

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS ITAQUI
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

***Trichoderma* spp. NO CONTROLE DE *Sclerotium*
rolfsii AGENTE CAUSAL DO TOMBAMENTO NA
CULTURA DO PEPINEIRO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Jéssica Avila de Abreu

Itaqui, RS, Brasil
2015

JÉSSICA AVILA DE ABREU

***Trichoderma* spp. NO CONTROLE DE *Sclerotium rolfsii* AGENTE CAUSAL DO TOMBAMENTO NA CULTURA DO PEPINEIRO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para obtenção do grau de **Engenheira Agrônoma**.

Orientadora: Dr^a. Luciana Zago Ethur

Itaqui, RS, Brasil
2015

Abreu, Jéssica Avila.

Trichoderma spp. no controle de *Sclerotium rolfsii* agente causal do tombamento na cultura do pepino /Jéssica Avila de Abreu. 29.01.2015.

Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Agronomia)
Universidade Federal do Pampa, 29.01.2015. Orientação:
Luciana Zago Ethur.

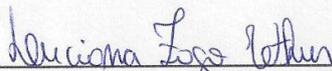
1. *Cucumis sativus* L.. 2. Biocontrole. 3. *Damping-off*. I. Ethur,
Luciana Zago.

JÉSSICA AVILA DE ABREU

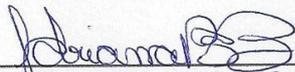
***Trichoderma* spp. NO CONTROLE DE *Sclerotium rolfsii* AGENTE CAUSAL DO TOMBAMENTO NA CULTURA DO PEPINEIRO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para obtenção do grau de **Engenheira Agrônoma**.

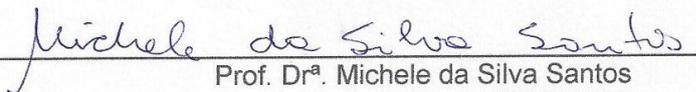
Trabalho de conclusão de curso aprovado em: 29 de janeiro de 2015.
Banca examinadora:



Prof. Drª. Luciana Zago Ethur
Orientadora
Curso de Agronomia - UNIPAMPA



Prof. Drª. Adriana Pires Soares Bresolin
Curso de Agronomia - UNIPAMPA



Prof. Drª. Michele da Silva Santos
Curso de Agronomia - UNIPAMPA

Dedico este trabalho a minha família, Mario C. Mendes de Abreu, Annizia T. A. de Abreu e Mariane A. de Abreu, por serem o meu alicerce, pelo amor incondicional e apoio em todas as minhas jornadas.

AGRADECIMENTO

Primeiramente a Deus pelo dom da vida, por ser sempre meu apoio em todas as horas e testemunha de meus esforços em cada etapa da minha jornada.

A minha família pelo apoio, confiança e amor incondicional, me auxiliando a conquistar cada objetivo traçado com paciência e perseverança, pois cada etapa tem seu tempo certo e razão para acontecer.

A Prof^a. Dra. Luciana Zago Ethur pelo acompanhamento e orientação durante a realização e conclusão deste trabalho, mas acima de tudo pela amizade e confiança.

Aos professores, minha gratidão por todos os conhecimentos passados durante a graduação, fundamentais para a conclusão deste trabalho.

Aos colegas de curso pelo convívio, troca de experiências, auxílio e pelos bons momentos que passamos juntos.

As amigas que independente da situação sempre permaneceram ao meu lado, me incentivando e apoiando sob qualquer circunstância, Ana Paula Coscia, Amanda Martini, Camila Thums, Elisandra Wollmeister, Isabel Cristina do Carmo, Luana Cadore, Mariana Polano, Shimelly Rocha e Stephane Belmonte, pois quando muitos me diziam que não era possível, elas me diziam que era possível e nunca mediram esforços para me ajudar.

A todas aquelas pessoas que, direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta pesquisa a minha gratidão.

Obrigada!

RESUMO

***Trichoderma* spp. NO CONTROLE DE *Sclerotium rolfsii* AGENTE CAUSAL DO TOMBAMENTO NA CULTURA DO PEPINEIRO**

Autor: Jéssica Avila de Abreu

Orientador: Luciana Zago Ethur

Local e data: Itaqui, 29 de janeiro de 2015.

O pepino (*Cucumis sativus* L.) é uma cultura suscetível a diversas doenças, dentre elas, o tombamento de plantas, causada por *Sclerotium rolfsii* que afeta a maioria das culturas no seu *stand* inicial de desenvolvimento, causando grandes perdas de produtividade. As formas de controle do *S. rolfsii* devem ocorrer através do manejo integrado, utilizando-se práticas com controle químico, biológico e ou físico. O presente estudo objetivou avaliar o efeito do *Trichoderma* spp. no controle de *Sclerotium rolfsii* na cultura do pepineiro, bem como, o seu potencial como promotor de crescimento dessa cultura. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, organizado em fatorial 4 x 2, com quatro repetições. O fator um composto por quatro tratamentos de solo: T1) solo sem inoculação de *Trichoderma* spp., T2) solo com inoculação de *Trichoderma* spp., T3) solo sem inoculação de *Trichoderma* spp. + casca de arroz, T4) solo com inoculação de *Trichoderma* spp.+ casca de arroz. O fator dois sendo à presença (dose de 8 g de arroz colonizado) ou ausência do patógeno *S. rolfsii*. Os parâmetros avaliados foram: emergência, tombamento de mudas, crescimento de parte aérea e raiz, massa de matéria seca de parte aérea e raiz aos 15 dias após a semeadura (DAS). A presença do patógeno *S. rolfsii* interferiu na emergência, causando tombamento de mudas, além de interferir no comprimento de parte aérea e raiz e na massa de matéria seca de parte aérea e raiz do pepineiro. O fungo *Trichoderma* spp. é ineficiente como agente de controle biológico para o *S. rolfsii*, na produção de mudas do pepineiro, conforme a metodologia utilizada neste experimento. O fungo *Trichoderma* spp. atuou como promotor de crescimento no comprimento de parte aérea do pepineiro.

Palavras-chave: *Cucumis sativus* L., biocontrole, *damping-off*.

ABSTRACT

***Trichoderma* spp. *Sclerotium rolfsii* IN CONTROL OF TIPPING CAUSAL AGENT IN CULTURE cucumber**

Author: Jéssica Avila de Abreu

Advisor: Luciana Zago Ethur

Data: Itaquí, January 29, 2015.

Cucumber (*Cucumis sativus* L.) is a crop susceptible to various diseases, among them, the plants of tipping caused by *Sclerotium rolfsii* that affects most crops in its initial stand of development, causing great loss of productivity. Forms of control of *S. rolfsii* must occur through the integrated management, using practices with chemical control, biological or physical. This study aimed to evaluate the effect of *Trichoderma* spp. *Sclerotium rolfsii* in the control culture on cucumber as well as its potential as a growth promoter in this culture. The experimental design was completely randomized in a factorial organized 4 x 2, with four replications. The factor a compound of four soil treatments: T1) soil without inoculation of *Trichoderma* spp, T2) soil inoculated with *Trichoderma* spp, T3) soil without inoculation of *Trichoderma* spp. + Rice husk, T4) soil inoculated with *Trichoderma* spp. + Rice husk. Factor two being the presence (dose of 8 g of rice colonized) or absence of the pathogen *S. rolfsii*. The parameters evaluated were: emergency, tipping seedlings, shoot growth and root dry weight of shoot and root at 15 days after sowing (DAS). The pathogen *S. rolfsii* interfere with the emergency, causing tipping seedlings, in addition to interfering in the shoot and root length and dry weight of shoots and cucumber root. The fungus *Trichoderma* spp. is inefficient as a biological control agent for *S. rolfsii* in the production of cucumber seedlings, according to the methodology used in this experiment. The fungus *Trichoderma* spp. acted as a growth promoter in length shoot of cucumber.

Keywords: *Cucumis sativus* L., biocontrol, *damping-off*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Material esterilizado utilizado para o desenvolvimento do fungo <i>S. rolfsii</i> ..	25
Figura 2: Grãos de arroz após 10 dias de inoculação com o fungo <i>S. rolfsii</i>	26
Figura 3: Tratamento solo sem inoculação de <i>Trichoderma</i> spp. e com a dose de inóculo de 8 g de arroz colonizado.....	30
Figura 4: Comprimento de raiz de muda de pepineiro, exposta a dose de inóculo de 8 g de arroz colonizado aos 15 DAS.....	32
Figura 5: Comprimento de raiz de muda de pepineiro na ausência do patógeno, aos 15 DAS.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Descrição das sementes de Pepino (Verde comprido) – Cucumber Straight Eight.....	24
Tabela 2: Emergência (%) e tombamento de mudas (%) de pepineiro, na presença ou ausência de <i>Sclerotium rolfsii</i> , em diferentes manejos do substrato.....	30
Tabela 3: Comprimento de parte aérea de pepineiro, na presença ou ausência de <i>Sclerotium rolfsii</i> , em diferentes manejos do substrato.....	31
Tabela 4: Comprimento de raiz de pepineiro, na presença ou ausência de <i>Sclerotium rolfsii</i> , em diferentes manejos do substrato.....	32
Tabela 5: Massa de matéria seca de parte aérea, na presença ou ausência de <i>Sclerotium rolfsii</i> , em diferentes manejos do substrato.....	33
Tabela 6: Massa de matéria seca de raiz, na presença ou ausência de <i>Sclerotium rolfsii</i> , em diferentes manejos do substrato.....	34

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1. A cultura do pepino	17
2.2. Os principais gêneros de fungos fitopatogênicos de solo.....	18
2.3. O fungo de solo <i>Sclerotium rolfsii</i>	18
2.4. <i>Damping-off</i>	19
2.5. Controle biológico de microrganismos	20
2.6. Mecanismos de ação de agentes de controle biológico	21
2.7. <i>Trichoderma</i> spp.	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1. Sementes utilizadas no experimento.....	24
3.2. Produção de propágulos de <i>S. rolfsii</i>	24
3.3. Organização do experimento	26
3.4. Aspectos avaliados	28
3.5. Análise estatística	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
4.1. Avaliação de emergência e tombamento mudas.....	30
4.2. Comprimento de parte aérea e raiz de pepineiros	31
4.3. Massa de matéria seca de parte aérea e raiz de pepineiros.....	33
5. CONCLUSÃO	35
6. REFERÊNCIAS.....	36
7. ANEXOS	39

1. INTRODUÇÃO

O pepino (*Cucumis sativus L.*) é uma hortaliça fruto anual que possui hábito de crescimento indeterminado. Seu fruto é muito apreciado e consumido em todas as regiões do Brasil, sendo amplamente utilizado na gastronomia das mais diversas formas como, *in natura*, também como ingrediente de inúmeras receitas, além de ser muito apreciado na forma em conserva. A indústria farmacêutica e cosmética também o utiliza como uma de suas fontes de matéria-prima. Devido a essa sua versatilidade, a cultura do pepino permite ser explorada em diferentes condições edafoclimáticas e níveis tecnológicos, desta forma assume enorme importância sócio-econômica no agronegócio brasileiro de hortaliças (MICHEREFF FILHO, 2012). Porém, seu pleno desenvolvimento pode ser afetado por uma ampla gama de patógenos, muitos deles estão presentes no solo, podendo dar destaque ao fungo *Sclerotium rolfsii*.

O *Sclerotium rolfsii* descrito por Peter Henry Rolfs (1892), é um fungo fitopatogênico habitante de solo de suma importância para o setor agrícola, pois este patógeno pode causar podridão das raízes e do colo, murcha e tombamento de plântulas, resultando em um grande prejuízo econômico para os produtores (AYCOCK, 1966; PUNJA & RAHE, 1993; ZALUSKI, 2010).

O controle do *Sclerotium rolfsii* pode ser feito através de práticas preventivas, tais como, rotação de culturas, aração profunda, sementes isentas do patógeno, dentre outras, como o controle químico e o controle biológico (KIMATI, 2005).

Devido aos efeitos prejudiciais ao meio ambiente causados pelo controle químico, o controle de patógenos através do controle biológico se mostra como uma estratégia de controle eficaz no manejo de pragas e doenças, compatíveis com as práticas da agricultura sustentável, indispensável para a conservação dos recursos naturais.

Desta forma os fungos do gênero *Trichoderma* são de fundamental importância para a economia agrícola, já que possuem a capacidade de atuar como agentes de biocontrole de doenças em diversas plantas cultivadas (FORTES, 2007). Por este motivo, espécies de *Trichoderma*, vêm sendo amplamente estudadas como agentes de biocontrole de fungos fitopatogênicos como o *S. rolfsii*, pois apresentam um espectro de ação amplo e se adaptam facilmente aos mais diversos ambientes (SILVA, 2001).

Levando em conta as inúmeras vantagens descritas sobre o controle biológico de fitopatogenos, o presente trabalho visa avaliar a eficiência de *Trichoderma* spp. no tratamento de substrato contra *Sclerotium rolfsii* causador de tombamento na cultura do pepino.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cultura do pepineiro

A espécie *Cucumis sativus* originou-se de regiões quentes do norte da Índia ou da África, onde pode-se encontrar espécies silvestres relacionadas a ela. O pepino é uma planta anual, herbácea, que possui hábito de crescimento indeterminado, além de hastes longas e um sistema radicular superficial. O hábito de florescimento do pepineiro é monoico, ou seja, suas flores são unissexuadas. O pepino é uma baga suculenta, de formato cilíndrico, contendo de 3 a 5 lóculos, sendo o fruto mais comum o trilocular. Sua coloração pode variar de verde-clara a verde-escura, conforme a cultivar. Possui acúleos moles, uma espécie de “espinhos”, de coloração branca ou escura, já a característica genética “acúleos brancos” é ligada à maior resistência ao amarelecimento pós-colheita, sendo, portanto, desejável a busca desta pelos fitomelhoristas (FIGUEIRA, 2003).

Espécie de clima quente, também adaptando-se a temperaturas amenas, seu desenvolvimento é favorecido por temperaturas superiores a 20°C, portanto não se adapta ao cultivo sob baixas temperaturas, influenciando negativamente na sua produtividade (CARDOSO, 2002).

Seu plantio é comumente efetuado na primavera-verão, entretanto, no outono-inverno, o fotoperíodo mais curto em conjunto com uma menor intensidade luminosa e temperaturas amenas, estimulem a formação de flores femininas, havendo elevação na produtividade de cultivares monoicas. Sendo a cultura favorecida durante o inverno quando cultivada em casa de vegetação, devido ao efeito estufa (FIGUEIRA, 2003).

O manejo desta cultura pode ser feito de forma rasteira ou tutorada, em ambiente protegido ou em ambiente aberto, desde a produção convencional a orgânica (MICHEREFF FILHO, 2012).

A cultura tem apresentado elevado crescimento na comercialização de hortaliças. A sua produtividade está relacionada à duração do seu ciclo, onde é fundamental o cuidado com fatores, nutricionais, hídricos, temperatura, estande e a não ocorrência de doenças que impeçam a extensão do seu ciclo. O pepineiro se encontra entre as principais hortaliças cultivadas em estufa, ocupando o terceiro lugar em área cultivada dentre as demais culturas exploradas em casa de vegetação no Estado de São Paulo (MEDEIROS, 2009).

2.2. Os principais gêneros de fungos fitopatogênicos de solo

As espécies de *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Sclerotium* e *Verticillium*, são fungos fitopatogênicos que tem o solo como seu habitat natural. Esses patógenos afetam uma grande variedade de culturas de importância econômica. Autores como Bueno & Fischer (2014), relatam que esses fitopatógenos causam danos específicos a órgãos de reserva (como: raízes, sistema vascular e caule), de plântulas a plantas mais desenvolvidas, causando podridão de colo ou tombamento, ocasionando a morte das mesmas. Essa redução na produtividade leva a perdas financeiras para os produtores e conseqüentemente a queda do preço final dos produtos.

2.3. O fundo de solo *Sclerotium rolfsii*

O *Sclerotium rolfsii* foi descrito por Rolfs pela primeira vez em 1892, na cultura do tomate (AYCOCK, 1966). Este patógeno pertence ao Reino Fungi, Filo *Basidiomycota*, classe *Agaricomycetes*, subclasse *Agaricomycetidae*, ordem *Atheliales* e a família *Atheliaceae* (NCBI, 2010).

O presente patógeno é um fungo de solo predominante em regiões de clima tropical e subtropical do mundo, devido as favoráveis condições de temperatura e umidade do ar características dessas regiões, favorecendo desta forma seu desenvolvimento e sobrevivência (MARTINS, 2003).

O fungo produz enzimas com potencial em alterar processos de natureza fisiológica, metabólica ou estrutural, através de ações enzimáticas, metabólicas (ácidos nucleicos), fotossíntese, metabolismo proteico, crescimento da planta, fluxo de água, permeabilidade de membranas ou induzindo a morte de tecidos e células da planta (PASCHOLATI, 1995).

Este fungo está presente em solos de todas as regiões agrícolas, principalmente nas zonas tropicais e subtropicais, onde condições de alta umidade e temperatura elevada tem predominância, favorecendo o seu desenvolvimento (AYCOCK, 1966; PUNJA, 1985; LOHMANN, 2007).

Apresenta extensa gama de hospedeiros, causando danos em cerca de 200 espécies de plantas, pertencentes a quase 100 famílias botânicas, incluindo

monocotiledôneas e dicotiledôneas, distribuindo-se em todas as regiões agrícolas do país com predominância nos estados de MG, PE, SP, DF, BA, SC, TO, ES, PB, RS (MARCUIZZO *et al.*, 2014).

O *S. rolfsii* além de ser um fungo polífago, apresenta algumas características que contribuem para dificultar o seu controle, como a produção vigorosa de micélios e grampos de conexão nas hifas (BIANCHINI *et al.*, 1997). Seu difícil controle se dá principalmente por que este fungo forma escleródios de cerca de 1 mm de diâmetro, de cor branca a castanha, que lhe confere a capacidade de sobreviver por longos períodos no solo em condições adversas (AULER, 2013).

No entanto Bianchini (1997) ressalta algumas características, como temperatura e pH que podem influenciar no desenvolvimento de esclerócios, sendo sua temperatura ótima para germinação entre 10 e 35°C e pH ideal entre 2,6 e 4,4, podendo ocorrer também até um pH de 7,7. Há também a probabilidade de ocorrer uma diminuição na germinação relacionada a profundidade do solo onde ele se encontra. Compostos voláteis emanados de restos culturais presentes no solo, também induzem a germinação de esclerócios, pois este fungo cresce saprotificamente sobre substrato orgânico antes de atuar como patógeno. Sua disseminação pode ocorrer através de sementes, esterco, implementos agrícolas e até mesmo pela água da irrigação, então após encontrar um hospedeiro penetra através de aberturas naturais, por ferimentos geralmente próximos ao solo ou mesmo pela ponta das raízes.

Os principais danos causados pelo fungo às culturas afetadas descritos por Aycock (1966) são a podridão em sementes, raízes e colo de plantas jovens até mais desenvolvidas. Os primeiros sinais da presença do fungo são observados pelo crescimento micelial branco e posterior formação de esclerócios, diagnóstico da doença dá-se pelos sintomas apresentados pelas plantas hospedeiras, que são lesões marrons e aquosas no colo.

2.4. Damping-off

O *damping-off* é descrito por Bedendo (1995), como um grupo de doença que incide em sementes recém plantadas que apodrecem devido à ação de patógenos vinculados a elas, ou então presentes no solo, assim como, nos tecidos vegetais jovens. Quando os sintomas ocorrem nas plântulas observa-se na região do colo,

rente ao solo, o surgimento de manchas encharcadas que com o passar do tempo evoluem para lesões profundas, causando a constrição do caule, que pelo enfraquecimento ocasionado pelas lesões tende a tombar, motivo pelo qual a doença é chamada popularmente de “tombamento”.

Patógenos que causam doenças como o *damping-off* são menos específicos, por isso conseguem atacar uma ampla gama de hospedeiros, sendo neste caso as sementes e plântulas mais suscetíveis ao seu ataque, ocasionando redução do “stand” inicial da população de plantas, afetando diretamente a produtividade (BEDENDO, 1995).

2.5. Controle biológico de microrganismos

A crescente preocupação com a relação entre o uso de agrotóxicos e as questões ambientais, com foco na busca pela sustentabilidade, fez com que houvesse uma maior procura por agentes de controle biológico para o manejo de pragas e doenças. Pois enquanto os fungicidas possuem um efeito temporário e necessitam ser aplicados diversas vezes durante o ciclo das culturas, os agentes biológicos são capazes de se estabelecer no ecossistema, se reproduzir e colonizar a rizosfera, a espermosfera, a filosfera e o rizoplano (MONTEIRO, 2013).

O controle biológico foi definido por Batista Filho (2006), como a ação de organismos que mantêm em um nível mais baixo - do que ocorreria na ausência do mesmo - a população de outros organismos considerados pragas ou doenças. Já Bettiol (1991) possui um conceito mais simplificado, sendo o controle biológico ou mesmo biocontrole de microrganismos, o controle de um microrganismo através de um outro microrganismo.

O controle biológico citado por Saito (2009) definido amplamente por Baker e Cook (1974) “como a redução da densidade de inóculo ou das atividades determinantes da doença causada por patógenos ou parasitas nos seus estados de atividade ou dormência, por um ou mais organismos antagônicos realizada tanto naturalmente como através da manipulação do ambiente, hospedeiro ou antagonista, e ainda, por introdução em massa de um ou mais antagonistas”, parece ser a definição mais adequada.

Desta forma pesquisas relacionadas à atuação de agentes de biocontrole assumem grande importância para o meio agrônomo. Alguns fungos são

destacados por Melo (1998), como agentes de biocontrole, tais como, *Ampelomyces Gliocladium virens*, *Sporidesmium*, *Trichoderma* spp., dentre outros. Sendo o *Trichoderma* spp. um antagonista eficaz de uma ampla variedade de fungos fitopatogênicos, sendo assim um dos mais importantes agentes de biocontrole, capaz de atuar com antagonista de fungos de solo como o *Sclerotium rolfsii*.

2.6. Mecanismo de ação de agentes de controle biológico

Os fungos agentes de biocontrole de fitopatógenos interferem na vida desses microrganismos através de diversos mecanismos de ação, tais como a predação, antibiose, competição por espaço e nutrientes no habitat onde estão inseridos, microparitismo, indução de resistência, dentre outros (LIMA *et al.*, 2000).

Um agente de controle biológico segundo relata Bettiol (1991) em seus trabalhos, pode atuar utilizando um ou mais de um mecanismo de interação antagônica, pois a chance de obter êxito no controle de um patógeno é maior quando mecanismos são associados. Podemos dizer, portanto, que a pesquisa voltada ao uso de agentes de biocontrole de doenças de plantas é uma área de suma importância para o combate de fitopatógenos.

2.7. *Trichoderma* spp.

Segundo Bettiol (2009) aproximadamente 70 anos o controle biológico é conhecido, mas foi só a partir da década de 60 que ele passou a ser utilizado. Os autores Ahmad & Baker (1987) e Baker & Snyder (1965), citados por ele apresentaram trabalhos que demonstravam a eficiência de *Trichoderma* em controlar patógenos como espécies de *Fusarium* e *Rhizoctonia* que ocasionam o tombamento.

Segundo Melo (1998), o *Trichoderma* spp. é um fungo natural do solo, encontrado principalmente em solos orgânicos, que pode viver de maneira saprofítica ou mesmo parasitando outros fungos.

Sabe-se da grande importância econômica dos fungos do gênero *Trichoderma* para a agricultura, pois os mesmos são capazes de atuar como agentes de controle de doenças de inúmeras plantas cultivadas, também são

promotores de crescimento e indutores de resistência de plantas a doenças (FORTES *et al.*, 2007).

Portanto, a sua atividade de biocontrole se deve, sobretudo à sua capacidade em produzir enzimas líticas extracelulares que são capazes de degradar a parede celular de muitos fungos, como celulases, quitinases, β -1-D-glucanases, β -1-4-glicosidases e proteases (LOHMANN, 2007).

Os fungos do gênero *Trichoderma* spp. são considerados anamorfos de *Hypocrea* Fr. (CHAVERRI *et al.*, 2000), apresentam características como vida livre, ubíquos e altamente interativos na raiz e solo, bem como interior de plantas, são considerados saprófitos e têm despertado interesse científico e aplicado como agentes de controle biológico e produtores de enzimas de uso industrial. Outra característica dos fungos do gênero *Trichoderma* descrita por Esposito & Silva (1998) é a de possibilitarem a redução no uso de agrotóxicos, degradando xenobióticos, atuando na biorremediação de solos poluídos.

A incidência de tombamento de plantas ocasionadas por patógenos como *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Sclerotinia*, dentre outros é reduzida de forma eficaz pela ação de produtos à base de *Trichoderma*.

A atividade de biocontrole exercida pelo *Trichoderma* tem sido amplamente estudada, devido principalmente à produção de enzimas líticas extracelulares degradadoras da parede celular de muitos fungos, que são as celulases, quitinases, β -1-D-glucanases, β -1,4-glicosidases e proteases (CORABI-ADELL *et al.*, 2002).

A eficiência e os benefícios do controle biológico já foram percebidos pelo mercado, que busca formas mais seguras de utilizar tais produtos, isso pode ser observado por relatos de Bettiol (2009), que mostra que no ano de 2007, no Brasil aproximadamente 550 ton de produtos à base de *Trichoderma* foram utilizadas, o que seria equivalente a uma área tratada de 600.000 ha de lavouras.

A ação preventiva de proteção às plantas é o fator onde reside parte do sucesso no controle de patógenos de solo, como por exemplo, através da aplicação massal de microrganismos como o *Trichoderma* spp., que só se tornou possível após anos de pesquisa em vários países através da seleção de antagonistas e o desenvolvimento de formulações estáveis, que carregassem uma grande quantidade de esporos viáveis e competitivos no seu sítio de atuação, neste caso o solo. As metodologias utilizadas na aplicação de agentes de controle biológico devem ser feitos sob condições ambientais favoráveis ao agente de controle, tais, como, a dose

e número de esporos viáveis recomendados, umidade do solo, incidência de raios solares e temperatura, esses fatores são essenciais para se obter sucesso neste tipo de prática. Desta forma consegue-se obter um controle efetivo, de menor custo, quando comparado às demais práticas de controle, além de ser ambientalmente correto, apresentando diversos benefícios para o aumento de produtividade, assim como, a reestruturação do solo (LOBO JUNIOR *et al.*, 2009).

O fungo *Trichoderma* é, e segue sendo um dos agentes de biocontrole mais estudado, isso tudo devido a sua cada vez mais incontestável eficácia no controle de patógenos que causam elevadas perdas de produtividade para a agricultura mundial, assim como inúmeras vantagens que o mesmo apresenta, como, por exemplo, atuar como promotor de crescimento de plantas. Está é uma área de pesquisa que apresenta um grande potencial evolutivo, por isso mais pesquisas devem ser incentivadas em busca de novos resultados que venham a somar com técnicas de manejo na condução de pequenas e grandes culturas, aumentando a produtividade e, sobretudo a qualidade do produto final.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente experimento teve o início do seu desenvolvimento no Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia do Solo da Universidade Federal do Pampa/Campus Itaqui-RS. Sendo conduzido posteriormente, durante quinze dias em casa de vegetação localizada na sede do Campus de Itaqui/RS.

3.1. Sementes utilizadas no experimento

As sementes de pepino utilizadas foram da variedade 'verde comprido', cuja empresa fornecedora ISLA disponibiliza por embalagem cerca de 4,30 g, onde destas retira-se aproximadamente 35 sementes por grama.

Tabela.1. Descrição das sementes de Pepino (verde comprido) – Cucumber Straight Eight

Lote	Germinação (%)	Data da Análise	Válido até	Pureza (%)
34765-S2	96	JAN/14	JAN/16	100,0

Fonte: ISLA

3.2. Produção de propágulos de *S. rolfsii*

Para este trabalho foi utilizado o isolado do patógeno de solo *S. rolfsii* pertencente à Micoteca do Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia do Solo da Universidade Federal do Pampa/Campus Itaqui-RS. De acordo com a metodologia citada por Pereira (1996), o isolado de *S. rolfsii* foi repicado em placas de petri contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) e após sete dias, quando o fungo havia completado seu desenvolvimento sob o meio de cultura, procedeu-se a produção dos propágulos do fungo *S. rolfsii* onde foram realizados discos nas placas contendo o fungo, os quais foram colocados em 8 erlenmeyer contendo 250g de grãos de arroz (tipo 1) devidamente esterilizados em autoclave (à 120 °C por 20 min). Após a colonização do patógeno no arroz (período de 10 dias em câmara climatizada do tipo BOD sob temperatura de $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e 12 horas de fotoperíodo),

efetuou-se a contaminação do solo através da incorporação dos propágulos fúngicos presentes nos grãos de arroz. A contaminação do solo ocorreu da seguinte forma: os propágulos foram incorporados e homogeneizados ao solo de 4 recipientes plásticos, correspondentes a dose de inóculo de 8 g de arroz colonizado, significando a presença do patógeno, sendo a dose 0 g do patógeno a ausência, nos quatro tipos de manejos de solo, sendo eles, T1) solo sem inoculação de *Trichoderma spp.*, T2) solo com inoculação de *Trichoderma spp.*, T3) solo sem inoculação de *Trichoderma spp.* + casca de arroz, T4) solo com inoculação de *Trichoderma spp.*+ casca de arroz.



Figura 1 - Material esterilizado utilizado para o desenvolvimento do fungo *S. rolfsii*.



Figura 2 - Grãos de arroz após 10 dias de inoculação com o fungo *S. rolfsii*.

3.3. Organização do experimento

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, organizado em fatorial 4 x 2, com quatro repetições. Sendo o fator um, quatro tratamentos de solo: T1) solo sem inoculação de *Trichoderma* spp.; T2) solo com inoculação de *Trichoderma* spp.; T3) solo sem inoculação de *Trichoderma* spp. + casca de arroz; T4) solo com inoculação de *Trichoderma* spp.+ casca de arroz. O fator dois sendo à presença (dose de 8 g de arroz colonizado) ou ausência do patógeno *S. rolfsii*.

Utilizou-se como substrato o solo retirado da área experimental do Campus, cujo qual foi devidamente peneirado e posteriormente acondicionado em 32 recipientes plásticos de 500 mL, furados com auxílio de uma agulha (esterilizada), e na sequência devidamente preenchidos com o volume 300 g solo cada um conforme seu respectivo tratamento. Procedeu-se da seguinte forma:

Tratamento 1 (Solo): foi adicionado 300 g de solo peneirado a cada um dos 8 recipientes plásticos correspondentes a este tratamento.

Tratamento 2 (Solo + *Trichoderma* spp. em pó): foi adicionado 300 g de solo peneirado mais a adição 0,30 g de *Trichoderma* spp. via pó, obtido a partir de cepas viáveis de *Trichoderma* spp., a cada um dos recipientes plásticos correspondentes a

este tratamento, totalizando 8 recipientes (dose de 0,30g de *Trichoderma* spp. via pó x 8 recipientes = 2,4 g).

Cálculo utilizado: *Trichoderma* spp. via pó 20 g _____ 20.000 g de solo (20 Kg)
 X _____ 300 g de solo
 X = 0,30 g de *Trichoderma* spp. via pó.

Tratamento 3 (Solo + Casca de arroz): foi adicionado 300 g da mistura de solo peneirado mais a adição de 1/3 de casca de arroz a cada um dos 8 recipientes de plástico correspondentes a este tratamento.

Tratamento 4 (Solo + *Trichoderma* spp. via pó + Casca de arroz): foi adicionado 300 g da mistura de solo peneirado mais a adição de 1/3 de casca de arroz e por fim 0,30 g de *Trichoderma* spp. via pó a cada um dos recipientes plásticos correspondentes a este tratamento, totalizando 8 recipientes (dose de 0,30 g de *Trichoderma* spp. via pó x 8 recipientes = 2,4 g).

Cálculo utilizado: *Trichoderma* spp. via pó 20 g _____ 20.000 g de solo (20 Kg)
 X _____ 300 g de solo
 X = 0,30 g de *Trichoderma* spp. via pó.

Após o preparo do solo com o agente de controle biológico *Trichoderma* spp. via pó, que ocorreu 4 dias antes da semeadura, nos tratamentos correspondentes ao T2) solo com inoculação de *Trichoderma* spp. e T4) solo com inoculação de *Trichoderma* spp. + casca de arroz, os 32 recipientes plásticos foram umedecidos e permaneceram na casa de vegetação. Destes 32 recipientes plásticos, correspondentes ao total dos 4 tratamentos, sendo 16 correspondentes a ausência do patógeno e os 16 restantes correspondentes a dose de inóculo de 8 g de arroz colonizado, representando portanto a presença do patógeno, nestes 16 últimos recipientes foi feita a inoculação do mesmo, 2 dias antes da semeadura e novamente o solo foi umedecido para auxiliar o desenvolvimento do fungo. A semeadura realizou-se no dia 04 de setembro de 2014.

A cultura utilizada para o experimento foi pepino (verde comprido) *Cucumis sativus* L., foram usadas 4 sementes por pote, gerando um total de 128 sementes (peso 5,70 g). Logo após a semeadura foi feita uma irrigação e ao longo dos 14 dias recorrentes até duas vezes ao dia, conforme a necessidade da cultura.

3.4. Aspectos avaliados

As variáveis analisadas foram: emergência de plântulas (%), tombamento de plantas (%), crescimento de plantas aos 15 dias após a semeadura (15 DAS), através do comprimento (cm) de parte aérea e raiz assim como, massa da matéria seca de plantas de pepino (15 DAS), parte aérea e raiz respectivamente.

- a) Emergência de plântulas (%): A partir da data de semeadura (04/09/2014) foram feitas avaliações diárias verificando a emergência de plântulas, sendo o dia 12/09/2014 correspondente a última planta emergida, após esta data não houve mais emergência em nenhum dos tratamentos avaliados.
- b) Tombamento de mudas (%): O tombamento de mudas foi avaliado diariamente através dos sintomas apresentados, tendo visto que ao 4º dia DAS já havia sinais de pleno desenvolvimento do patógeno. Esta variável foi avaliada até o dia do encerramento do experimento 19/09/2014, data a qual a maior parte da população já havia sido afetada pelo patógeno.
- c) Crescimento de plantas aos 15 dias após a semeadura (15 DAS): após o encerramento do experimento quando as mudas estavam com 15 dias de desenvolvimento, cada muda foi delicadamente retirada do solo e suas raízes foram lavadas para que se pudesse efetuar a avaliação, que foi realizada com o auxílio de uma régua graduada de 30 cm de comprimento.
- d) Massa seca de plantas de pepino (15 DAS): a parte aérea e a raiz das plantas avaliadas foram separadas e acondicionadas em sacos de papel (12 cm x 6 cm), devidamente fechados com o auxílio de grampos e identificados de acordo com seus respectivos tratamentos. As plantas normais correspondentes a cada lote e repetição, foram submetidas à secagem em estufa com circulação de ar forçada, mantida à 80°C, por 24 horas (NAKAGAWA, 1999). A massa obtida foi avaliada em uma balança com precisão de 0,001 g e os resultados foram expressos em g/planta.

3.5. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Para a realização dos testes estatísticos foi utilizado o software Assistat 7.7 beta.

Os dados relacionados à emergência, tombamento de mudas, comprimento de parte aérea e raiz, foram transformados pela fórmula $X = X + C$ ($C=100$), devido ao elevado número de dados igual à zero.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Avaliação de emergência e tombamento mudas.

Não houve interação entre os fatores, manejo de solo e presença e ausência do patógeno, tanto para a emergência, quanto para o tombamento de mudas. Porém, ocorreram diferenças significativas para o fator presença e ausência do patógeno (Tabela 2). O patógeno *S. rolfsii* causou tombamento de pré e pós-emergência no pepineiro (Figura x), de acordo com os dados apresentados na tabela 2. Resultados semelhantes foram encontrados por Mafia (2007), quando cerca de 3 a 5 dias após a inoculação do patógeno, observou-se o desenvolvimento de lesões escuras a partir do coleto e murcha, decorrente do anelamento, seguido do tombamento das plântulas de diferentes espécies florestais.

Tabela 2. Emergência (%) e tombamento de mudas (%) de pepineiro, na presença ou ausência de *Sclerotium rolfsii*, em diferentes manejos do substrato.

<i>Sclerotium rolfsii</i>	Emergência (%)	Tombamento (%)
Presença	12,5 b*	11 a
Ausência	56,25 a	0 b
CV (%)	21.43	11.09

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey 5% de probabilidade. Anova – Anexo (p. 42).



Figura 3 - Tratamento solo sem inoculação de *Trichoderma* spp. e com a dose de inóculo de 8 g de arroz colonizado.

O fungo *Trichoderma* spp. foi ineficiente como agente de controle biológico para o *S. rolfsii*, na produção de mudas do pepineiro, pelo fato de não ter ocorrido diferença significativa entre os manejos de solo. Esse resultado também pode ter sido ocasionado pelo pouco tempo de permanência do *Trichoderma* spp. no solo (GUARESCHI, 2012).

4.2. Comprimento de parte aérea e raiz de pepineiros.

Ocorreu interação entre os fatores, manejo de substrato e presença e ausência do patógeno (Tabela 3). Dentre os diferentes manejos de substrato, o solo + *Trichoderma* spp. apresentou maior comprimento de parte aérea na presença do patógeno. Esse fato pode se justificar pela ação do *Trichoderma* spp. como agente de controle biológico para o *S. rolfsii*.

Tabela 3. Comprimento de parte aérea de pepineiro, na presença ou ausência de *Sclerotium rolfsii*, em diferentes manejos do substrato.

Manejo do substrato	Comprimento de parte aérea (cm)	
	<i>Sclerotium rolfsii</i>	
	Presença	Ausência
T1 - Solo	0* bB**	4,3 aA
T2 - Solo + <i>Trichoderma</i> spp.	2,4 aB	3,6 aA
T3 - Solo + Casca de arroz	0 bA	2,4 bA
T4 - Solo + <i>Trichoderma</i> spp. + Casca de arroz	0 bB	3,8 aA
CV (%)	0.86	

* Ausência de planta devido ao tombamento.

** Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey 5% de probabilidade.

Anova – Anexo (p. 43).

O patógeno interferiu significativamente no comprimento de parte aérea do pepineiro em 75% dos manejos de substratos utilizados (Tabela 3), evidenciando assim, a sua patogenicidade na cultura do pepineiro na dose de 8 g de arroz colonizado L⁻¹ incorporado ao solo. Barbosa (2010), observou que as concentrações de inóculo de 8 g e 16 g de arroz colonizado L⁻¹ de solo, proporcionou intensidade de doença inicial superior à 2 g L⁻¹, pois esta concentração demanda maior período para que se inicie uma epidemia, justificando assim a utilização de 8 g de arroz colonizado para incidir a doença.

Não houve interação entre os fatores, manejo de solo e presença e ausência do patógeno, no comprimento de raiz de mudas de pepineiro. Porém, ocorreram diferenças significativas para o fator presença e ausência do patógeno (Tabela 4), pois o *S. rolfsii* é causador de podridão do colo e raiz (Figura).



Figura 4 - Comprimento de raiz de muda de pepineiro, exposta a dose de inóculo de 8 g de arroz colonizado aos 15 DAS.

Tabela 4. Comprimento de raiz de pepineiro, na presença ou ausência de *Sclerotium rolfsii*, em diferentes manejos do substrato.

<i>Sclerotium rolfsii</i>	Comprimento de raiz (cm)
Presença	4,3 b*
Ausência	12,3 a
CV (%)	3.82

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey 5% de probabilidade. Anova – Anexo (p. 43)



Figura 5 - Comprimento de raiz de muda de pepineiro na ausência do patógeno, aos 15 DAS.

4.3. Massa de matéria seca de parte aérea e raiz de pepineiros

Ocorreu interação entre os fatores, manejo de substrato e presença e ausência do patógeno (Tabela 5). Onde a presença do patógeno interferiu diminuindo a massa de matéria seca de parte aérea do pepineiro em 75% dos manejos de substrato.

Tabela 5. Massa de matéria seca de parte aérea, na presença ou ausência de *Sclerotium rolfsii*, em diferentes manejos do substrato.

Manejo do substrato	Massa de matéria seca de parte aérea (g)	
	Sclerotium rolfsii	
	Presença	Ausência
T1 - solo	0* aB**	0,048 aA
T2 - Solo + <i>Trichoderma</i> spp.	0,024 aB	0,046 abA
T3 - Solo + Casca de arroz	0 aA	0,041 bA
T4 - Solo + <i>Trichoderma</i> spp. + Casca de arroz	0 aB	0,045 aA
CV (%)	74.40	

* Ausência de planta devido ao tombamento.

** Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey 5% de probabilidade.

Anova – Anexo (p. 44)

Ocorreu interação entre os fatores, manejo de substrato e presença e ausência do patógeno (Tabela 6). O patógeno interferiu na massa de matéria seca

de raiz do pepineiro, reduzindo a matéria seca em 75% dos manejos de substrato. O mesmo pode ser observado na tabela 3, para o comprimento de raiz das mudas de pepineiro.

Tabela 6. Massa de matéria seca de raiz, na presença ou ausência de *Sclerotium rolfsii*, em diferentes manejos do substrato.

Manejo do substrato	Massa de matéria seca de raiz (g)	
	Sclerotium rolfsii	
	Presença	Ausência
T1 - solo	0* aB**	0,007abA
T2 - Solo + <i>Trichoderma</i> spp.	0,006 aB	0,010 abA
T3 - Solo + Casca de arroz	0 aA	0,007 bA
T4 - Solo + <i>Trichoderma</i> spp. + Casca de arroz	0 aB	0,016 aA
CV (%)	84.72	

* Ausência de planta devido ao tombamento.

** Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey 5% de probabilidade.

Anova – Anexo (p. 44)

O fungo *Trichoderma* spp. atuou como promotor de crescimento no comprimento de parte aérea para a cultura do pepineiro, muito embora, não tenha atuado de forma significativa como promotor de crescimento de raiz. Esses resultados podem estar relacionados com a forma como o fungo *Trichoderma* spp. foi utilizado, uma vez que o mesmo foi incorporado ao solo. De acordo com Montalvão (2012), diversos trabalhos realizados com este fungo utilizando várias culturas agrícolas demonstraram incrementos na promoção do crescimento das plantas, tal incremento pode ser avaliado em termos de aumento da biomassa, resistência ao estresse, produtividade, aumento da absorção e solubilização de nutrientes. Guareschi (2012), também observou em seu experimento, que a aplicação de *Trichoderma* spp. promoveu crescimento de parte aérea e raízes de girassol e soja.

5. CONCLUSÃO

A presença do patógeno *S. rolfsii* interferiu na emergência, causando tombamento de mudas, além de interferir no comprimento da parte aérea, raiz, na massa de matéria seca de parte aérea e raiz do pepineiro.

O fungo *Trichoderma* spp. é ineficiente como agente de controle biológico para o *S. rolfsii*, na produção de mudas do pepineiro, conforme a metodologia utilizada neste experimento.

O fungo *Trichoderma* spp. atuou como promotor de crescimento no comprimento de parte aérea do pepineiro.

6. REFERÊNCIAS

- AULER, A. C. V. Antagonismo de *Trichoderma harzianum* a *Sclerotium rolfsii* nas culturas do feijoeiro e soja. Artigo Científico Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, RR. **Revista Agro@ambiente**, v. 7, n. 3, p. 359-365, 2013.
- AYCOCK, R. Stem rot and other diseases caused by *Sclerotium rolfsii*. North Carolina Agricultural Experimental Station Technical Bulletin, Raleigh, n.174, p. 202, 1966.
- BAKER, K. F.; COOK, R. J. Biological control of plant pathogens. San Francisco. W. F. Freeman, p. 433, 1974.
- BARBOSA, R. N. T.; HALFELD-VIEIRA, B. A.; NECHET, K. L.; SOUZA, G. R. Método para inoculação de *Sclerotium rolfsii* em tomateiro. **Revista Agro@ambiente**, v. 4, n. 1, p. x-y, 2010.
- BATISTA FILHO, A. Controle Biológico: Alternativa para uma agricultura sustentável. In: Controle biológico de insetos e ácaros. **Boletim Técnico Instituto Biológico**, São Paulo, n. 15, p. 1-3, 2006.
- BEDENDO, I. P; Grupos de Doenças. In: BERGAMI, F; KIMATI, H, AMORIM,L.(ed.) Manual de Fitopatologia. São Paulo, Agronômica Ceres, p. 806 – 897, 1995.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. Controle Biológico com *Trichoderma* em Grandes Culturas – Uma Visão Empresarial. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 239, 2009.
- BETTIOL, W. Componentes do controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. (Org). Controle biológico de doenças de plantas. Jaguariúna: Embrapa Centro Nacional de Pesquisa de defesa da Agricultura, p. 1-3, 1991.
- BIANCHINI, A., MARINGONI, A. C. & CARNEIRO, S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). In: KIMATI, H., AMORIN, L., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L. E. A. & REZENDE, J, A. M. São Paulo. Editora Ceres. p. 376-399, 1997.
- BUENO, C. J.; FISCHER, I. H. Manejo de fungos fitopatogênicos habitantes do solo. Disponível em: <http://WWW.aptaregional.sp.gov.br/artigo.php?id_artigo=459>. Acesso em: 06 set. 2014.
- CARDOSO, A. I. I. Avaliação de cultivares de pepino tipo caipira sob ambiente protegido em duas épocas de semeadura. *Bragantina*, Campinas, v. 61, n. 1, p. 43-48, 2002.
- CHAVERRI, P.; SAMUELS, G. J. & STEWART, E. L. Convergent evolution of *Gliocladium* morphology in *Hypocrea*. Abstract. *Inoculum*. Newsletter of the Mycological Society of America. *Mycologia*, p. 15-24, 2000.

CORABI-ADELL, C. *et al.* Biodiversidade do gênero *Trichoderma* no estado de São Paulo – aspectos enzimáticos e potencial biocontrolador. *Arq.Inst.Biol.*, São Paulo, v. 69 (supl.), p. 1-306, 2002.

ESPOSITO, E., & SILVA, M. Systematics and environmental application of the genus *Trichoderma*. *Critical Reviews in Microbiology*, Boca Raton, US, v. 24, n. 2, p. 89-98, 1998.

FIGUEIRA, F.A.R. Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV. ed 2, p. 412, 2003.

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

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. 02, p. 01, 2012.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; RESENDE, J. A. M. Manual de fitopatologia: doenças de plantas. Piracicaba: Ceres, ed. 4, v. 2, p. 663, 2005.

LIMA, L. H. C.; De MARCO, J. L.; FELIX, C. R. Enzimas hidrolíticas envolvidas no controle biológico por microparasitismo. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J. L. Controle Biológico. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, v. 2, p. 263-304, 2000.

LOBO JUNIOR, M.; GERALDINE, A. M.; CARVALHO, D. D. C. Controle biológico de patógenos habitantes do solo com *Trichoderma* spp., na cultura do feijoeiro comum. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão (Embrapa Arroz e Feijão. Circular técnica, 85), p. 4, 2009.

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

MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; RESENDE JÚNIOR, M. F. R. Tombamento de mudas de espécies florestais causado por *Sclerotium rolfsii*. Sacc. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 31, n. 4, 2007.

MARCUZZO, L.L.; SCHULLER, A. Sobrevivência e viabilidade de escleródios de *Sclerotium rolfsii* no solo. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v. 40, n. 2, 2014.

MARTINS, M. V. V.; SILVEIRA, S. F.; CARVALHO, A. J. C.; SOUZA, E. F. Erradicação de escleródios de *Sclerotium rolfsii* em substratos tratados em coletores solares em Campos dos Goytacazes-RJ. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 421-424, 2003.

MEDEIROS, P. R. F.; DUARTE, S. N.; DIAS, C. T. S. Tolerância da cultura do pepino à salinidade em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, PB, UAEEA/UFCG, v. 13, n. 4, p. 406-410, 2009.

MELO, I.S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L (Ed.). Controle Biológico. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, v. 1, p. 17-67, 1998.

MICHEREFF FILHO, M. et al.– Recomendações técnicas para o controle de pragas no pepino. Circular Técnica 109, Brasília, DF, 2012.

MONTALVÃO, S. C. L. Potencial de *Trichoderma* spp. no biocontrole de doenças do tomateiro. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, p. 105, 2012.

MONTEIRO, W. J.; SANTOS, R. G. Potencial antagônico de *Trichoderma* sp contra fungos fitopatogênicos no Sul do Estado de Tocantins. 9º Seminário de Iniciação Científica. UFT - Campus de Palmas, 2013.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, p. 2.1-2.24, 1999.

NATIONAL CENTER for BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI) – Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi> Acesso: 10/Dezembro, 2014.

PASCHOLATI, S.F. Fitopatógenos: arsenal enzimático. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. São Paulo: Ceres, ed. 3, v. 1, p. 343-364, 1995.

PEREIRA, J. C. R.; CHAVES, G. M.; ZAMBOLIM, L.; MATSUOKA, K.; SILVA-ACUÑA, R.; DO VALE, F. X. R. Controle integrado de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 21, n. 2, p. 254-260, 1996.

PUNJA, Z. K. The biology, ecology and control of *Sclerotium rolfsii*. *Annual Review of Phytopathology*, v. 23:97-127, 1985.

PUNJA, Z. K.; RAHE, J. E. *Sclerotium*. In: SINGLETON, L. L.; MIHAIL, J. D.; RUSH, C. M. (Ed.). Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. St. Paul: APS Press, p. 166-170, 1993.

SAITO, L. R.; SALES, L. L. S. R.; MARTINCKOSKI, L.; ROYER, R.; RAMOS, M. S.; REFFATTI, T. Aspectos dos efeitos do fungo *Trichoderma* sp. no biocontrole de patógenos de culturas agrícolas. *Pesquisa Aplicada e Agrotecnologia*. v. 2, n. 3, 2009.

SILVA, P. R. Q. Transformação de *Trichoderma harzianum* com os genes *egfp* e (*-tubulina*). Dissertação de Mestrado - Universidade de Brasília, Brasília, p. 129, 2000.

ZALUSKI, W.L.; URBAN, C.W.; DELAMUTA, I. K.P.Z.; RIOS, C.M.D.; GIARETTA, R.D. Seleção de isolados de *trichoderma* spp. Para o controle de *sclerotium rolfsii*. Universidade Estadual do Centro-Oeste/Departamento de Agronomia/Guarapuava, PR. Anais do XIX EAIC, 2010.

7. ANEXOS

Quadro 1. Análise de emergência.

QUADRO DE ANÁLISE

FV	GL	SQ	QM	F
Fator1(F1)	3	2871.09375	957.03125	1.1951 ns
Fator2(F2)	1	10332.03125	10332.03125	12.9024 **
Int. F1xF2	3	5371.09375	1790.36458	2.2358 ns
Tratamentos	7	18574.21875	2653.45982	3.3136 *
Resíduo	24	19218.75000	800.78125	
Total	31	37792.96875		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Quadro 2. Tombamento de plantas.

QUADRO DE ANÁLISE

FV	GL	SQ	QM	F
Fator1(F1)	3	214.84375	71.61458	0.5238 ns
Fator2(F2)	1	957.03125	957.03125	7.0000 *
Int. F1xF2	3	214.84375	71.61458	0.5238 ns
Tratamentos	7	1386.71875	198.10268	1.4490 ns
Resíduo	24	3281.25000	136.71875	
Total	31	4667.96875		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Quadro 3. Comprimento de parte aérea.

QUADRO DE ANÁLISE

FV	GL	SQ	QM	F
Fator1(F1)	3	14.62067	4.87356	6.3473 **
Fator2(F2)	1	52.76470	52.76470	68.7200 **
Int. F1xF2	3	15.02155	5.00718	6.5213 **
Tratamentos	7	82.40691	11.77242	15.3322 **
Resíduo	24	18.42771	0.76782	
Total	31	100.83463		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Quadro 4. Comprimento de raiz.

QUADRO DE ANÁLISE

FV	GL	SQ	QM	F
Fator1(F1)	3	129.49185	43.16395	2.7166 ns
Fator2(F2)	1	501.51820	501.51820	31.5641 **
Int. F1xF2	3	108.22028	36.07343	2.2704 ns
Tratamentos	7	739.23033	105.60433	6.6464 **
Resíduo	24	381.33318	15.88888	
Total	31	1120.56351		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

Quadro 5. Massa de matéria seca de parte aérea.

QUADRO DE ANÁLISE

FV	GL	SQ	QM	F
Fator1(F1)	3	0.00132	0.00044	3.0787 *
Fator2(F2)	1	0.00683	0.00683	47.7106 **
Int. F1xF2	3	0.00138	0.00046	3.2155 *
Tratamentos	7	0.00953	0.00136	9.5133 **
Resíduo	24	0.00343	0.00014	
Total	31	0.01296		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Quadro 6. Massa de matéria seca de raiz.

QUADRO DE ANÁLISE

FV	GL	SQ	QM	F
Fator1(F1)	3	0.00014	0.00005	3.8238 *
Fator2(F2)	1	0.00046	0.00046	36.4576 **
Int. F1xF2	3	0.00014	0.00005	3.7999 *
Tratamentos	7	0.00074	0.00011	8.4755 **
Resíduo	24	0.00030	0.00001	
Total	31	0.00104		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)