre os dois isolados, ou seja, os dois isolados de *R. solani* responderam de forma diferente diante do antagonismo de um mesmo isolado de *Trichoderma*.

Os maiores percentuais de inibição de *F. oxysporum* foram apresentados pelos isolados Th25, Th34 e Th41; Th20, para *Pythium* sp. Th40, Th22, Th25, Th37 e Th41; e para *R. solani* Th25, Th40, Th20 e Th34. O isolado Th25 foi o único que mostrou eficiência de controle para os três patógenos. Os isolados Th20 e Th34 foram semelhantes para controle de *Fusarium* e *Rhizoctonia*; o Th40, para *Pythium* e *Rhizoctonia*; e o Th41, para *Fusarium* e *Pythium*. Os demais apresentaram inibição semelhante entre os patógenos, com exceção dos isolados Th04 e Th28, que apresentaram eficiente inibição contra *Fusarium* e, em relação a *R. solani* e *Pythium*, inibição mediana.

Dentre os isolados dos produtos comerciais formulados a base de *Trichoderma*, o Th34, provindo do produto comercial Trichobel® da BALLAGRO, foi o mais eficiente para os três patógenos.

O antagonismo de *Trichoderma* spp. *in vitro* foi relatado por Faria et al. (2002) em testes utilizando dois isolados de *Trichoderma harzianum* que apresentaram 60,0% e 68,3% de inibição do crescimento de *Fusarium* sp. Anteriormente, resultados de Cortes (1990) já haviam demonstrado a inibição de *Trichoderma* spp. em *Fusarium* sp.

Kerkeni et al. (2007), por meio da metodologia de cultura pareada ou confrontação direta, testaram *in vitro* sete isolados fúngicos, dentre eles dois isolados de *Trichoderma viride*, os quais apresentaram as maiores porcentagens de inibição de *Pythium*.

Para controle *Rhizoctonia solani*, Asran-Amal et al. (2005), realizou testes de confrontação direta com vinte isolados de *Trichoderma*, sendo 10 isolados de *T. harzianum* e 10 de *T. longibrachiatum*; e dois isolados de *R. solani*. Relataram que a maioria dos isolados de *Trichoderma* apresentaram potencial antagônico à *R. solani*, com porcentagens de controle de até 85,12%.

Hadar et al.(1987) relataram a capacidade antagônica de *Trichoderma harzianum* em colonizar diretamente o micélio de *R. solani*, controlando

efetivamente os danos causados por esse patógeno. Esses resultados foram comprovados por Santos et al. (2008) que observaram no teste de interação de hifas um enrolamento e estrangulamento das hifas de *Rhizoctonia solani* por *Trichoderma* spp.

Esses relatos mostram a importância dos testes de confrontação direta para seleção de isolados com potenciais para o controle biológico. Mas a realização dos testes de seleção *in vivo*, são indispensáveis para a comprovação da eficiência dos biocontroladores e a validação dos resultados obtidos nos testes *in vitro*.

Teste de Antagonismo em Mudanças.

No teste de antagonismo *in vivo* (Tabela.3), com inoculação do *F.oxysporum*, a porcentagem de germinação variou de 75% a 97%, não apresentando diferença significativa para maioria dos resultados. Fato semelhante ocorreu no teste com *R. solani* com germinação variando de 77% a 92%, sem diferença significativa para todos os resultados, inclusive a testemunha, sem inoculação do patógeno. A exceção foi o teste com inoculação do *Pythium* sp., onde as sementes apresentaram baixa porcentagem de germinação nos tratamentos inoculados com patógeno, entre 18% a 40%. Neste teste, a alta taxa de germinação foi observada somente na testemunha sem tratamento e sem inoculação do patógeno com 91% de germinação.

Segundo Melo (1996), os propágulos de *Pythium* respondem aos exudados da semente em germinação e colonizam rapidamente o tecido do hospedeiro, antes de qualquer antagonista se desenvolver na espermosfera. No caso do *Fusarium*, ele ataca mais vagarosamente, sendo menos eficiente na espermosfera e atacando mais o hipocótilo.

Na avaliação do tombamento de plântulas de tomateiro (Tabela.3) inoculadas com *F.oxysporum*, a maioria dos isolados de *Trichoderma* spp. mostraram diminuição do tombamento, inclusive os isolados Th25, Th37 e Th34. A exceção foram os isolados Th20, Th39, Th59, Th07, Th38 e Th54, sendo que Th54 apresentou porcentagens de tombamento maiores que a testemunha sem tratamento e inoculada com o patógeno. Para *Pythium*, o melhor controle foi

verificado pelos isolados Th26, Th38, Th33, Th54, Th37, Th31, Th04 e Th39; e para *R. solani*, Th25 e Th30, sendo os menos eficientes Th54, Th22, Th02, Th04 e Th59.

Os resultados de *Pythium* (12% a 35%) apresentaram tratamentos com porcentagem de tombamento inferior a de *R. solani* (28% a 68%) devido a baixa porcentagem de germinação nos testes com *Pythium*, resultante do tombamento pré-emergente. Os testes com *F. oxysporum*, com a alta porcentagem de germinação, semelhante à de *R. solani*, mostram que a ocorrência de tombamento pré-emergente foi baixa.

Para controle de *F.oxysporum*, somente os isolados Th25 e Th34 apresentaram eficiência, tanto nos testes de confrontação direta *in vitro* como nos testes na produção de mudas. Para controle de *Pythium*, o mesmo foi observado com o isolado Th37, e nos testes de *R. solani* com isolado Th25. O restante dos isolados apresentaram resultados diferenciados nos testes *in vitro* e *in vivo*.

Asran-Amal et al, (2005), avaliando o isolados de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani*, em testes *in vivo*, relataram que a interação entre isolados de *Trichoderma* e *R. solani* teve influência significativa no percentual de sobrevivência de mudas.

Estudos desenvolvidos por Naseby et al. (2000) *in vivo*, também relatam o biocontrole por isolados de *Trichoderma* spp. Verificaram que a inoculação de *Pythium* na testemunha reduziu a emergência e o crescimento das plântulas de ervilha e esse efeito foi significativamente controlado por praticamente todos os isolados de *Trichoderma*, aumentando o peso da biomassa seca.

Teste de Antibiose de Metabólitos Voláteis.

Nesse teste de antibiose (Tabela.4) não foi observado a produção de metabólitos voláteis, pois o crescimento micelial dos patógenos nas placas com os diferentes isolados de *Trichoderma* spp., foi estatisticamente igual ao da testemunha.

Os resultados também não apresentaram diferença significativa entre os isolados de *Trichoderma* spp. para os três patógenos *R. solani*., *Pythium* sp. e *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Em ensaios desenvolvidos por Santos et al. (2008), avaliando *in vitro* a eficiência de isolados de *Thichoderma* spp. a diferentes isolados fúngicos da

região Amazônica, foi observado que, no teste de metabólitos voláteis com *Rhizoctonia* sp., também não houve diferença significativa entre os isolados testados e a testemunha, assim como para *Fusarium* spp., *Pestalotia* sp. e *Colletotrichum* sp. Mas Martins-Corder et al. (1998), relatam a produção de metabólitos voláteis de quatro isolados de *Trichoderma*, dois de *T. koningii* Oud e dois de *T. viride* Pers, em testes de antagonismo realizados com *Verticillium dahliae* Kleb

Teste de Antibiose de Metabólitos Não Voláteis.

Na avaliação do teste de antibiose de metabólitos não voláteis (Tabela.5), todos os isolados apresentaram halo de inibição do provável metabólito para os três patógenos *R. solani*., *Pythium* sp. e *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Observou-se diferença apenas no diâmetro do halo formado pelo crescimento de cada isolado de *Trichoderma* spp. Nos testes com *F.oxysporum*, o crescimento médio do diâmetro da colônia variou de 1,1 a 3,5cm, com *Pythium* variou de 1,4 a 4,1cm e com *R. solani* de 1,8 a 5,8cm.

Existem relatos de que os primeiros trabalhos científicos provando a produção de antibióticos por *Trichoderma* spp. foram realizados Weidling (1934),

Os testes realizados por Santos et al. (2008) de antibiose de metabólitos não-voláteis não apresentaram halo de inibição com os patógenos *R. solani*, *Fusarium* spp., *Pestalotia* sp., *Colletotrichum* sp. e *Phytophthora* sp. Entretanto, Lobo Junior e Abreu (2000), trabalhando com isolados de *Trichoderma* spp. relataram que todos os isolados foram capazes de inibir o crescimento micelial do patógeno por meio da produção de metabólitos, assim como em vários trabalhos desenvolvidos por Howell (2003), Harman et al. (2004) e Kerkeni et al. (2007).

Tabela 2 – Porcentagem de inibição de *Rhizoctonia solani.*, *Pythium* sp. e *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. por isolados de *Trichoderma* spp. Londrina, PR, 2008.

Isolados	<i>F. oxysporum</i> (%)*	<i>Pythium</i> (%)*	<i>R. solani</i> (%)*
Th02	81,6c	32,3a	60,7c
Th04	80,1c	38,7b	63,1d
Th07	78,5b	29,4a	55,9b
Th16	82,6c	32,0a	59,8c
Th20	82,9c	53,3c	64,2d
Th22	85,4d	52,4c	62,8d
Th25	94,7f	52,1c	65,8d
Th26	81,9c	37,9b	60,4c
Th28	82,6c	41,1b	61,9d
Th30	81,6c	36,4b	57,7b
Th31	77,3b	39,0b	49,1a
Th32	79,1b	33,8a	59,2c
Th33	85,4d	40,8b	62,8d
Th34	95,0f	41,1b	63,1d
Th37	82,3c	52,0c	59,2c
Th38	78,8b	35,8b	55,3b
Th39	72,0a	32,9a	56,2b
Th40	89,4e	52,4c	65,8d
Th41	94,4f	51,6c	59,8c
Th42	78,8b	33,8a	61,0c
Th54	81,3c	34,1a	58,9c
Th59	76,3b	25,9a	53,5b
CV(%)	3,2	12,9	4,9
Média geral	82,8	39,9	59,9

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-knott, em nível de 5% de significância.

* porcentagem de inibição do patógeno.

Th = isolados de *Trichoderma* spp.

Tabela 3 – Porcentagem de germinação e tombamento de mudas de tomateiro inoculadas com *R. solani*., *Pythium* sp. e *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, e tratadas com *Trichoderma* spp. Londrina, PR, 2008.

Isolados	<i>F.oxysporum</i>		<i>Pythium</i>		<i>R.solani</i>	
	G(%)	T(%)	G(%)	T(%)	G(%)	T(%)
Th02	81 a	12 c	26 a	26 d	78 a	62 e
Th04	78 a	18 d	18 a	17 b	86 a	63 e
Th07	86 b	25 e	23 a	23 d	85 a	44 c
Th16	82 a	16 d	37 b	26 d	86 a	57 d
Th20	86 b	23 e	36 b	35 e	89 a	56 d
Th22	78 a	18 d	37 b	25 d	77 a	62 e
Th25	85 b	8 b	34 b	25 d	91 a	28 b
Th26	85 b	12 c	21 a	12 b	87 a	43 c
Th28	88 b	16 d	32 b	27 d	86 a	43 c
Th30	85 b	14 c	25 a	19 c	82 a	35 b
Th31	80 a	12 c	21 a	17 b	91 a	42 c
Th32	84 b	19 d	23 a	23 d	89 a	48 c
Th33	75 a	15 d	21 a	15 b	88 a	45 c
Th34	86 b	10 b	31 b	20 c	86 a	48 c
Th37	80 a	8 b	25 a	17 b	92 a	51 d
Th38	92 b	25 e	24 a	14 b	87 a	45 c
Th39	88 b	23 e	38 b	17 b	85 a	47 c
Th40	81 a	14 c	40 b	36 e	88 a	41 c
Th41	89 b	12 c	24 a	21 c	82 a	41 c
Th42	85 b	16 d	29 a	31 e	84 a	54 d
Th54	91 b	33 f	20 a	16 b	88 a	62 e
Th59	88 b	25 e	28 a	24 d	85 a	68 f
S/T_ C/I	94 b	27 e	21 a	21 c	88 a	79 g
S/T_ S/I	97 b	0,0a	91 c	0,0a	95 a	0,0a
CV(%)	8,6	21,4	18,9	20,1	7,4	14,9
Média geral	85,1	16,7	30,2	21,1	86,4	48,5

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-knott, em nível de 5% de significância.

S/T_C/I = sem tratamento e inoculado com patógeno, S/T_S/I = Sem tratamento e sem inoculação do patógeno, Th = isolados de *Trichoderma* spp. G = germinação e T = plântulas com sintomas de tombamento.

Tabela 4 – Diâmetro médio das colônias de *R. solani*, *Pythium* sp., e *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*. no teste de antibiose de metabólitos voláteis de *Trichoderma* spp. Londrina, PR, 2008.

Isolados	<i>F.oxysporum</i> (cm)*	<i>Pythium</i> (cm)*	<i>R.solani</i> (cm)*
Th02	2,3a	3,4a	2,3a
Th04	2,4a	3,5a	2,3a
Th07	2,2a	3,7a	2,6a
Th16	2,4a	3,7a	2,3a
Th20	2,3a	3,9a	2,6a
Th22	2,1a	3,9a	2,3a
Th25	2,2a	3,6a	1,6a
Th26	2,0a	3,4a	1,9a
Th28	2,1a	3,4a	1,6a
Th30	2,0a	3,9a	2,0a
Th31	2,1a	3,7a	2,4a
Th32	2,2a	4,4a	2,2a
Th33	1,8a	3,4a	2,1a
Th34	2,0a	3,4a	2,5a
Th37	2,5a	3,6a	2,4a
Th38	1,9a	3,8a	2,2a
Th39	2,3a	3,9a	2,4a
Th40	2,1a	3,6a	1,9a
Th41	2,0a	3,8a	2,2a
Th42	1,9a	3,7a	2,2a
Th54	2,2a	3,8a	2,3a
Th59	2,3a	3,7a	2,0a
Testemunha	2,3a	3,9a	2,4a
CV (%)	23,1	11,4	27,5
Média geral	2,1	3,7	2,2

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-knott, em nível de 5% de significância.

*diâmetro médio das colônias.

Th = isolados de *Trichoderma* spp.

Tabela 5 – Diâmetro média das colônias de *Trichoderma* spp. e halo de inibição dos fungos *R. solani*., *Pythium* sp., e *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*. no teste de antibiose de metabólitos não-voláteis. Londrina, PR, 2008.

Isolados	<i>F.oxysporum</i>		<i>Pythium</i>		<i>R.solani</i>	
	Colônia*	Halo**	Colônia*	Halo**	Colônia*	Halo**
	(cm)	(cm)	(cm)	(cm)	(cm)	(cm)
Th02	3,4d	2,7c	3,0d	2,3b	3,0d	2,3b
Th04	3,1d	3,2d	3,6e	2,5c	3,2d	2,0b
Th07	3,3d	2,9d	3,9e	2,8c	4,4f	1,8b
Th16	3,3d	3,0d	4,1e	3,0c	4,1f	2,6c
Th20	3,3d	3,1d	4,2e	3,1c	4,2f	2,0b
Th22	2,6c	3,0d	3,8e	3,6d	2,6c	2,4c
Th25	2,5c	1,6b	2,9d	4,1d	2,8d	2,2b
Th26	2,6c	2,7c	2,8d	3,0c	3,1d	2,1b
Th28	2,1c	1,1b	3,1d	1,5b	2,7d	2,2b
Th30	2,5c	3,5d	2,7d	3,8d	3,0d	2,4c
Th31	2,9d	3,2d	2,8d	3,4d	3,4d	2,8c
Th32	1,3b	3,3d	1,4b	3,3d	2,3c	2,7c
Th33	2,7c	2,1b	2,2c	2,6c	2,4c	2,4c
Th34	3,0d	2,2c	3,0d	3,0c	2,9d	3,3d
Th37	2,9d	1,7b	3,7e	1,4b	3,5e	1,6b
Th38	3,2d	3,1d	3,0d	1,7b	2,9d	2,3b
Th39	3,0d	2,7c	1,9c	1,7b	2,3c	2,3b
Th40	1,6b	1,7b	1,4b	3,1c	1,6b	5,3e
Th41	2,1c	3,2d	3,2d	2,9c	2,6c	5,8e
Th42	2,9d	2,6c	3,7e	1,8b	2,8d	2,5c
Th54	2,3c	2,8c	2,8d	3,1c	2,5c	2,4c
Th59	2,8d	2,3c	3,8e	2,1b	3,8e	2,2b
Test	0,0a	0,0a	0,0a	0,0a	0,0a	0,0a
CV (%)	14,1	17,8	18,2	23,7	16,3	18,0
Média geral	2,6	2,5	2,9	2,6	2,9	2,5

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-knott, em nível de 5% de significância.

*diâmetro médio da colônia de *Trichoderma* spp.

**halo de inibição.

Th = isolados de *Trichoderma* spp.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos nos testes de seleção, os isolados de *Trichoderma* spp. Th25 , Th34 e Th37, apresentam maior antagonismo para utilização em programas de controle biológico do tombamento na cultura do tomateiro causado por *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Pythium* sp. e *R. solani*, principalmente devido à produção de metabólitos observada nos testes de antibiose.

Para os demais isolados de *Trichoderma* spp. os dados foram inconclusivos devido à falta de correlação dos dados entre os testes *in vitro* e *in vivo*.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ASRAN-AMAL, A.; ABD-ELSALAM, K. A.; OMAR, M. R.; ALY, A. A. Antagonistic potential of *Trichoderma* spp. against *Rhizoctonia solani* and use of M13 microsatellite-primed PCR to evaluate the antagonist genetic variation. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Stuttgart, v.112, n.6, p.550–561, 2005.
- BELL, D.K.; WELLS, H.D.; MARKHABELL, D.K.; WELLS, C.R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, Saint Paul, v.72, n.4, p.379-382, 1982.
- BETTIOL, W. Productos alternativos para el manejo de enfermedades en cultivos comerciales. **Fitosanidad**. v.10, n. 2, p.85-98, 2006.
- BHARAT, R.; SINGH, V.N.; SINGH, D.B. *Trichoderma viride* as a mycoparasite of *Aspergillus* spp. **Plant and Soil**, Netherlands, v.57, p.131-135, 1980.
- CAMPOROTA, P. Antagonism *in vitro* of *Trichoderma* spp. vis-a-vis *Rhizoctonia solani* Kuhn. **Agronomie**, Paris, v.5, n.7, p.613-620, 1985.
- CORTES, M. H. B. **Utilização de espécies de *Trichoderma* no controle biológico de *Fusarium moniliforme* Sheld. var. *subglutinans* Wr. & Rg., em abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merrill)**. 1990. 47f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas.

FARIA, A. Y. K.; CASSETARI NETO, D.; ALBUQUERQUE, M. C. F. Atividade antagônica *in vitro* de *Trichoderma harzianum* a patógenos de sementes de algodoeiro. **Revista Agro Tropical**, Cuiabá, v.6, n.1, p.59-68, 2002.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. Anais... São Carlos: UFSCar, 2000. p.255-258.

KERKENI, A.; DAAMI-REMADI, M.; TARCHOUN, N.; KHEDHER, M.B. *In vitro* and *in vivo* suppression of *Pythium ultimum* the causal agent of the cucumber damping-off by some compost fungi. **Asian Journal of Agricultural Research**, Chemistry, v.1, n.2, p.50-58, 2007.

LEWIS, J.A.; PAPAVIDAS, G.C. Application of *Trichoderma* and *Gliocladium* in alginate pellets for control of *Rhizoctonia* damping-off. **Plant Pathology**, v.36, n.4, p438-446. 1987.

LOBO JUNIOR, M.; ABREU, M.S. Inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* por metabólitos voláteis produzidos por alguns antagonistas em diferentes temperaturas e pH. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.2, p.521-526, 2000.

HADAR, Y.; CHET, I.; HENIS, Y. Biological control of *Rhizoctonia solani* damping-off with wheat bran culture of *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.69, n.1, p.64-68, 1979.

HARMAN, G.E.; CHET, I.; BAKER, R. *Trichoderma hamatum* effects on seed and seedling disease induced in radish and pea by *Pythium* spp. and *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.70, n.12, p.1167-1172, 1980.

HARMAN, G.E.; PETZOLDT, R.; COMIS, A.; CHEN, J. Interactions between *Trichoderma harzianum* strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.94, n.2, p.147-153, 2004.

HJELJORD, L.; TRONSMO, A. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: na overview. In: HARMAN, G.E.; KUBICEK, C.P. ***Trichoderma* and *Gliocladium*: Enzymes, biological control and commercial applications**. Edição 1. Londres: Taylor & Francis, 2005. p.115-133.

HOWELL, C.R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, Saint Paul, v.87, n.1, p.4-10, 2003.

MACHADO, R. S. de S. **Efeito de *Trichoderma viride* associado a sementes de milho (*Zea mays* L.) sobre microrganismos fitopatogênicos.** 1999. 47f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá.

MARTINS-CORDER, M.P. & MELO, I.S. Antagonismo “in vitro” de *Trichoderma* spp. a *Verticillium dahliae* KLEB. **Scientia Agrícola**, v.55, n.1, p.1-7, 1998.

MELO, I.S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. In: LUZ, W.C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. 1 ed. v.4. Passo Fundo: Padre Berthier dos Missionários da Sagrada Família, 1996. p.261-295.

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**, v.88, n.1, p.161-169, 2000.

SANTOS, M. de S.; SILVA, G.B.; LUSTOSA, D.C. **Avaliação in vitro de *Trichoderma* spp. a diferentes isolados fúngicos da região Amazônica.** VI Seminário de Iniciação Científica da UFLA. Lavras. Anais... Lavras: Editora UFLA, 2008.

SIVAN, A.; CHET, I. Biological control of *Fusarium* spp. in cotton, wheat and muskmelon by *Trichoderma harzianum*. **Journal of Phytopathology**, v.116, n.1, p. 39-47, 1986.

VALE, F.X.R.; ZAMBORLIM, L.; ZAMBORLIM, E.M.; ALVARENGA, M.A.R. Manejo integrado das doenças do tomateiro: epidemiologia e controle. In: ALVARENGA, A.R. **Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia.** 1ed. Lavras: Editora UFLA, 2004. p.213-308.

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

4 ARTIGO B

Influência dos substratos e biocontroladores no controle do tombamento de mudas de tomateiro

RESUMO

Conhecimentos a respeito das melhores misturas para substratos são escassos, assim como os relacionados à sua microbiota, que é um aspecto pouco estudado, pois as populações microbianas naturais presentes nos substratos desempenham funções similares às do solo, tais como decomposição de resíduos orgânicos com a liberação de nutrientes e CO₂, produção de substâncias estimuladoras do crescimento vegetal, estabelecimento de simbiose mutualista com plantas e controle biológico de pragas e doenças. Os principais causadores de perda de qualidade das mudas são os patógenos do solo, sendo responsáveis pelo tombamento, causado por fungos de solo, principalmente *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Pythium* sp. e *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* Snyder & Hansen, e que podem ocorrer antes ou após a emergência das plantas. A substituição ou redução da aplicação química tem sido através da utilização de agentes de controle biológico como *Trichoderma* spp., que reduzem a capacidade do patógeno de se reproduzir, mantendo baixos níveis de inóculo. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a influência dos diferentes tipos de substratos e agentes de controle biológico no tombamento de mudas na cultura do tomateiro. Foram avaliados seis substratos diferentes, sendo dois comerciais, e três tipos de controle: químico, biológico com produto comercial e biológico com isolado selvagem de *Trichoderma* spp. A utilização de substratos comerciais com o Bioplant® e Turfa Fértil® é mais indicada e mais segura, devido às características físicas e químicas presentes em cada um. A aplicação de microrganismos biocontroladores, com produtos comerciais ou com isolados selvagens de *Trichoderma* spp., é mais eficiente no controle de tombamento de mudas de tomateiro causado por *Rhizoctonia solani*, diminuindo a incidência do patógeno e favorecendo o desenvolvimento das plântulas. No caso do controle de *Pythium* sp. e *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, a aplicação de produtos químico ou biológico não mostra diferença no controle de tombamento.

Palavras-chave: Controle biológico. *Trichoderma*. *Pythium*. *Fusarium*. *Rhizoctonia*.

Influence of substrate and bioprotectant for the control of tomato seedling dampin-off

ABSTRACT

The general knowledge concerning the best mixtures for substrate is poor, just like the knowledge concerning the microbiota present in them, which is a little studied aspect, since the microbial natural population present in the substrate play similar functions as the soil, like organic residues decomposition with nutrient's liberation and CO₂; production of vegetal growth stimulator substances; establishment of mutualistic symbiosis with plants and; pests and diseases biologic control. The main responsible things for the seedlings' lost of quality are the soil pathogen, being also responsible for the damping-off that is caused by soil fungus, especially the ones of the genera *Rhizoctonia solani*, *Pythium* sp. and *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, and can occur before of after the emergency of the plants. The replacement or reduction of the chemical application has been made trough the using of biologic control agents, like *Trichoderma* spp., that reduce the capacity of the pathogen to reproduce, keeping low levels of inoculum. So, the goal of the presented study was to evaluate the influence of the different types of studied substrate and biottractantes in the seedling damping-off in the tomato culture. Six different substrates were evaluated, two of them being commercial; and three types of control: chemical, biological with commercial and biological product with wild isolate of *Trichoderma* spp. The use of commercial substrate with Bioplant® and Turfa Fertil® is more indicated and safer, duo to the physic and e chemical characteristics presented in each one. The application of biottractant microorganisms, with commercial products or with *Trichoderma* spp.wild isolate, is more efficient in the tomato damping-off control caused by *Rhizoctonia solani*, reduction of the pathogen incidence and favouring the seedling development. In the case of *Pythium* sp. and *F. oxysporum* control, the application of chemical or biological products shows no significant difference in the damping-off control.

Keywords: Biologic control. *Trichoderma*. *Pythium*. *Fusarium*. *Rhizoctonia*.

INTRODUÇÃO

A produção de mudas de hortaliças é uma das fases mais críticas no planejamento da maioria das lavouras hortícolas, dentre elas a cultura do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill). A obtenção de uma lavoura bem sucedida depende da qualidade das mudas utilizadas, em relação à sanidade ou genética do material. (LOPES et al., 2005)

Na produção de mudas de alta qualidade, a utilização de boas técnicas é essencial para o processo e dentre os fatores importantes está o substrato (PEIXOTO, 1986), cuja qualidade depende de sua estrutura física e composição química (MIRANDA, 1998).

O substrato desempenha funções diretas na manutenção mecânica do sistema radicular e na estabilidade da planta, no suprimento de água e nutrientes, no suprimento de oxigênio e transporte de dióxido de carbono entre as raízes e o ar externo (LAMAIRE, 1995; SOUZA et al., 2007). O substrato, exercendo mais do que a função de suporte às plantas, deve apresentar-se isento de fitopatógenos (FERNANDES et al., 2006).

Os conhecimentos a respeito das melhores misturas são escassos, principalmente por parte dos produtores, e essas informações são de extrema importância para elaboração de substratos com boa qualidade (PEREIRA; MARTINEZ, 1999). O mesmo ocorre com os conhecimentos relacionados à microbiota nos substratos, que é um aspecto pouco estudado (SIQUEIRA; FRANCO, 1988), pois as populações microbianas presentes nos substratos desempenham funções similares às presentes naturalmente no solo, como decomposição de resíduos orgânicos com a liberação de nutrientes e CO₂, produção de substâncias estimuladoras do crescimento vegetal; estabelecimento de simbiose mutualista com plantas e; controle biológico de pragas e doenças (SILVEIRA et al., 2002).

Um dos principais causadores da perda de qualidade das mudas são os patógenos do solo, principalmente fungos como *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Pythium* sp. e *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* Snyder & Hansen, responsáveis pelo tombamento de mudas em diversas culturas, e que podem ocorrer antes ou após a emergência das plantas. O tombamento pré-emergente é caracterizado quando ocorre a infecção das sementes, antes ou durante a germinação, causando seu apodrecimento e desintegração, resultando em falhas de estande. O tombamento de

pós-emergência é mais comum quando se produz mudas em bandejas, caracterizando-se pelo ataque do patógeno na base do caule da planta, mostrando sintomas de escurecimento e amolecimento da base da planta, muitas vezes resultando em constrição dos tecidos atacados (LOPES et al., 2005).

O controle químico é pouco eficaz quando se trata de doenças causadas por fungos de solo, devido à interação do fungicida com partículas do solo que podem inativar os princípios ativos e o fato dos patógenos poderem se abrigar em diferentes profundidades nos solos (QUEZADO-DUVAL et al., 2007). Portanto, existe a necessidade da utilização de medidas alternativas e eficazes para combater essas doenças.

A substituição ou a redução da aplicação química tem sido através da utilização de agentes de controle biológico como *Trichoderma* spp., que reduzem a capacidade do patógeno de se reproduzir, mantendo baixos níveis de inóculo (HJELJORD; TRONSMO, 2005). Mas a sobrevivência do *Trichoderma* spp., no solo ou no substrato, pode ser influenciada por fatores como temperatura, umidade, nutrientes, tipo de solo, microbiota, aeração, pH e teor de matéria orgânica (HOWELL, 2003).

Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a influência dos diferentes tipos de substratos e agentes de controle biológico no tombamento de mudas de tomateiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados três ensaios, um para cada patógeno: *Rhizoctonia solani*., *Pythium* sp. e *Fusarium oxysporum*, desenvolvidos no Laboratório de Fitopatologia e em casa de vegetação, no Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina,PR.

Para cada ensaio, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x6 (5 tratamentos: formulado comercial Trichobel®, isolado selvagem, Ridomil® (Metalaxil), sem tratamento sem inoculação do patógeno, e sem tratamento com inoculação do patógeno X 6 substratos - Tabela 2), com cinco repetições, 10 mudas formando uma repetição.

As amostras de solo foram coletadas de solos com cultivo de milho (Th25) e cultivo de couve (Th37). Foram coletadas 10 sub-amostras de cada local e homogeneizadas para formação da amostra composta.

O *Trichoderma* spp. empregado nos ensaios foi obtido por meio do método de diluição seriada. Foram pesados 10g de solo, colocadas em Erlenmeyer com 90 mL de água destilada e esterilizada, e homogeneizado em agitador a 200 rpm, por 15 minutos. Dessa suspensão, 1,0ml foi transferido para tubo de ensaio contendo 9,0mL de água destilada e esterilizada e assim sucessivamente, fazendo-se diluições em série até 10^{-3} . Das suspensões das diluições foram retiradas alíquotas de 0,1 mL e plaqueadas em meio de Martin modificado (HOMECHIN, 1987), sendo espalhadas uniformemente com alça de Drigalsky e incubados em câmaras BOD, à temperatura de 25°C, por sete dias, para posterior verificação do crescimento das estruturas miceliais baseada nas características morfológicas e estruturais do *Trichoderma* spp.

O isolado selvagem de *Trichoderma* spp. utilizado para o ensaio com *Pythium* foi o Th37, isolado de solo com cultivo de couve, e para os ensaios com *Fusarium* e *Rhizoctonia* foi utilizado o Th25, isolado de solo com cultivo de milho.

A multiplicação dos isolados de *Trichoderma* foi em palha de arroz e milho triturado, misturados na proporção de 1:4:5 (palha de arroz:milho triturado:água), os quais foram autoclavados em sacos plásticos de polipropileno e após resfriamento, foram adicionados 10 discos de colônia de *Trichoderma*/saco, crescidos em meio BDA, à 25°C, por sete dias. Os sacos de polipropileno foram mantidos em câmaras tipo BOD por sete dias, à temperatura de 25°C.

Os isolados dos patógenos foram obtidos a partir de tecidos sintomáticos de tomateiro, incubados por dois a cinco dias sob câmara úmida, identificados com base nas características morfológicas e posterior plaqueamento em meio BDA (batata-dextrose-ágar). Após a obtenção da cultura, confirmou-se a patogenicidade dos isolados fúngicos em plântulas de tomateiro.

A multiplicação do inóculo dos patógenos foi em grãos de milho na proporção de 1:1 (milho: água destilada), os quais foram autoclavados, colocados em sacos plásticos de polipropileno e após resfriamento, foram adicionados 10 discos de colônia do patógeno/saco, crescidos em meio BDA, por sete dias, à temperatura de 25°C, em escuro total. Os sacos plásticos foram mantidos em câmaras BOD por sete dias, à temperatura de 25°C, em escuro total.

Os substratos não comerciais foram misturados na proporção descrita na Tabela.2 e tratados à temperatura de 95°C, durante três horas, por meio de um sistema de calor úmido, no qual o vapor quente atravessa pelo substrato.

Tabela 2 – Substratos avaliados.

Substratos	Composição
SA	Solo+areia+casca de arroz carbonizada+torta de filtro+ vermiculita (3:3:2:2:2)*
SB	Solo + areia + vermiculita (1:1:2)*
SC	Solo + areia + casca de arroz carbonizada (1:1:2)*
SD	Germina Plant Horta Turfa Fértil® (turfa + perlita + calcário + fertilizante mineral) Florestal S.A., Balneário Arroio da Silva, SC
SE	Solo + areia + torta de filtro (1:1:2)*
SF	Bioplant® (material de origem vegetal e vermiculita expandida) Bioplant Misturadora Agropecuária Ltda, Nova Ponte, MG

*proporção das misturas.

A caracterização física dos substratos foi realizada por meio da metodologia descrita por Guerrini e Trigueiro (2004) com algumas modificações na temperatura da estufa, tempo de secagem e frascos utilizados. Foram utilizados tubetes de polipropileno com capacidade de 50 cm³, os quais tiveram a abertura inferior fechada com adesivos para evitar a perda de material. Os recipientes foram identificados, pesados e preenchidos manualmente com substrato, o qual foi compactado, usando-se um equipamento que simula as batidas para o adensamento das partículas, semelhante ao que é utilizado para a produção de mudas em escala comercial. Após o preenchimento dos tubetes, o substrato foi submetido à saturação por água. O período inicial de encharcamento foi de uma hora; em seguida, os tubetes foram colocados para drenagem por 30 min. A primeira pesagem foi efetuada com o substrato encharcado. A segunda pesagem foi feita após drenagem do tubete, os quais foram mantidos suspensos, com a superfície de drenagem livre durante 12 h. Em seguida, transferiu-se o substrato drenado para frascos erlenmeyer com capacidade de 500 ml e com tampas de alumínio, os quais foram levados para estufa regulada a 80°C, onde permaneceram por 12 h. Após este período, foram resfriados e pesados.

Para determinar os atributos físicos, foram usadas as seguintes fórmulas: Macroporosidade (%) = $[(A-B) / C] \times 100$, Microporosidade (%) = $[(B-D-E) / C] \times 100$, Porosidade total (%) = Macroporosidade + Microporosidade, Capacidade máxima de retenção de água ($50\text{ml}/\text{cm}^3$) = B-D-E, Densidade aparente do substrato (g/cm^3) = $(D-E) / C$. Em que A = peso do substrato encharcado, B = peso do substrato drenado, C = volume do tubete, D = peso do substrato seco, E = peso do tubete.

As análises da matéria orgânica e pH dos substratos foram realizadas no laboratório de análise de solos da Faculdade Luiz Meneghel – FALM, Bandeirantes, PR.

A inoculação dos patógenos procedeu-se através da introdução de um grão de milho contaminado no fundo de cada célula. Após, foram preenchidas com substrato comercial Turfafertil®. As mudas de tomateiro foram obtidas pela semeadura de duas sementes/célula da cultivar Kada Gigante® (Sementes Top Seed – AGRISTAR do Brasil Ltda), a uma profundidade de 0,5cm em bandejas plásticas com 200 células com capacidade para 15 ml/célula.

A aplicação dos tratamentos biológicos e químico no substrato procedeu-se no 1° dia (semeadura), 7° dia e 14° dia. Para os biocontroladores foram aplicados 0,25L de solução por tratamento (50 células), na concentração de 10^8 conídios/ml, e para o tratamento químico foi aplicado 0,25g do produto Ridomil® diluído em 250 gramas de água.

Após a emergência das sementes, foram realizadas avaliações da incidência do tombamento pré-emergente, de acordo com a porcentagem de plântulas germinadas e o desbaste no 10° dia após a semeadura, deixando-se uma planta por célula. Em seguida, foram realizadas avaliações semanais, verificando a ocorrência de tombamento ou não e, próximo ao 30° dia, procedeu-se a avaliação da altura das plântulas, comprimento das raízes, peso fresco da parte aérea e radicular.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Scott-knott em nível de 5% de probabilidade de erro, utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2000)

RESULTADOS

Caracterização Física e Química dos Substratos

Os resultados da caracterização física dos substratos (Tabela.3) mostram maior porcentagem da macroporosidade no substrato SA (solo + areia + vermiculita + palha de arroz carbonizada + torta de filtro). A microporosidade, porosidade total, capacidade máxima de retenção de água, mostram maiores porcentagens nos substratos SD (Turfa Fértil®), SE (solo + areia + torta de filtro) e SF (Bioplant®), e em relação aos resultados da densidade aparente do substrato, foram somente os substratos comerciais SD (Turfa Fértil®) e SF (Bioplant®).

Tabela 3 – Atributos físicos dos substratos.

Substratos**	MA* (%)	MI*(%)	PT*(%)	CMRA*(50ml/cm ³)	DAS*(g/cm ³)
SA	4,8	34,6	39,4	17,3	0,31
SB	3,2	38,0	41,2	19,0	0,51
SC	3,2	37,2	40,4	18,6	0,54
SD	3,2	43,6	46,8	21,8	0,02
SE	3,2	43,0	46,2	21,5	0,48
SF	3,2	42,4	45,6	21,2	0,07

*MA: macroporosidade, MI: microporosidade, PT: porosidade total, CMRA: capacidade máxima de retenção de água, DAS: densidade aparente do substrato.

**substratos: SA – solo+areia+vermiculita+palha de arroz carbonizada+torta de filtro; SB – solo+areia+vermiculita; SC – solo+areia+palha de arroz carbonizada; SD – comercial Turfafertil®; SE – solo+areia+torta de filtro; SF – comercial Bioplant®.

Nas análises da matéria orgânica, os substratos apresentaram níveis de 32,2g/Kg (SA); 2,7g/Kg (SB); 2,7g/Kg (SC); 402,6g/Kg (SD); 40,3g/Kg (SE) e 228,1g/Kg (SF). E os resultados das análise do pH (CaCl₂) mostraram pH de 6,6 (SA); 6,4 (SB); 5,6 (SC); 5,5 (SD); 7,1 (SE) e 5,0 (SF).

Teste com *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

No ensaio desenvolvido com *Fusarium oxysporum* (Tabela.4), os melhores resultados de controle do tombamento de plântulas de tomateiro foram obtidos pelos tratamentos T22(SD), T23(SE) e T24(SF), aos quais foi aplicado o produto comercial Trichobel®, e pelos tratamentos T28(SD) e T30(SF), aplicado isolado selvagem de *Trichoderma* spp. Entre esses tratamentos, a porcentagem de tombamento variou de 0% e 3%, mostrando uma maior eficiência no controle.

Observou-se que nos diferentes controles, o químico com Ridomil®, biológico com produto comercial e biológico com isolado selvagem, a menor porcentagem de tombamento ocorreu nos substratos comerciais Turfa Fertil® e Bioplant®, assim como o substrato SE (solo+areia+torta de filtro), com aplicação de controle biológico do produto comercial, que também apresentou baixa porcentagem de tombamento.

Entre os tratamentos do controle químico, o T16 (SD – Turfa Fertil®) e T18 (SF - Bioplant®) apresentaram porcentagem de tombamento de 7% e 8%, respectivamente, sendo que os demais T13(SA), T14(SB), T15(SC) e T17(SE), apresentaram 13%, 14%, 13% e 10% de tombamento, respectivamente, semelhantes aos tratamentos T10 e T12 STCI (sem tratamento e com inoculação do patógeno).

Quanto à germinação, que variou de 88% a 100%, não houve diferença significativa entre todos os tratamentos.

Na avaliação de altura da plântula, observaram-se os melhores resultados nos tratamentos T6, T18, T24, T30, T4, T16 e T22, os quatro primeiros com substrato Bioplant® e outros três, com Turfa Fertil®. Para comprimento de raiz, as maiores foram observados em T4 Turfa Fertil® e T12 Bioplant®.

Quanto ao peso da parte aérea, observaram-se os melhores resultados nos tratamentos T6, T24, T30, T4, T22 e T28, os três primeiros com substrato Bioplant® e outros três, com Turfa Fertil®. O maior peso de raiz também foi observado nos tratamentos T28 e T30.

Teste com *Pythium* sp.

Nos resultados obtidos no ensaio com *Pythium* sp. (Tabela.5), a maior taxa de controle de tombamento foi observada nos tratamentos T10, T16, T22 e T28 (Turfa Fertil®); T12, T18, T24 e T30 (Bioplant®); e T23 (SE - solo+areia+torta de filtro). Comparando esses tratamentos em relação às aplicações do controle químico com Ridomil®, controle biológico com produto comercial e biológico com isolado selvagem; não houve diferença significativa entre eles.

A germinação variou de 13% a 98%, verificando maior porcentagem com substrato Turfa Fertil® e Bioplant®. Nas testemunhas sem tratamento e sem inoculação (STSI), observou-se porcentagem alta de germinação em todos os substratos.

Quanto à altura da plântula e ao comprimento de raiz, observaram-se os melhores resultados com substrato Turfa Fertil® e Bioplant®, inclusive no substrato SA e SB da testemunha (STSI), sem tratamento e sem inoculação do patógeno, SA e SB do tratamento com produto biológico comercial Trichobel®.

Quanto ao peso, na parte aérea, observaram-se os melhores resultados nos tratamentos T16, T22 e T28 (Turfa Fertil®) e T18(Bioplant®). Os resultados com maior peso de raiz foram nas testemunhas sem tratamento e sem inoculação do patógeno, seguido dos tratamentos T28 e T22, ambos com substrato comercial Turfa Fertil®.

Teste com *Rhizoctonia solani*

De acordo com os resultados (Tabela.6), os tratamentos que obtiveram menor porcentagem de tombamento foram T22(SD) e T24(SF), com aplicações de controle biológico com produto comercial Trichobel®, e T28(SD) e T30(SF), com aplicações de controle biológico com isolado selvagem de *Trichoderma* spp.

Nesse teste com *R.solani*, os substratos SD (Turfa Fertil®) e SF (Bioplant®) também apresentaram influência no controle de tombamento, assim como nos testes anteriores com *Fusarium* e *Pythium*. Mas esse apresentou maior diferença em relação às aplicações química e biológica.

Os maiores percentuais de germinação foram observados nos tratamentos T25(SA), T26(SB), T27(SC), T28(SD), T29(SE) e T30(SF), com aplicações do isolado selvagem de *Trichoderma* spp., e T24(SF), com aplicação de produto comercial Trichobel®, demonstrando que houve maior controle do tombamento pré-emergente quando aplicado o isolado selvagem (T25 a T30), independente do substrato.

A avaliação da altura das plântulas, comprimento de raízes e peso foram semelhantes aos ensaios anteriores de *Fusarium* e *Pythium*, apresentando os melhores resultados os tratamentos com substratos Turfa Fertil® e Bioplant®.

DISCUSSÃO

Nos ensaios de *Fusarium oxysporum* e *Pythium* sp. relatou-se menor porcentagem de tombamento devido aos substratos utilizados Turfa Fertil® e Bioplant® e não devido às aplicações de controle químico e biológico, pois nas testemunhas T10 (Turfa Fertil®) e T12 (Bioplant®) não foram feitas aplicações e o controle foi semelhante ao tratamento químico, mostrando que as aplicações de controle químico e biológico não influenciaram no controle.

No teste de *Rhizoctonia solani*. foi observado eficiência no controle com aplicações de *Trichoderma* spp., tanto do produto comercial como do isolado selvagem, quando comparado ao controle do produto químico, que também mostrou controle do tombamento, mas com porcentagens inferiores ao controle biológico.

Howell (2003) relatou a importância do controle biológico de doenças de plantas com a utilização de *Trichoderma* spp., principalmente as causadas por fitopatógenos como a *R. solani*, devido a alta eficiência dos mecanismos de ação como parasitismo pela penetração do *Trichoderma* spp. nos micélios de *R. solani*, antibiose pela produção de metabólitos inibidores do crescimento e esporulação de *Trichoderma* spp. e competição por nutrientes e oxigênio.

A efetividade das aplicações de controle biológico foram comprovadas devido aos resultados do ensaio com *R. solani*, pois nesse ensaio as testemunhas STCI (sem tratamento e com inoculação) apresentaram porcentagens de tombamento significativamente superiores aos tratamentos com aplicações. Mas também ocorreu certa influência dos dois substratos Turfa Fertil® e Bioplant®, pois

nos tratamentos com as aplicações de controle biológico, juntamente com esses dois substratos, a porcentagem de tombamento foi menor.

Os substratos elaborados por meio das misturas com solo, areia, vermiculita e casca de arroz carbonizada, não apresentaram resultados significativos, somente em alguns tratamentos com adição de torta de filtro pode ser observado alguma eficiência. Para o melhor aproveitamento desses materiais deve haver uma elaboração adequada de acordo com as características físicas e químicas para a formulação de substratos que tenham um potencial de uso no sistema de produção de mudas.

A eficiência dos substratos Fertil® e Bioplant® pode estar associado às suas características físicas e químicas, que proporcionaram condições favoráveis para o melhor desenvolvimento das mudas e conseqüentemente, reduzindo a predisposição à patógenos. Possivelmente, devido aos altos níveis de matéria orgânica presente nos substratos e o pH ácido, assim como a maior capacidade de retenção de água e a menor densidade aparente do substrato.

Segundo Fernandes et al. (2006), a densidade é uma importante propriedade para o manejo, uma vez que o substrato e recipientes são transportados e manipulados, podendo influenciar nos custos de transporte e infraestrutura necessária para sua utilização.

Em trabalhos realizados por Woo (1986), relatou-se a diminuição da população de *Trichoderma* spp. em solos com baixo teor de umidade e em relação a incorporação de matéria orgânica, observou significativo aumento da população. A umidade é considerada um dos fatores que mais influenciam na manutenção da distribuição natural das várias espécies de *Trichoderma* spp. e na capacidade deles em colonizar a rizosfera para competir com os patógenos (DANIELSON; DAVEY, 1973), bem como a filosfera (HANNUSCH; BOLAND, 1996). Melo (1998) relatou que o fungo *Trichoderma* spp. tem ampla distribuição no mundo, em praticamente todos os tipos de solos e habitats naturais, especialmente, naqueles que contém ou são formados de matéria orgânica.

Howell (2003) relatou que os mecanismos de ação do controle biológico são influenciados pelo substrato ou solo, temperatura e pH. Confirmando trabalhos de Papavizas (1985) e Harman e Taylor (1988), que relataram que o pH pode influenciar o parasitismo de biocontroladores como *Trichoderma* spp., que são geralmente favorecidos por solos ácidos.

Os conhecimentos a respeito do desempenho desses substratos correlacionados com controle químico e biológico de doenças são escassos. Nascimento et al. (2003), testando apenas a germinação de hortaliças com tipos de substratos diferentes, observaram que o substrato Turfa Fértil® proporcionou excelentes resultados de germinação, assim como Gomes et al. (2008), mas trabalhando com o substrato Bioplant®.

Sobre a eficiência antagônica de isolados selvagens de *Trichoderma* spp. no controle de doenças existem inúmeros relatos como de Elad et al. (1980), Hadar et al. (1987), Larkin et al. (1998), Naseby et al. (2000), Howell (2003), Harman et al. (2004) Asran-Amal et al. (2005) e Woo et al. (2006).

Hadar et al. (1987), em estudos com *Rhizoctonia solani*, relataram a capacidade de isolados selvagens de *Trichoderma harzianum* em colonizar o micélio de *R. solani*, diminuindo efetivamente os danos causados por esse patógeno. Asran-Amal et al. (2005), também testaram isolados de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* em testes *in vivo* apresentando dados satisfatórios para o controle de doenças.

Tabela 4 – Efeito de substratos e biocontroladores frente à *Fusarium oxysporum*.

Tratamentos Substrato	Parte Aérea		Parte Radicular		Germinação (%)	Tombamento (%)
	A(cm)	P(g)	C(cm)	P(g)		
T01 STSI / SA	6,7c	0,8d	6,7d	0,6f	96a	0a
T02 STSI / SB	6,0b	0,8d	7,0e	0,5f	96a	0a
T03 STSI / SC	6,3b	0,6c	5,8b	0,5e	92a	0a
T04 STSI / SD	9,6f	1,1g	8,1f	0,7g	91a	0a
T05 STSI / SE	6,0b	0,8d	5,8b	0,5e	94a	0a
T06 STSI / SF	9,3f	0,9f	6,2c	0,6f	93a	0a
T07 STCI / AS	5,7a	0,7c	5,1a	0,3b	95a	33g
T08 STCI / SB	6,2b	0,4a	4,8a	0,3a	95a	25f
T09 STCI / SC	6,5c	0,5a	5,8b	0,3a	88a	23f
T10 STCI / SD	7,6d	0,7d	7,4e	0,4d	98a	11d
T11 STCI / SE	5,4a	0,5b	5,1a	0,3a	91a	18e
T12 STCI / SF	7,8d	0,7d	8,4f	0,5e	94a	9c
T13 Q / SA	8,0d	0,6b	5,1a	0,6f	98a	13d
T14 Q / SB	6,5c	0,6b	5,3a	0,4c	96a	14d
T15 Q / SC	6,8c	0,5b	4,8a	0,4d	93a	13d
T16 Q / SD	8,6e	0,8e	6,1c	0,7g	88a	7c
T17 Q / SE	6,3b	0,6b	5,6b	0,3b	91a	10c
T18 Q / SF	8,3e	0,8e	6,9e	0,5e	97a	8c
T19 BC / SA	6,3b	0,9e	5,6b	0,6g	92a	13d
T20 BC / SB	6,7c	0,8d	5,6b	0,6f	93a	10c
T21 BC / SC	6,5c	0,7c	5,2a	0,4d	95a	12d
T22 BC / SD	8,6e	1,0f	7,1e	0,6f	92a	2b
T23 BC / SE	7,3c	0,8e	5,3a	0,5d	97a	3b
T24 BC / SF	8,4e	0,9f	6,3d	0,6f	100a	3b
T25 BS / SA	7,0c	0,8d	5,4a	0,8i	92a	11d
T26 BS / SB	6,9c	0,8e	5,0a	0,8i	93a	7c
T27 BS / SC	6,9c	0,7c	5,0a	0,7h	97a	9c
T28 BS / SD	7,7d	1,0f	6,6d	0,8j	88a	2b
T29 BS / SE	6,8c	0,8e	5,5b	0,7g	92a	10c
T30 BS / SF	8,2e	1,0f	6,7d	0,9j	96a	3b
CV(%)	6,2	8	5,9	5,6	5,8	24,9
Média geral	7,1	0,7	6	0,5	93,7	8,9

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-knott, em nível de 5% de significância. A=altura, C=comprimento e P=peso.

*tratamentos: STSI – sem tratamento e sem inoculação do patógeno; STCI - sem tratamento e com inoculação do patógeno, Q – controle químico; BC – controle biológico com produto comercial; BS – controle biológico com isolado selvagem.

**substratos: SA – solo+areia+vermiculita+palha de arroz carbonizada+torta de filtro; SB – solo+areia+vermiculita; SC – solo+areia+palha de arroz carbonizada; SD – comercial Turfafertil®; SE – solo+areia+torta de filtro; SF – comercial Bioplant®.

Tabela 5 – Efeito de substratos e biocontroladores frente à *Pythium* sp.

Tratamentos	Parte Aérea		Parte Radicular		Germinação (%)	Tombamento (%)
	A(cm)	P(g)	C(cm)	P(g)		
T01 STSI / SA	7,0e	0,6j	6,3f	0,4i	93 e	0a
T02 STSI / SB	7,3f	0,5h	5,9e	0,5k	89 e	0a
T03 STSI / SC	6,6d	0,5i	5,7d	0,5j	90 e	0a
T04 STSI / SD	6,6d	0,6m	6,5g	0,6l	97 e	0a
T05 STSI / SE	6,5d	0,5h	5,6d	0,5k	89 e	0a
T06 STSI / SF	7,0e	0,6l	6,5g	0,6l	98 e	0a
T07 STCI / AS	5,2a	0,2b	5,6d	0,2b	47 c	22 e
T08 STCI / SB	5,1a	0,2b	5,3c	0,2c	50 c	12 c
T09 STCI / SC	5,0a	0,2b	5,0b	0,1a	47 c	27 f
T10 STCI / SD	6,6d	0,3c	5,9e	0,3g	87 e	7 b
T11 STCI / SE	5,1a	0,1a	4,5a	0,2d	29 b	24 e
T12 STCI / SF	7,2f	0,3d	6,4g	0,3f	91 e	5 b
T13 Q / SA	6,6d	0,5i	5,6d	0,2d	21 a	15 d
T14 Q / SB	6,4c	0,5i	5,4c	0,2c	42 c	16 d
T15 Q / SC	6,3c	0,5h	5,1b	0,1a	45 c	16 d
T16 Q / SD	6,9e	0,6l	6,3f	0,3g	95 e	5 b
T17 Q / SE	6,0b	0,5h	5,3c	0,2d	68 d	11 c
T18 Q / SF	6,6d	0,6m	6,1e	0,3e	96 e	5 b
T19 BC / SA	6,4c	0,5i	6,2f	0,3g	13 a	11 c
T20 BC / SB	6,6d	0,5g	6,2f	0,3g	53 c	11 c
T21 BC / SC	6,3c	0,5h	5,9e	0,3g	55 c	11 c
T22 BC / SD	6,7d	0,6k	6,7g	0,4i	91 e	5 b
T23 BC / SE	6,7d	0,5i	5,3c	0,3g	28 b	7 b
T24 BC / SF	6,9e	0,6j	6,2f	0,3g	87 e	5 b
T25 BS / SA	6,6d	0,5i	5,3c	0,3f	17 a	12 c
T26 BS / SB	6,3c	0,4f	5,1b	0,3g	23 b	13 c
T27 BS / SC	5,9b	0,4f	5,3c	0,3f	15 a	17 d
T28 BS / SD	6,8e	0,6k	6,3f	0,4i	82 e	3 b
T29 BS / SE	6,1c	0,4e	5,5d	0,3g	32 b	10 c
T30 BS / SF	6,9e	0,5i	6,2f	0,4h	90 e	4 b
CV(%)	2,9	3,8	3,7	5,5	16,4	27
Média geral	6,4	0,5	5,8	0,3	62	9,1

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-knott, em nível de 5% de significância. A=altura, C=comprimento e P=peso.

*tratamentos: STSI – sem tratamento e sem inoculação do patógeno; STCI - sem tratamento e com inoculação do patógeno, Q – controle químico; BC – controle biológico com produto comercial; BS – controle biológico com isolado selvagem.

**substratos: SA – solo+areia+vermiculita+palha de arroz carbonizada+torta de filtro; SB – solo+areia+vermiculita; SC – solo+areia+palha de arroz carbonizada; SD – comercial Turfafertil®; SE – solo+areia+torta de filtro; SF – comercial Bioplant®.

Tabela 6 – Efeito de substratos e biocontroladores frente à *Rhizoctonia solani*.

Tratamentos	Parte Aérea		Parte Radicular		Germinação (%)	Tombamento (%)
	A(cm)	P(g)	C(cm)	P(g)		
T01 STSI / SA	6,5b	0,8d	5,7d	0,5d	90 e	0a
T02 STSI / SB	6,0a	0,8d	6,7e	0,6e	91 e	0a
T03 STSI / SC	6,1a	0,8d	7,0e	0,5e	96 e	0a
T04 STSI / SD	6,9c	1,0e	6,2d	0,6f	97 e	0a
T05 STSI / SE	6,3b	0,6c	5,9d	0,5d	93 e	0a
T06 STSI / SF	9,3g	1,1f	8,1g	0,7g	96 e	0a
T07 STCI / AS	6,2a	0,6b	5,1c	0,3a	49 c	42 i
T08 STCI / SB	6,5b	0,7c	5,1c	0,3a	19 a	56 j
T09 STCI / SC	5,7a	0,4a	4,9b	0,3a	27 a	55 j
T10 STCI / SD	8,0e	0,7d	8,5g	0,6f	59 c	22 f
T11 STCI / SE	8,1e	0,5a	5,9d	0,5c	76 d	35 h
T12 STCI / SF	7,5d	0,7d	7,5f	0,4c	92 e	28 g
T13 Q / SA	6,7c	0,6b	5,3c	0,5d	59 c	17 e
T14 Q / SB	6,4b	0,6b	5,1c	0,4b	62 c	27 g
T15 Q / SC	6,4b	0,6b	5,4c	0,4c	68 d	23 f
T16 Q / SD	8,2e	0,8d	7,3f	0,6f	59 c	11 d
T17 Q / SE	6,3b	0,6c	4,7b	0,5c	87 e	22 f
T18 Q / SF	8,6f	0,8d	6,1d	0,7g	74 d	12 d
T19 BC / SA	6,7c	0,8d	4,7b	0,6f	62 c	12 d
T20 BC / SB	6,3b	0,9d	4,9b	0,5e	39 b	17 e
T21 BC / SC	7,2c	0,8d	4,0a	0,6e	23 a	19 e
T22 BC / SD	8,4f	1,0e	6,9e	0,8h	55 c	3 b
T23 BC / SE	6,5b	0,7c	5,9d	0,5c	70 d	12 d
T24 BC / SF	8,6f	1,0e	7,0e	0,6f	80 d	5 b
T25 BS / SA	7,0c	0,8d	6,1d	0,6f	66 d	13 d
T26 BS / SB	6,9c	0,8d	5,6d	0,5d	63 c	16 e
T27 BS / SC	7,2c	0,8d	6,8e	0,5e	51 c	12 d
T28 BS / SD	8,2e	1,0e	7,2f	0,7g	42 b	0a
T29 BS / SE	7,0c	0,7c	5,3c	0,6f	73 d	8 c
T30 BS / SF	7,9e	1,0e	7,3f	0,7g	74 d	3 b
CV(%)	4,6	8,1	5,6	5	15,5	15,7
Média geral	7,1	0,8	6,1	0,5	66,4	15,7

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-knott, em nível de 5% de significância. A=altura, C=comprimento e P=peso.

*tratamentos: STSI – sem tratamento e sem inoculação do patógeno; STCI - sem tratamento e com inoculação do patógeno, Q – controle químico; BC – controle biológico com produto comercial; BS – controle biológico com isolado selvagem.

**substratos: SA – solo+areia+vermiculita+palha de arroz carbonizada+torta de filtro; SB – solo+areia+vermiculita; SC – solo+areia+palha de arroz carbonizada; SD – comercial Turfafertil®; SE – solo+areia+torta de filtro; SF – comercial Bioplant®.

CONCLUSÃO

No sistema produção de mudas, a utilização de substratos comerciais como Bioplant® e Turfa Fértil® é mais indicada e mais segura, devido as características físicas e químicas presentes em cada um, podendo influenciar até mesmo na ocorrência de alguns patógenos *Rhizoctonia solani*, *Pythium* sp. e *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

A aplicação de microrganismos biocontroladores, tanto com produtos comerciais como isolados selvagens de *Trichoderma* spp., é mais eficiente para o controle de tombamento de mudas de tomateiro causado por *Rhizoctonia solani*, diminuindo a incidência do patógeno e favorecendo o desenvolvimento das plântulas. No caso do controle de *Pythium* sp. e *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, a aplicação de produtos químico ou biológico não mostra diferença no controle de tombamento.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ASRAN-AMAL, A.; ABD-ELSALAM, K. A.; OMAR, M. R.; ALY, A. A. Antagonistic potential of *Trichoderma* spp. against *Rhizoctonia solani* and use of M13 microsatellite-primed PCR to evaluate the antagonist genetic variation. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Stuttgart, v.112, n.6, p.550–561, 2005.

DANIELSON, R.M.; DAVEY, C.B. The abundance of *Trichoderma* propagules and the distribution of species in forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.5, n.5, p.485–494, 1973.

ELAD, Y.; CHET, I.; KATAN, J. *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.70, n.2, p.119-121, 1980.

FERNANDES C; CORÁ JE; BRAZ LT. Desempenho de substratos no cultivo do tomateiro do grupo cereja. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.24, n.1, p.42-46, 2006.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. Anais... São Carlos: UFSCar, 2000. p.255-258.

GOMES, L.A.A.; RODRIGUES, A.C.; COLLIER, L.S.; FEITOSA, S.S. Produção de mudas de alface em substrato alternativo com adubação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.26, n.3, p.359-356, 2008.

GUERRINI, I. A.; TRIGUEIRO, R. M. Atributos físicos e químicos de substratos compostos por bioossólidos e casca de arroz carbonizada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, n.6, p.1069-1076, 2004.

HADAR, Y.; CHET, I.; HENIS, Y. Biological control of *Rhizoctonia solani* damping-off with wheat bran culture of *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**. Saint Paul, v.69, p.64-68, 1979.

HANNUSCH, D.J. and BOLAND, G.J. Influence of air temperature and relative humidity on biological control of white mold of bean (*Sclerotinia sclerotiorum*). **Phytopathology**, Saint Paul, v.86, n.2, p.156–162. 1996.

HARMAN, G.E.; PETZOLDT, R.; COMIS, A.; CHEN, J. Interactions between *Trichoderma harzianum* strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.94, n.2, p.147-153, 2004.

HARMAN, G.E.; TAYLOR, A.G. Improved seedling performance by integration of biological control agents at favorable pH levels with solid matrix priming. **Phytopathology**, Saint Paul, v.78, n.5, p.520–525. 1988.

HJELJORD, L.; TRONSMO, A. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: na overview. In: HARMAN, G.E.; KUBICEK, C.P. **Trichoderma and Gliocladium: Enzymes, biological control and commercial applications**. ed.1. Londres: Taylor & Francis, 2005. p.115-133.

HOMECHIN, M. **Potencial e emprego de isolados brasileiros de *Trichoderma harzianum* para o controle de patógenos de soja (*Glycine max* L.)**. 1987. Tese (Doutorado em Fitopatologia)- Universidade de São Paulo - ESALQ. Piracicaba.

HOWELL, C.R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant**

Disease, Saint Paul, v.87, n.1, p.4-10, 2003.

LAMAIRE, F. Physical, chemical and biological properties of growing medium. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.396, n.1, p.273-284, 1995.

LARKIN, R.P.; FRAVEL, D. R. Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of Fusarium wilt of tomato. **Plant Disease**, Saint Paul, v.82, n.9, p.1022-1028, 1998.

LOPES, C.A.; REIS, A.; MAKISHIMA, N. **Como prevenir o“tombamento” em mudas de hortaliças**. EMBRAPA Comunicado Técnico 28, p.1-4, 2005.

MELO, I.S. Agentes microbianos no controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I.S. & AZEVEDO, J.L. **Controle Biológico**. 1ed, v.1. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998. p.17-67.

MIRANDA, S.C.; RIBEIRO, R.L.D.; RICCI, M.S.F.; ALMEIDA, D.L. **Avaliação de substratos alternativos para produção de mudas de alface em bandejas**. EMBRAPA. Comunicado Técnico 24, p.1-6, 1998.

NASCIMENTO, W.M.; SILVA, J.B.C.; CARRIJO, O.A. **Germinação de sementes de hortaliças em diferentes substratos para produção de mudas**. Associação Brasileira de Horticultura. Disponível em: <http://www.abhorticultura.com.br/biblioteca/arquivos/Download/Biblioteca/olfg4063C.pdf>. Acesso em: 15 de dez. 2008.

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**, v.88, p.161–169, 2000.

PAPAVIZAS, G.C. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. **Annual Review Phytopathology**, Paio Alto, v.23, p.23-54, 1985.

PEIXOTO, J.R. **Efeito da matéria orgânica, do superfosfato simples e do cloreto de potássio na formação de mudas de maracujazeiro azedo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deneger)**. 101p. Tese (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Lavras, Lavras, 1986.

PEREIRA, P. R. G. MARTINEZ, H. P. E. Produção de mudas para o cultivo de hortaliças em solo e hidroponia. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 200/201, p.24-31, 1999.

QUEZADO-DUVAL, A. M.; REIS, A.; INOUE-NAGATA, A. K.; CHARCHAR, J. M.; GIORDANO, L. B.; BOITEUX, L. S. **Cuidados especiais no manejo da cultura do tomate no verão**. EMBRAPA. Comunicado Técnico 43. p.1-5, 2007.

SILVEIRA, E.B.; RODRIGUES, V.J.L.B.; GOMES, A.M.A.; MARIANO, R.L.R.; MESQUITA, J.C.P. Pó de coco como substrato para produção de mudas de tomateiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.2, p.211-216, 2002.

SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. Processos microbiológicos e bioquímicos no solo. In: SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. eds. **Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC/ESAL/FAEP/ABEAS, 1988. p. 23-46.

SOUZA, J.L.; BARRELLA, T.P.; SIQUEIRA, R.G.; SANTOS, R.H.S.; VIDAL, M.C. Propagação de plantas. In: HENZ, G.P.; ALCÂNTARA, F.A.; RESENDE, F.V. **Produção orgânica de hortaliças: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, 2007.

WOO, S.L.; SCALA, F.; RUOCCO, M.; LORITO, M. The Molecular Biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. **Phytopathology**, Saint Paul, v.96, n.2, p.181-185, 2006.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para o sistema de produção de mudas de tomateiro, a seleção dos melhores substratos pode fazer a diferença no sucesso da produção final. Normalmente os substratos comerciais apresentam um maior equilíbrio na sua composição química e física, o que facilita o desenvolvimento das mudas. Mas a adição de agentes de controle biológico também pode ajudar como promotor de crescimento ou oferecendo maior defesa da plântula contra a ação dos patógenos ou diminuição da concentração do seu inóculo.

A utilização desses métodos alternativos para o controle de doenças de plantas e a redução da aplicação de produtos químicos pode levar a um maior equilíbrio no agroecossistema, reduzindo significativamente problemas causados por fitopatógenos. Nesse sentido, a seleção de microrganismos biocontroladores é a principal etapa dos programas de controle biológico, por meio da identificação dos mecanismos de ação dos diferentes antagonistas existentes na natureza e seus potenciais.

Após a introdução de um agente microbiano como o *Trichoderma* spp., primeiramente ocorre seu estabelecimento e em seguida as interações antagônicas com o patógeno, mostrando-se um processo extremamente sensível e de longo prazo, quando comparado a agricultura convencional com controle químico. Portanto, vários fatores devem ser levados em consideração, principalmente os fatores ambientais, que influenciam diretamente no desenvolvimento do antagonista e desempenho das suas atividades ou ativação dos mecanismos de ação.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. **Plant Pathology**. 4 ed. San Diego: Academic, 1997. 508p.
- ALFENAS, A.C., ZAUZA, E.A.V., MAFIA, R.G. & ASSIS, T.F. **Clonagem e Doenças do Eucalipto**. Viçosa: UFV, 2004. 442p.
- ALVARENGA, M.A.R. Origem, botânica e descrição da planta. In: ALVARENGA, M.A.R. **Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia**. Lavras: UFLA, 2004. 400p.
- ANDRIOLO, J.L.; BOEMO, M.P.; BONINI, J.V. Crescimento e desenvolvimento de mudas de tomateiro e melão empregando os métodos de irrigação por microaspersão, inundação subsuperficial e flutuação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.19, n.3, p. 200-203, 2001.
- ASRAN-AMAL, A.; ABD-ELSALAM, K. A.; OMAR, M. R.; ALY, A. A. Antagonistic potential of *Trichoderma* spp. against *Rhizoctonia solani* and use of M13 microsatellite-primed PCR to evaluate the antagonist genetic variation. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Stuttgart, v.112, n.6, p.550–561, 2005.
- BECKER, J. O.; COOK, R. J. Role of siderophores in suppression of *Pythium* species and production of increased growth response of wheat by fluorescent *Pseudomonas*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.59, n.8, p.1147-1151, 1988.
- BEDENDO, I.P. Doenças vasculares. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (Eds.) **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos**. 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p.838-847.
- BETTIOL, W.; Productos alternativos para el manejo de enfermedades en cultivos comerciales. **Fitosanidad**. v.10, n.2, p.85-98, 2006.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Controle biológico. In: KIMATI H.; AMORIM L.; BERGAMIN FILHO, A.;. **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos**. 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p.717-729.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. In: CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. (Eds). **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2003.

BISSET, J. A revision of the genus *Trichoderma*: II infrageneric classification. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.69, n.11, p.2357-2372, 1991.

BIZI, R.M. **Utilização de fungos no controle biológico de doenças**. Disponível em: <<http://www.floresta.ufpr.br/~lpf/contbio03.html>>. Acesso em: 15 de mai. 2007.

CARMELLO, Q.A.C. Nutrição e adubação de mudas hortícolas. In: MINAMI, K. **Produção de mudas de alta qualidade em horticultura**. São Paulo: T.A. Queiroz, 1995. p.33-37.

CAVALCANTI, L.S.; DIPIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 263p.

CHET, I.; BAKER, R. Indication of suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. **Phytopathology**. Saint Paul, v.70, n.9, p.994-998, 1980.

COTXARRERA, L. et al. Use of sewage sludge compost and *Trichoderma asperellum* isolates to suppress *Fusarium* wilt of tomato. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 34, p. 467-476, 2002.

COOK, R.J.; BAKER, K.F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. Saint Paul: APS, 1983. 539p.

DATNOFF, L.E.; NEMEC, S., PERNEZNY, K. Biological control of *Fusarium* crown and root rot of tomato in Florida using *Trichoderma harzianum* and *Glomus intraradices*. **Biological Control**, v.5, p.427-431, 1995.

DORAIS, M.; GOSELIN, A.; PAPADOPOULOS, A.P. Green house tomato fruit: quality. **Horticultural Reviews**, Westport, v.26, p.239-306, 2001.

ELAD, Y.; CHET, I.; HENIS, Y. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.28, p.719-725, 1982.

EPAGRI/CEPA. **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina**. Disponível em: <http://cepa.epagri.sc.gov.br/>. Acesso: 9 jul. 2007.

FERNANDES C; CORÁ JE; BRAZ LT. Desempenho de substratos no cultivo do tomateiro do grupo cereja. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.24, n.1, p.42-46, 2006.

GAMS, W.; BISSET, J. Morphology and identification of *Trichoderma*. In: HARMAN G. E.; KUBICEK, C. P. **Trichoderma & Gliocladium: Basic biology, taxonomy and genetics**. London: Taylor&Francis, 1998. 286p.

GONÇALVES, A.L. Mudanças de alta qualidade em floricultura. In: MINAMI, K.; TESSRIOLI NETO, J.; PENTEADO, S.R. SCARPARE FILHO, J.A. **Produção de mudas hortícolas de alta qualidade**. Piracicaba: USP/SEBRAE, 1994. p.1-15.

GRIGOLETTI JUNIOR, A.; SANTOS, A.F. dos; AUER, C.G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, Curitiba, v.30, n.1/2, p.155-165, 2000.

HADAR, Y.; CHET, I.; HENIS, Y. Biological control of *Rhizoctonia solani* damping-off with wheat bran culture of *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**. Saint Paul, v.69, p.64-68, 1979.

HARMAN, G.E. et al. *Trichoderma* species: opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Review**, v.2, p.43-56, 2004.

HARTLEY, C. **Damping-off in forest nurseries**. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, v.934, p1-99, 1921.

HENIS, I.; GRAFAR, A.; BAKER, R. Integrated control of *Rhizoctonia solani* damping-off of radish: effect of successive plantings, PCNB, and *Trichoderma harzianum* on pathogen and disease. **Phytopathology**. Saint Paul, v.68, n.6, 900-907, 1978.

HENRY, A.W. The natural microflora of the soil in relation to the foot-rot problem of wheat. **Canadian Journal Research**, v.4, p.69-77. 1931.

HJELJORD, L.; TRONSMO, A. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. In: HARMAN, G.E.; KUBICEK, C.P. **Trichoderma and Gliocladium: Enzymes, biological control and commercial applications**. ed.1. Londres: Taylor & Francis, 2005. p.115-133.

HOWELL, C.R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, Saint Paul, v.87, n.1, p.4-10, 2003.

JONES JUNIOR, J.B. **Tomato plant culture: in the field, greenhouse and home garden**. Florida: CRC Press, 1998. 199p.

JONES JUNIOR, J.B.; STAL, R.E.; ZITTER, T.A. **Compendium of tomato diseases**. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 1991. 73p.

KERKENI, A.; DAAMI-REMADI, M.; TARCHOUN, N.; KHEDHER, M.B. *In vitro* and *in vivo* suppression of *Pythium ultimum* the causal agent of the cucumber damping-off by some compost fungi. **Asian Journal of Agricultural Research**, Chemistry, v.1, n.2, p.50-58, 2007.

KHAN, A.M.; SAXENA, S.K.; SIDDIQI, Z.A. Efficacy of *tagetes erecta* in reduction root infesting nematodes of tomato and okra. **Indian Phytopathology**, v.24, p.166-169, 1971.

KRUGNER, T.L.; BACCHI, L.M.A. Fungos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (Eds.) **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos**. 3ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. 919p.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M.A. Doenças do tomateiro. In: KIMATI H.; AMORIM L.; BERGAMIN FILHO A.; CAMARGO L. E. A. & REZENDE J. A. M. **Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 3ed, v.2. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. 775p.

LAMAIRE, F. Physical, chemical and biological properties of growing medium. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.396, n.1, p.273-284, 1995.

LARKIN, R.P.; FRAVEL, D. R. Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of *Fusarium* wilt of tomato. **Plant Disease**, Saint Paul, v.82, n.9, p.1022-1028, 1998.

LOPES, C.A.; ÁVILA, A.C. **Doenças do tomateiro**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2005. 151p.

LOPES, C.A.; SANTOS, J.R.M. **Doenças do tomateiro**. Brasília: Embrapa, 1994. p.17

LYNCH, J.M.; WILSON, K.L.; OUSLEY, M.A.; WHIPPS, J.M. Response of lettuce to *Trichoderma* treatment. **Letters in Applied Microbiology**, v.12, n.2, p.59-61, 1991.

MARIM, B.G.; SILVA, D.J.H.; GUIMARÃES, M.A.; BELFORT, G. Sistemas de tutoramento e condução do tomateiro visando produção de frutos para consumo *in natura*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.4, p.951-955, 2005.

MARTINS-CORDER, M.P. & MELO, I.S. Antagonismo "in vitro" de *Trichoderma* spp. a *Verticillium dahliae* KLEB. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v55, n.1, p.1-7, 1998.

MELO, I.S. Agentes microbianos no controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I.S. & AZEVEDO, J.L. **Controle Biológico**. 1ed, v.1. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998. p.17-67.

MELO, I.S. Trichoderma e Gliocladium como bioprotetores de plantas. In: LUZ, W.C. **Revisão anual de patologia de plantas**. v.4. 1996. p.261-295.

MELO, I.S. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. p.135-156.

MINAMI, K. **Produção de Mudanças de Hortaliças de Alta Qualidade em Horticultura**. São Paulo: Fundação Salim Farah Maluf, 1995. 128p.

MINAMI, K.; HAAG, H.P. **O tomateiro**. 2ed. Campinas: Fundação Cargill, 1989. 397p.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso: 24 out. 2008.

MIRANDA, S.C.; RIBEIRO, R.L.D.; RICCI, M.S.F.; ALMEIDA, D.L. **Avaliação de substratos alternativos para produção de mudas de alface em bandejas**. EMBRAPA. Comunicado Técnico 24, 1998, p.1-6.

NAIKA, S.; JEUDE, J.V.L.; GOFFAU, M.; HILMI, M.; DAM, B.V. **A cultura do tomateiro, produção, processamento e comercialização**. 1ed. Wageningen, 104p. 2006.

OKLEIFELF, O.; CHET, I. *Trichoderma harzianum*: interaction with plants and effect on growth. **Plant Soil**. Dordrecht, v.144, n.2, p.267-72, 1992.

PEIXOTO, J.R. **Efeito da matéria orgânica, do superfosfato simples e do cloreto de potássio na formação de mudas de maracujazeiro azedo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deneger)**. 1986. 101p. Tese (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Lavras, Lavras.

PEIXOTO, R.S. **Seleção de monitoramento polifásico de bactérias antagonistas a *Ralstonia solanacearum* na rizosfera de tomateiro (*Lycopersicon esculentum*)**. 2005. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

PEREIRA, P. R. G. MARTINEZ, H. P. E. Produção de mudas para o cultivo de hortaliças em solo e hidroponia. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.20, n. 200/201, p. 24/31, 1999.

ROMEIRO, R.S. **Controle biológico de enfermidades de plantas: fundamentos**. Viçosa: UFV, 2007. 269p.

RIDOUT, C.J.; COLEY-SMITH, J.R.; LYNCH, J.M. Enzyme activity and aletrophoretic profile of extracellular protein induced in *Trichoderma* spp. By cell walls of *Rhizoctonia solani*. **Journal of General Microbiology**, v.132, p.2345-2352, 1986

SCARPARE FILHO, J.A. Mudas frutíferas de alta qualidade. In: MINAMI, K.; TESSRIOLI NETO, J.; PENTEADO, S.R. SCARPARE FILHO, J.A. **Produção de mudas hortícolas de alta qualidade**. Piracicaba:USP/SEBRAE, 1994. p.16-21.

SILVA, R.A. **Comportamento do tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) aos indutores de resistência à seca**. 2006. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de São Paulo – ESALQ, Piracicaba.

SILVEIRA, E.B.; RODRIGUES, V.J.L.B.; GOMES, A.M.A.; MARIANO, R.L.R.; MESQUITA, J.C.P. Pó de coco como substrato para produção de mudas de tomateiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.2, p.211-216, 2002.

SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. Processos microbiológicos e bioquímicos no solo. In: SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. eds. **Biotechnologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC/ESAL/FAEP/ABEAS, 1988. p.23-46.

SOUZA, J.L.; BARRELLA, T.P.; SIQUEIRA, R.G.; SANTOS, R.H.S.; VIDAL, M.C. Propagação de plantas. In: HENZ, G.P.; ALCÂNTARA, F.A.; RESENDE, F.V. **Produção orgânica de hortaliças: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, 2007.

TAYSA, G.F. **Produção de mudas de hortaliças em substratos de diferentes composições com adição de CO² na água de irrigação**. 2001. 72f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade de São Paulo - ESALQ, Piracicaba.

TIGHELAAR, E.C. Botany and culture. In: JONES, J.B.; STALL, R.E.; ZITTER, T.A. **Compendium of tomato diseases**. Saint Paul: APS, 1991. p.2-4.

VALE, F.X.R.; ZAMBORLIM, L.; ZAMBORLIM, E.M.; ALVARENGA, M.A.R. Manejo integrado das doenças do tomateiro: epidemiologia e controle. In: ALVARENGA, A.R. **Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia**. Lavras: UFLA, 2004. 213-308p.