

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM AGRONOMIA

LALINE BROETTO

**ANTAGONISMO A *Macrophomina phaseolina* E PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO  
EM FEIJOERO MEDIADOS POR *Trichoderma* spp.**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PR

2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM AGRONOMIA

LALINE BROETTO

**ANTAGONISMO A *Macrophomina phaseolina* E PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO  
EM FEIJOERO MEDIADOS POR *Trichoderma* spp.**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador: Prof. Dr. Odair José Kuhn

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PR

2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM AGRONOMIA

LALINE BROETTO

**ANTAGONISMO A *Macrophomina phaseolina* E PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO  
EM FEIJOERO MEDIADOS POR *Trichoderma* spp.**

Dissertação apresentada a Universidade Estadual do Oeste do Paraná como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, para obtenção do título de “Mestre”.

Marechal Cândido Rondon, 01 de março de 2013.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Odair José Kuhn

---

Prof. Dr. José Renato Stangarlin

---

Prof. Dr. Roberto Luis Portz

A Deus,

Pela oportunidade de ingressar no programa e com muita fé e perseverança conseguir concluí-lo;

Aos meus pais Jonas e Inês Broetto,

Pela felicidade que posso lhes proporcionar com mais este passo em minha vida profissional;

A minha irmã Janiele Broetto,

Pelo companheirismo e amor;

Ao meu namorado José Luiz Schneiders,

Pela fidelidade, confiança, compreensão e incentivos;

Aos meus amigos,

Por me ensinarem o verdadeiro significado da palavra Amizade.

Dedico.

## **AGRADECIMENTO**

A Universidade Estadual do Oeste do Paraná, pela oportunidade concedida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia e todos os professores envolvidos pela oportunidade, ensino aprimorado de qualidade e atenção.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Dr. Odair José Kuhn pela amizade, incentivo e principalmente pela orientação no mestrado.

Ao professor Dr. José Renato Stangarlin pelas ideias, incentivo e correções nas escritas dos artigos.

Ao professor Dr. Roberto Luis Portz pelas valiosas sugestões, correções e participação na banca de defesa.

Aos amigos Cristiane Claudia Meinerzs, Sidiane Coltro, Paulo Pazdiora, Vanessa Daniele Mattiello e Marcia Vargas Toledo pela amizade e, principalmente, pela ajuda na condução e discussão dos experimentos.

Aos demais colegas de “labuta” do Grupo de Pesquisas em Controles Biológico e Alternativo em Fitossanidade (COBALFI), pela convivência e auxílio na realização deste e de outros inúmeros trabalhos.

Obrigada.

*"Talvez não tenha conseguido fazer o melhor,  
mas lutei para que o melhor fosse feito.  
Não sou o que deveria ser,  
mas graças a Deus, não sou o que era antes"*

Marthin Luther King

## **BIOGRAFIA**

LALINE BROETTO, filha de Jonas Roberto Broetto e Inez Justina Silvério Broetto nasceu em Cascavel - PR, no dia 02 de Dezembro de 1987.

Estudou o ensino Fundamental no Colégio Estadual Washington Luiz e o ensino Médio no Colégio UNIPAN na cidade de Cascavel, com conclusão em Dezembro de 2004.

Em Fevereiro de 2005, iniciou o Curso de Graduação em Agronomia pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná, no *campus* de Marechal Cândido Rondon-PR.

Em dezembro de 2009, cumpriu as exigências para obtenção do título de “Engenheira Agrônoma”.

Em Março de 2011, iniciou o Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Nível Mestrado, oferecido pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná em Marechal Cândido Rondon-PR, concentrando seus estudos na área de Fitossanidade e Controle Alternativo, submetendo-se aos exames finais de defesa de dissertação em Março de 2013.

## RESUMO

BROETTO, LALINE. Mestrado em Agronomia. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, março de 2013. **Antagonismo a *Macrophomina phaseolina* e promoção do crescimento em feijoeiro mediados por *Trichoderma* spp.** Orientador: Dr. Odair José Kuhn.

Podridão de carvão causada por *Macrophomina phaseolina* é uma doença que ocorre em muitas espécies de plantas e, além de não ser controlada economicamente por fungicidas, nenhuma resistência genética foi encontrada. Por outro lado, existe uma crescente conscientização no manejo correto do uso de defensivos agrícolas ou na busca por novas tecnologias de manejo de doenças de plantas ambientalmente mais seguros. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo selecionar isolados de *Trichoderma* sp. para controle biológico de *M. phaseolina* e avaliar seus mecanismos de antagonismo, bem como, seu efeito como promotor de crescimento do feijoeiro. Foram utilizados dezessete isolados de *Trichoderma* sp., em dois testes *in vitro*: confronto direto com o patógeno e produção de compostos voláteis. Após os testes *in vitro*, seis isolados que apresentaram maior agressividade ao patógeno foram selecionados e testados *in vivo* quanto à eficiência no controle de *M. phaseolina* e capacidade de promoção do crescimento do feijoeiro. Os isolados TI1, TM3, TM4, TLB2, TLB3, TLB9, TLB15 e TLB17 apresentaram antagonismo contra *M. phaseolina* no confronto direto, sendo que os isolados TM2, TLB2, TLB12, TLB15 e TLB17 reduziram o crescimento micelial do patógeno no teste dos compostos voláteis. Em relação aos microescleródios do patógeno, todos os isolados foram capazes de reduzir sua produção. Os isolados TI1, TM3, TLB3, TLB12 e TLB17 foram bons promotores de crescimento do feijoeiro, e os isolados TI1, TM3, TLB2, TLB3, TLB12 e TLB17 aumentaram a produção de grãos por planta, com destaque para o isolado TLB12. Em relação à proteção do feijoeiro contra *M. phaseolina*, os isolados TLB2, TLB3, TLB12 e TLB17 foram eficientes. Fungos do gênero *Trichoderma* apresentam eficiência no controle de *M. phaseolina* e estimulam o crescimento e aumento da produção do feijoeiro.

**Palavras-chave:** controle biológico, manejo agroecológico, antagonismo, podridão carvão, *Phaseolus vulgaris*.

## ABSTRACT

BROETTO, LALINE. Master Course in Agronomy. Western Paraná State University, 2012, March. **Antagonism to *Macrophomina phaseolina* and growth promotion in common bean mediated by *Trichoderma* spp.** Adviser: Dr. Odair José Kuhn.

Charcoal rot caused by *Macrophomina phaseolina* is a disease that occurs in a large number of plant species and besides not being economically controlled by fungicides, no genetic resistance has been found. On the other hand, there is a growing awareness of the proper handling of pesticides or of the search for new and environmentally safer technologies for handling of plant diseases. Therefore this study aimed to select isolates of *Trichoderma* sp. for biological control of *M. phaseolina* and to evaluate their mechanisms of antagonism, as well as its effect as growth promoter of common bean. Seventeen isolates of *Trichoderma* sp. were used, in two *in vitro* tests: direct confrontation with the pathogen and production of volatile compounds. After the *in vitro* tests, six isolates that showed increased aggressiveness to the pathogen were selected and tested *in vivo* for effectiveness in controlling *M. phaseolina* and capacity of promoting common bean growth. The isolates TI1, TM3, TM4, TLB2, TLB3, TLB9, TLB15 and TLB17 showed antagonism against *M. phaseolina* in direct confrontation, and the isolates TM2, TLB2, TLB12, TLB15 and TLB17 reduced the mycelial growth of the pathogen in the volatile compounds test. Regarding microsclerotia of the pathogen, all the isolates were capable of reducing their production. The isolates TI1, TM3, TLB3, TLB12 and TLB17 were good growth promoters of common bean and the isolates TI1, TM3, TLB2, TLB3, TLB12 and TLB17 increased production per plant, especially the isolate TLB12. Regarding the protection of common bean against *M. phaseolina*, the isolates TLB2, TLB3, TLB12 and TLB17 were efficient. Fungi of the genus *Trichoderma* show effectiveness in controlling *M. phaseolina* and stimulate growth and increase the production of common bean.

**Keywords:** biological control, agroecological handling, antagonismo, charcoal rot, *Phaseolus vulgaris*.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Nome e origem dos isolados de <i>Trichoderma</i> sp. utilizados nos experimentos.....	21
<b>Tabela 2:</b> Escala utilizada para teste de pareamento de culturas proposto por Bell et al. (1982) e adaptado por Rodrigues (2010).....	22
<b>Tabela 3:</b> Velocidade do crescimento micelial, crescimento total (área abaixo da curva de crescimento micelial - AACCM) e % de inibição de <i>Macrophomina phaseolina</i> submetidos a produção de compostos voláteis por diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> sp. ...	30
<b>Tabela 4:</b> Produção de microescleródios avaliados pela velocidade de crescimento da área de produção, diâmetro da área de produção e percentual de inibição de microescleródios de <i>Macrophomina phaseolina</i> submetidos a produção de compostos voláteis por diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> sp.....	32
<b>Tabela 5:</b> Efeito do tratamento de sementes de feijão com espécies de <i>Trichoderma</i> e plantio em solo esterilizado e artificialmente infestado com <i>Macrophomina phaseolina</i> , em relação à sobrevivência das plantas. ....	48

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Inoculação da suspensão de esporos de <i>Trichoderma</i> sp. no sulco de semeadura. .	24
<b>Figura 2:</b> Médias de notas atribuídas pela técnica de confrontação direta para a agressividade dos isolados de <i>Trichoderma</i> sp., quanto à inibição de crescimento micelial de <i>Macrophomina phaseolina</i> . .....	27
<b>Figura 3:</b> Efeito dos metabólitos voláteis produzidos por diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> na produção de microescleródios de <i>Macrophomina phaseolina</i> .. .....	32
<b>Figura 4:</b> Médias de altura de planta de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de <i>Trichoderma</i> avaliados aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura.....	34
<b>Figura 5:</b> Médias de diâmetro de caule de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de <i>Trichoderma</i> avaliados aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura.....	35
<b>Figura 6:</b> Médias da massa fresca das hastes de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de <i>Trichoderma</i> avaliados aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura.....	36
<b>Figura 7:</b> Médias de massa seca de hastes de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de <i>Trichoderma</i> avaliados aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura.....	37
<b>Figura 8:</b> Médias de massa fresca de sistema radicular de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de <i>Trichoderma</i> avaliados aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura. ....	38
<b>Figura 9:</b> Médias de volume de sistema radicular de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de <i>Trichoderma</i> avaliados aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura.....	39
<b>Figura 10:</b> Sistema radicular do feijoeiro aos 77 dias após a semeadura e inoculação dos isolados TM3, TLB17 e TLB12. ....	40
<b>Figura 11:</b> Médias de massa seca de sistema radicular de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de <i>Trichoderma</i> avaliados aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura. ....	41
<b>Figura 12:</b> Médias de massa fresca de folhas de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de <i>Trichoderma</i> avaliados aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura.....	42
<b>Figura 13:</b> Médias de massa seca de folhas de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de <i>Trichoderma</i> avaliados aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura.....	43
<b>Figura 14:</b> Médias de área foliar de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de <i>Trichoderma</i> avaliados aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura. ....	44
<b>Figura 15:</b> Número de grãos por planta de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de <i>Trichoderma</i> .. .....	45
<b>Figura 16:</b> Número de vagens por planta de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de <i>Trichoderma</i> .. .....	46
<b>Figura 17:</b> Número de grãos por vagens de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de <i>Trichoderma</i> . ....	47
<b>Figura 18:</b> Produção por planta de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de <i>Trichoderma</i> . ....	47

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>13</b>
<b>2.1 Importância das Desordens Fitossanitárias .....</b>	<b>13</b>
<b>2.2 Agronegócio Brasileiro .....</b>	<b>13</b>
<b>2.3 A Cultura do Feijão Comum .....</b>	<b>14</b>
2.3.1 Classificação botânica.....	14
2.3.2 Importância da cultura .....	15
2.3.3 Doenças na cultura do feijão .....	15
2.3.3.1 Podridão de carvão – <i>Macrophomina phaseolina</i> .....	16
<b>2.4 Controle Alternativo de Doenças.....</b>	<b>17</b>
2.4.1 O gênero <i>Trichoderma</i> .....	19
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
<b>3.1 Crescimento Micelial e Produção de Microescleródios de <i>Macrophomina phaseolina</i> Confrontado com Diferentes Isolados de <i>Trichoderma</i> sp. ....</b>	<b>21</b>
<b>3.2 <i>Trichoderma</i> sp. Como Promotores de Crescimento em Plantas de Feijão Comum (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) .....</b>	<b>23</b>
<b>3.3 <i>Trichoderma</i> sp. Como Bioprotetor de Sementes de Feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) Semeadas em Solo com Infestação de <i>Macrophomina phaseolina</i>.....</b>	<b>25</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>27</b>
<b>4.1 Crescimento Micelial e Produção de Microescleródios de <i>Macrophomina phaseolina</i> Confrontado com Diferentes Isolados de <i>Trichoderma</i> sp. ....</b>	<b>27</b>
4.1.1 Pareamento de culturas - confronto direto .....	27
4.1.2 Compostos voláteis .....	29
4.1.2.1 Influência no crescimento micelial.....	29
4.1.2.2 Influência na produção de microescleródios .....	31
<b>4.2 <i>Trichoderma</i> sp. Como Promotores de Crescimento em Plantas de Feijão Comum (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) .....</b>	<b>33</b>
4.2.1 Parâmetros de produção .....	45
<b>4.3 <i>Trichoderma</i> sp. Como Bioprotetor de Sementes e Plantulas de Feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) Cultivadas em Solo infestados com <i>Macrophomina phaseolina</i> .....</b>	<b>48</b>
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>51</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>52</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A preocupação de se aumentar cada vez mais a produção de alimentos, devido ao crescimento populacional, resultou no uso indiscriminado do controle químico para se tentar reduzir ao máximo os danos que proporcionam redução na produção das culturas e contribuem para a escassez de alimentos (CARVALHO; WANDERLEY; OLIVEIRA, 2010).

Em contrapartida, a crescente conscientização dos problemas causados no ambiente pelos produtos químicos tem impulsionado a busca por tecnologias e o desenvolvimento de métodos alternativos considerados ambientalmente mais seguros para o controle de doenças de plantas (STANGARLIN; KUHN; SCHWAN-ESTRADA, 2008).

Segundo Lourenço (2009), a busca de um modelo de agricultura mais sustentável é de extrema importância para o Brasil, pois o agronegócio contribui positivamente para as contas externas do país, sendo considerado o setor mais importante da nossa economia. Logo deve ser conduzido sob padrões de sustentabilidade, para manutenção e preservação dessa riqueza.

Uma das culturas que ocupa lugar de destaque na agricultura brasileira é o feijão. O Brasil é o maior produtor mundial, com produção média anual de 3,5 milhões de toneladas (IBGE, 2012). Porém, a cultura do feijão está sujeito a um grande número de doenças causadas por fungos, bactérias, nematóides e vírus (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005).

Uma doença importante em regiões de temperaturas altas é a Podridão Cinzenta do Caule, causada pelo fungo *Macrohophomina phaseolina* (SMITH; WYLLIE, 1999). Esta doença não é controlada economicamente por fungicidas e nenhuma fonte de resistência genética foi encontrada, devido ao número de espécies de plantas hospedeiras do patógeno. Além disso, a rotação de culturas nem sempre é possível de ser utilizada para o manejo desta doença (ALMEIDA et al., 2003a; ALMEIDA et al., 2003b).

Um agente biológico que tem sido catalogado como excelente no controle de fungos causadores de doenças em diferentes espécies de plantas é o fungo *Trichoderma* sp. habitante natural de solos de clima tropical e temperado (ARGUMEDO-DELIRA et al., 2009). O gênero *Trichoderma* pode agir como promotor de crescimento em plantas e atuar de forma antagonica sobre outros fungos (GRIGOLETTI JUNIOR; SANTOS; AUER, 2000).

É importante se estabelecer e testar inicialmente *in vitro* coleções de culturas de *Trichoderma* sp., pois eficientes antagonistas estão dispersos por diferentes regiões do país. A formação de coleções de culturas é de suma importância pela possibilidade de se

disponibilizar esses organismos para estudos e testes pela comunidade científica (LOUZADA et al., 2009).

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo selecionar isolados de *Trichoderma* sp. para controle biológico de *Macrophomina phaseolina* e avaliar seus mecanismos de antagonismo, bem como, seu efeito como promotor de crescimento do feijoeiro.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Importância das Desordens Fitossanitárias**

A produtividade das culturas pode ser reduzida pela ação de plantas daninhas, doenças e pragas (CARVALHO; FERREIRA; BLUM, 2006). Segundo Agrios (2005), esses problemas são responsáveis por destruir entre 31 e 42% de todas as culturas produzidas no mundo, e em média 14,1% são causadas por doenças.

A constante necessidade de se controlar as doenças que ocorrem em plantas exploradas economicamente tem ocasionado graves desequilíbrios ambientais, devido principalmente ao uso indiscriminado de defensivos químicos, que resultam muitas vezes na contaminação de alimentos, animais e lençóis freáticos, reduzindo a qualidade e a expectativa de vida da população (BONALDO; PASCHOLATI; ROMEIRO, 2005).

No Brasil, a questão do uso dos defensivos agrícolas é preocupante, pois segundo Spadotto et al. (2004), no período entre 1964 e 2004, o consumo de agrotóxicos no País aumentou 700%, sendo que nos últimos três anos o Brasil vem ocupando o lugar de maior consumidor de agrotóxicos no mundo, consumindo em média um bilhão de litros de agrotóxicos por ano (ABRASCO, 2012).

Em contrapartida, a atividade produtiva em todo o mundo tem se tornado cada vez mais regulada por normas ambientais que visam atenuar os impactos da ação do homem sobre o planeta (ANTUNES; FERMAM, 2008).

### **2.2 Agronegócio Brasileiro**

Como em muitos outros países, no Brasil os transtornos da agricultura ao meio ambiente, levaram ao repensar do modelo produtivo agrícola, sendo assim lançado o desafio: a busca de um modelo de agricultura para o Brasil, que fosse mais adequado às nossas tradições e características sócio-econômicas, bem como ao ambiente tropical e sub-tropical do nosso país (PASCHOAL, 1994). Faz-se necessário estabelecer alternativas para a agricultura convencional que sejam menos agressivas ao meio ambiente, e que possam se sustentar ao longo do tempo, contribuindo para o desenvolvimento rural sustentável (CAPORAL; COSTABEBER, 2004).

Segundo Cruz et al. (2010), no Brasil a agricultura passa por um processo contínuo de modernização, e se por um lado essa modernização gera crescimento econômico por outro tem riscos potenciais ao ambiente e a saúde humana. Entre esses riscos, destacam-se os efeitos prejudiciais associados ao uso exacerbado de agrotóxicos.

Em 2011, segundo IBGE (2012), a agropecuária apresentou crescimento de 3,9% devido principalmente ao aumento de produção de várias culturas importantes e aos ganhos de produtividade influenciada pelas condições climáticas favoráveis, o que contribuiu para que cerca de 25% do PIB nacional do ano de 2012 fosse proveniente da agropecuária (CEPEA, 2012).

Um estado que contribui expressivamente para a agricultura do País é o Paraná, que possui a quinta maior economia do país, respondendo atualmente por 5,84% do PIB nacional (IPARDES, 2012). O estado lidera a produção nacional de grãos, representado cerca de 20% da produção nacional. A área plantada no estado é de aproximadamente 8,76 milhões de hectares e as culturas de destaque são: soja, milho, trigo e feijão (CONAB, 2010).

Uma das regiões do Estado do Paraná que participa significativamente da produção de grãos do estado é a Região Oeste, constituída por 45 municípios, que tem como base produtiva o setor primário, com predomínio das atividades agrícolas. A agricultura regional é diversificada, principalmente porque a área rural é formada por pequenos produtores (AMOP, 2000).

## **2.3 A Cultura do Feijão Comum**

### **2.3.1 Classificação botânica**

Segundo a classificação de Cronquist (1988) o feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma planta que pertence à subclasse Rosidae, ordem Fabales e família Fabaceae. A espécie *P. vulgaris* é amplamente distribuída no mundo todo, e além de cultivada nos trópicos também se desenvolve em zonas temperadas dos hemisférios Norte e Sul.

### 2.3.2 Importância da cultura

No Brasil, o feijão comum juntamente com o arroz compõem a base da alimentação da população e destaca-se por ser a principal leguminosa fornecedora de proteínas. Além disso, possui fibra alimentar, carboidratos complexos, polifenóis e vitaminas do complexo B (SILVA; ROCHA; BRAZACA, 2009), caracterizando-se como um alimento de alta qualidade, o qual é consumido por todas as classes sociais desse país.

Impulsionado pelo grande consumo, o Brasil é o maior produtor mundial de feijão, seguido pela Índia, China e México. No ano de 2012, no país a produção total foi de 3.505.754 toneladas e a área total plantada foi de 3.592.773 ha, movimentando na economia brasileira mais de 8 bilhões de reais, considerando-se o valor médio da saca em 2012 de R\$ 150,00 (IBGE, 2012).

### 2.3.3 Doenças na cultura do feijão comum

Um dos principais fatores responsáveis pela baixa produtividade da cultura do feijoeiro é a ocorrência de doenças, que além de limitar a produção reduzem a qualidade fisiológica, sanitária, nutricional e comercial do produto. Os prejuízos causados pelas doenças variam de acordo com a região, a época e o sistema de plantio, a variedade, a qualidade das sementes e as condições climáticas (ROSOLEM; MARUBAYASHI, 1994).

Didaticamente as doenças da cultura do feijão podem ser divididas em dois grupos distintos: doenças da parte aérea (foliares, haste, vagens e sementes) e doenças radiculares. Para as doenças radiculares os principais organismos que podem interferir na produção são os fungos que ocorrem em todos os tipos de sistemas agrícolas e causam doenças nas principais espécies cultivadas, com uma variada gama de sintomas. Muitos fungos habitantes do solo possuem elevada capacidade de competição saprofítica e ainda podem produzir estruturas que resistem às condições ambientais adversas, como os escleródios, oósporos, clamidósporos ou outros tipos de esporos. Dentre os fungos habitantes do solo, podemos destacar os mais importantes: *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* e *Macrophomina phaseolina* (MICHEREFF et al., 2005).

Para prevenir e mitigar a incidência de doenças, o modo mais eficaz e econômico, seria priorizar o uso de cultivares resistentes, porém, para a maioria das doenças isso não é

possível. Em geral, as doenças radiculares são consideradas de difícil controle, pois métodos como a esterilização do solo têm o uso limitado a pequenas áreas. A melhor medida de controle ecologicamente sustentável é a rotação de culturas, porém para fungos que formam estruturas de resistência e possuem vários hospedeiros alternativos esta prática na maioria das vezes é ineficiente (TOLEDO-SOUZA et al., 2009).

#### 2.3.3.1 Podridão de carvão – *Macrophomina phaseolina*

*Macrophomina phaseolina* é o agente causal da podridão de carvão, doença importante em áreas de cultivo do Brasil que está diretamente relacionada com manejo inadequado do solo e deficiência hídrica (YORINORI; HOFFMANN; UTIAMADA, 2002). O fungo *M. phaseolina* pertence ao Filo Ascomycota e classe Ascomycetes. Forma picnídios escuros, não estromáticos, medindo 120 a 150 micra de diâmetro, sendo seus conídios elípticos, hialinos, alongados, unicelulares, com membrana espessa (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005).

O fungo *M. phaseolina* é um habitante natural do solo que provoca podridão radicular. O patógeno pode infectar as raízes de mais de 500 espécies de plantas durante o tempo quente e seco, incluindo várias culturas economicamente importantes (SREEDEVI; DEVI, 2012; KAUR et al., 2012). O desenvolvimento da doença é favorecido por altas temperaturas (30 – 35 °C) e déficit hídrico (LODHA, 1998). O patógeno ataca a planta durante todas as fases da cultura muitas vezes causando debilitação progressiva, podendo reduzir a produtividade e a qualidade das sementes (SMITH; WYLLIE, 1999).

Os sintomas iniciam-se com lesões irregulares na haste da planta, ligeiramente deprimidas e escuras que posteriormente adquirem coloração cinza, que correspondem às estruturas do fungo (microescleródios). Os microescleródios podem aparecer tanto nos tecidos vasculares quanto na haste. A parte aérea das plantas infectadas, além de apresentarem folhas de tamanhos menores do que o normal apresentam clorose, murcha e morte dos ramos ou de toda a planta. Após a morte da planta, inúmeros microescleródios podem ser observados quando o tecido epidérmico é descascado (GUPTA; SHARMA; RAMTEKE, 2012). Os microescleródios podem sobreviver no solo ou em restos de cultura por mais de dois anos (SMITH; WYLLIE, 1999).

O patógeno pode ser disseminado pelo uso de sementes contendo estruturas de sobrevivência do fungo, os microescleródios. A presença do fungo nas sementes resulta na

ocorrência de *damping-off* de pré-emergência, reduzindo o *stand* de germinação (MENEZES et al., 2004).

As medidas de controle para essa doença devem ser adotadas antes da instalação da lavoura, pois a doença não é controlada economicamente por fungicidas, e devido ao grande número de espécies hospedeiras o método econômico e ambientalmente recomendando, que seria o plantio de cultivares resistentes, requer o desenvolvimento de fontes de resistência e informações sobre a agressividade ou virulência do patógeno, sendo que relativamente pouco se sabe sobre a variabilidade do patógeno. Entretanto, a manutenção de umidade, favorecida pelo sistema de semeadura direta, parece reduzir o progresso da doença, favorecendo o controle do fungo (PRASAD; NAVANEETHA; RAO, 2011; BRESSANO et al., 2010; ALMEIDA et al., 2003a).

## **2.4 Controle Alternativo de Doenças**

As atuais estratégias de controle de patógenos habitantes do solo, tais como tratamento químico de sementes, resistência genética e rotação de culturas, apresentam uma redução do inóculo do fitopatógeno, porém apresentam baixa eficiência (TOMAZELI; SANTOS; MORALES, 2011). Associado à grande conscientização dos problemas causados no ambiente pelo uso de produtos químicos, diversas pesquisas vem testando produtos alternativos que visem reduzir os problemas fitossanitários (STANGARLIN; KUHN; SCHWAN-ESTRADA, 2008).

Uma forma de controle alternativo de doença é o controle biológico, que segundo Blum (2007), é a redução da quantidade e da viabilidade do inóculo de um organismo patogênico ou de atividades determinante da doença provocada por um fitopatógeno, induzida por um ou mais organismos antagonistas ou estimuladores de resistência na planta. Um dos mecanismos envolvidos no controle biológico de doenças de plantas é o antagonismo, que é um tipo de interação onde há oposição imposta por um organismo (antagonista) a outro (patógeno).

Mecanismos de controle biológico baseiam-se em relações antagônicas tais como: competição, predação, amensalismo, parasitismo, resistência induzida ou pela produção de metabólitos (SAITO et al., 2009). Segundo Grigoletti Jr., Santos e Auer (2000), o parasitismo parece ser o mecanismo mais eficiente de antagonismo no controle biológico, pois tanto o

antagonista quanto o patógeno dependem dos seus hospedeiros para sobreviver e estão sujeitos as mesmas variações ambientais.

O controle de doenças através da resistência foi provavelmente o primeiro método usado para o combate a fitopatógenos, mas somente há pouco tempo começou a ser investigado de forma mais direcionada para uma aplicação prática, visando aumentar a produtividade de culturas pelo controle de enfermidades de plantas (ROMEIRO, 2008).

Segundo Stadnik (2000), a resistência induzida consiste no aumento do nível de resistência por meio da utilização de agente externos, denominados indutores, sem qualquer alteração do genoma da planta, ocorrendo de maneira não-específica, por meio da ativação de genes que codificam para diversas respostas de defesa, tais como proteínas relacionadas à patogênese; enzimas envolvidas na rota de síntese de fitoalexinas e espécies ativas de oxigênio; acúmulo de lignina em tecidos circunvizinhos ao local de penetração do microrganismo, entre outras.

Agente indutor é qualquer composto ou fator capaz de ativar mecanismos de defesa da planta, e eliciador é a molécula presente em um indutor responsável pela ativação desses mecanismos. Atualmente, eliciadores podem ser classificados quanto à origem, em bióticos ou abióticos (BONALDO; PASCHOLATI; ROMEIRO, 2005).

Um considerável avanço na indução de resistência com o uso de eliciadores de origem abióticos foi observado após o desenvolvimento do éster-S-metil do ácido benzo-(1,2,3)-tiadiazole-7-carbotióico (Acibenzolar-S-Metil<sup>®</sup>, ASM). Produtos como Bion, Messenger, Oryzmate, Elexa e Oxycom são alguns representantes de uma nova geração de defensivos agrícolas, empregados em um programa racional e eficiente de manejo de doenças de plantas (SOBRINHO; FERREIRA; CAVALCANTI, 2005).

Outra forma potencial de controle alternativo de doenças em plantas cultivadas seria o uso de compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleo essencial de plantas medicinais. Trabalhos desenvolvidos com esses compostos tem indicado o potencial para o controle de fitopatógenos (SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN, 2005).

A indução de resistência por meio do uso de agentes bióticos tem sido relatada em diversas espécies vegetais. Indutores bióticos são organismos vivos ou partes destes capazes de ativar respostas de defesa localizadas ou de maneira sistêmica em plantas (DI PIERO; GARCIA JUNIOR; TONUCCI, 2005).

Um indutor biótico que tem sido largamente utilizado como antagonista eficaz no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos é o *Trichoderma* sp. Várias espécies desse fungo que vive em solos saprofiticamente ou parasitando outros fungos têm sido utilizadas tanto

para controle de patógenos radiculares, como, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Armillaria* spp., como da parte aérea, como, *Venturia* spp. e *Botrytis* spp., entre outros (GRIGOLETTI JUNIOR; SANTOS; AUER, 2000).

Segundo Romeiro (2008), o processo de indução dos sistemas de defesa da planta ocorre quando um agente indutor proporciona a ativação de mecanismos de defesa, nas plantas expostas, não apenas no local de indução, mas também em outros locais distantes.

#### 2.4.1 O Gênero *Trichoderma*

Pertencente ao filo Ascomycota, Ordem Hypocreales (RESENDE et al., 2004) o gênero *Trichoderma* é composto por fungos naturais de solos de clima temperado e tropical que podem viver saprofiticamente ou parasitando outros fungos, controlando-os por vários mecanismos. A colonização radicular por *Trichoderma* sp. frequentemente melhora o crescimento e desenvolvimento das raízes, a produtividade das culturas e a absorção e utilização de nutrientes (HARMAN et al., 2004). Esse potencial de interferência no crescimento de vegetais consiste principalmente na produção de metabólitos secundários e na capacidade do gênero em ser competitivo na rizosfera (ETHUR et al., 2005).

Os fungos do gênero *Trichoderma* são capazes de competir por nutrientes e espaços com outros microrganismos, sendo importantes para as plantas por contribuir no controle de fitopatógenos e por possuírem propriedades micoparasíticas e antibióticas, sendo que algumas espécies têm sido catalogadas como excelentes agentes de controle biológico de fungos causadores de doenças em diferentes espécies de plantas (ARGUMEDO-DELIRA et al., 2009).

Estes fungos estão presentes em solos agrícolas em todas as latitudes e podem ser facilmente cultivados *in vitro* apresentando uma esporulação de tom esverdeado (BROTMAN; KAPUGANTI; VITERBO, 2010). Segundo Martins-Corder e Melo (1998), os mecanismos do *Trichoderma* sp. no controle dos patógenos pode ocorrer simultaneamente ao longo do seu processo de vida os quais se sobrepõem e prejudicam o desenvolvimento dos competidores.

As diversas espécies de *Trichoderma* podem atuar de diferentes maneiras. Como bio-agente de controle podem crescer mais rápido que o patógeno e usar sua fonte de alimento. Podem liberar produtos que retardam o desenvolvimento ou causam a morte do patógeno, sendo esse processo chamado de antibiose. Podem induzir mecanismos de resistência em

plantas ou ainda atuar se alimentando diretamente do patógeno, ou seja, controlando-o por parasitismo (MONTE, 2001).

Silva et al. (2008) relataram que isolados de *Trichoderma* sp. foram capazes de inibir *in vitro* o crescimento micelial do fungo *Phytophthora citrophthora* causador da gomose, importante doença do citros. Esse resultado corrobora com os apresentados por Hoitink et al. (2005), que relataram que diferentes espécies de *Trichoderma* foram capazes de reduzir a incidência de *Phytophthora dieback* sob pressões muito elevadas da doença.

Segundo Bonfim et al. (2010), a ação antagônica do gênero *Trichoderma* sp. é resultado da produção de protease e cisteína, enzimas que inativam a capacidade enzimática de diversos fitopatógenos. Segundo Menezes et al. (2004), os fungos do gênero *Trichoderma* podem ser usados no controle de *M. phaseolina* em feijão, como antagonista.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Crescimento Micelial e Produção de Microescleródios de *Macrophomina phaseolina* Confrontado com Diferentes Isolados de *Trichoderma* sp.

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *campus* de Marechal Cândido Rondon – PR.

O isolamento do fungo *Macrophomina phaseolina* foi realizado a partir de tecidos doentes de uma planta de soja, sendo utilizado para cultivo o meio batata-dextrose-ágar (BDA). As placas de Petri com BDA e o patógeno foram mantidas a 25 °C com fotoperíodo de 12 h (ALFENAS et al., 2007).

Para isolamento do *Trichoderma* sp. foi coletado solo de diversos locais diferentes no Oeste do Paraná. Após a coleta, o isolamento do fungo *Trichoderma* sp. foi realizado pelo método de isca, que consistiu em inserir no solo escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* por período de 20 dias. Após esse período procedeu-se o isolamento direto (ETHUR et al., 2005) e a identificação em nível de gênero de acordo com as características citadas por Melo (1996).

Além dos nove isolados de *Trichoderma* sp. coletados de solos da Região Oeste do Paraná foram utilizados oito isolados cedidos pelo Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA, Rio Grande do Sul (Tabela 1).

**Tabela 1:** Nome e origem dos isolados de *Trichoderma* sp. utilizados nos experimentos.

Isolado	Origem	Local
TI1	Itaqui – RS	-
TI2	Itaqui – RS	-
TI3	Itaqui – RS	-
TI4	Itaqui – RS	-
TM1	Maçambará – RS	-
TM2	Maçambará – RS	-
TM3	Maçambará – RS	-
TM4	Maçambará – RS	-
TLB2	Marechal Cândido Rondon – PR	Solo de cultivo orgânico
TLB3	Marechal Cândido Rondon – PR	Solo de floresta nativa
TLB4	Cascavel – PR	Solo de floresta nativa
TLB6	Missal – PR	Solo de cultivo orgânico
TLB9	Céu Azul – PR	Solo de floresta nativa
TLB12	Entre Rios do Oeste – PR	Solo de floresta nativa
TLB14	Santa Helena – PR	Solo de floresta nativa
TLB15	Missal – PR	Solo de floresta nativa
TLB17	Medianeira – PR	Solo de floresta nativa

Para o confronto direto foi utilizado o teste de pareamento de culturas. Para isso, um disco de meio de cultura BDA (10 mm de diâmetro) contendo micélio do patógeno foi colocado a uma distância de 0,5 cm do bordo de uma nova placa de Petri contendo meio BDA. As placas foram incubadas por 24 h a 24 °C, com fotoperíodo de 12 h. Após esse período, foi colocado um disco de meio de cultura (10 mm de diâmetro) contendo micélio de *Trichoderma* na outra extremidade da placa. As placas foram incubadas em câmara de crescimento a 24 °C, com fotoperíodo de 12 h (ETHUR et al., 2005).

As avaliações foram realizadas após oito dias do acréscimo do patógeno, de acordo com os critérios (Tabela 2) propostos por Bell et al. (1982) e adaptado por Rodrigues (2010).

**Tabela 2:** Escala utilizada para teste de pareamento de culturas proposto por Bell et al. (1982) e adaptado por Rodrigues (2010).

Notas	Escala de avaliação
1	Antagonista cresce por toda a placa de Petri e sobre o disco do patógeno
2	Antagonista cresce por toda a placa de Petri, porém não sobre o patógeno
3	Antagonista cresce sobre $\frac{3}{4}$ da placa de Petri
4	Antagonista cresce sobre $\frac{2}{3}$ da placa de Petri
5	Antagonista e patógeno crescem até metade da placa de Petri
6	Patógeno cresce sobre $\frac{2}{3}$ da placa de Petri
7	Patógeno cresce por toda a placa de Petri

A avaliação da produção de compostos voláteis foi realizada a partir do cultivo do patógeno com o antagonista na mesma atmosfera, mas em meios de cultura isolados. Para este fim, foram repicados para o centro de placas de Petri contendo meio BDA o antagonista e em outra placa de Petri o patógeno. Posteriormente, retiraram-se as tampas das duas placas de Petri e com auxílio de filme de PVC as placas contendo os dois organismos foram unidas proporcionando a vedação, de forma que cada organismo cresceu isoladamente no meio ao fundo de cada placa (ETHUR et al., 2005). Por apresentar crescimento inicial mais lento o patógeno foi repicado 24 horas antes do antagonista.

As avaliações do crescimento micelial do patógeno foram realizadas após 2, 3, 4, 5 e 6 dias do início do teste, enquanto que as avaliações da produção de microescleródios aos 3, 4, 5 e 6 dias após. As avaliações foram realizadas através da medição do diâmetro de crescimento do patógeno.

Para cálculo da porcentagem de inibição foi aplicada a fórmula: % inibição =  $[(crtest - crtrat) / crtest] \times 100$ , onde: crtest = produção radial testemunha; crtrat = produção radial tratamento (MENTEN et al., 1976).

Para cálculo da velocidade do crescimento micelial e da produção de microescleródios do patógeno foi aplicado à fórmula: velocidade = diâmetro de crescimento / n° de dias de crescimento, sendo o cálculo realizado no dia em que foi verificado a paralisação do crescimento do patógeno.

Para o cálculo da área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM), utilizou-se a seguinte fórmula:  $AACCM = ((y_i + y_{i+1})/2)d_{ti}$ , onde  $y_i$  e  $y_{i+1}$  são os valores de crescimento da colônia observados em duas avaliações consecutivas e  $d_{ti}$  o intervalo entre as avaliações.

Para todos os testes o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com cinco repetições e 17 tratamentos, totalizando 85 parcelas experimentais. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5%, utilizando o software SISVAR, versão 5.1 (FERREIRA, 2011).

### **3.2 *Trichoderma* sp. Como Promotores de Crescimento em Plantas de Feijão Comum (*Phaseolus vulgaris* L.)**

O experimento foi conduzido de julho a outubro de 2012, no Complexo de Controle Biológico e Cultivo Protegido Prof. Dr. Mário César Lopes, pertencente à Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, *campus* de Marechal Cândido Rondon – PR.

O substrato utilizado foi previamente autoclavado por 1 hora a 120 °C para enchimento dos vasos que continham: solo – areia – matéria orgânica na proporção de 2:1:2. O solo Latossolo Vermelho Eutroférico de textura muito argilosa (EMBRAPA, 2009), utilizado no experimento foi retirado da fazenda experimental Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa, pertencente ao Núcleo de Estações Experimentais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, situada na Linha Guará no município de Marechal Cândido Rondon – PR, não sendo realizada adubação complementar.

Os seis isolados de *Trichoderma* sp. utilizados no experimento foram selecionados previamente por testes *in vitro*. No preparo do inóculo, discos de batata-dextrose-ágar (BDA) contendo micélio e conídios dos diferentes isolados de *Trichoderma* sp. foram transferidos para placas de Petri com meio BDA e mantidos a 22 °C, com fotoperíodo de 12 h. Após cinco dias, preparou-se suspensão de esporos, adicionando-se 2 mL de água destilada por placa e efetuando-se raspagem com o auxílio de uma alça de drigalski. O conteúdo das placas foi vertido em bequer filtrando-se com gaze para reter o micélio. Adicionou-se 1 mL de Tween a

0,02% à suspensão para proporcionar maior viscosidade e melhor homogeneidade na dispersão de conídios. A concentração de esporos foi ajustada para  $1 \times 10^7$  conídios  $\text{mL}^{-1}$  com a auxílio de uma câmara de Neubauer. Os isolados foram inoculados no momento da semeadura sendo aplicado diretamente no sulco a quantidade de 0,8 mL da suspensão de esporos por semente de feijão (Figura 1).



**Figura 1:** Inoculação da suspensão de esporos de *Trichoderma* sp. no sulco de semeadura.

Em cada um dos vasos de oito litros utilizados no experimento foram semeadas seis sementes e após quinze dias foi realizado o desbaste deixando-se apenas duas plantas por vaso. O cultivar de feijão utilizado no experimento foi a IAPAR 81 do grupo carioca, de porte ereto com hábito de crescimento indeterminado.

O experimento foi realizado em DBC (delineamento em blocos casualizados) sendo sete tratamentos (testemunha e seis isolados de *Trichoderma* sp.: TI1, TM3, TLB2, TLB3, TLB12 e TLB17), cinco blocos e seis repetições por bloco, devido às cinco análises de crescimento e uma análise de produção final, resultando em 210 parcelas experimentais (vasos).

As análises de crescimento foram realizadas aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura. E a análise de produção realizada 105 dias após a semeadura, quando as plantas já estavam na fase de maturação e colheita.

Os parâmetros avaliados nas análises de crescimento foram: altura de planta; diâmetro de haste; área foliar; massa fresca das folhas; massa fresca das hastes; massa fresca de raiz;

massa seca das folhas; massa seca das hastes; massa seca de raiz e volume de raiz. Os parâmetros avaliados na análise de produção foram: número de vagens por planta; número de grãos por planta; número de grãos por vagem e produção total por tratamento. As duas plantas existentes em cada parcela experimental foram avaliadas e para cálculo estatístico foi utilizado à média entre elas.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5%, utilizando o software SISVAR, versão 5.1 (FERREIRA, 2011).

### **3.3 *Trichoderma* sp. Como Bioprotetor de Sementes e Plantulas de Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) Cultivadas em Solo infestados com *Macrophomina phaseolina***

O experimento foi conduzido em cultivo protegido de dezembro de 2012 a janeiro de 2013, no Departamento de Engenharia Agrícola pertencente à Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, *campus* de Cascavel, PR.

O substrato utilizado foi previamente autoclavado por 1 hora a 120 °C para enchimento dos vasos de 4 litros que continham: solo – areia – matéria orgânica na proporção de 2:1:2. O solo Latossolo Vermelho Eutroférico de textura muito argilosa (EMBRAPA, 2009), utilizado no experimento foi retirado da fazenda experimental Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa, pertencente ao Núcleo de Estações Experimentais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, situada na Linha Guará no município de Marechal Cândido Rondon – PR, não sendo realizada adubação complementar.

Os fungos *M. phaseolina* e *Trichoderma* sp. (isolados TII, TM3, TLB2, TLB3, TLB12, TLB17) foram cultivados em BDA, a temperatura de 24 °C, com fotoperíodo de 12 h, durante 7 dias. Após o período de incubação, a suspensão de conídios de cada isolado de *Trichoderma* sp. foi preparada e a concentração ajustada para 10<sup>6</sup> conídios mL<sup>-1</sup> de água destilada-esterilizada, com auxílio de uma câmara de Neubauer.

A infestação artificial do solo com *M. phaseolina*, ocorreu através da adição de 40 mL da suspensão de microescleródios por vaso. Já a inoculação do *Trichoderma* sp, foi realizada no momento do plantio sendo de 0,8 mL da suspensão de esporos por semente de feijão no sulco de semeadura.

O experimento foi realizado em DBC (delineamento em blocos casualizados) sendo composto por 14 tratamentos e três blocos, totalizando 42 parcelas experimentais (vasos):

T1 – testemunha positiva (semente sem inoculação de *Trichoderma* e solo esterilizado);

T2 – testemunha negativa (semente sem inoculação de *Trichoderma* e solo infestado com *M. phaseolina*);

T3 – isolado TII e solo esterilizado;

T4 – isolado TII e solo infestado com *M. phaseolina*;

T5 – isolado TM3 e solo esterilizado;

T6 – isolado TM3 e solo infestado com *M. phaseolina*;

T7 – isolado TLB2 e solo esterilizado;

T8 – isolado TLB2 e solo infestado com *M. phaseolina*;

T9 – isolado TLB3 e solo esterilizado;

T10 – isolado TLB3 e solo infestado com *M. phaseolina*;

T11 – isolado TLB17 e solo esterilizado;

T12 – isolado TLB17 e solo infestado com *M. phaseolina*;

T13 – isolado TLB12 e solo esterilizado;

T14 – isolado TLB12 e solo infestado com *M. phaseolina*.

As avaliações foram efetuadas aos 20 dias após o plantio, determinando-se a percentagem de plantas de feijão sobreviventes nos diferentes tratamentos. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a nível de 5% de probabilidade, utilizando o software SISVAR, versão 5.1 (FERREIRA, 2011).

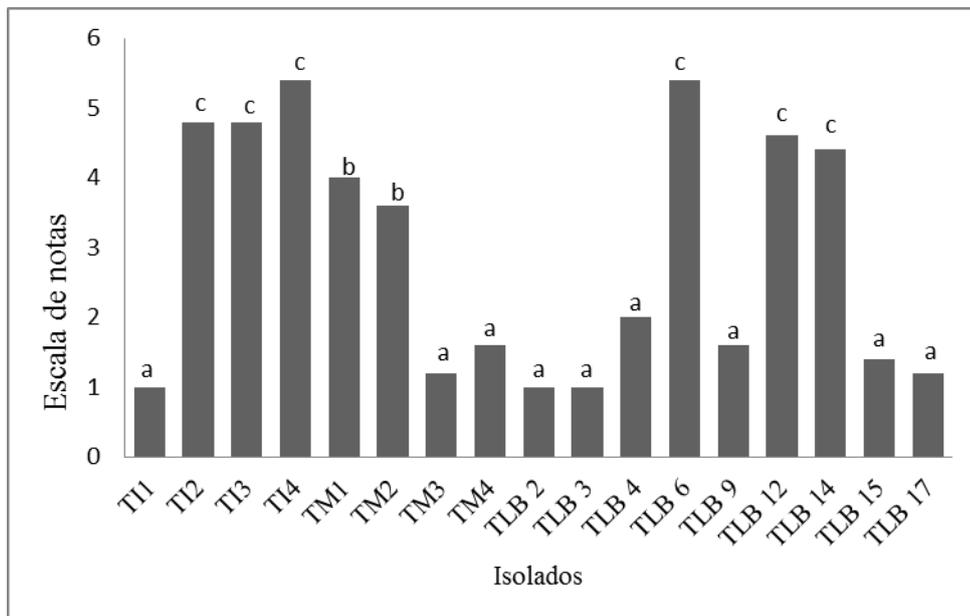
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Crescimento Micelial e Produção de Microescleródios de *Macrophomina phaseolina* Confrontado com Diferentes Isolados de *Trichoderma* sp.

#### 4.1.1 Pareamento de culturas - confronto direto

Todos os isolados de *Trichoderma* sp. apresentaram rápido crescimento micelial e, com apenas cinco dias de incubação, já foi possível observar que alguns isolados causaram inibição no desenvolvimento de *Macrophomina phaseolina*. Os efeitos dos tratamentos foram estatisticamente diferentes pelo teste de Scott-Knott (Figura 2).

Bomfim et al. (2010) encontraram resultados semelhantes trabalhando com diferentes isolados de *Trichoderma* sp. no biocontrole de *Rhizopus stolonifer*. Segundo os autores, com apenas três dias de incubação, os antagonistas já inibiam o desenvolvimento desse patógeno.



**Figura 2:** Médias de notas atribuídas pela técnica de confrontação direta para a agressividade dos isolados de *Trichoderma* sp., quanto à inibição de crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina*. Nota 1 indica alta agressividade e nota 7 indica ausência de agressividade. Médias seguidas com mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Os isolados foram organizados pelo teste em três grupos diferentes. Os isolados TI1, TLB2 e TLB3 apresentaram a menor média de notas, 1, podendo ser considerado o grupo de maior eficiência na supressão de *M. phaseolina*, pois os antagonistas cresceram por toda a placa de Petri e sobre o disco do patógeno. Esse grupo não diferiu estatisticamente dos isolados TM3, TM4, TLB4, TLB9, TLB15 e TLB17, que também apresentaram uma grande eficiência na supressão de *M. phaseolina*, impedindo quase que totalmente o desenvolvimento do fitopatógeno, pois cresceram por toda a placa de Petri, porém não cresceram sobre o disco do fitopatógeno.

O segundo grupo, composto pelos isolados TM1 e TM2 apresentou médias de notas de 4 e 3,6 respectivamente. Esse grupo pode ser considerado pouco eficiente na supressão de *M. phaseolina*, pois cresceram mais do que o fitopatógeno, porém ocuparam menos de  $\frac{3}{4}$  da placa de Petri.

Os isolados TI2, TI3, TI4, TLB6, TLB12 e TLB14 não apresentaram qualquer inibição no crescimento de *M. phaseolina*. Esse resultado corrobora com o encontrado por Ethur et al. (2005), que ao testarem diferentes isolados de *Trichoderma* sp., encontraram que 11% dos isolados testados não apresentavam inibição no crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*. Isso demonstra a variabilidade entre os isolados de *Trichoderma* sp. com relação à capacidade antagonista.

Segundo Ethur (2006), pela técnica de confrontação direta com isolados de *Trichoderma* sp. pode-se considerar isolados muito eficientes aqueles que apresentarem notas entre 1,0 e 1,5, e eficientes aqueles que apresentarem notas entre 2,0 e 2,5.

Silva et al. (2008) também observaram diferenças entre isolados de *Trichoderma* quanto a capacidade de supressão de *Phytophthora citrophthora*. Segundo os autores os isolados de *Trichoderma stromaticum*, *Trichoderma viride* e *Trichoderma virens* apresentaram maior antagonismo ao patógeno estudado, sendo que, o antagonismo por hiperparasitismo foi mais pronunciado quando se utilizou o isolado de *T. stromaticum*, enquanto o *Trichoderma harzianum* apresentou menor antagonismo.

Louzada et al. (2009), realizando o teste de pareamento de culturas e utilizando 230 isolados de *Trichoderma* sp, identificaram 50 isolados com potencial de inibição no crescimento micelial de *Fusarium solani* e 111 com potencial de inibição de *Sclerotinia sclerotiorum*.

Larralde-Corona et al. (2008), em teste utilizando nove isolados de *Trichoderma* sp. constataram diferença na capacidade dos isolados em prevenir o crescimento micelial de *M.*

*phaseolina*, onde *T. atroviride*, *T. koningiopsis* e *T. harzianun* apresentaram parasitismo a este patógeno, entretanto, *T. longibrachiatum* não exibiu um comportamento parasitário.

Segundo Dennis e Webster (1971) e Melo (1996), a capacidade do *Trichoderma* sp. em inibir o desenvolvimento de outros fungos é explicado pela produção de antibióticos, tais como gliotoxina, viridina, trichodermina, suzucacilina, alameticina e dermadina e enzimas como, quitinases,  $\beta$ -1,3-glucanases, celulasas e hemicelulasas. Como o fungo *M. phaseolina* pertence à divisão Ascomycota e possui a parede celular composta por quitina e  $\beta$ -1,3-glucana, possivelmente o seu desenvolvimento é inibido pela produção de antibióticos ou por quitinases e  $\beta$ -1,3-glucanases.

#### 4.1.2 Compostos voláteis

##### 4.1.2.1 Influência no crescimento micelial

Foi possível verificar a inibição no desenvolvimento micelial do fitopatógeno possivelmente a partir da produção de metabólitos voláteis dos diferentes isolados de *Trichoderma* sp. (Tabela 3).

Em relação à velocidade de crescimento micelial, os isolados TI2, TI3, TI4 e TM1 não diferiram da testemunha. Os demais foram organizados em três grupos distintos, sendo o isolado TLB12 o mais eficiente na redução do crescimento micelial do patógeno.

Em relação a variável AACCM, todos os isolados testados diferiram estatisticamente da testemunha, demonstrando que de alguma forma todos apresentaram uma produção de metabólitos capazes de inibir o crescimento micelial. Os isolados TM2 e TLB12 foram os que apresentaram menor valor de AACCM. Essa variável explica o comportamento do crescimento micelial do patógeno durante todo o experimento.

Com exceção dos isolados TM2, TLB2, TLB12, TLB15 e TLB17 os demais isolados apesar de produzirem metabólitos capazes de inibir o crescimento inicial do fitopatógeno, após alguns dias foi possível perceber a retomada do crescimento micelial de *M. phaseolina*.

**Tabela 3:** Velocidade do crescimento micelial, crescimento total (área abaixo da curva de crescimento micelial - AACCM) e % de inibição de *Macrophomina phaseolina* submetidos a produção de compostos voláteis por diferentes isolados de *Trichoderma* sp.

Isolados	Velocidade (cm.dia <sup>-1</sup> )	AACCM	Inibição (%)
TI1	1,38 c	19,9 b	8,2 c
TI2	1,48 d	20,3 b	1,3 d
TI3	1,48 d	20,9 c	1,5 d
TM1	1,49 d	21,0 c	0,6 d
TM2	1,28 b	19,2 a	14,6 b
TM3	1,36 c	19,7 b	9,2 c
TI4	1,45 d	21,4 c	3,7 d
TM4	1,37 c	20,2 b	8,8 c
TLB2	1,31 b	20,9 c	12,5 b
TLB3	1,36 c	21,3 c	9,6 c
TLB4	1,38 c	21,3 c	7,8 c
TLB6	1,39 c	20,6 b	7,7 c
TLB9	1,35 c	21,5 c	10,0 c
TLB12	1,15 a	19,0 a	23,1 a
TLB14	1,42 c	21,3 c	5,2 c
TLB15	1,30 b	20,3 b	13,7 b
TLB17	1,27 b	20,4 b	15,4 b
Testemunha	1,50 d	23,7 d	-
CV (%)	5,33	4,31	57,6

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knot a 5% de probabilidade.

Bomfim et al. (2010) também verificaram a produção de metabólitos voláteis de diferentes isolados de *Trichoderma* sp. capazes de inibir o desenvolvimento micelial de *R. stolonifer*. Segundo os autores, *T. viride* e *T. harzianum* produziram notável efeito fungistático sobre o patógeno, sendo que *T. viride* inibiu completamente o crescimento de *R. stolonifer*. *T. stromaticum* e *T. virens* produziram metabólitos capazes de inibir o crescimento do fitopatógeno, porém não foram capazes de manter essa inibição.

A capacidade de inibição do crescimento micelial pelos diferentes isolados testados variou de 0,6 a 23,1%. O isolado TLB12 foi o tratamento que mais apresentou capacidade de inibição (23,1%), seguido pelos isolados TM2, TLB2, TLB15 e TLB17, que apresentaram inibição variando de 12,5 a 15,4%.

Carvalho Filho et al. (2008b) verificaram diferentes respostas de isolados de *Trichoderma* sp. na inibição micelial de *Cylindrocadium scoparium*. Segundo os autores, os compostos voláteis dos isolados utilizados inibiram de 11 a 40% o crescimento micelial do fitopatógeno comparado com a testemunha.

Lobo Junior e Abreu (2000), analisando a inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* por metabólitos voláteis produzidos por *Trichoderma* sp. em

diferentes temperaturas, descreveram que todos os isolados utilizados no ensaio foram capazes de inibir o crescimento do patógeno, porém a interação entre os isolados e temperatura do ensaio foi altamente significativa. Segundo os autores, a seleção de antagonistas levando-se em consideração a produção de compostos voláteis, deve ser realizada na faixa ótima de temperatura para o desenvolvimento do patógeno.

Zancan et al. (2012), avaliando o crescimento micelial de *S. sclerotiorum* na presença de *Trichoderma harzianum*, constataram que o antagonista utilizado em diferentes doses (5, 10, 50, 100 ppm) do produto comercial a base de *T. harzianum* foi capaz de inibir em mais de 77% o crescimento micelial do patógeno. Segundo os autores, conforme a dose aumentava maior era a redução no desenvolvimento do fungo patogênico.

Segundo Brotman et al. (2010), a produção de compostos voláteis pelas diferentes espécies de *Trichoderma* sp. é considerado um fator importante no controle de fitopatógenos.

#### 4.1.2.2 Influência na produção de microescleródios

Todos os isolados de *Trichoderma* sp. utilizados no teste do composto volátil foram capazes de inibir a produção de microescleródios do fitopatógeno (Tabela 4).

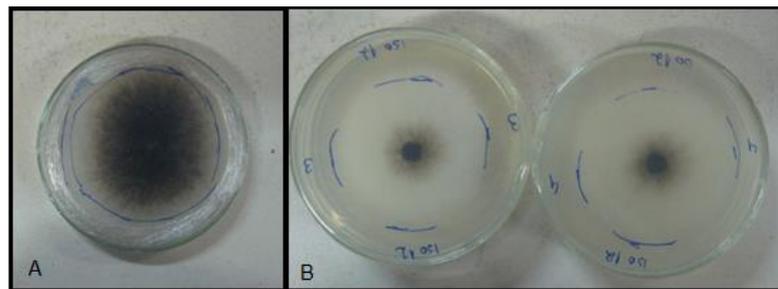
Em relação à velocidade de produção de microescleródios, todos os isolados diferiram da testemunha. Os isolados foram organizados em dois grupos distintos, sendo os isolado T11, TM2, TM3, TM4, TLB2, TLB12 e TLB17 os mais eficientes na redução da velocidade de produção de microescleródios do patógeno.

A capacidade de inibição na produção de microescleródios pelos diferentes isolados avaliados no 6º dia após o início do teste variou de 39 a 61%, demonstrando uma grande capacidade do *Trichoderma* sp. em prejudicar a produção de estruturas de sobrevivência do patógeno (Figura 3). Segundo Mello (1996), isolados de *Trichoderma* sp. são eficientes no controle de inúmeros fitopatógenos, principalmente aqueles com estruturas de resistência.

**Tabela 4:** Produção de microescleródios avaliados pela velocidade de crescimento da área de produção, diâmetro da área de produção e percentual de inibição de microescleródios de *Macrophomina phaseolina* submetidos a produção de compostos voláteis por diferentes isolados de *Trichoderma* sp.

Isolados	Velocidade (cm.dia <sup>-1</sup> )	Diâmetro de produção de microescleródios	Inibição (%)
TI1	0,67 a	4,05 a	55,00 a
TI2	0,91 b	5,45 b	39,46 b
TI3	0,79 b	4,74 b	47,34 b
TM1	0,86 b	5,16 b	42,68 b
TM2	0,67 a	4,03 a	55,20 a
TM3	0,67 a	3,99 a	55,67 a
TI4	0,85 b	5,10 b	43,32 b
TM4	0,73 a	4,39 a	51,22 a
TLB2	0,69 a	4,13 a	54,12 a
TLB3	0,81 b	4,87 b	45,89 b
TLB4	0,80 b	4,81 b	46,56 b
TLB6	0,91 b	5,44 b	39,54 b
TLB9	0,82 b	4,95 b	44,98 b
TLB12	0,57 a	3,43 a	61,88 a
TLB14	0,80 b	4,79 b	46,78 b
TLB15	0,77 b	4,60 b	48,90 b
TLB17	0,74 a	4,40 a	51,12 a
Testemunha	1,50 c	9,00 c	-
CV (%)	15,10	15,04	17,59

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knot a 5% de probabilidade.



**Figura 3:** Efeito dos metabólitos voláteis produzidos por diferentes isolados de *Trichoderma* na produção de microescleródios de *Macrophomina phaseolina*. A – Testemunha três dias após o início do teste. B – Isolado TLB12 três dias após o início do teste.

Remuska e Dalla Pria (2007), trabalhando com diferentes isolados de *Trichoderma* sp., encontraram resultados diferentes no manejo de *Sclerotium rolfsii*. Segundo os autores,

*Trichoderma* sp. foi capaz de inibir o crescimento micelial, porém não impediu que o fitopatógeno produzisse escleródios.

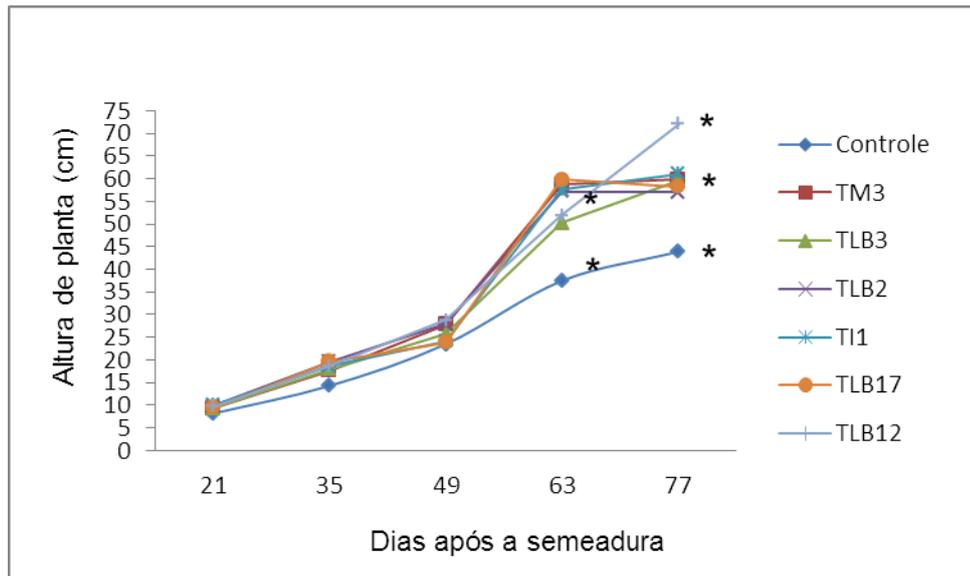
Kunieda-Alonso, Alfenas e Mafia (2005) encontraram redução significativa na sobrevivência de escleródios de *Rhizoctonia* sp. no solo tratado com suspensão conidial de *Trichoderma longibrachiatum* e *Trichoderma inhamatum*. Segundo os autores, ao longo de 12 meses de avaliação a sobrevivência dos escleródios decresceu progressivamente, atingindo 59% de inviabilidade ao final do primeiro mês.

Zancan et al. (2012), avaliando produção e germinação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, constataram que *Trichoderma harzianum* provocou a inibição do processo de formação dos escleródios *in vitro*, porém não afetou a germinação dos escleródios formados.

Segundo Larralde-Corona et al. (2008), *Trichoderma* spp. são capazes de degradar micélio e microescleródios de *M. phaseolina*, se enrolando em torno das hifas do patógeno através da formação de estruturas em formato de ganchos, denominados apressórios.

#### **4.2 *Trichoderma* sp. Como Promotores de Crescimento em Plantas de Feijão Comum (*Phaseolus vulgaris* L.)**

A altura das plantas de todos os tratamentos inoculados com *Trichoderma* sp. foram estatisticamente superiores a testemunha aos 63 e 77 dias após a semeadura (DAS). Aos 21, 35 e 49 DAS não houve diferença significativa entre os tratamentos. Aos 77 DAS as plantas inoculadas com o isolado TLB12 foram as que apresentaram maior altura de planta, correspondendo a um aumento médio de 64% em relação a testemunha. Os demais tratamentos foram significativamente inferiores ao TLB12 e superiores entre 29 a 39% à testemunha (Figura 4).



**Figura 4:** Médias de altura de planta de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de *Trichoderma* avaliados aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura. \*Difere pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. CV = 25,57%.

A literatura apresenta na maioria das vezes resultados positivos com o uso de espécies de *Trichoderma* no quesito altura de plantas.

Carvalho Filho et al. (2008a), avaliando diferentes isolados de *Trichoderma* sp. na promoção de crescimento de mudas de clones de híbridos de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* em trabalho conduzido em Luziânia - GO, verificaram diferentes respostas dos isolados em relação a altura das mudas. Dos cinco isolados utilizados no experimento, apenas um não diferiu da testemunha e os demais contribuíram com um aumento de 23 a 43% na altura das plantas.

Segundo Brotman et al. (2010), a utilização do *Trichoderma* pode promover o aumento de até 300% no crescimento das plantas de tomate e tabaco.

Shanmugaiah et al. (2009) relataram que a inoculação de *Trichoderma viride* em algodoeiro promoveu aumento de 127% na altura das plantas, quando a avaliação do ensaio ocorreu aos 10 dias após o plantio.

Nagaraju, Sudisha e Murthy (2012), em trabalho utilizando *Trichoderma harzianum* constataram que os isolados foram capazes de promover em até 38% a mais o crescimento de plantas de girassol.

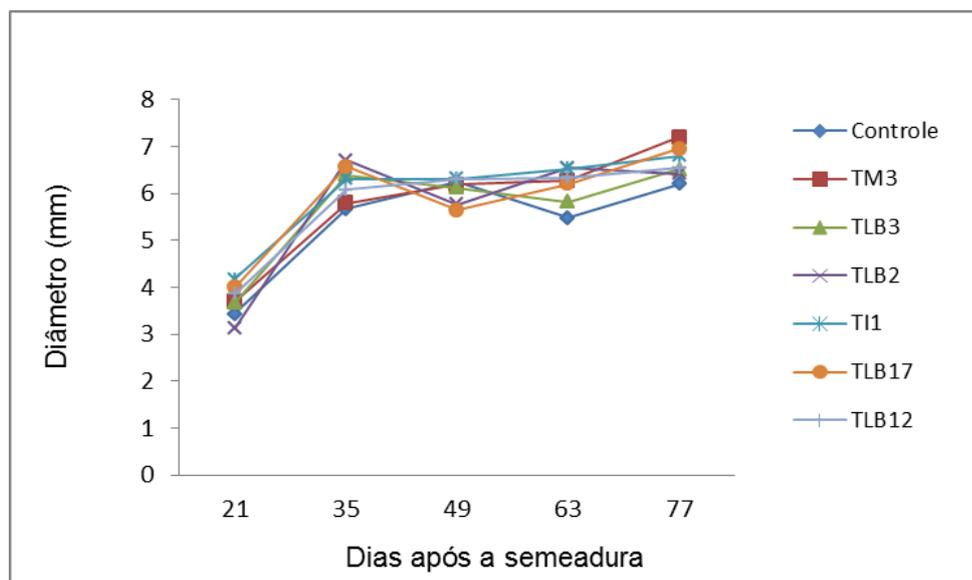
Por outro lado, Resende et al. (2004), trabalhando com a inoculação de *Trichoderma harzianum* no plantio de sementes de milho, não verificaram efeito significativo na alturas das

plantas, diferindo destes resultados, o que mostra que esta ação sobre plantas não é absoluto podendo ser dependente das espécie da planta ou mesmo do isolado.

Em relação ao diâmetro médio do caule das plantas os valores variaram entre 3,7% e 16% para os tratamentos com *Trichoderma* em relação ao tratamento controle, porém não houve diferença significativa em nenhuma das avaliações (Figura 5). Segundo Carneiro (1995), plantas que apresentam um maior diâmetro do colo possuem um maior equilíbrio no crescimento da parte aérea.

Os resultados encontrados corroboram com os encontrados por Okoth et al. (2011), pois segundo os autores o tratamento de sementes de milho e feijão com *Trichoderma harzianum* proporcionou um maior diâmetro de colmo e caule em até 6% para o milho e 20% para o feijão, porém isso não resultou em diferença estatística em relação a testemunha.

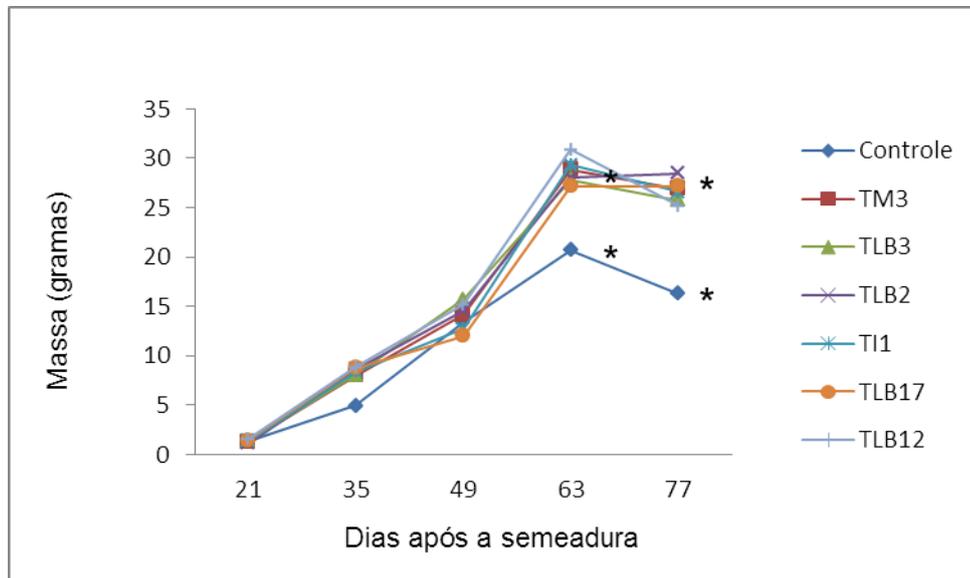
Os valores encontrados em relação ao diâmetro do caule podem ser considerados aceitáveis, pois Salgado et al. (2012), em trabalho utilizando 12 variedades de feijão comum constatou um diâmetro médio entre 5,1 e 6,8 mm.



**Figura 5:** Médias de diâmetro de caule de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de *Trichoderma* avaliados aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura.

As plantas tratadas com *Trichoderma* apresentaram maior massa fresca de hastes aos 63 e 77 DAS. Aos 21, 35 e 49 DAS não houve diferença significativa entre os tratamentos. Aos 63 DAS as plantas inoculadas com o isolado TLB 12 foram as que apresentaram maior massa fresca de hastes, apresentando um incremento médio de 49,25% em relação a

testemunha. Aos 77 DAS as plantas inoculadas com o isolado TLB2 apresentaram 74% de incremento na massa fresca das hastes quando comparada com a testemunha (Figura 6).



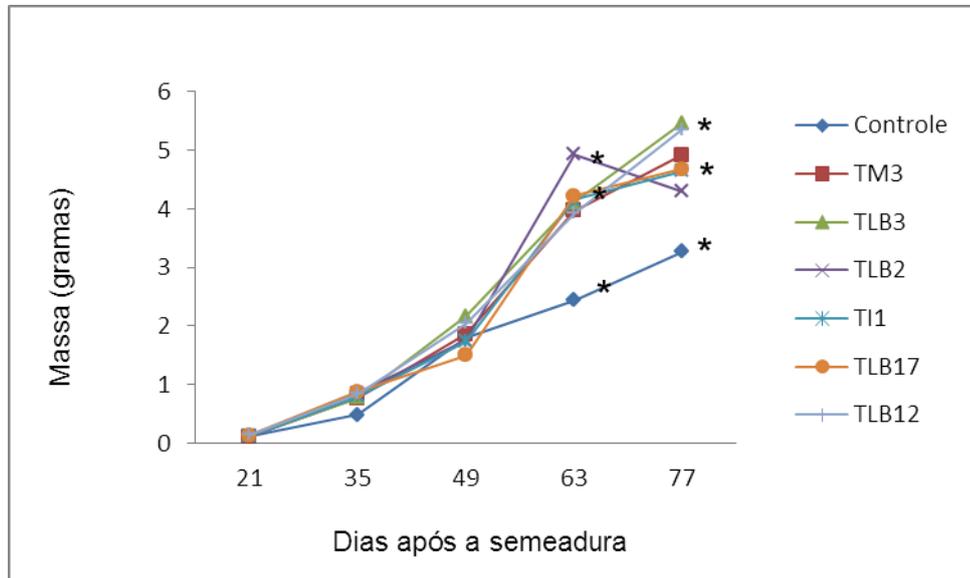
**Figura 6:** Médias da massa fresca das hastes de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de *Trichoderma* avaliados aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura. \*Difere pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. CV = 22,08%.

Guareschi et al. (2012), utilizando *Trichoderma* spp. na promoção de crescimento vegetativo nas culturas de girassol e soja, relataram que nos primeiros 15 dias após a emergência (DAE), o fungo não estimulou o crescimento das plantas de girassol. Segundo os autores isso pode ter ocorrido devido ao pequeno tempo de permanência no solo ou a dose aplicada foi insuficiente. A produção de matéria seca da parte aérea das plantas de girassol inoculadas com *Trichoderma* spp. obtida aos 30, 40 e 65 DAE foi superior em até 47,9% sendo o maior incremento observado aos 65 DAE. Em relação à matéria fresca da parte aérea o maior incremento foi de 38,5% que ocorreu aos 30 DAE.

Segundo os mesmos autores, para a cultura da soja, a aplicação de *Trichoderma* spp. conferiu respostas significativas nas quatro épocas de avaliações (15, 30, 40 e 65 DAE) tanto para a produção de matéria seca, quanto para a produção de matéria fresca. A maior produção de matéria fresca obtida foi aos 30 DAE com um incremento médio de 78,3% em relação a testemunha, e a maior produção de matéria seca foi de 123% obtida aos 15 DAE.

Naseby, Pascual e Lynch (2000) relataram aumento do peso fresco de caule de ervilhas entre 13 e 51% tratadas com isolados de *Trichoderma*.

A massa seca das hastes das plantas de todos os tratamentos inoculados com *Trichoderma* sp. foram estatisticamente superiores a testemunha aos 63 e 77 DAS. Aos 21, 35 e 49 DAS não houve diferença significativa entre os tratamentos (Figura 7).



**Figura 7:** Médias de massa seca de hastes de feijoeiro em função da inoculação se seis isolados de *Trichoderma* avaliados aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura. \*Difere pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. CV = 24,38%.

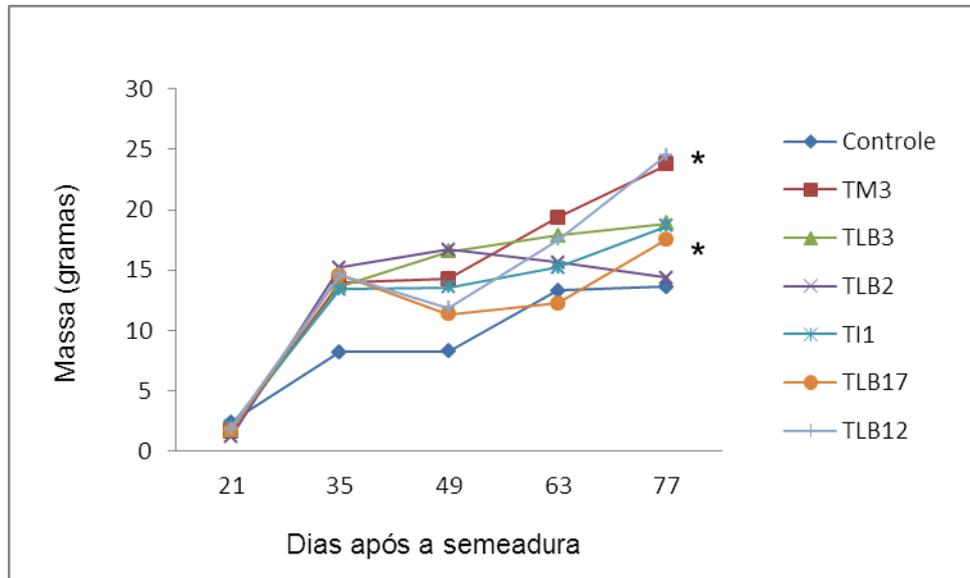
Aos 63 DAS as plantas inoculadas com o isolado TLB2 apresentaram um incremento de 102% da massa seca das hastes em relação a testemunha enquanto que os demais tratamentos apresentaram um incremento médio entre 61 e 73%. Aos 77 DAS os isolados TLB3 e TLB 12 foram os que promoveram maior massa seca das hastes, apresentando em média um incremento de 65% em relação à testemunha. Os demais tratamentos apresentaram um incremento entre 31 e 50% quando comparados à testemunha.

Yobo, Laing e Hunter (2011), avaliando a influência na massa seca do feijoeiro quatro semanas após o plantio e inoculação de seis isolados do fungo *Trichoderma*, relataram que apenas dois isolados diferiram da testemunha proporcionando um aumento de 16,6%.

Santos (2008) constatou aumento de até 142, 120 e 80% da massa seca de parte aérea de plantas de soja, milho e feijão, respectivamente, tratadas com isolados de *Trichoderma* spp. em avaliação realizada 60 dias após o plantio.

Em relação a massa fresca de raiz não houve diferença significativa entre os tratamentos aos 21, 35, 49 e 63 DAS (Figura 8). Aos 77 DAS os tratamentos TM3 e TLB12

promoveram um acúmulo de massa fresca de raiz superior ao acumulado pela testemunha em 74,4 e 79,96% respectivamente. Os demais tratamentos não apresentaram diferença estatística em relação a testemunha

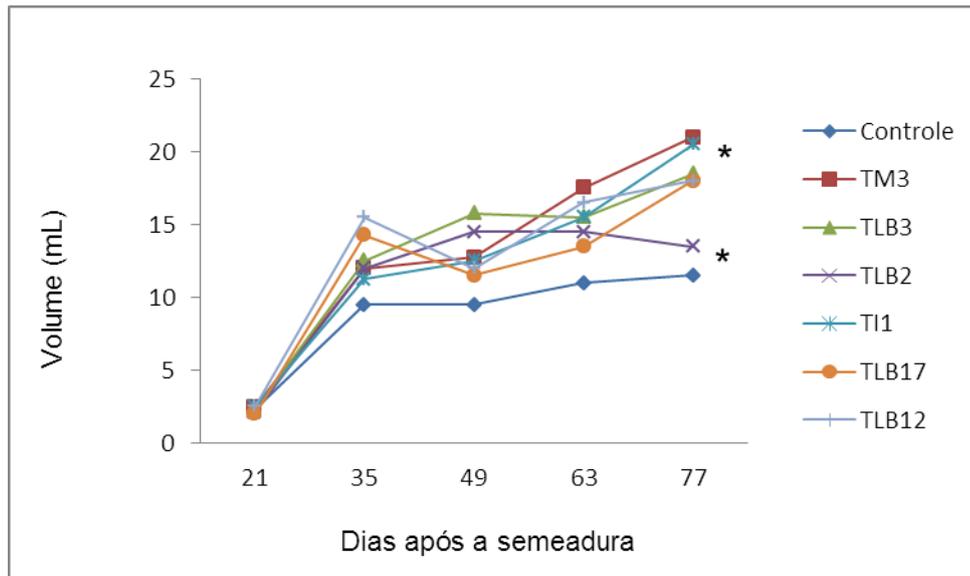


**Figura 8:** Médias de massa fresca de sistema radicular de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de *Trichoderma* avaliados aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura. \*Difere pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. CV = 37,88%.

Guareschi et al. (2012), utilizando *Trichoderma* spp. na promoção de crescimento vegetativo, relataram que ocorreu incremento de matéria fresca radicular de até 120% para a cultura do girassol e de até 95% para a cultura da soja, e incremento de matéria seca radicular de até 175% para a cultura do girassol e 145% para a cultura da soja, sendo que os maiores incrementos para o girassol ocorreram aos 15 DAE e para a soja aos 45 DAE.

Naseby, Pascual e Lynch (2000) relataram aumento do peso fresco radicular de plantas de ervilhas entre 8 e 21% tratadas com isolados de *Trichoderma*.

Em relação ao volume de raiz das plantas não houve diferença significativa entre os tratamentos aos 21, 35, 49 e 63 DAS (Figura 9 e 10), porém já era possível observar um aumento do volume das raízes onde ocorreu o tratamento de sementes com *Trichoderma*. Aos 77 DAS apenas o tratamento TLB2 não apresentou diferença estatística em relação à testemunha, sendo que os demais apresentaram incremento médio entre 56,5 e 82,6 no volume das raízes quando comparados a testemunha.



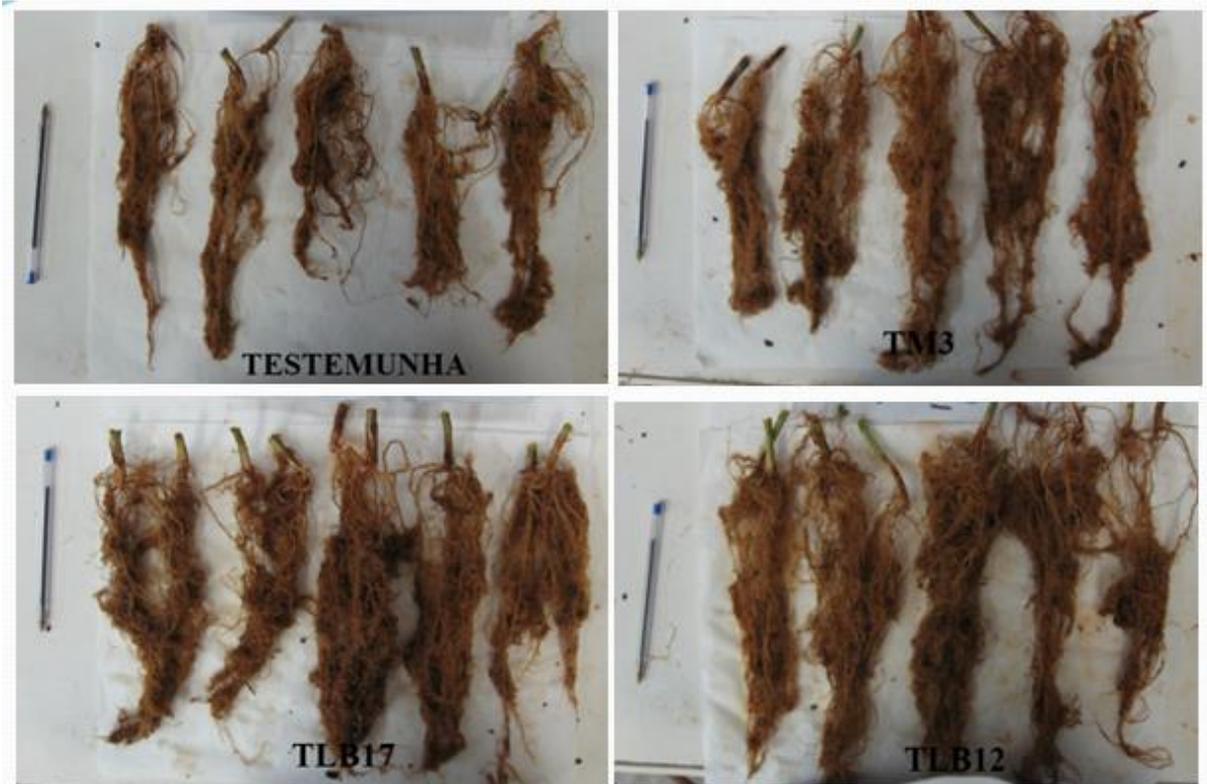
**Figura 9:** Médias de volume de sistema radicular de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de *Trichoderma* avaliados aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura. \*Difere pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. CV = 35,93%.

Segundo Yedidia et al. (2001), a inoculação de *Trichoderma harzianum* em plantas de pepino promoveu um aumento de 75 a 95% no volume das raízes e um aumento significativo de 25 a 40% no peso seco.

Shanmugaiyah et al. (2009) relataram que a inoculação de *Trichoderma viride* em algodoeiro promoveu aumento de 125% no comprimento de raiz das plantas comparadas com a testemunha, quando a avaliação do ensaio ocorreu aos 10 dias após o plantio.

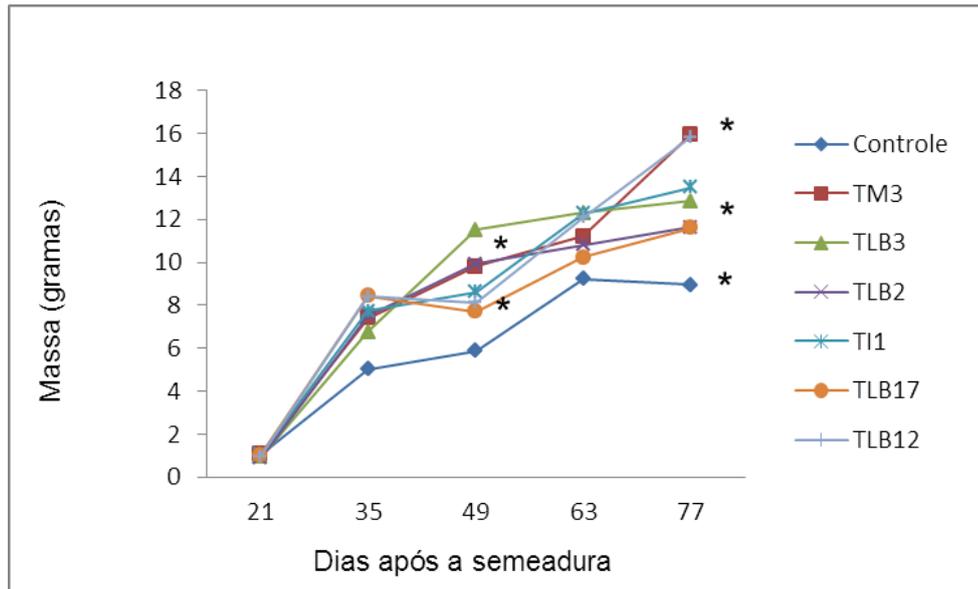
Bjorkman, Blanchard e Harman (1998) constaram aumento de 33% no comprimento radicular do milho doce tratado com *Trichoderma harzianum*.

Naseby, Pascual e Lynch (2000) relataram aumento significativo do comprimento de raiz e número de raízes laterais de plantas de ervilhas tratadas com isolados de *Trichoderma*.



**Figura 10:** Sistema radicular do feijoeiro aos 77 dias após a semeadura e inoculação dos isolados TM3, TLB17 e TLB12.

A massa seca das raízes das plantas tratadas com os isolados TLB3, TM3 e TLB2 foram superiores aos demais tratamentos aos 49 DAS. Aos 21, 35 e 63 DAS não houve diferença significativa entre os tratamentos (Figura 11). Aos 49 DAS o maior incremento na massa seca das raízes foi causado pelo tratamento TLB3 sendo esse incremento de 96,6% em relação à testemunha. Aos 77 DAS todos os tratamento promoveram incremento na massa seca radicular das plantas entre 29,3 e 78,0% em relação à testemunha.



**Figura 11:** Médias de massa seca de sistema radicular de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de *Trichoderma* avaliados aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura. \*Difere pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. CV = 32,87%.

Carvalho Filho et al. (2008a), utilizando cinco isolados de *Trichoderma* sp. na promoção de crescimento de mudas de clones de híbridos de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* em trabalho realizado em Luziânia - GO, verificaram que três isolados diferiram estatisticamente da testemunha em relação a massa seca de raiz. Segundo os autores os incrementos médios chegaram a 136% em relação à testemunha. Porém, em trabalho realizado em Patos de Minas – MG, utilizando os mesmos isolados, apenas um diferiu da testemunha, resultando em um incremento médio de massa seca de 37,5%.

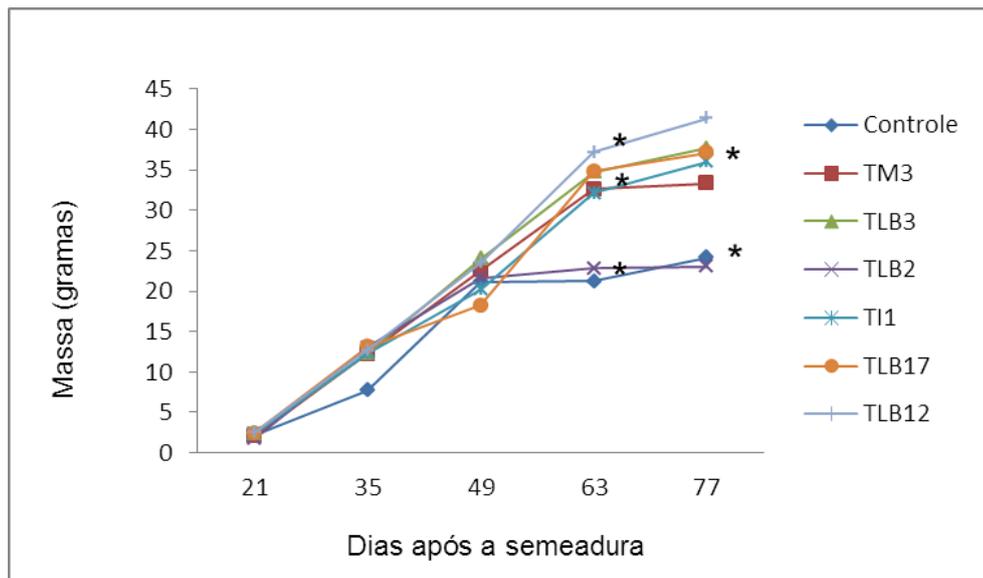
Segundo Resende et al. (2004) a inoculação do *Trichoderma harzianum* em sementes de milho promoveu o aumento da matéria seca das raízes em média de 32,7%.

Santos (2008) constatou aumento de até 114%, 140% e 150% da massa seca de raiz de plantas de soja, milho e feijão respectivamente, tratadas com isolados de *Trichoderma* spp. em avaliação realizado 60 dias após o plantio.

Bjorkman, Blanchard e Harman (1998) constaram aumento de 27% na massa seca radicular do milho doce tratado com *Trichoderma harzianum*.

Trabalhos demonstrando o aumento da massa radicular de espécies vegetais inoculadas com diferentes espécies de *Trichoderma* vem ocorrendo há algum tempo, pois em 1986, Windham, Elad e Baker relataram que a massa seca radicular de plantas de tomate e tabaco inoculadas com *Trichoderma* foram superiores em até 175% e 691% respectivamente.

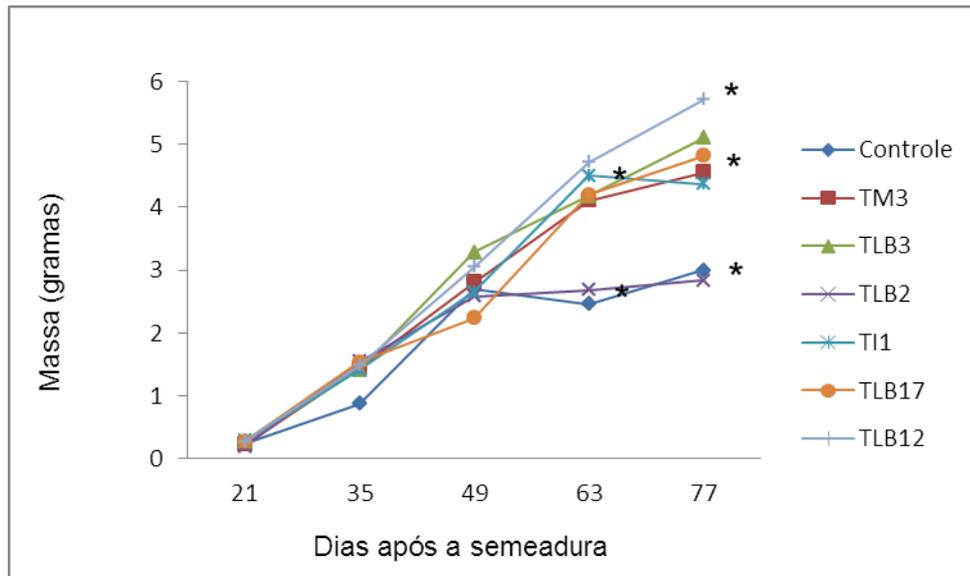
Em relação à massa fresca das folhas não houve diferença estatística entre os tratamentos aos 21, 35 e 49 DAS, porém aos 63 e 77 DAS apenas o tratamento TLB2 não diferiu da testemunha enquanto que os demais proporcionaram uma maior massa verde das folhas (Figura 12). Aos 63 DAS as plantas tratadas com *Trichoderma* promoveram um incremento entre 51,9 e 75,4% em relação a testemunha e aos 77 DAS esse incremento foi de 37,6 e 70,7%.



**Figura 12:** Médias de massa fresca de folhas de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de *Trichoderma* avaliados aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura. \*Difere pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. CV = 22,21%.

Segundo Shanmugaiah et al. (2009) a inoculação de *Trichoderma viride* em algodoeiro foi capaz de promover aumento em até 269% da massa fresca de parte aérea das plantas e até 1106% a massa seca em comparação com a testemunha, quando a avaliação do teste ocorreu aos 10 dias após o plantio.

Em relação à massa seca das folhas, não houve diferença estatística entre os tratamentos aos 21, 35 e 49 DAS, porém aos 63 e 77 DAS apenas o tratamento TLB2 não diferiu da testemunha enquanto que os demais proporcionaram uma maior massa seca das folhas. Aos 63 DAS as plantas tratadas com *Trichoderma* promoveram um incremento entre 67 e 91,8% em relação a testemunha e aos 77 DAS esse incremento foi de 45,6 e 90,3% (Figura 13).



**Figura 13:** Médias de massa seca de folhas de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de *Trichoderma* avaliados aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura. \*Difere pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. CV = 21,56%.

Machado et al. (2011), inoculando *Trichoderma harzianum* em aveia preta, constataram o aumento da produção de massa seca da parte aérea das plantas de aveia em relação a testemunha.

Pedro et al. (2012), testando 64 isolados de *Trichoderma* spp. na promoção de crescimento de plantas de feijão em três ensaios, relataram que no primeiro ensaio 54 isolados causaram aumento significativo entre 3,12% e 57,81% da produção de matéria seca das plantas, quando comparados ao tratamento controle. No segundo ensaio, 42 isolados aumentaram significativamente a massa de matéria seca das plantas com variações entre 4,65% e 34,88%. No terceiro ensaio 53 isolados causaram aumentos significativos entre 3,70% e 57,41%. Segundo os autores, os aumentos na produção de matéria seca podem variar de acordo com a cultura e o isolado de *Trichoderma* utilizado.

Fontenelle et al. (2011) verificaram que dos 28 isolados testados para promoção do crescimento de mudas de tomate, 12 promoveram o aumento da matéria seca acima de 100%, variando entre 116,67% e 900%.

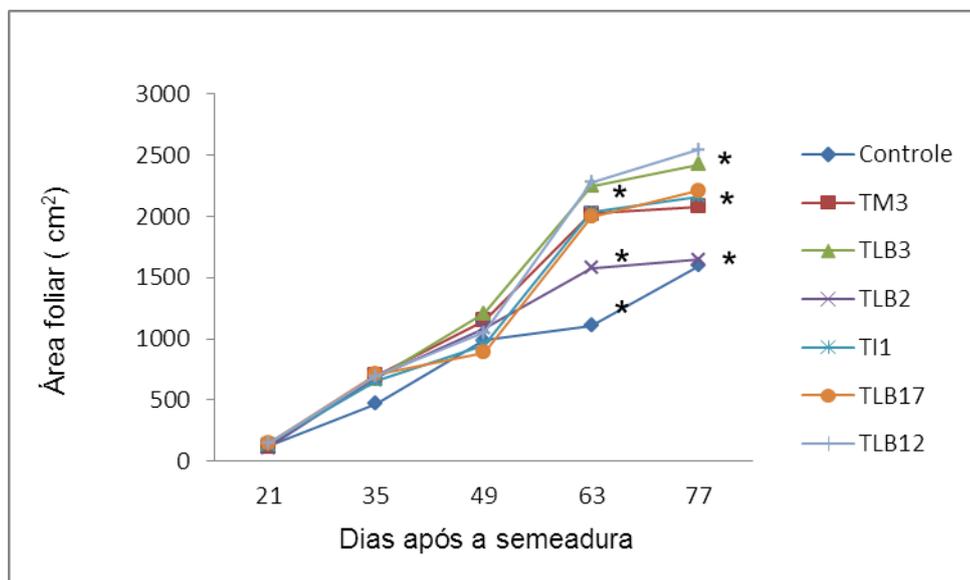
Silva et al. (2011), em testes com plantas de pepino tratadas com 30 isolados de *Trichoderma* spp., relataram que os mesmos foram capazes de promover em até 100% a massa de matéria seca das plantas quando comparadas com a testemunha.

Santiago et al. (2013) relatam que a inoculação de *Trichoderma asperellum* foi significativamente eficaz no aumento da produção de matéria seca da parte aérea de plantas de pepino.

Bjorkman, Blanchard e Harman (1998) constaram aumento de 20% na massa seca da parte aérea de milho doce tratado com *Trichoderma harzianum*.

Embora na maioria das vezes os resultados na literatura demonstrem ganho de massa, Resende et al. (2004) não observaram o fenômeno, pois segundo os autores, a inoculação de *Trichoderma harzianum* no plantio de sementes de milho não resultou em efeito significativo no peso de matéria seca da parte aérea, o que discorda dos resultados encontrados neste trabalho.

Em relação à área foliar não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos aos 21, 35 e 49 DAS, porém aos 63 DAS todas as plantas tratadas com *Trichoderma* promoveram um incremento na área foliar, sendo esse incremento em relação a testemunha de até 105,8% proporcionado pelo tratamento TLB12. Aos 77 DAS apenas o tratamento TLB2 não diferiu da testemunha, enquanto que os demais apresentaram valores superiores de área foliar entre 30,3 e 59,4% (Figura 14).

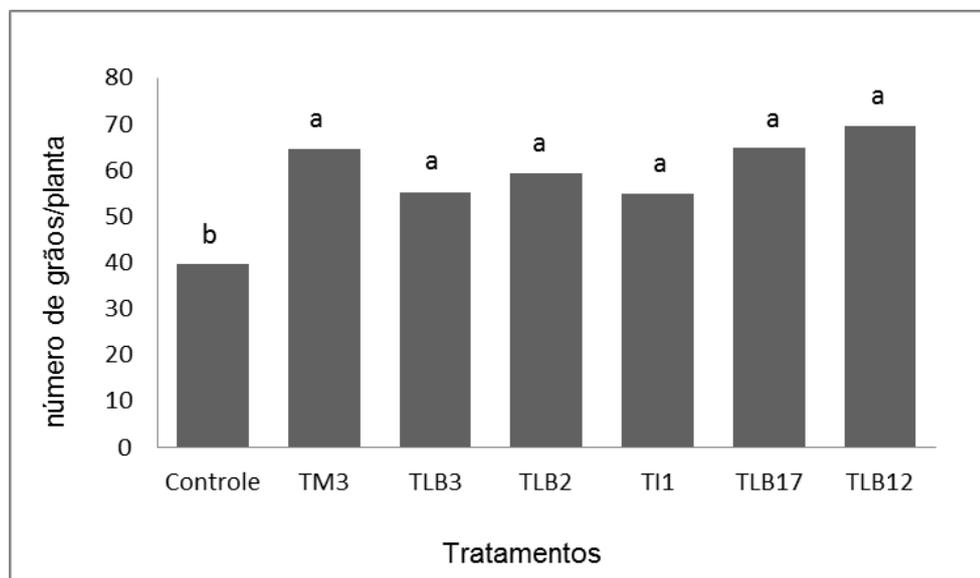


**Figura 14:** Médias de área foliar de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de *Trichoderma* avaliados aos 21, 35, 49, 63 e 77 dias após a semeadura. \*Difere pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. CV = 26,27%.

É possível notar uma relação entre massa seca e fresca das folhas e área foliar, sendo que para esses parâmetros o único tratamento que não diferiu da testemunha aos 77 DAS foi o isolado TLB2. Notou-se também que este tratamento não estimulou ganhos na massa do sistema radicular, embora tenha se comportado como altamente agressivo no confronto direto contra *M. phaseolina*, o que indica um efeito direto sobre o patógeno, no entanto não demonstra efeito significativo na melhoria da condição fisiológica da planta. Outro ponto observado durante a condução do experimento, que plantas tratadas com este isolado apresentaram maior sensibilidade a ácaros, porém esta variável não foi apresentada neste trabalho.

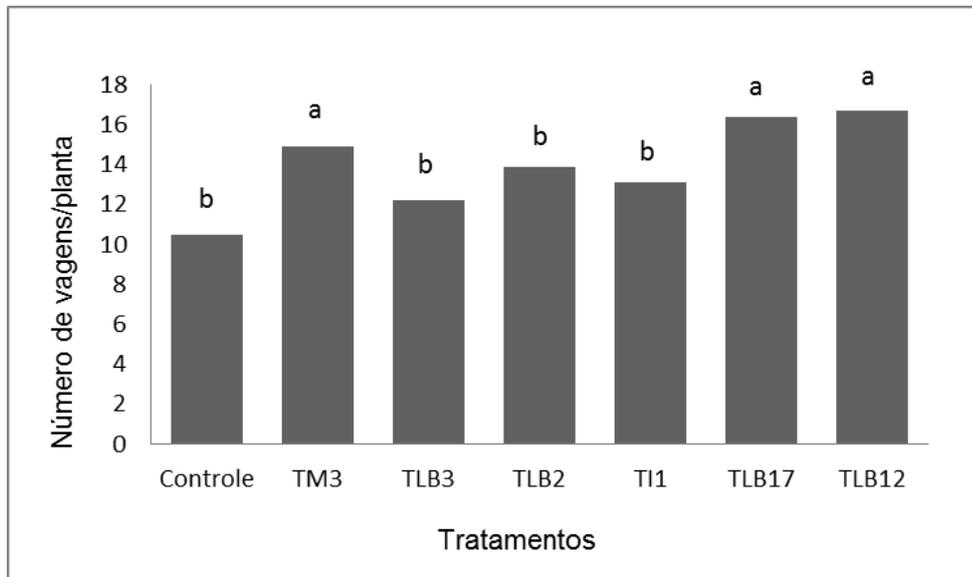
#### 4.2.1 Parâmetros de produção

O número médio de grãos por planta dos tratamentos com *Trichoderma* foi superior ao tratamento testemunha em até 76%, resultado esse proporcionado pelo isolado TLB12 (Figura 15). Os demais isolados, TM3, TLB3, TLB2, TI1 e TLB17 proporcionaram um aumento no número de grãos por planta entre 38% e 64% em relação à testemunha.



**Figura 15:** Número de grãos por planta de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de *Trichoderma*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knot a 5% de probabilidade. CV = 17,94%.

O número de vagens por planta dos tratamentos TM3, TLB17 e TLB12 foram superiores aos isolados TLB3, TLB2, TI1 e ao tratamento testemunha, sendo que os isolados TLB12, TLB17 e TM3 proporcionaram um aumento do número de vagens de 59%, 56% e 41% respectivamente quando comparado à testemunha. (Figura 16).

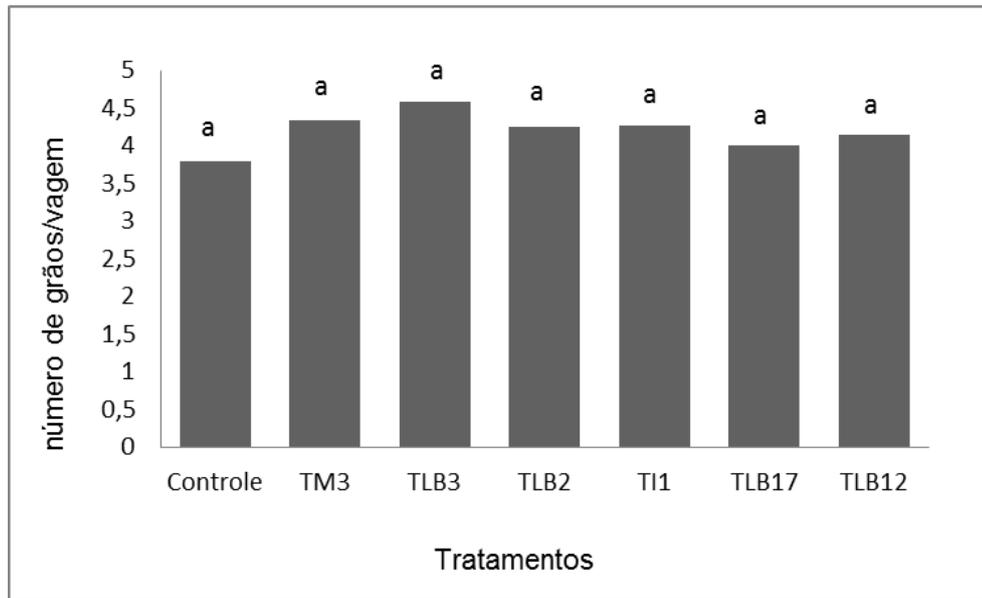


**Figura 16:** Número de vagens por planta de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de *Trichoderma*. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knot a 5% de probabilidade. CV = 16,36%.

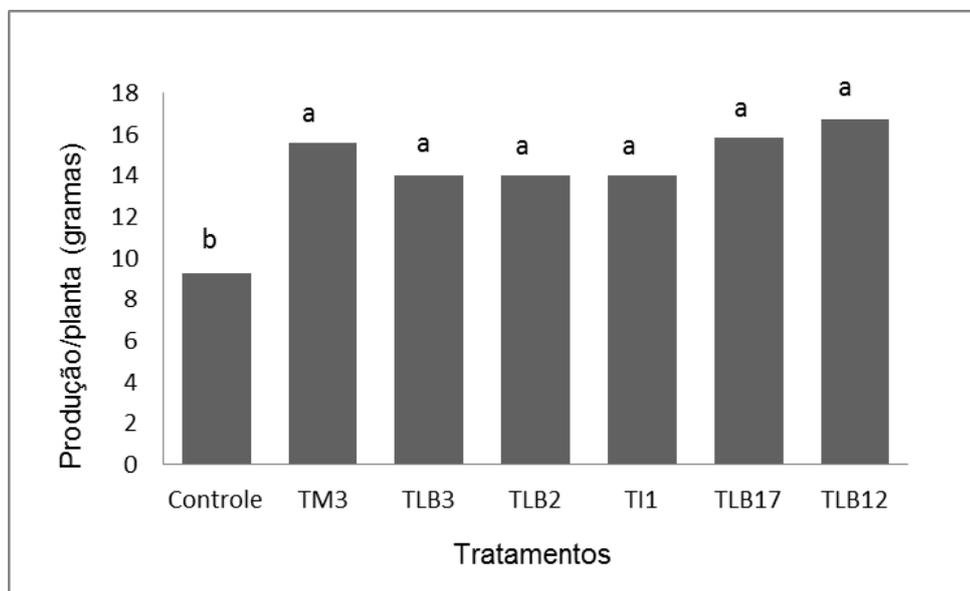
Os resultados em relação a número de vagens por planta e número de grãos por vagem podem ser considerados aceitáveis, pois segundo Salgado et al. (2012), em trabalho utilizando 12 variedades de feijão comum, constataram que o número de vagens por planta é considerado normal entre 8,3 e 15,1 e o número de sementes por vagem de 2,8 a 5.

Os resultados corroboram com os encontrados por Santos (2008), pois ao utilizar dez isolados de *Trichoderma* no tratamento de sementes de feijão, seis isolados proporcionaram um aumento no número de vagens das plantas entre 92% e 33% em relação a testemunha.

Em relação ao número de grãos por vagem não houve diferença significativa entre os tratamentos (Figura 17). Porém, a produção das plantas tratadas com *Trichoderma* foi superior ao tratamento controle. O tratamento TLB12 foi o que proporcionou a maior produção, sendo esse incremento de 80,5% em relação a testemunha (Figura 18). Os demais tratamentos, TM3, TLB3, TLB2, TI1 e TLB 17 proporcionaram um aumento de produção entre 50% e 70%.



**Figura 17:** Número de grãos por vagens de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de *Trichoderma*. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knot a 5% de probabilidade. CV = 9,04%.



**Figura 18:** Produção por planta de feijoeiro em função da inoculação de seis isolados de *Trichoderma*. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knot a 5% de probabilidade. CV = 19,12%.

Segundo Bernardes et al. (2010) a inoculação de *Trichoderma* em sementes de feijão não proporcionou aumento no rendimento de grãos e nos componentes de produtividade da cultura.

#### 4.3 *Trichoderma* sp. Como Bioprotetor de Sementes e Plantulas de Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) Cultivadas em Solo infestados com *Macrophomina phaseolina*

Os isolados TLB2, TLB3, TLB17 e TLB12 comportaram-se como bioprotetoras das sementes, quando se compara os resultados obtidos com a testemunha (sem antagonista), variando o percentual de sobrevivência das plantas. Dos isolados estudados, o TLB12 foi o mais promissor, permitindo o maior percentual de plantas sobreviventes (Tabela 5).

**Tabela 5:** Efeito do tratamento de sementes de feijão com espécies de *Trichoderma* e plantio em solo esterilizado e artificialmente infestado com *Macrophomina phaseolina*, em relação à sobrevivência das plantas.

Tratamentos de sementes	Plantas sobreviventes (%)	
	Solo infestado com <i>M. phaseolina</i>	Solo sem infestação de <i>M. phaseolina</i>
TI1	31,11 b	77,78 a
TM3	42,22 b	88,89 a
TLB2	82,22 a	84,44 a
TLB3	80,00 a	84,44 a
TLB17	82,22 a	73,33 a
TLB12	86,67 a	71,11 a
Sem antagonista	28,89 b	75,56 a
CV	11,27%	18,24%

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knot a 5% de probabilidade.

Em relação ao solo sem infestação de *M. phaseolina*, não ocorreu diferença estatística entre os tratamentos realizados o que caracteriza o biocontrole dos isolados TLB2, TLB3, TLB17 e TLB12, pois apresentam diferença estatística em relação a testemunha no solo infestado com *M. phaseolina* (Tabela 5).

No solo infestado com *M. phaseolina* o tratamento controle apresentou apenas 28,89% de plantas sobreviventes, enquanto os tratamentos TLB2, TLB3, TLB17 e TLB12 apresentaram mais de 80% de plantas sobreviventes.

Em geral, as sementes tratadas com os antagonistas e plantadas no solo sem o fitopatógeno mostraram boa germinação e crescimento das plantas, por outro lado, as

sementes sem a proteção de *Trichoderma* e semeadas no solo infestado com *M. phaseolina*, apresentaram baixa germinação.

Menezes et al. (2004) encontraram resultados semelhantes trabalhando com quatro espécies de *Trichoderma* no tratamento de sementes de feijão semeados em solo infestado com *M. phaseolina*. Segundo os autores, a germinação das sementes tratadas com o antagonista foi superior a germinação das sementes sem tratamento e das quatro espécies de *Trichoderma* utilizadas no trabalho, *T. harzianum* apresentou maior redução da doença.

Segundo Nagaraju, Sudisha e Murthy (2012), o tratamento de sementes com *Trichoderma harzianum* é capaz de reduzir a incidência de míldio no girassol devido à colonização radicular, melhorando ainda a absorção de nitrogênio, fósforo e potássio.

Naseby, Pascual e Lynch (2000) relataram diminuição das lesões causadas por *Pythium* em plantas de ervilha tratadas com isolados de *Trichoderma*.

Etebarian (2006) constatou que a germinação de sementes de melão, em solo infestado com *M. phaseolina*, foi superior quando se utilizou tratamento de sementes com espécies de *Trichoderma*. Segundo o autor, a percentagem de plantas sobreviventes oito semanas após os tratamentos foram de 64,3%, 75,3% e 47,6%, sendo esses valores superiores em relação às sementes sem o antagonista.

Gava e Menezes (2012), utilizando quatro isolados de *Trichoderma* no tratamento de sementes de meloeiro, constaram que a incidência de murcha ao longo do ciclo da planta cultivada em solo com elevada taxa de ocorrência natural causada por patógenos de solo foi inferior à incidência em plantas sem o antagonista. Na avaliação final do estande, realizada na colheita do experimento aos 73 dias após o plantio, segundo os autores, todos os tratamentos com os isolados de *Trichoderma* apresentaram perda no estande inferior ao controle. Isto demonstra que de forma geral a aplicação dos isolados de *Trichoderma* resultou em redução significativa na incidência de murchas do meloeiro.

Estabelecendo uma relação entre todos os testes realizados é possível verificar que o isolado TLB12 apesar de não apresentar agressividade no confronto direto com o patógeno *in vitro*, no teste *in vivo* proporcionou uma maior proteção das sementes quando estas foram semeadas em solo com infestação de *M. phaseolina*. O isolado TLB12 também se mostrou promotor de crescimento do feijoeiro, o que pode caracterizar um efeito direto sobre a planta e não no patógeno. Porém, o isolado TM3 apresentou alta agressividade *in vitro* no confronto direto, mas não apresentou proteção efetiva no teste *in vivo*, o que pode indicar um efeito sobre o patógeno. Entretanto, como o teste *in vivo* avaliou apenas os primeiros dias de

desenvolvimento da planta, o isolado pode não ter expressado sua característica pelo pouco tempo entre o plantio e avaliação.

## 5 CONCLUSÕES

1 – Os isolados TI1, TLB2 e TLB3 foram muito agressivos e os isolados TM3, TM4, TLB4, TLB9, TLB15 e TLB17 agressivos no confronto direto contra *M. phaseolina*.

2 – Os isolados TM1 e TM2 foram pouco agressivos e os isolados TI2, TI3, TI4, TLB6, TLB12 e TLB14 não apresentaram agressividade no confronto direto contra *M. phaseolina*.

3 – Todos os isolados foram capazes de reduzir a produção de microescleródios do patógeno e os isolados TM2, TLB2, TLB12, TLB15 e TLB17 reduziram o crescimento micelial do patógeno no teste dos compostos voláteis, com destaque para o isolado TLB12.

4 – Os isolados TI1, TM3, TLB3, TLB12 e TLB17 foram bons promotores de crescimento do feijoeiro.

5 – O isolado TLB2 não promoveu o crescimento do feijoeiro.

6 – Os isolados TI1, TM3, TLB2, TLB3, TLB12 e TLB17 aumentaram a produção por planta, com destaque para o isolado TLB12.

7 – Os isolados TLB2, TLB3, TLB12 e TLB17 foram eficientes na proteção do feijoeiro contra *M. phaseolina*.

## REFERÊNCIAS

- ABRASCO Dossiê – **Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. 2ª Parte. Rio de Janeiro: ABRASCO, 2012. 135p.
- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. Edition: 5, illustrated, annotated. Academic Press, 2005. 822p.
- ALFENAS, A. C.; FERREIRA, F. A.; MAFIA, R. G.; GONÇALVES, R. C. Isolamento de fungos fitopatogênicos. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. (Ed.). **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: UFV, 2007. p.53-90.
- ALMEIDA, A. M. R.; ABDELNOOR, R. V.; ARRABAL ARIAS, C. A.; CARVALHO, V. P.; JACOUB FILHO, D. S. MARIN, S. R. R.; BENATO, L. C.; PINTO, M. C.; CARVALHO, C. G. P. Genotypic diversity among Brazilian isolates of *Macrophomina phaseolina* revealed by RAPD. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, p.279-285, 2003a.
- ALMEIDA, A. M. R.; AMORIN, L.; BERGAMIN FILHO, A.; TORRES, E.; FARIAS, J. R. B.; BENATO, L. C.; PINTO, M. C.; VALENTIM, N. Progress of soybean charcoal rot under tillage and no-tillage systems in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, p.131-135, 2003b.
- AMOP – Associação dos Municípios do Oeste do Paraná. **Plano de Desenvolvimento Regional**. Cascavel: AMOP, 2000. 56p.
- ANTUNES, A.; FERMAM, R. K. S. Requisitos ambientais e acesso a mercados: o setor de defensivos agrícolas. **Revista Brasileira de Política Internacional**, Brasília, v.51, n.2, p.26-38, 2008.
- ARGUMEDO-DELIRA, R.; ALARCÓN, A.; FERRERA-CERRATO, R.; PEÑA-CABRIALES, J. J. El género fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgânicos e inorgânicos. **Revista Internacional de Contaminación Ambiental**, Toluca, v.24, n.4, p.257-269, 2009.
- BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, Saint Paul, v.72, n.4, p.379-382, 1982.
- BERNARDES, T. G.; SILVEIRA, P. M.; MESQUITA, M. A. M. Regulador de crescimento e *Trichoderma harzianum* aplicados em sementes de feijoeiro cultivado em sucessão a culturas de cobertura. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.40, n.4, p.439-446, 2010.
- BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. V.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, J. A. M.; REZENDE, A.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. Doenças das plantas cultivadas. 4. ed. Piracicaba: Ceres, 2005. v.2, p.353-376.
- BJORKMAN, T.; BLANCHARD, L. M.; HARMAN, G. E. Growth enhancement of shrunker-2 (sh2) sweet corn by *Trichoderma harzianum* 1295-22: effect of environmental

stress. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.123, n.1, p.35-40, 1998.

BLUM, L. E. Conceitos sobre resistência de plantas as doenças. In: BLUM, L. E. B.; CARES, J. E.; UESUGI, C. H. **Fitopatologia: o estudo das doenças de plantas**. Brasília: Otimismo, 2007. 2 ed. p.249-260.

BOMFIM, M. P.; SÃO JOSÉ, A. B.; REBOUÇAS, T. N. H.; ALMEIDA, S. S de; SOUZA, I. V. B.; DIAS, N. O. Avaliação antagônica *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma spp.* a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.36, n.1, p.61-67, 2010.

BONALDO, S. M.; PASCHOLATI, S. F.; ROMEIRO, R. S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed). **Indução de Resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p.11-28.

BRESSANO, M.; GIACHERO, L. M.; LUNA, C. M.; DUCASSE, D. A. An *in vitro* method for examining infection of soybean roots by *Macrophomina phaseolina*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Michigan, v.74, p.201-204, 2010.

BROTMAN, Y.; KAPUGANTI, J.G.; VITERBO, A. *Trichoderma*. **Current Biology**, Massachusetts, v.20, n.9, p.390-391, 2010.

CAPORAL, F. R.; COSTABEBER, J. A. **Agroecologia: alguns conceitos e princípios**. Brasília: MADA, 2004. 24 p.

CARNEIRO, J.G.A. Produção e controle de qualidade de mudas florestais. Curitiba: **FUPEF**, 1995, 451p.

CARVALHO FILHO, M. R. C.; MELLO, S. C. M.; SANTOS, R. P.; MENEZES, J. E. Avaliação de isolados de *Trichoderma* na promoção de crescimento, produção de ácido indolacético *in vitro* e colonização endofítica de mudas de eucalipto. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, Brasília, v.226, p.1-16, 2008a.

CARVALHO FILHO, M. R.; MENÊZES, J. E.; MELLO, S. C. M.; SANTOS, R. P. Avaliação de isolados de *Trichoderma* no controle da mancha foliar do eucalipto *in vitro* e quanto a esporulação em dois substratos sólidos. **Boletim de Pesquisa e desenvolvimento**, Brasília, v.1, n.225, 2008b.

CARVALHO, R. C. P.; FERREIRA, M. A. S. V.; BLUM, L. E. B. Breve história e importância da fitopatologia. In: BLUM, L. E. B.; CARES, J. E.; UESUGI, C. H. **Fitopatologia: o estudo das doenças de plantas**. Brasília: Otimismo, 2007. 2 ed. p.11-19.

CARVALHO, W. P.; WANDERLEY, A. L.; OLIVEIRA, C. M. Controle de mancha-angular utilizando-se caldas fertiprotetoras em cultivo orgânico de feijoeiro irrigado. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiás, n.40, p.476-482, 2010.

CEPEA - CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA. PIP do Agronegócio no PIB do Brasil 1994-2011. Disponível em: <<http://cepea.esalq.usp.br/pib/>>. Acesso em: 26 dez. 2012.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos**. Brasília: Conab, 2010. 39p.

CRONQUIST, A. **Devolution and classification of flowering plants**. New York: Botanical Garden, 1988. 555p.

CRUZ, I. B. M.; GIUGLIANI, R.; JOBIM, P. F. C.; NUNES, L. N. Existe uma associação entre mortalidade por câncer e uso de agrotóxicos? Uma contribuição ao debate. **Ciência e Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v.15, n.1, p.277-288, 2010.

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. **Transactions of the British Mycological Society**, Sheffield, v.57, p.363-369, 1971.

DI PIERO, R. M.; GARCIA JUNIOR, D.; TONUCCI, N. M. Indutores bióticos. In: CAVALCANTI, L. S. et al. **Indução de Resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p.29-50.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. Sistema Brasileiro de Classificação de solos. Rio de Janeiro, 2009. 367p.

ETEBARIAN, H. R. Evaluation of *Trichoderma* isolates for biological control of charcoal stem rot in melon caused by *Macrophomina phaseolina*. **Journal of Agricultural Science and Technology**, El Monte, v.8, p.243-250, 2006.

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

ETHUR, L. Z. **Dinâmica populacional e ação de *Trichoderma* no controle de fusariose em mudas de tomateiro e pepineiro**. 2006. 154 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Curso de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.

FONTENELLE, A. D. B.; GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M.; HARAKAVA, R. Growth promotion and induction of resistance in tomato plant against *Xanthomonas euvesicatoria* and *Alternaria solani* by *Trichoderma* spp. **Journal of Crop Protection**, Tehran, v.30, p.1492-1500, 2011.

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

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; SANTOS, A.F.; AUER, C.G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Revista Floresta**, Curitiba, v.30, p.135-165, 2000.

GUARESCHI, R. F.; PERIN, A.; MACAGNAN, D.; TRAMONTINI, A.; GAZOLLA, P. R. Emprego de *Trichoderma* spp. no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e na promoção de crescimento vegetativo nas culturas de girassol e soja. **Global Science and Technology**, Rio Verde, v.05, n.2, p.01-08, 2012.

GUPTA, G. K.; SHARMA, S. K.; RAMTEKE, R. Biology, epidemiology and management of the pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) gold with special reference to charcoal rot of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). **Journal of Phytopathology**, Amsterdam, v.160, p.167-180, 2012.

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

HOITINK, H. A. J. Suppression of botrytis blight of begonia by *Trichoderma hamatum* 382 in peat and composto-amended potting mixes. **Plant Disease**, Saint Paul, v.89, p.1195-1200, 2005.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Indicadores IBGE. **Estatística da Produção Agrícola**. v.1, p.1-78, 2012.

IPARDES – Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social. **Economia Paranaense**, Curitiba, v.34, n.11-12, p.20-26, 2012.

KAUR, S.; DHILLON, G. S.; BRAR, S. K.; CHAUHAN, V. B. Carbohydrate degrading enzyme production by plant pathogenic mycelia and microsclerotia isolates of *Macrophomina phaseolina* through koji fermentation. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v.36, p.140-148, 2012.

KUNIEDA-ALONSO, S.; ALFENAS, A.C.; MAFFIA, L.A. Sobrevivência de micélio e escleródios de *Rhizoctonia solani* tratados com *Trichoderma* spp., em restos de cultura de *Eucalyptus* sp. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, p.164-168, 2005.

LARRALDE-CORONA, C. P.; SANTIAGO-MENA, M. R.; SIFUENTES-RINCÓN, A. M.; RODRÍGUEZ-LUNA, I. C.; RODRÍGUEZ-PÉREZ, M. A.; SHIRAI, K.; NARVÁEZ-ZAPATA, J. A. Biocontrol potential and polyphasic characterization of novel native *Trichoderma* strains against *Macrophomina phaseolina* isolated from sorghum and common bean. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Münster, v.80, p.167-177, 2008.

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

LODHA, S. Effect of sources of inoculum on population dynamics of *Macrophomina phaseolina* and disease intensity in clusterbean. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.51, n.2, p.175-179, 1998.

LOURENÇO, J. C. Agronegócio Brasileiro: projeções de crescimento e entraves de infraestrutura logística. **Revista Acadêmica de Economia**, n.119, p.1-19, 2009.

LOUZADA, G. A. S.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; LOBO JUNIOR, M.; MARTINS, I.; BRAUNA, L. M. Potencial antagônico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes agroecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biotaneotropica**, São Paulo, v.9, n.3, p.145-149, 2009.

MACHADO, R. G.; SÁ, E. L. S.; DAMASCENO, R. G.; HAHN, L.; ALMEIDA, D.; MORAES, T.; CAMARGO, F. A. O.; REARTES, D. S. Promoção de crescimento de *Lotus corniculatus* L. e *Avena strigosa* Schreb pela inoculação conjunta de *Trichoderma harzianum* e rizóbio. **Ciência e Natura**, Santa Maria, v.33, n.2, p.111-126, 2011.

MARTINS-CORDER, M. P.; MELO, I. S. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. a *Verticillium dahliae* Kleb. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.55, p.1-7, 1998.

MELLO, I. S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.4, p.261-295, 1996.

MENEZES, M.; MACHADO, A. L. M.; SILVEIRA, M. C. V.; SILVA, R. L. X. Biocontrole de *Macrophomina phaseolina* com espécies de *Trichoderma* aplicadas no tratamento de sementes de feijão e no solo. **Anais da Academia Pernambucana de Ciências Agrônomicas**, Recife, v.1, p.133-140, 2004.

MENTEN, J. O. M.; MACHADO, C. C.; MUNISSI, E.; CASTRO, C.; KIMATI, H. Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid. *in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.1, n.2, p.57-66, 1976.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; PERUCH, L. A. M., MENEZES, M. Importância dos patógenos e das doenças radiculares em solos tropicais. Cap.1 In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Ed). **Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais**. Recife: UFRPE, 2005. p.1-18.

MONTE, E. Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. **International Microbiology**, Oklahoma, v.4, p.1-4, 2001.

NAGARAJU, A.; SUDISHA, J.; MURTHY, S. M. Seed priming with *Trichoderma harzianum* isolates enhances plant growth and induces resistance against *Plasmopara halstedii*, na incitant of sunflower downy mildew disease. **Australasian Plant Pathology**, Oklahoma, v.41, p.609-620, 2012.

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.1-31, 2000.

OKOTH, S. A.; OTADOH, J. A.; OCHANDA, J. O. Improved seedling emergence and growth of maize and beans by *Trichoderma harzianum*. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, Yucatán, v.13, n.1, p.65-71, 2011.

PASCHOAL, A. D. **Produção orgânica de alimentos: agricultura sustentável para os séculos XX e XXI**. Piracicaba: USP, 1994. 191p.

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

PRASAD, R. D.; NAVANEETHA, T.; RAO, N. N. Cultural, morphological, pathogenic and molecular diversity in *Macrophomina phaseolina* isolates of safflower from southern. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.64, n.3, p.247-253, 2011.

REMUSKA, A. C.; DALLA PRIA, M. Efeito de *Bacillus thuringiensis* e *Trichoderma* sp. no crescimento de fungos fitopatogênicos. **Publicatio UEPG: Ciências Exatas e da Terra, Agrárias e Engenharia**, Ponta Grossa, v.13, n.3, p.31-36, 2007.

RESENDE, M. L.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M.; PINHO, R. G. V.; VIEIRA, A. R. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.28, n.4, p.793-798, 2004.

RODRIGUES, J. ***Trichoderma* spp. associado a níveis de adubação NPK no patossistema *Sclerotinia sclerotiorum* – feijoeiro**. 2010. 84 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

ROMEIRO, R. S. Indução de resistência em plantas a patógenos. In: PASCHOLATI, S. F. et al. **Interação planta-patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p.411-431.

ROSOLEM, C. A.; MARUBAYASHI, O. M. Seja o doutor do seu feijoeiro. Potafos – **Encarte do informações agrônômicas**. n.68, p.1-18, 1994.

SAITO, L. R.; SALES, L. L. S. R.; MARTINCKOSKI, L.; ROYER, R.; RAMOS, M. S.; REATTI, T. Aspectos dos efeitos do fungo *Trichoderma* spp. no biocontrole de patógenos de culturas agrícolas. **Pesquisa Aplicada e Agrotecnologia**, Guarapuava, v.2, n.3, p.203-208, 2009.

SALGADO, F. H. M.; SILVA, J.; OLIVEIRA, T. C.; TONELLO, L. P.; PASSOS, N. G.; FIDELIS, R. R. Efeito do nitrogênio em feijão cultivado em terras altas no sul do estado de Tocantins. **Ambiência**, Guarapuava, v.8, n.1, p.125-136, 2012.

SANTIAGO, A.; GARCIA-LÓPEZ, A. M.; QUINTERO, J. M.; AVILES, M.; DELGADO, A. Effect of *Trichoderma asperellum* strain T34 and glucose addition on iron nutrition in cucumber grown on calcareous soils. **Soil Biology e Biochemistry**, Amsterdam, v.57, p.598-605, 2013.

SANTOS, H. A. ***Trichoderma* spp. como promotores de crescimento em plantas e como antagonistas a *Fusarium oxysporum***. 2008. 89f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Veterinária da Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed). **Indução de Resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p.125-132.

- SHANMUGAIAH, V.; BALASUBRAMANIAN, N.; GOMATHINAYAGAM, S.; MANOHARAN, P. T.; RAJENDRAN, A. Effect of single application of *Trichoderma viride* and *Pseudomonas fluorescens* on growth promotion in cotton plants. **African Journal of Agricultural Research**, Nairobi, v.4, n.11, p.1220-1225, 2009.
- SILVA, A. G.; ROCHA, L. C.; BRAZACA, S. G. C. Caracterização físico-química, digestibilidade protéica e atividade antioxidante de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.20, n.4, p.591-598, 2009.
- SILVA, K. S.; REBOUÇAS, T. N. H.; BOMFIM, M. P.; SILVA, D. S.; SÃO JOSÉ, A. R.; BENETT, C. G. S. Atividade antagônica *in vitro* de isolados de *Trichoderma* spp. ao fungo *Phytophthora citrophthora*. **Semina**, Londrina, v.29, n.4, p.749-754, 2008.
- SILVA, V. N.; GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M.; HARAKAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Goiás, v.46, n.12, p.1609-1618, 2011.
- SMITH, G. S.; WYLLIE, T. D. Charcoal rot. In: HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. **Compendium of soybean diseases**, 4<sup>th</sup> edition. Minnesota: APS Press, The American Phytopathological Society, 1999. p.29-31.
- SOBRINHO, C. A.; FERREIRA, P. T. O.; CAVALCANTI, L. S. Indutores abióticos. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed). **Indução de Resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p.51-80.
- SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F.; LUCHINI, L. C.; ANDRÉIA, M. M. Monitoramento de risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações. **Embrapa Meio Ambiente**, Jaguariúna, p.1-29, 2004.
- SREEDEVI, B.; DEVI, M. C. Mechanism of biological control of root rot of groundnut caused by *Macrophomina phaseolina* using *Pseudomonas fluorescens*. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.65, n.4, p.360-365, 2012.
- STADNIK, M. J. Indução de resistência a oídios. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.26, p.175-177, 2000.
- STANGARLIN, J. R.; KUHN, O J; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Controle de doenças de plantas por extratos de origem vegetal. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.16, p.265-304, 2008.
- TOLEDO-SOUZA, E. D.; LOBO JUNIOR, M.; SILVEIRA, P. M.; CAFÉ FILHO, A. C. Interações entre *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* e *Rhizoctonia solani* na severidade da podridão radicular do feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiás, v.39, n.1, p.13-17, 2009.
- TOMAZELI, V. N.; SANTOS, I.; MORALES, R. G. F. Resíduos orgânicos para o controle das doenças do feijoeiro causadas por *Sclerotium rofsi*. **Ambiência**. Guarapuava, v.7, n.1, p.65-74, 2011.

WINDHAM, M. T.; ELAD, Y.; BAKER, R. A. A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, Saint Paul, v.76, p.518-521, 1986.

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

YOBO, K. S.; LAING, M. D.; HUNTER, C. H. *Trichoderma* and Bacillus isolates on growth of dry bean and biological control of *Rhizoctonia solani* damping-off. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v.10, n.44, p.8746-8756, 2011.

YORINORI, J. T.; HOFFMANN, L. L.; UTIAMADA, C. M. **Encontro técnico** – Doenças emergentes em soja. Paraná: COODETEC/BAYER, 2002. 56p.

ZANCAN, W. L. A.; MACHADO, J. C.; SOUZA, B. F. M.; MATOS, C. S. M. Crescimento micelial, produção e germinação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* na presença de fungicidas químicos e *Trichoderma harzianum*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.28, n.5, p.782-789, 2012.