



UFSM

Dissertação de Mestrado

**DOSES, AMBIENTE E FORMA DE INFECÇÃO
CAUSADA POR *Fusarium solani* f.sp. *chrysanthemi* EM
CRISÂNTEMO (*Dendranthema grandiflora*) cv.
CALABRIA E SEU CONTROLE POR *Trichoderma virens***

Daniela Rossato Stefanelo

PPGA

Santa Maria, RS, Brasil

2004

**DOSES, AMBIENTE E FORMA DE INFECÇÃO
CAUSADA POR *Fusarium solani* f.sp. *chrysanthemi* EM
CRISÂNTEMO (*Dendranthema grandiflora*) cv.
CALABRIA E SEU CONTROLE POR *Trichoderma virens***

por

Daniela Rossato Stefanelo

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do
Programa de Pós-Graduação em Agronomia,
Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade
Federal de Santa Maria (UFSM, RS),
como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Agronomia

PPGA

Santa Maria, RS, Brasil

2004

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Agronomia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**DOSES, AMBIENTE E FORMA DE INFECÇÃO CAUSADA
POR *Fusarium solani* f.sp. *chrysanthemi* EM CRISÂNTEMO
(*Dendranthema grandiflora*) cv. CALABRIA E SEU
CONTROLE POR *Trichoderma virens***

elaborada por
Daniela Rossato Stefanelo

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Agronomia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Profª. Ph.D. Elena Blume
(Presidente/Orientadora)

Prof. Dr. Rogério Antônio Bellé

Profª. Drª. Aida Teresinha S. Matsumura

Santa Maria, 29 de junho de 2004.

**“Irradiando sua Luz por entre as grandes
árvores da floresta, Deus jamais esquece
da pequena flor que humildemente o
contempla por entre as ervas do
caminho”**

Pedro (o eremita)

A Deus pelo Dom da vida e a
meus pais Luiz Carlos Stefanelo e
Lizete Rossato Stefanelo e irmãs
Daiane e Luciana, meu time preferido.

Dedico...

AGRADECIMENTOS

À professora Elena Blume, pela orientação, amizade e pelos ensinamentos transmitidos.

Ao professor Rogério Antônio Bellé, pela disponibilidade e ajuda na condução dos experimentos.

Aos professores do Departamento de Defesa Fitossanitária, pela oportunidade de crescimento profissional e pessoal.

À professora Marlove F. B. Muniz pela amizade e colaboração na realização e correção desse trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Defesa Fitossanitária, pela amizade, especialmente a Maria N. D. Weber e Marizete R. Pozzobon, pelo importante auxílio prestado em todas as fases do trabalho .

À amiga Marina Copetti Venturini pela identificação dos isolados de *Fusarium*.

A todos os colegas e amigos do laboratório de Fitopatologia, pela convivência amigável, pelos conhecimentos adquiridos e a colaboração nas diferentes fases desse trabalho, ao amigo Rodrigo Camargo pela companhia agradável, especialmente durante a fase final do trabalho.

Às amigas Josiane P. Menezes e Luciana Z. Ethur meus sinceros agradecimentos pela amizade, companheirismo e pela ajuda em todos os momentos, principalmente nos mais difíceis.

Ao meu fiel escudeiro, Luís Gustavo H. do Amaral, pelo amor, dedicação, cumplicidade, participação decisiva em todas as fases desse trabalho.

À minha família pelo amor, confiança, compreensão e apoio em todos os momentos.

A todas as pessoas amigas que conviveram comigo durante este curso.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	IX
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE ANEXOS	XI
RESUMO	XIII
ABSTRACT	XIV
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Características gerais da floricultura brasileira.....	4
2.2 Cultura do crisântemo	5
2.3 <i>Fusarium spp.</i> em crisântemo	8
2.4 <i>Trichoderma spp.</i> como agente de biocontrole	10
3 CAPÍTULO I	13
RESUMO	14
3.1 Introdução	15
3.2 Experimento I – Quantidade de inóculo de <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>chrysanthemi</i> necessária à infecção de plantas de crisântemo.	16
3.2.1 Material e Métodos	16
3.2.1.1 Local do experimento e análise estatística	16
3.2.1.2 Isolamento e cultivo do fitopatógeno.....	17
3.2.1.3 Identificação do fitopatógeno	18
3.2.1.4 Multiplicação e cultivo do inóculo do fitopatógeno.....	18
3.2.1.5 Obtenção e enraizamento das mudas de crisântemo cv. Calabria	18
3.2.1.6 Isolamento e identificação das espécies de <i>Fusarium</i> do solo	19
3.2.1.7 Inoculação do fitopatógeno	19
3.2.1.8 Avaliações do experimento	20
3.2.2 Resultados e Discussão	21
3.3 Experimento II - Formas de inoculação de <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>chrysanthemi</i> em crisântemo	25
3.3.1 Material e Métodos	25
3.3.1.1 Local do experimento e análise estatística	25
3.3.1.2 Multiplicação e cultivo do inóculo do fitopatógeno.....	25
3.3.1.3 Obtenção das mudas de crisântemo cv. Calabria	26

3.3.1.4 Inoculação do fitopatógeno	26
3.3.1.5 Avaliações do experimento	27
3.3.2 Resultados e Discussão	28
4 CAPÍTULO II	32
RESUMO	33
4.1 Introdução	34
4.2 Experimento III - Isolados e doses de <i>Trichoderma virens</i> no controle de <i>Fusarium</i> f.sp. <i>chrysanthemi</i>	35
4.2.1 Material e Métodos	35
4.2.1.1 Local do experimento e análise estatística	35
4.2.1.2 Obtenção e multiplicação do fitopatógeno	36
4.2.1.3 Obtenção das mudas de crisântemo cv. Calabria	36
4.2.1.4 Obtenção dos isolados de <i>Trichoderma virens</i>	36
4.2.1.5 Cultivo e multiplicação do inóculo de <i>Trichoderma virens</i>	36
4.2.1.6 Preparo dos pós de <i>Trichoderma virens</i>	37
4.2.1.7 Manejo de cultivo	38
4.2.1.8 Avaliações do experimento	39
4.2.2 Resultados e Discussão	39
4.3 Experimento IV - Comportamento dos isolados e influência das doses de pós de <i>Trichoderma virens</i> no crescimento de crisântemo cv. Calabria	43
4.3.1 Material e Métodos	43
4.3.1.1 Local do experimento e análise estatística	43
4.3.1.2 Obtenção, cultivo e multiplicação de <i>Trichoderma virens</i>	44
4.3.1.3 Obtenção e enraizamento das mudas de crisântemo	44
4.3.1.4 Inoculação dos pós de <i>Trichoderma</i>	44
4.3.1.5 Avaliações do experimento	45
4.3.2 Resultados e Discussão	45
5 CONCLUSÕES	50
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
7 ANEXOS	57

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1. Massa seca da parte aérea de crisântemo (g/planta) para o fator autoclavagem de solo dentro de cada nível do fator quantidade de inóculo de *F. solani* f.sp. *crysanthemi*. Santa Maria – RS, 2003..... 21
- TABELA 2. Massa seca da raiz de crisântemo (g/planta) para o fator autoclavagem do solo. Santa Maria – RS, 2003..... 24
- TABELA 3. Altura de planta (cm), massa seca de parte aérea (g), massa seca de raiz (g), número de botões florais por planta para existência de dano na raiz de crisântemo. Santa Maria - RS, 2003..... 28
- TABELA 4. Médias de altura de planta (cm), massa seca da parte aérea (g), massa seca de raiz (g) e número de botões por planta para a forma de inoculação. Santa Maria - RS, 2003..... 29
- TABELA 5. Percentagem de plantas de crisântemo com sintomas de *Fusarium* nas hastes, 60 dias após a inoculação. Santa Maria – RS, 2003..... 31
- TABELA 6. Altura de planta (cm) e massa seca de parte aérea (g) de plantas de crisântemo para os isolados de *Trichoderma. virens*. Santa Maria – RS, 2003..... 39

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1. Massa seca da parte aérea de crisântemo (g/planta) em solo autoclavado e não autoclavado submetido a diferentes quantidades de inóculo de *F. solani* f. sp. *chrysanthemi*. Santa Maria – RS, 2003..... 23
- FIGURA 2. Sintoma de escurecimento da haste causada por *Fusarium*. Santa Maria – RS, 2003..... 30
- FIGURA 3. Escurecimento da haste de crisântemo com dano nas raízes cultivado em solo infestado com *Fusarium*. Santa Maria – RS, 2003..... 31
- FIGURA 4. Altura de planta de crisântemo (cm) em função das diferentes doses de pós de *Trichoderma virens*. Santa Maria – RS, 2003..... 40
- FIGURA 5. Massa seca da parte aérea (g) de crisântemo em função das diferentes doses de pós de *Trichoderma virens*. Santa Maria – RS, 2003..... 41
- FIGURA 6. Altura de planta de crisântemo (cm) em função das diferentes doses de pós de *Trichoderma virens*. Santa Maria – RS, 2003..... 46
- FIGURA 7. Massa seca da parte aérea (g) de crisântemo em função de diferentes doses de pós de *Trichoderma virens*. Santa Maria – RS, 2003..... 47
- FIGURA 8. Massa seca de raiz (g) de crisântemo em função de diferentes doses de pós de *Trichoderma virens*. Santa Maria – RS, 2003..... 48

LISTA DE ANEXOS

- ANEXO A. Médias de temperatura e umidade relativa referentes ao experimento I, período de dezembro (2002) a fevereiro (2003). Santa Maria - RS, 2003..... 58
- ANEXO B. Médias de temperatura e umidade relativa referentes ao experimento III e IV, período de outubro a dezembro de 2003. Santa Maria – RS, 2003..... 58
- ANEXO C. Densidade (g cm^{-3}), porosidade total (%), umidade volumétrica (% vol.) e espaço aéreo do solo de estufa, experimento III, para as quatro observações realizadas. Santa Maria – RS, 2003..... 59
- ANEXO D. Análise química de solo de estufa não autoclavado (Nº 1) e autoclavado (Nº 2) do experimento I. Santa Maria – RS, 2003.. 60
- ANEXO E. Análise da variância da massa seca da parte aérea em função da autoclavagem do solo e das quantidades de inóculo de *Fusarium*. Experimento I. Santa Maria – RS, 2003..... 61
- ANEXO F. Análise da variância da massa seca da raiz em função da autoclavagem do solo e das quantidades de inóculo de *Fusarium*. Experimento I. Santa Maria – RS, 2003..... 61
- ANEXO G. Análise da variância da altura de planta em função da existência de dano na raiz e das formas de inoculação de *Fusarium*. Experimento II. Santa Maria – RS, 2003..... 62
- ANEXO H. Análise da variância da massa seca da parte aérea em função da existência de dano na raiz e das formas de inoculação de *Fusarium*. Experimento II. Santa Maria – RS, 2003..... 62

ANEXO I.	Análise da variância da massa seca da raiz em função da existência de dano na raiz e das formas de inoculação de <i>Fusarium</i> . Experimento II. Santa Maria – RS, 2003.....	63
ANEXO J.	Análise da variância do número de botões por planta em função da existência de dano na raiz e das formas de inoculação de <i>Fusarium</i> . Experimento II. Santa Maria – RS, 2003.....	63
ANEXO K.	Análise da variância da altura de planta dos isolados e doses de <i>Trichoderma</i> . Experimento III. Santa Maria – RS,2003.....	64
ANEXO L.	Análise da variância da massa seca da parte aérea em função dos isolados e das doses de <i>Trichoderma</i> . Experimento III. Santa Maria - RS, 2004.....	64
ANEXO M.	Análise da variância da massa seca da raiz em função dos isolados e das doses de <i>Trichoderma</i> . Experimento III. Santa Maria – RS, 2003.....	65
ANEXO N.	Análise da variância da altura de planta em função dos isolados e das doses de <i>Trichoderma</i> . Experimento IV. Santa Maria – RS, 2004.....	65
ANEXO O.	Análise da variância da massa seca da parte aérea em função dos isolados e das doses de <i>Trichoderma</i> . Experimento IV. Santa Maria – RS, 2004.....	66
ANEXO P.	Análise da variância da massa seca da raiz em função dos isolados e das doses de <i>Trichoderma</i> . Experimento IV. Santa Maria – RS, 2004.....	66

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-graduação em Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

DOSES, AMBIENTE E FORMA DE INFECÇÃO CAUSADA POR *Fusarium solani* f.sp. *chrysanthemi* EM CRISÂNTEMO (*Dendranthema grandiflora*) cv. CALABRIA E SEU CONTROLE POR *Trichoderma virens*

Autor: Daniela Rossato Stefanelo

Orientadora: Elena Blume

Local e data da defesa: Santa Maria, 29 de junho de 2004.

A murcha de *Fusarium* tem causado danos à cultura do crisântemo na região central do Rio Grande do Sul, especialmente nos cultivos em ambiente protegido. Quatro experimentos foram desenvolvidos com o objetivo de estudar o efeito de doses, ambiente e formas de inoculação de *Fusarium solani* f. sp. *chrysanthemi* em crisântemo, e seu controle por *Trichoderma virens*. No primeiro experimento, objetivou-se selecionar a quantidade de inóculo de *F. solani* f. sp. *chrysanthemi* necessária à infecção de plantas de crisântemo cv. Calabria, sendo que 6g/600g de solo foi considerada a mais prejudicial às plantas. No segundo experimento, foi testada a inoculação do patógeno por infestação do solo ou imersão de raízes, em presença ou não de dano nas raízes. Não houve diferença entre as formas de inoculação e as plantas com dano nas raízes apresentaram menor desenvolvimento. No terceiro e quarto experimentos, foram testados seis isolados e cinco doses de pós contendo inóculo de *Trichoderma virens* no controle da murcha de *Fusarium* e no desenvolvimento das plantas. Em decorrência da ausência de sintomas de *Fusarium*, não foi possível determinar a melhor dose de *Trichoderma* para o controle da murcha e a utilização dos pós de *Trichoderma* interferiu negativamente no crescimento das plantas de crisântemo cv. Calabria.

Palavras-chave: doses de inóculo, formas de inoculação, antagonistas, crescimento de plantas.

ABSTRACT

Master Science Dissertation
Agronomy Pos-Graduation Program
Universidade Federal de Santa Maria - RS, Brazil

DOSES, ENVIRONMENT AND FORMS OF INFECTION OF *Fusarium solani* f. sp. *chrysanthemi* IN CHRYSANTHEMUM (*Dendranthema grandiflora*) cv. CALABRIA AND ITS CONTROL BY *Trichoderma virens*

Author: Daniela Rossato Stefanelo
Advisor: Elena Blume
Place and date of presentation: Santa Maria, 29 of June, 2004.

Fusarium wilt has been damaging the chrysanthemum crop in the central region of Rio Grande do Sul, especially in those cultivated in greenhouse. Four experiments were done with the objective of studying the effect of doses, environment, and forms of infection of *Fusarium solani* f. sp. *chrysanthemi* in chrysanthemum and its control by *Trichoderma virens*. In the first experiment, the objective was to select the inoculum quantity of *F. solani* f. sp. *chrysanthemi* needed to infect chrysanthemum plants cv. Calabria and 6g/600 g of soil was found to be the most damaging to the plants. In the second experiment, the inoculation of the pathogen by soil infestation or root immersion, with and without physical damage of the roots, was tested. There was no difference between the inoculation forms and the plants with damaged roots showed less growth. In the third and fourth experiments six isolates and five doses of biological powders of *Trichoderma virens* were tested in the control of the *Fusarium* wilt and the growth of plants. Since the plants did not show symptoms of *Fusarium*, it was not possible to determine the best doses of *Trichoderma* to control the disease and the utilization of the biological powders interfered negatively in the growth of chrysanthemum plants cv. Calabria.

Key-words: inoculum doses, inoculation forms, antagonists, plant growth.

1 INTRODUÇÃO

A cultura do crisântemo tem merecido destaque na floricultura brasileira. No Rio Grande do Sul, tem sido uma alternativa de renda principalmente para os pequenos produtores cujas áreas muitas vezes são insuficientes para outros tipos de culturas, mas que são aptas para o cultivo em ambiente protegido.

O cultivo do crisântemo apresenta uma série de vantagens ao produtor, como por exemplo, a facilidade de programação de produção das flores, sendo possível produzi-las o ano inteiro em muitas regiões do mundo. Do ponto de vista fisiológico, o crisântemo apresenta sensibilidade ao fotoperíodo, sendo classificada como planta de dia curto, característica que permite o controle do crescimento e floração para um período desejado. Além disso, existem outras vantagens como a grande variedade de cores e tipos de inflorescências que permitem utilizá-las de várias formas e ainda a grande durabilidade pós-colheita e a resistência ao transporte. Tais características conferem ao crisântemo um lugar de destaque no mercado, pois é a espécie de maior consumo e de grande interesse econômico.

Do ponto de vista da tecnologia de produção existem muitas lacunas a serem preenchidas no que diz respeito à própria fisiologia dos cultivares, aspectos nutricionais e principalmente em relação aos programas de controle de doenças.

A cultura do crisântemo apresenta várias doenças provocadas por fungos, vírus e bactérias. As doenças chamadas de solo são causadas principalmente por patógenos como *Verticillium* spp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rizoctonia solani* e *Fusarium* spp. sendo esses de difícil controle, especialmente pelas limitações ecológicas no uso de esterilização química. *Fusarium* spp. tem sido responsabilizado pelos baixos rendimentos de muitos produtores da região de Santa Maria, principalmente nos anos de 2001 a 2003. Além do fator quantitativo, o fator qualitativo da produção também é comprometido chegando a inviabilizar a produção de muitos cultivares na área.

A utilização de produtos para o controle químico dessa doença representa uma alternativa extremamente frágil e, dependendo do caso, de alto custo. Além disso, sua eficiência é questionável, pois o fungo permanece no solo por vários anos através das estruturas de resistência, podendo parasitar vários hospedeiros e numa faixa de temperatura razoavelmente ampla. O controle químico também causa grande impacto ambiental principalmente pela forma de aplicação, doses elevadas dos produtos e frequência de aplicação.

O controle de *Fusarium* spp. deve estar baseado na união de estratégias que vão desde o manejo de abertura e fechamento da estufa, até o manejo das condições de solo, a fim de torná-lo supressivo ao patógeno. Segundo Sutton (2000), as estratégias gerais para o controle das podridões de raiz devem visar à redução do inóculo inicial do patógeno no solo, o aumento da supressividade do solo e o estabelecimento e manutenção de uma microflora protetiva na rizosfera, rizoplano e/ou rizosfera.

Nesse contexto, o emprego de *Trichoderma* spp., que é um micoparasita necrotrófico habitante natural da maioria dos solos, representa uma alternativa viável na tentativa de reduzir o inóculo inicial do fungo e posteriormente os danos provocados pelo mesmo.

Existem vários exemplos da aplicação das espécies de *Trichoderma* no biocontrole de fitopatógenos, porém no biocontrole de *Fusarium solani* em crisântemo são necessários estudos para compreender a interação entre o patógeno, o antagonista e a planta sob a influência do ambiente, a fim de otimizar os programas de biocontrole nessa cultura.

Nesse sentido, os objetivos desse trabalho foram:

Capítulo I

1) Determinar a quantidade de inóculo de *Fusarium solani* f. sp. *chrysanthemi* necessária à infecção de crisântemo cv. Calabria.

2) Determinar a forma de inoculação à infecção de *Fusarium solani* f. sp. *chrysanthemi*.

Capítulo II

3) Determinar a eficácia dos pós formulados com os isolados de *Trichoderma virens*, em diferentes doses no biocontrole de *F. solani* f. sp. *chrysanthemi*.

4) Verificar a influência dos diferentes isolados e das doses de *Trichoderma virens* no crescimento de crisântemo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características gerais da floricultura brasileira

A produção e a comercialização em larga escala de flores e plantas no Brasil teve início na década de 50 com os imigrantes portugueses. Na década de 60 os imigrantes japoneses e holandeses contribuíram para ampliar e melhorar a distribuição e a comercialização em todo país (Motos e Oliveira, 1999; Pereira, 2002). Nessa época, a produção era concentrada principalmente no entorno dos grandes centros como, por exemplo, as tradicionais cidades de Atibaia, Holambra e São Paulo e o pólo pioneiro das flores em Pernambuco (Aki & Perosa, 2002).

Recentemente no estudo realizado por Junqueira & Peetz (2002) foram determinados pólos nacionais de produção florícolas com potenciais diferenciados em relação aos produtos a serem exportados, nichos de mercado e estratégias comerciais. O estudo também classificou esses pólos de produção e comercialização de flores em três categorias: **a)** Pólos com inserção definida e estratégias efetivas de crescimento no mercado internacional (São Paulo, Santa Catarina, Pernambuco, Alagoas, Ceará); **b)** Pólos com inserção parcial e em fase de definição de estratégias de crescimento no mercado internacional (Rio Grande do Sul, Minas Gerais e Rio de Janeiro) e **c)** Pólos que tem como objetivo consolidar a floricultura e garantir o auto-abastecimento (Paraná, Goiás, Distrito Federal, Bahia, Espírito Santo, Pará, Amazonas). Em relação às exportações, o Brasil participa com 3% do valor global da floricultura que movimentada em torno de 750 milhões de dólares/ano no país. No estudo realizado por Aki & Perosa (2002), a maior área cultivada é a de mudas e plantas ornamentais com 2.579,4 ha, enquanto que as flores de corte ocupam o segundo lugar com 1.476 ha, com destaque para os cultivos de rosas e crisântemos, os quais são responsáveis por 45% da área total da categoria. Em terceiro lugar, destaca-se o cultivo de plantas envasadas

com 673 ha cultivados, novamente com destaque para os crisântemos, orquídeas e minirosas, esses responsáveis por 35% da área total. Segundo Junqueira & Peetz (2002), a floricultura está distribuída em 304 municípios em diversos Estados, porém São Paulo concentra 60,4% dos floricultores, seguido pelo Paraná (8,8%), Santa Catarina (8,4%), Minas Gerais (6,3%) e Rio Grande do Sul (3,8%).

O cultivo de flores de corte como o crisântemo representa o segundo grupo mais exigente em tecnologia de produção, após o grupo de flores cultivadas em vaso. Nesse sentido, para garantir uma qualidade melhor e, conseqüentemente, um maior rendimento, os cultivos são realizados em estufa (Aki & Perosa, 2002).

A produção de espécies ornamentais em ambientes protegidos requer o uso bastante intensivo de mão-de-obra, acarretando no aumento de oportunidades de emprego tanto para trabalhadores familiares quanto para os trabalhadores contratados. Segundo Kyuna *et al.* (2002) a partir de dados do levantamento IBRAFLORE (2002), a média de trabalhadores na floricultura ficou em 3,7 homens/ha, enquanto a média paulista foi de 3,8 homens/ha. O estudo também revelou que os produtores paulistas que cultivam em áreas de até um hectare utilizam em média 20 homens/ha, demonstrando que as áreas de cultivo menores empregam mais trabalhadores, em função do alto nível de tecnologia utilizado. Exemplo disso, são os ambientes de estufa que proporcionam maior renda por metro quadrado.

2.2 Cultura do crisântemo

O crisântemo (*Dendranthema grandiflora* TZVELEV) é uma planta ornamental comercializada em todo o mundo. Pertencente à família Asteraceae, é uma das flores mais antigas, existindo relatos de seu cultivo a mais de 2000 anos como planta de jardim na Ásia. A palavra crisântemo significa flor dourada, do grego “chrysos”, ouro e “anthemon”, flor. O crisântemo

é considerado a flor nacional do Japão, simbolizando a perfeição e a longevidade (Salinger, 1991; Gruszynski, 2001). O que comumente é considerado como flor no crisântemo corresponde a uma inflorescência em capítulo, na qual a lígula corresponde à flor feminina, que constitui a parte decorativa, enquanto que as flores verdadeiras estão na região central do capítulo e são hermafroditas.

A maioria dos cultivares comerciais é o resultado de processos de hibridação provenientes das espécies *Chrysanthemum indicum* (amarelo único) e *Chrysanthemum morifolium* (cores lilás e rosa) e também as espécies *Chusan Daisy*, as quais possuem coloração desconhecida. O processo de hibridação visa aperfeiçoar os cultivares e a seleção é feita com base na forma e cor da inflorescência, no comportamento dos cultivares, na programação da floração, tolerância a temperaturas baixas e qualidade em pós-colheita (Kofranek, 1992; Schmidt, 2001).

De acordo com Bellé (1998) o gênero *Chrysanthemum* apresenta diferentes finalidades. Crisântemo para corte que pode ser dividido em três categorias: inflorescências gigantes que são cultivares conduzidos com uma única inflorescência; inflorescências médias, geralmente conduzidas com hastes longas, com 4 a 9 flores por haste e inflorescências pequenas que apresentam inúmeras flores por haste e chamados de mini crisântemo. Além dos cultivares de crisântemo para corte existem também os cultivares próprios para vaso e para jardim. Os crisântemos adaptados para vaso apresentam menor vigor e a altura é limitada. Os crisântemos de corte com inflorescências médias e pequenas também podem ser utilizados para vaso, porém os mini crisântemos são mais adaptados. Os crisântemos de jardim são utilizados para confecção de maciços ou tufo coloridos e podem ser constituídos de espécies anuais e perenes.

O crisântemo no Brasil é um produto de ampla aceitação e comercialização principalmente devido à existência de inúmeras variedades com grande diversidade de cores e formas, comportamento fotoperiódico que facilita a programação da produção, possibilidade de cultivo o ano todo em

diversas regiões e também a alta durabilidade das flores pós-colheita (Gruszynski, 2001).

Entre os fatores que mais influenciam o cultivo do crisântemo estão o fotoperíodo, a temperatura e a radiação solar. Em relação à radiação deve-se realizar o cultivo em locais ensolarados evitando o sombreamento excessivo pois esse resulta na produção de hastes muito finas, inflorescências pequenas e menor qualidade do produto (Arbos, 1992; Schmidt, 2001). A temperatura influencia diretamente nos cultivares interferindo, principalmente, no florescimento. Segundo Cathey (1954) citado por Zanchet (2003), os cultivares são divididos em três grupos: os cultivares que florescem em temperaturas noturnas de 10 a 27 °C são chamados de termozero; os termopositivos são aqueles que necessitam de temperaturas noturnas mínimas de 16 °C e os termonegativos que não florescem com temperatura superior a 16°C. Outro fator de extrema importância é o fotoperíodo que corresponde ao número de horas de luz durante as 24 horas, incluindo os períodos de luminosidade matinal e do vespertino capazes de sensibilizar o fitocromo (Bellé, 1998; Zanchet, 2003). O crisântemo é considerado uma planta de dia curto, isso significando que as plantas expostas a um comprimento do dia menor que um valor crítico são induzidas a florescer. Nas condições de cultivo do Brasil, o fotoperíodo de 13 horas de luz é considerado crítico, ou seja, quando são fornecidas mais de 13 horas de luz as plantas permanecem vegetando (Salinger, 1991; Mello, 2003; Zanchet, 2003).

Para favorecer o desenvolvimento das hastes, as plantas devem permanecer sob condições de dia longo até atingirem um tamanho adequado. Geralmente no período inicial são fornecidos de 4 a 6 semanas de dias longos, a fim de promover o crescimento vegetativo e a formação de nós e folhas. Deve-se considerar que os valores de 4 a 6 semanas podem variar de acordo com a época do ano e o cultivar (Bellé, 1998; Zanchet, 2003).

Segundo Gruszynski (2001) o tempo de reação do cultivar é de grande importância para a comercialização, pois representa o período, em semanas, necessário entre o início da indução ao florescimento até o início da abertura

das flores. De acordo com o período de duração entre o início da indução floral e o início do florescimento, os cultivares podem ser agrupados em precoces, médios e tardios. Os cultivares precoces florescem em um período de 7 a 9 semanas, os médios florescem entre dez e doze semanas e os tardios florescem entre treze e quinze semanas (Bellé, 1998).

O manejo adequado dos cultivares, de acordo com suas exigências de fotoperíodo, temperatura, necessidades nutricionais, em conjunto com um programa de controle fitossanitário adequado, são fatores importantes na obtenção de plantas com um bom comprimento de hastes e boa sanidade, características exigidas pelo padrão de qualidade.

IBRAFLOR (2000) estabeleceu para a cultura do crisântemo de corte um padrão de qualidade para comercialização que leva em consideração os aspectos fitossanitários, características da folhagem, ponto de abertura das flores, apresentação dos produtos, comprimento e características das hastes e qualidade da água pós-colheita.

2.3 *Fusarium* spp. em crisântemo

O gênero *Fusarium* é pertencente à subdivisão Deuteromycotina, anamórfico da ordem *Hypocreales* (subdivisão Ascomycotina) que reúne as fases teleomórficas do gênero *Fusarium*, como por exemplo, o gênero *Nectria*.

O gênero *Fusarium* caracteriza-se pela produção de conídios hialinos, septados, em forma de “canao” e chamados de macroconídios. Estes são produzidos nos esporodóquios que são as estruturas de frutificação do fungo. Algumas espécies produzem conídios em micélio aéreo denominados microconídios. Dependendo das condições de ambiente podem ocorrer alternâncias na produção de macro e microconídios (<http://sis.agr.gc.ca/brd/fusarium/intro.html> acesso em 04/03/2002).

As doenças provocadas por *Fusarium* podem estar associadas a “damping-off” (tombamento de mudas), podridões de raiz, murchas vasculares

e podridão de sementes. Além disso, o gênero apresenta algumas espécies que produzem micotoxinas em grãos (Bergamim Filho, 1995).

A murcha causada por *Fusarium* spp. na cultura do crisântemo pode ocasionar perdas bastante significativas, ano após ano, principalmente devido a presença do fungo no material de propagação, a persistência no solo através de clamidósporos (estruturas de resistência) e a dificuldade de controle do fungo quando estabelecido no solo (Imenes & Alexandre, 1996; Horst & Nelson, 1997).

Segundo Gruszynski (2001), o patógeno pode se manifestar de diferentes formas de acordo com os cultivares existentes. O ataque de *Fusarium* nem sempre ocasiona a morte das plantas, provocando, muitas vezes, uma significativa redução no crescimento e ainda, o aparecimento de folhas “queimadas” de cor marrom na parte basal das plantas. Os sintomas da murcha de *Fusarium* também podem variar de acordo com a interação do cultivar com as temperaturas de solo e do ar. Geralmente, os sintomas consistem na clorose da folha, murcha, descoloração vascular, necrose da haste e retardamento do crescimento. Em alguns cultivares os sintomas aparecem no ápice da planta, enquanto que em outros os sintomas aparecem na parte basal progredindo para cima, como é o caso da maioria das murchas causadas por *Fusarium oxysporum* (Horst & Nelson, 1997).

De acordo com Gruszynski (2001) as altas temperaturas no interior das estufas e a ocorrência de umidade no inverno também podem favorecer o desenvolvimento do patógeno e a infecção das hastes, principalmente na fase do florescimento. Segundo Kimati (1997) a doença é favorecida por altas temperaturas, estando o seu ótimo entre 26-28 °C, porém o patógeno apresenta uma alta capacidade de sobrevivência, tolerando temperaturas que variam de 0 a 35°C. Elevados valores de umidade do solo e ferimentos no sistema radicular também facilitam o processo de infecção.

A influência da temperatura do solo e do cultivar na expressão dos sintomas foi evidenciada em experimentos com o cultivar Yellow Delaware. As plantas foram mantidas em temperaturas de solo de 29 a 32°C e exibiram

sintomas iniciais de clorose e torção das folhas, 21 dias após a inoculação, apresentando necrose da medula e murcha após três meses. No entanto, para as plantas cultivadas em temperaturas de 18 a 24°C os sintomas iniciais foram observados entre 4 e 6 semanas após a inoculação, sendo que após 6 meses, a maioria das plantas permaneciam sem sintoma de necrose e murcha. . De modo geral, as temperaturas de solo de 29 a 35°C durante o dia e 24 a 29°C durante a noite, são mais favoráveis para a infecção, colonização e desenvolvimento dos sintomas (Horst & Nelson, 1997).

Segundo Horst & Nelson (1997), quando as estacas de propagação vegetativa são retiradas de plantas contaminadas com *Fusarium*, porém sem sintomas aparentes e cultivadas em condições favoráveis ao patógeno, os cultivares suscetíveis tem seu sistema vascular infectado ocorrendo o entupimento dos vasos condutores, a murcha da planta e, em seguida, o colapso das células e a morte do vegetal. Posteriormente, os restos de cultura contaminados servem de substrato para produção de clamidósporos e micélio vegetativo, os quais servirão como fonte de inóculo para o próximo cultivo, infectando as mudas e o meio de crescimento. Assim, a dispersão de *Fusarium* pode ocorrer via estacas infectadas, que são a fonte principal de inóculo, e o solo infestado que pode ser dispersado pelo equipamento de cultivo e pelo homem e, ainda, servir como substrato para novos cultivos (Horst & Nelson, 1997).

Existem poucas informações sobre a ocorrência de outras espécies de *Fusarium* na cultura do crisântemo, como por exemplo, a espécie *solani*. A ocorrência dessa espécie e outras como *chlamydosporum*, *equiseti*, *moniliforme* var. *intermedium*, *oxysporum* foram relatadas por Ventura (1999).

2.4 *Trichoderma* spp. como agente de biocontrole

Trichoderma spp. é um fungo pertencente à ordem *Hypocreales* que é composta de vários gêneros de importância fitopatológica. Entre os gêneros

que compõem essa ordem encontra-se o gênero *Hypocrea*, fase teleomórfica de *Trichoderma* spp. (Krugner & Bacchi, 1995). Existem várias espécies que são utilizadas com sucesso em programas de biocontrole, principalmente no controle de fungos de solo. Dentre elas destacam-se: *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. aureoviride*, *T. pseudokoningii*, *T. polysporum* (Melo, 1998; Laranjeira, 2001).

As espécies de *Trichoderma* podem atuar a partir de um ou mais mecanismos de ação. Os mecanismos envolvidos no biocontrole são antibiose, parasitismo, competição e em alguns casos promoção de crescimento em plantas. Algumas espécies são capazes de produzir enzimas líticas que degradam a parede celular de vários fungos, como por exemplo, quitinases, proteases, celulasas, β -1,3-D-glucanases e β -1,4-D-glucosidase e outras (Melo, 1996; Laranjeira, 2001).

Desde a proibição do uso do brometo de metila, houve um aumento significativo na procura de produtos e tecnologias que reduzissem os problemas causados pelos patógenos de solo. Nesse contexto, a utilização de *Trichoderma* tem merecido considerável destaque nos programas de biocontrole por ser um micoparasita presente em quase todos os tipos de solo, de fácil isolamento e propagação em laboratório. Existe ainda a possibilidade de produzir formulações a um custo razoavelmente baixo, com boa capacidade de armazenamento, e facilitando a sua comercialização. Além disso, as formulações apresentam a vantagem de serem inócuas aos seres humanos e ao ambiente (Patricio *et al.*, 2001). Existem vários exemplos da utilização de *Trichoderma* spp. nas mais diversas culturas, como no biocontrole de *Phythium* spp. em plantas de ervilha e pepineiro, *Rizoctonia solani* a a partir da utilização de *Trichoderma hamatum* em sementes de rabanete (Patricio *et al.*, 2001) e de feijoeiro (Reis *et al.* 1995). Nesse trabalho, foram selecionados três isolados que reduziram a incidência de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* entre 45 e 55%, superando o fungicida Benomyl® no tratamento de sementes de feijoeiro. Ainda, Sutton (2000) demonstrou a eficácia de *Trichoderma harzianum* (T-22)

no pré-plantio de mudas de morangueiro como protetor de plantas em solos infestados com *Verticillium* e *Phytophthora*.

Em espécies ornamentais, existem alguns trabalhos que relatam a eficácia da utilização de *Trichoderma*. Em plantas de crisântemo, a aplicação preventiva de isolados de *Trichoderma* em substrato autoclavado reduziu a incidência de *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi* favorecendo o crescimento das plantas (Menezes, 2003). Vinte e dois isolados de fungos de solo, a maioria isolados de *Trichoderma* spp, foram avaliados no controle da murcha de *Fusarium* em estacas de crisântemo cv. Yellow Delaware (Locke *et al.*, 1985).

Além dos exemplos citados acima, existem diversos trabalhos que relatam a importância desse fungo, pois suas características permitem uma ampla utilização como, por exemplo, aplicação de suspensões no filoplano, tratamento de frutos pós-colheita. Pulverizações com suspensões de esporos de *Trichoderma stromaticum* reduziram em 99,7% a formação de basidiomas de *Crinipelis pernicioso* em serrapilheira e 56,6% das vassouras presentes nas copas dos cacauzeiros Costa *et al.* (2001). Três isolados de *Trichoderma* spp. foram utilizados visando retardar a maturação e diminuir o aparecimento de doenças em frutos de mamoeiro, sendo verificado que os tratamentos com o antagonista apresentaram menor incidência de *Colletotrichum* spp. quando comparados com o tratamento com solução de aminociclopropano-1- ácido carboxílico (ACC) e o tratamento controle Lucon *et al.* (2001).

O sucesso da utilização de *Trichoderma* spp. em inúmeros programas de biocontrole de doenças, principalmente aquelas provocadas por fungos de solo e a vantagem de ser inócuo aos seres humanos e animais, entre outros fatores, tem proporcionado a crescente comercialização de produtos biológicos a base do antagonista. Atualmente no mercado existem vários produtos comerciais formulados a partir de *Trichoderma* spp. tanto em nível regional quanto nacional e internacional, como por exemplo, Trichodex[®], Trichobiol[®], Biotrich[®], Agrotrich[®], Biomix[®] e vários outros, sendo que a maioria das formulações é comercializada na forma de pó contendo o inóculo do fungo.

3 CAPÍTULO I

QUANTIDADE DE INÓCULO E FORMAS DE INOCULAÇÃO DE
Fusarium solani f. sp. *chrysanthemi* NECESSÁRIAS À INFECÇÃO
DE PLANTAS DE CRISÂNTEMO cv. Calabria

RESUMO

Os danos causados por *Fusarium* spp representam grandes prejuízos na produção de crisântemo, mas pouco se sabe sobre a influência da quantidade de inoculo e da forma de inoculação na taxa de infecção do patógeno na cultura. Para conhecer melhor a biologia da doença, nesse capítulo foram desenvolvidos dois experimentos. No primeiro experimento foram aplicados dois fatores: tratamento de solo (solo autoclavado e não autoclavado) e quantidades de inóculo de *F. solani* f. sp. *chrysanthemi* de (0, 2, 4, 6, 8g), num delineamento inteiramente casualizado com dez repetições. No segundo experimento também foram aplicados dois fatores: dano nas raízes das mudas (com e sem dano) e formas de inoculação (infestação de substrato e imersão de raízes em suspensão do patógeno) com seis repetições cada tratamento. Os resultados do primeiro experimento demonstram que para a variável massa seca da parte aérea houve diferença significativa entre os fatores testados. No solo autoclavado, a massa seca de parte aérea foi superior a do solo não autoclavado, no qual a quantidade de inóculo de 6g de *Fusarium* proporcionou o menor crescimento das plantas e a menor massa seca. No solo não autoclavado houve uma tendência linear de aumento da massa seca com o aumento das quantidades de inóculo. Para a variável massa seca de raiz, somente o fator tratamento de solo foi significativo, no qual as plantas do solo autoclavado, obtiveram as melhores médias. Embora não tenham sido detectados sintomas visíveis da doença durante a condução do experimento, quando os fragmentos das hastes foram plaqueados em meio de cultura foi constatada a presença de *Fusarium* em todos os tratamentos aplicados. No segundo experimento, as mudas que receberam o dano nas raízes apresentaram menor altura, menor massa seca de parte aérea e raiz e também menor número de botões por planta, quando comparados com as plantas que não receberam o dano. Quanto à forma de inoculação, a infestação de solo e a imersão de raízes não diferiram entre si, mas diferiram significativamente da testemunha, que apresentou a maior massa seca de parte aérea e raiz. O

tratamento de imersão de raízes mostrou o menor número de botões por planta enquanto a infestação de solo não diferiu da testemunha. A incidência de sintomas da murcha de *Fusarium* nas plantas foi de 8,33% nos tratamentos com imersão de raízes, porém quando os fragmentos das hastes foram plaqueados em meio de cultura, foi constatada a presença do fungo em todos os tratamentos testados.

Palavras-chave: infestação de solo, imersão de raízes, Murcha de *Fusarium*, *Dendranthema grandiflora*.

3.1 Introdução

A doença Murcha de *Fusarium* em crisântemo é causada mais comumente por *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi*, porém também pode ser causada por outras espécies desse fungo, como por exemplo, *F. solani*.

Os sintomas típicos causados por *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi* em crisântemo, segundo Gruszynski (2001), manifestam-se de forma diferente dependendo do cultivar, muitas vezes não levando as plantas à morte. Em alguns cultivares, o fungo provoca uma redução no crescimento e aparecimento de folhas de cor marrom na base das plantas e outros.

Existem poucas informações a respeito da quantidade de inóculo e a forma de inoculação mais eficiente na manifestação da doença, principalmente sobre a espécie *solani* no crisântemo. Em outras culturas, alguns trabalhos relatam a utilização de metodologias de inoculação e quantidades de inóculo de *Fusarium* spp., a fim de se obter a expressão da doença nas plantas e/ou quantificar níveis de resistência nas plantas. No trabalho realizado por Gasperi (2000) com a espécie *solani*, na cultura da soja, testando a reação de cultivares de soja à podridão vermelha da raiz, foram utilizados dois métodos de inoculação: o método do palito e o método do grão de sorgo. Ambos os métodos de inoculação foram eficientes em facilitar a infecção das plantas,

porém só no método do palito foi possível reproduzir os sintomas aéreos da doença.

A virulência dos isolados de *Fusarium solani* f. sp. *eumartii* foi avaliada por Lima & Lopes (1998) em brotos enraizados de batata. Os brotos foram inoculados através da imersão das raízes em suspensões de esporos (1×10^7 conídios/mL) e plantio em solo autoclavado e infestado. A inoculação do fungo via imersão de raízes em suspensão de esporos resultou em sintomas mais severos do que o plantio em solo infestado com sementes de trigo colonizadas.

No trabalho realizado por Menezes (2003), foram inoculados quinze cultivares de crisântemo através do método do palito a fim de verificar a reação dos cultivares. Aos vinte e cinco dias após a inoculação, todos os cultivares apresentaram os sintomas da murcha de *Fusarium* em diferentes graus de severidade.

Os experimentos foram conduzidos com o objetivo de determinar a quantidade de inóculo e a forma de inoculação de *Fusarium solani* necessárias à infecção das plantas de crisântemo cv. Calabria.

3.2 Experimento I – Quantidade de inóculo de *Fusarium solani* f. sp. *chrysanthemi* necessária à infecção de plantas de crisântemo.

3.2.1 Material e Métodos

3.2.1.1 Local do experimento e análise estatística

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Fitopatologia e Estufa do Departamento de Defesa Fitossanitária pertencentes ao Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria.

Foi utilizado um esquema fatorial 2X5 (solo autoclavado e não autoclavado e quantidade de inóculo *Fusarium solani* f.sp. *chrysanthemi* de 0, 2, 4, 6 e 8g), com delineamento inteiramente casualizado com dez repetições,

sendo que cada planta constituiu uma unidade experimental. Os dados obtidos no experimento foram analisados no programa estatístico SAS (SAS Institute, 1996) através da análise da variância que foi realizada aplicando-se o teste F e, quando este foi significativo, a comparação de médias foi feita através do teste de Tukey a 5% de significância, para comparação do solo autoclavado e não autoclavado. Foi realizada análise de regressão a partir do método dos polinômios ortogonais, para comparação das quantidades de inóculo de *Fusarium* utilizadas.

3.2.1.2 Isolamento e cultivo do fitopatógeno

O fitopatógeno *Fusarium solani* f.sp. *chrysanthemi* foi isolado de plantas de crisântemo cv. Calabria com sintomas típicos aos descritos por Horst & Nelson (1997) como sendo os sintomas típicos da murcha causada por *F. oxysporum* f. sp. *chrysanthemi*.

As plantas com sintomas foram coletadas em uma estufa de cultivo pertencente a um produtor da região de Santa Maria e armazenadas em sacos de papel. No laboratório, foram separadas as hastes da parte aérea retirando-se pedaços de 1cm do colo das hastes. Posteriormente, foi feita assepsia externa dos pedaços das hastes através da imersão em álcool (70%), hipoclorito de sódio NaClO (0,5%), e três imersões por 30 segundos em água destilada estéril. Em seguida, os pedaços foram secados com papel filtro esterilizado, colocados em meio de cultura Nash Snyder modificado (NSM) (20 g de ágar, 15g de peptona, 1g de KH₂PO₄, 0,5g de MgSO₄.7H₂O, 2,4g de pentacloronitrobenzeno – PCNB 75% PM) (Nelson *et al.*, 1983) e 1mL de cloranfenicol para cada 200 mL de meio, e incubados a 24°C e fotoperíodo de 12 horas durante sete dias. O fitopatógeno foi repicado até a obtenção de cultura pura.

3.2.1.3 Identificação do fitopatógeno

O patógeno foi identificado pelo Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI) da UFSM. Para melhor visualização das estruturas, o fungo foi cultivado em meio de cultura CLA (folhas de cravo, ágar e água) (Nelson *et al.*, 1983) e a identificação feita a partir da observação da morfologia e coloração das estruturas do fungo com auxílio de microscopia ótica.

3.2.1.4 Multiplicação e cultivo do inóculo do fitopatógeno

O inóculo de *Fusarium* foi multiplicado sobre sementes de sorgo autoclavadas. As sementes de sorgo (200g) foram embebidas em água destilada durante duas horas em erlenmeyers de 500mL, eliminado o excesso de água dos erlenmeyers e realizadas duas autoclavagens a 121°C durante 20 minutos cada uma. O patógeno foi inoculado quando o sorgo encontrava-se em temperatura ambiente, colocando-se cinco discos de 3mm de micélio do fungo cultivado em NSM em cada erlenmeyer. Os erlenmeyers foram deixados durante vinte dias em temperatura ambiente para crescimento do fungo.

3.2.1.5 Obtenção e enraizamento das mudas de crisântemo cv. Calabria

Para a realização do experimento foram adquiridas mudas não enraizadas da Empresa Brasil Flor Mudas de Crisântemos - São Paulo, previamente tratadas com AIB (Ácido Indol Butírico).

As mudas de crisântemo foram enraizadas em bandejas de plástico contendo casca de arroz carbonizada como substrato. As bandejas foram colocadas numa estante coberta com plástico para evitar a perda de umidade das mudas.

As bandejas foram mantidas em câmara de crescimento com temperatura de 21°C, umidade relativa média de 80% e fotoperíodo simulando dia longo (acima de 13 horas de luz), obtido através de 10 lâmpadas fluorescentes e uma incandescente. Durante o período, as plantas foram borrifadas com água 2 vezes por semana ou conforme a necessidade. As mudas assim permaneceram enraizando por um período de vinte dias.

3.2.1.6 Isolamento e identificação das espécies de *Fusarium* do solo

Para conhecer as espécies de *Fusarium* presentes no solo, 2g do solo de estufa utilizado no experimento foram coletados e colocados em um frasco contendo 100 mL de água destilada estéril. O frasco foi colocado num agitador mecânico por 30 minutos. A partir dessa suspensão, foram feitas diluições de 10, 20, 50, 100 vezes. De cada diluição, uma alíquota de 1 mL foi espalhada em placas de Petri contendo meio NSM e incubadas por 5 dias a 25°C (Cho *et al.*, 2001; Freitas, 2003). As espécies encontradas foram repicadas até a obtenção de cultura pura e, posteriormente, identificadas.

3.2.1.7 Inoculação do fitopatógeno

Solo proveniente de estufa de cultivo de crisântemo do Departamento de Fitotecnia da UFSM foi peneirado e a metade colocada em tubos metálicos e autoclavada a 121°C por 40 minutos, enquanto a outra metade foi apenas peneirada. Amostras do solo autoclavado e não autoclavado foram retiradas e encaminhadas ao laboratório de solos da UFSM para análise química.

Anteriormente à colocação do inóculo de *Fusarium* no solo, foi realizada a contagem de conídios a partir de uma concentração de esporos medida com auxílio da câmara de Neubauer. As quantidades do inóculo de *Fusarium* de 2g, 4g, 6g e 8g apresentaram, após a contagem, concentrações de $1,33 \times 10^7$; $1,18$

$\times 10^7$; $1,20 \times 10^7$ e $0,94 \times 10^7$ conídios/g, respectivamente. As quantidades de inóculo de *Fusarium* foram colocadas no sulco um dia antes do transplante das mudas, nos solos autoclavado e não autoclavado, em saquinhos plásticos contendo 600 g de solo. Após o transplante, os saquinhos plásticos com as plantas permaneceram num sistema de subirrigação no interior de uma estufa plástica. Quinze dias após o transplante, foram realizadas fertirrigações semanais, com solução nutritiva constituída de 2 mL de Greenzit[®], 2 mL FeEDTA, 1,3 g de fosfato monoamônico (MAP), 27,3 g de KNO₃, 15 g de CaNO₃ e 1,5 g de MgSO₄ em 60 litros de água. As plantas foram irrigadas uma vez ao dia durante todo o experimento. Para o controle de pulgões, foram feitas duas aplicações do ingrediente ativo deltamethrina na proporção de 1 mL do produto para 1 L de água.

3.2.1.8 Avaliações do experimento

As plantas de crisântemo permaneceram na estufa de cultivo por um período de 60 dias. O início do experimento foi em 21/12/2002 e o término foi em 21/02/2003. Foram avaliados os seguintes parâmetros: massa seca de parte aérea (g), massa seca de raiz (g) e incidência de *Fusarium* spp. nos fragmentos das hastes. A massa seca de parte aérea e raiz foram obtidas a partir da pesagem das plantas após secagem por 96 horas a 40°C. A avaliação da incidência de *Fusarium* spp. foi feita a partir da contagem dos fragmentos das hastes que continham as estruturas do fungo, uma vez que a doença não desenvolveu sintomas visíveis em casa de vegetação. Foram retirados pedaços de aproximadamente 1 centímetro do colo das hastes, sendo realizada assepsia externa através da imersão dos fragmentos em álcool 70%, hipoclorito de sódio 0,5% e três vezes em água destilada estéril por 30 segundos. Os fragmentos foram secados em papel filtro e colocados em meio de cultura NSM por sete dias a 25°C, quando foi realizada a contagem dos fragmentos com a presença do fungo.

3.2.2 Resultados e Discussão

A análise da variância (Anexo E) mostra que para a variável massa seca de parte aérea houve interação significativa entre os fatores testados, autoclavagem de solo e quantidades de inóculo de *F. solani* f. sp. *chrysanthemi*.

Os resultados da aplicação do teste de Tukey são mostrados na Tabela 1. Observa-se que, para todas as quantidades de inoculo testadas, houve diferença significativa de massa seca de parte aérea entre solo autoclavado e solo não-autoclavado. A maior massa seca foi obtida para as plantas crescidas em condições de autoclavagem prévia de solo.

TABELA 1. Massa seca da parte aérea de crisântemo (g/planta) para o fator autoclavagem de solo dentro de cada nível do fator quantidade de inóculo de *F. solani* f.sp. *chrysanthemi*. Santa Maria – RS, 2003.

Tratamentos	Quantidade de inóculo (g)				
	0	2	4	6	8
Solo autoclavado	7,01 a *	6,89 a	5,90 a	5,60 a	6,26 a
Solo não-autoclavado	2,29 b	2,36 b	2,60 b	2,56 b	2,87 b

*Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si pelo Teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro.

Semelhante aos dados obtidos para a variável massa seca de parte aérea, no trabalho desenvolvido por Ethur (2001) a altura das plantas de pepineiro foi superior em plantas cultivadas em solo autoclavado que em solo não autoclavado. Menezes (2003) verificou um aumento no número de folhas e no comprimento das raízes de crisântemo cv. calabria, quando as plantas foram mantidas em substrato autoclavado.

Em relação à ocorrência do patógeno nas hastes das plantas, os resultados contrariam os obtidos por Ghini & Bettiol (1995), que afirmam que em substratos autoclavados deveria ocorrer a redução da população de antagonistas como resultado do tratamento térmico e a rápida disseminação do

patógeno. No entanto, os resultados obtidos estão de acordo com os obtidos por Ethur (2001) que não observou tombamento de mudas de pepineiro em substrato autoclavado infestado com *Sclerotinia sclerotiorum*. Da mesma forma, Menezes (2003) observou que a murcha causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *chrysanthemi*, em plantas de crisântemo, foi superior em solo não autoclavado em relação ao autoclavado (42% e 25%, respectivamente).

Segundo Homechin (1982) a biomassa do patógeno disponível para infecção tem a tendência de diminuir mais rapidamente em solo natural do que em solo estéril devido a vários estresses sofridos pelo patógeno. No entanto, o processo de esterilização de solo, além de eliminar microrganismos antagonistas, pode liberar íons em níveis tóxicos ao patógeno.

No presente trabalho foram realizadas análises do solo não autoclavado e do solo autoclavado (Anexo D). A análise do solo autoclavado apontou um aumento nos teores de Fe e Mn, em relação ao solo não autoclavado, provavelmente devido à liberação desses íons da fração argila em função do aquecimento do solo provocado pela autoclavagem. O aumento dos teores desses elementos, pode ter influenciado negativamente no crescimento e disseminação do patógeno, sem influenciar no crescimento das plantas de crisântemo, pois as maiores médias de massa seca de parte aérea foram obtidas no solo autoclavado, em todas as dosagens testadas. O aumento nos teores de Fe em solo autoclavado também foi verificado por Menezes (2003).

Mesmo sem a ocorrência de sintomas típicos da doença, para a variável massa seca de parte aérea em solo autoclavado, foi possível obter um melhor ajuste da equação, facilitando o cálculo do ponto de mínima eficiência técnica que correspondeu a quantidade de 6,03 g ($1,2 \times 10^7$ conídios/g) sendo considerada a quantidade necessária à infecção das plantas de crisântemo (Figura 1). O cálculo do ponto de mínima eficiência técnica não foi possível ser realizado no solo não autoclavado, pois houve uma tendência linear de aumento da massa seca da parte aérea conforme o aumento das quantidades de inóculo de *F. solani* f.sp. *chrysanthemi*. Esse comportamento pode ser explicado pela interferência negativa que o inóculo de *Fusarium* deve ter

sofrido devido à competição com as espécies *Fusarium* nativos do solo e estresses abióticos. Foram encontradas na diluição do solo de estufa cinco espécies de *Fusarium*: *F. nygamai*, *F. acuminatum*, *F. sambucinum*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*.

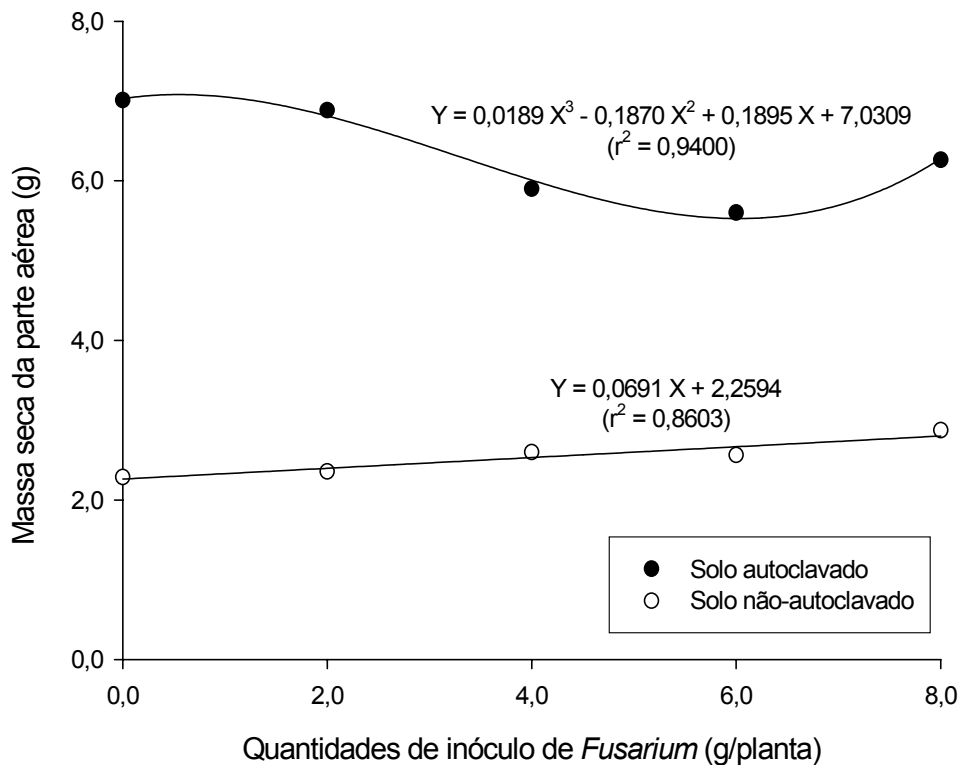


FIGURA 1. Massa seca da parte aérea de crisântemo (g/planta) em solo autoclavado e não autoclavado submetido a diferentes quantidades de inóculo de *F. solani* f. sp. *chrysanthemi*. Santa Maria – RS, 2003.

Para a variável massa seca de raiz (Anexo F) não houve interação significativa entre os fatores testados. Somente para o fator autoclavagem do solo houve diferença estatística entre os tratamentos aplicados, sendo as maiores médias observadas no solo autoclavado, possivelmente pelas mesmas razões apresentadas para maior massa seca de parte aérea (Tabela 2).

Embora durante o experimento não tenham sido detectados os sintomas da murcha de *Fusarium* nas plantas de crisântemo, quando as hastes foram

plaqueadas em meio de cultura foi detectada a presença do fungo em todos os tratamentos realizados, inclusive no tratamento testemunha em solo autoclavado e não autoclavado. A presença das estruturas do patógeno nos fragmentos das hastes do solo autoclavado foi de 60% no tratamento testemunha e 100% nos outros tratamentos. No solo não autoclavado, a incidência do fungo foi de 100% em todos os tratamentos. A contaminação dos tratamentos testemunha pode ter sido causada pelos respingos de água com esporos do fungo provenientes de outros tratamentos e pelas espécies de *Fusarium* presentes no solo.

TABELA 2. Massa seca da raiz de crisântemo (g/planta) para o fator autoclavagem do solo. Santa Maria – RS, 2003.

Tratamentos	Massa seca de raiz (g)
Solo autoclavado	4,985 a*
Solo não-autoclavado	1,576 b

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro.

A ausência de sintomas visíveis na planta pode ter ocorrido em função das condições adversas como, por exemplo, baixa umidade do solo no momento da infecção, alta frequência de molhamento e secamento do solo, e competição com as espécies de fungos encontradas no solo. A média de temperatura e umidade relativa observadas de 30°C e 70%, respectivamente (Anexo A), possivelmente tenha influenciado no conteúdo de umidade do solo provocando o estresse dos propágulos do fungo.

Semelhante aos dados obtidos acima, em trabalho desenvolvido por Balardin (2001) com 174 germoplasmas de soja, não foi observada a expressão dos sintomas foliares da podridão vermelha da raiz causada por *F. solani* f. sp. *glycyne*, porém quando os segmentos do colo das hastes foram plaqueados em meio de cultura foi verificado o crescimento micelial do fungo, sugerindo que pode ter havido a infecção das plantas pelo patógeno, porém

sem a expressão foliar da doença. Segundo Njiti *et al.* (1997) a ocorrência dos sintomas de *Fusarium* na parte aérea de plantas de soja, após o início do período reprodutivo, pode ser devido à ocorrência de um determinado nível de severidade da doença no sistema radicular, que uma vez excedido, levaria ao surgimento dos sintomas foliares.

3.3 Experimento II - Formas de inoculação de *Fusarium solani* f. sp. *chrysanthemi* em crisântemo

3.3.1 Material e Métodos

3.3.1.1 Local do experimento e análise estatística

O experimento foi realizado no laboratório de Fitopatologia e câmara de crescimento do Departamento de Defesa Fitossanitária do CCR/UFSM, em um esquema fatorial 2X2: danos nas raízes das mudas (com dano e sem dano) e formas de inoculação de *Fusarium* (infestação de substrato e imersão de raízes). O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis repetições, sendo que cada planta de crisântemo constituiu uma unidade experimental. Os dados obtidos no experimento foram analisados no programa estatístico (SAS Institute, 1996) através da análise da variância que foi realizada aplicando-se o teste F, e quando este foi significativo, a comparação de médias feita através do teste de Tukey a 5% de significância.

3.3.1.2 Multiplicação e cultivo do inóculo do fitopatógeno

O micélio de *Fusarium* presente nos fragmentos das hastes que foram plaqueadas no experimento anterior, foi repicado até a obtenção de cultura pura em placas de Petri contendo meio de cultura NSM (Nash Snyder

Modificado) (Nelson *et al.*, 1983) e cloranfenicol (1 mL em 200 mL de meio). As placas foram incubadas a 25°C e fotoperíodo de 12 horas, por 7 dias. Após esse período, foram retirados 5 discos de 3 mm do meio de cultura contendo micélio do fungo e colocados para crescer em erlenmeyers contendo quirela de arroz esterilizada, permanecendo durante 20 dias em temperatura ambiente. Para a preparação do meio de crescimento, 100 g de quirela de arroz foram colocados em erlenmeyers contendo 80 mL de água e esterilizados a 121°C por 40 minutos. A substituição das sementes de sorgo pela quirela de arroz, foi devido à dificuldade de obtenção de sementes de sorgos sem tratamento químico.

3.3.1.3 Obtenção das mudas de crisântemo cv. Calabria

As mudas não enraizadas previamente tratadas com AIB (Ácido Indol Butírico) foram adquiridas da Empresa Ricaflor Mudas de Crisântemo - São Paulo. O enraizamento das mudas foi realizado em casca de arroz carbonizada da mesma forma que no experimento anterior.

3.3.1.4 Inoculação do fitopatógeno

Para imersão das raízes e infestação do substrato com *Fusarium*, foi utilizada a quantidade de inóculo de 6 g ($1,2 \times 10^7$ conídios/g), selecionada no experimento anterior. Antes de serem aplicados os tratamentos, todas as raízes das mudas foram lavadas com água corrente para eliminar a casca de arroz proveniente do enraizamento. Foram utilizadas 36 mudas que foram divididas em duas partes. Numa dessas partes foram feitos danos em todas as raízes através do corte de aproximadamente 1 cm da extremidade, com auxílio de uma tesoura. Uma parcela das mudas cortadas foi transplantada para saquinhos plásticos contendo 6 g do inóculo de *Fusarium* e 600 g do substrato

Plantmax®, incluindo o tratamento testemunha com corte nas raízes. A outra parcela, exceto o tratamento testemunha, foi imersa por 1 hora numa suspensão contendo 72 g do inóculo de *Fusarium* para 1 litro de água destilada estéril e agitada durante 2 minutos, antes de ser transplantada para o substrato. As plantas do tratamento testemunha foram imersas, antes do transplante, por 1 hora em água destilada. Os mesmos procedimentos foram realizados para o restante das mudas que não receberam o dano nas raízes.

Após receberem os tratamentos, as plantas foram mantidas em câmara de crescimento por 60 dias numa temperatura de 21 °C e fotoperíodo acima de 13 horas de luz. Durante esse período, as plantas receberam água duas vezes por semana e uma aplicação de inseticida à base de deltametrina na proporção de 1mL do produto para cada litro de água para o controle de pulgões.

3.3.1.5 Avaliações do experimento

As plantas foram mantidas em câmara de crescimento por 80 dias. Nos primeiros 20 dias, foi realizado o enraizamento das mudas. O início do experimento se deu em 29/09/2003, e o término foi em 29/11/2003. Após este período, foram feitas as seguintes avaliações: altura de planta (cm), massa seca de parte aérea (g), massa seca de raiz (g), número de botões por planta, incidência de *Fusarium* nas plantas e incidência de *Fusarium* nos fragmentos das hastes.

A altura das plantas foi obtida com auxílio de uma régua e a massa seca da parte aérea e da raiz foram obtidas com a pesagem das plantas após a secagem a 40°C por 96 horas. A incidência foi determinada pela contagem dos fragmentos das hastes com estruturas características de *Fusarium*, conforme descrito no experimento I.

3.3.2 Resultados e Discussão

Não foi observada interação significativa entre os fatores testados, apenas diferença estatística entre os tratamentos aplicados.

Na comparação de médias do fator dano na raiz, para as variáveis altura de planta, massa seca de parte aérea e raiz, e número de botões por planta, as mudas que não receberam dano apresentaram médias superiores aquelas que receberam o dano (Tabela 3).

TABELA 3. Altura de planta (cm), massa seca de parte aérea (g), massa seca de raiz (g), número de botões florais por planta para o fator existência de dano na raiz de crisântemo. Santa Maria - RS, 2003.

Dano na raiz	Altura de planta (cm)	Massa seca da parte aérea (g)	Massa seca de raiz (g)	N° de botões por planta
Sem dano	41,56 a*	1,97 A	0,206 a	8,06 a
Com dano	36,06 b	1,56 b	0,157 b	5,83 b

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro.

A existência do dano nas raízes pode reduzir o crescimento das plantas, pois prejudica a absorção de água e nutrientes, interfere na síntese de proteínas e outros compostos necessários ao desenvolvimento. Além disso, o dano pode prejudicar o potencial produtivo da planta, pois o gasto energético para a recuperação dos tecidos pode resultar na redução da produção. A ocorrência de danos nas raízes também pode favorecer a infecção de fungos, nesse caso, *Fusarium*. No presente trabalho, as plantas que receberam o dano na raiz apresentaram menor desenvolvimento.

Quanto à forma de inoculação de *F. solani* f. sp. *chrysanthemi*, tanto a infestação de solo quanto a imersão de raízes reduziram significativamente a altura de plantas, a massa seca de parte aérea e raiz, apresentando médias inferiores ao tratamento testemunha, porém não diferindo estatisticamente entre si. Quanto ao número de botões por planta, não houve diferença entre o

tratamento infestação de solo e o tratamento testemunha. No tratamento imersão de raízes foram observadas as menores médias, as quais não diferiram do tratamento infestação de solo, diferindo apenas do tratamento testemunha, que obteve as maiores médias (Tabela 4).

Os resultados observados para as variáveis altura de planta, massa seca de parte aérea e raiz demonstraram que não houve diferença significativa quanto a forma de inoculação. Possivelmente, no presente trabalho, não tenha ocorrido diferença significativa entre as formas de inoculação para estas variáveis, pois a temperatura média de 21°C durante o experimento, foi insuficiente para promover a morte das plantas no período do experimento, ocorrendo apenas à incubação do patógeno, provocando redução no crescimento.

TABELA 4. Médias de altura de planta (cm), massa seca da parte aérea (g), massa seca de raiz (g) e número de botões por planta de crisântemo para o fator forma de inoculação. Santa Maria - RS, 2003.

Formas de inoculação	Altura de planta (cm)	Massa seca da parte aérea (g)	Massa seca de raiz (g)	Nº de botões por planta
Sem Fusarium	43,54 a*	2,24 a	0,253 a	8,92 a
Infestação de solo	37,54 b	1,65 b	0,170 b	6,83 a b
Imersão de raízes	35,33 b	1,40 b	0,120 b	5,08 b

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro.

No trabalho realizado por Rocha Júnior *et al.* (1998) foi testada a reação de 27 cultivares e 142 linhagens de feijão a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, inoculando o patógeno através da imersão do sistema radicular com as extremidades cortadas em suspensão de conídios. Após trinta dias, foi possível diferenciar os cultivares quanto à reação ao patógeno, mostrando que esse método foi eficiente na avaliação das plantas de feijoeiro. No presente trabalho, a presença dos sintomas na parte aérea e no colo das hastes foi verificada aos 40 dias após a inoculação em três plantas do tratamento imersão

de raízes, totalizando 8,33% de incidência da doença. Foi verificado um amarelecimento e lesões necróticas nas folhas basais, redução do crescimento das plantas, má formação do botão floral e escurecimento dos vasos condutores das hastes (Figura 2). Nessas condições, o tratamento de imersão de raízes em suspensão de *Fusarium* facilitou a infecção pelo fungo e a expressão dos sintomas foliares. Esses resultados estão de acordo com os observados por Horst e Nelson (1997) para plantas de crisântemo cv. Yellow Delaware mantidas em temperaturas de 18 a 24°C, nas quais os sintomas iniciais foram observados entre 4 e 6 semanas após a inoculação.



FIGURA 2. Sintoma de escurecimento da haste causada por *Fusarium*. Santa Maria – RS, 2003.

Sessenta dias após a inoculação, no momento da avaliação, foi constatada a presença de lesões de cor escura avermelhada na porção externa das hastes, na região do colo da planta, em todos os tratamentos (Tabela 5, Figura 3). Quando os fragmentos das hastes foram plaqueados em meio de

cultura foi constatada a presença de *Fusarium* em todos os tratamentos, inclusive no tratamento testemunha com e sem dano nas raízes, de 66,6% e 33,3%, respectivamente, enquanto que nos outros tratamentos a incidência do fungo foi de 100%. A presença das estruturas de *Fusarium* no tratamento testemunha pode ter sido causada pela contaminação do substrato utilizado.

TABELA 5. Percentagem de plantas de crisântemo com sintomas de *Fusarium* nas hastes, 60 dias após a inoculação. Santa Maria – RS, 2003.

Dano nas raízes	Formas de Inoculação	% de plantas com os sintomas
Sem dano	Testemunha	50
	Infestação de solo	66
	Imersão de raízes	83
Com dano	Testemunha	66
	Infestação de solo	83
	Imersão de raízes	100



FIGURA 3. Escurecimento da haste de crisântemo com dano nas raízes cultivado em solo infestado com *Fusarium*. Santa Maria – RS, 2003.

4 CAPÍTULO II

ISOLADOS E DOSES DE PÓS DE
Trichoderma virens NO CONTROLE DE *Fusarium solani* f. sp.
chrysanthemi E SUA INFLUÊNCIA NO CRESCIMENTO
DO CRISÂNTEMO cv. Calabria

RESUMO

Com o objetivo de verificar a dose de pó biológico contendo inóculo de *Trichoderma virens* necessária para o controle de *Fusarium solani* f. sp. *chrysanthemi* e sua influência no crescimento de plantas de crisântemo cv. Calabria, foram desenvolvidos dois experimentos utilizando-se diferentes doses de inóculo de *Trichoderma virens* (0, 2, 4, 6 e 8 g) e diferentes isolados (TE8, TH1, TH10, TH12, TH15e TH17), compondo um fatorial 5x6. No primeiro experimento, *Fusarium solani* f. sp. *chrysanthemi* foi inoculado utilizando-se 6g/600g de solo, dois dias antes do transplante das mudas e um dia antes da inoculação com os pós de *Trichoderma*. Tanto o patógeno quanto o antagonista foram inoculados via infestação do solo. As mudas de crisântemo foram mantidas em casa de vegetação durante 80 dias e avaliadas quanto à altura, massa seca de parte aérea e raiz, e presença de sintomas da murcha de *Fusarium*. O tratamento com o isolado TH12 apresentou os menores valores de altura de plantas e não houve diferença entre o tratamento testemunha e os demais isolados. O crescimento das plantas foi influenciado pela dose de inóculo dos pós de *T. virens* utilizada, sendo que as doses de 4 e 6 g promoveram as menores altura e massa seca de parte aérea, respectivamente. O tratamento testemunha (0 g) mostrou os maiores valores para o desenvolvimento das plantas e para a massa seca de parte aérea. Para a variável massa seca de raiz não houve diferença estatística entre os tratamentos estudados. Quanto à presença de *Fusarium* nos fragmentos das hastes todos os tratamentos apresentaram estruturas de *Fusarium solani* f. sp. *chrysanthemi*, porém as plantas não apresentaram sintomas da murcha. No segundo experimento, não houve diferença significativa entre os isolados, apenas para as doses dos pós contendo inóculo de *T. virens*, onde o tratamento testemunha (0 g) mostrou os melhores resultados de crescimento das plantas de crisântemo. Nas condições em que os experimentos foram realizados, a utilização dos pós contendo inóculo de *T. virens* interferiu negativamente no crescimento das plantas de crisântemo.

Palavras chave: controle biológico, dosagens, *Dendranthema grandiflora*.

4.1 Introdução

A utilização de *Trichoderma* para o controle de fungos de solo tem sido uma prática bastante difundida nos programas de biocontrole. Porém, existem poucas informações sobre a utilização de *Trichoderma* em espécies ornamentais como, por exemplo, o crisântemo. A murcha de *Fusarium*, causada por *Fusarium* spp. é uma das doenças mais prejudiciais à produção do crisântemo, pois é de difícil controle, principalmente porque o fungo possui estruturas de resistência que permanecem durante anos no solo e também pelo grande número de hospedeiros que esse fungo ataca.

Locke (1985) avaliou o potencial de *Trichoderma viride* e *Aspergillus ochraceus* como agentes de biocontrole da murcha de *Fusarium* em estacas vegetativas do cultivar suscetível Yellow Delaware. Foram utilizados um isolado de *Trichoderma viride* (T-1), dois de seus biótipos resistentes a Benomyl® (T-1-R4 e T-1-R9), um isolado de *Aspergillus ochraceus* e as combinações de *T. viride* (T-1) e *Aspergillus ochraceus*, e *T. viride* (T-1-R9) e *Aspergillus ochraceus*. O isolado de *Trichoderma viride* (T-1) e suas combinações reduziram a doença em 70%, enquanto que o biótipo *T. viride* (T-1-R9) reduziu em 50%, quando comparados com o tratamento testemunha.

No trabalho realizado por Menezes (2003) visando o controle da murcha causada por *Fusarium* em plantas de crisântemo, foram utilizados pós de quatro isolados de *Trichoderma* (12 g/600 g de solo) e um pó biológico comercial à base de *Trichoderma* spp., em três épocas de aplicação e dois tratamentos de substrato. Foi observado que o tratamento que preconizou a incorporação preventiva dos pós de *Trichoderma*, tanto em substrato autoclavado quando substrato natural, obteve menor incidência de murcha.

Além da utilização de *Trichoderma* como agente de biocontrole, tem sido observado que determinadas espécies tem atuado promovendo o crescimento em vários tipos de plantas. A incorporação de *Trichoderma* em solos autoclavados aumentou a taxa de emergência, a massa seca da raiz e da parte aérea em plântulas de tomateiro e de fumo de 213 a 275% e 259 a 318%,

respectivamente (Windham *et al.*, 1986; Menezes, 2003). Segundo Melo (1996), a promoção de crescimento envolve a produção de hormônios vegetais, vitaminas e/ou a transformação de elementos em uma forma aproveitável ou também a absorção e translocação de nutrientes para a planta, entre outros. De acordo com Altomare *et al.* (1999) a espécie *harzianum* (T-22) possui a habilidade de solubilizar nutrientes para as plantas.

Para se obter mais informações a respeito do controle biológico da Murcha de *Fusarium* e a influência de *T. virens* no crescimento das plantas, foram realizados dois experimentos com os seguintes objetivos: determinar o comportamento dos diferentes isolados e a dose de *Trichoderma virens* mais eficaz no controle da Murcha de *Fusarium* causada por *F. solani* f. sp. *chrysanthemi* e determinar a dose dos pós de *Trichoderma* que proporciona o melhor desenvolvimento das plantas.

4.2 Experimento III - Isolados e doses de *Trichoderma virens* no controle de *Fusarium* f.sp. *chrysanthemi*

4.2.1 Material e Métodos

4.2.1.1 Local do experimento e análise estatística

O experimento foi realizado no laboratório de Fitopatologia do Departamento de Defesa Fitossanitária da UFSM e nas estufas do setor de floricultura do Departamento de Fitotecnia da UFSM, utilizando-se um esquema fatorial 6X5: 6 isolados (TE8, TH1, TH10, TH12, TH15, TH17) e 5 doses (0, 2, 4, 6 e 8 g) de pós de *Trichoderma virens*. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os dados obtidos no experimento foram analisados no programa estatístico SAS (SAS Institute, 1996) através da análise da variância e, quando o teste F foi significativo, a comparação de médias foi feita através do teste de Tukey a 5% de significância,

para comparação dos diferentes isolados. Foi realizada análise de regressão a partir do método dos polinômios ortogonais para o fator doses de pós de *Trichoderma*.

4.2.1.2 Obtenção e multiplicação do fitopatógeno

O isolado de *Fusarium* utilizado foi o mesmo dos experimentos do capítulo I. A multiplicação do fitopatógeno foi feita como descrita no item 3.3.1.2 do experimento II.

4.2.1.3 Obtenção das mudas de crisântemo cv. Calabria

As mudas foram adquiridas da Empresa Ricaflor Mudas de Crisântemo - São Paulo e enraizadas conforme o item 3.2.1.5 do capítulo I.

4.2.1.4 Obtenção dos isolados de *Trichoderma virens*

Os isolados de *Trichoderma virens* TE8, TH1, TH10, TH12, TH15 e TH17 utilizados nesse experimento foram oriundos de solo de estufa (TE) e de horta (TH). Os isolados foram selecionados por Ethur (2002) e armazenados em recipientes de vidro contendo, cada um, 1 disco de micélio do fungo em água destilada estéril, sob refrigeração de 4°C.

4.2.1.5 Cultivo e multiplicação do inóculo de *Trichoderma virens*

Os isolados de *Trichoderma* foram retirados dos recipientes de vidro com água estéril com auxílio de uma alça de platina e colocados para crescer

em meio de cultura BDA e adicionado 1 mL de cloranfenicol para cada 200 mL de meio de cultura. Após cinco dias foram retirados 5 discos de meio contendo micélio de cada isolado do fungo e colocados para crescer em recipientes de vidro contendo 100 g de quirela de arroz esterilizada, durante 20 dias em temperatura ambiente. Para preparação do meio de crescimento foram colocados em cada recipiente de vidro, 100 g de quirela de arroz e 80 mL de água destilada e realizada autoclavagem a 121°C por 40 minutos.

4.2.1.6 Preparo dos pós de *Trichoderma virens*

Depois da completa colonização da quirela de arroz, os inóculos dos diferentes isolados de *Trichoderma* foram colocados separadamente em envelopes de papel (50g cada um) e secos a 37°C por cinco dias. Depois, separadamente, foram triturados no liquidificador por 1 minuto, e colocados em sacos plásticos previamente identificados e armazenados no refrigerador a 4°C. A contagem de esporos dos isolados foi realizada com auxílio de uma câmara de Neubauer. Os pós de *Trichoderma virens* continham as seguintes concentrações de esporos/g: TE8 ($1,36 \times 10^9$), TH1 ($1,28 \times 10^9$), TH10 ($1,15 \times 10^9$), TH12 ($2,52 \times 10^9$), TH15 ($2,65 \times 10^9$), TH17 ($2,48 \times 10^9$).

Para o tratamento testemunha foi produzido um pó em branco também a base de quirela de arroz, utilizando o mesmo procedimento dos pós de *Trichoderma*.

Em todos os tratamentos foram inoculados 6 g ($1,2 \times 10^7$ conídios/g) de inóculo de *Fusarium solani* f. sp. *chrysanthemi* conforme os resultados obtidos no experimento I. O fitopatógeno foi inoculado dois dias antes do transplante das mudas, através da infestação do solo no sulco de transplante das mudas em saquinhos plásticos contendo 600g de solo de estufa peneirado. As doses dos pós de *Trichoderma virens* foram inoculadas no sulco, um dia antes do transplante das mudas.

4.2.1.7 Manejo de cultivo

Após o transplante, as mudas permaneceram por quinze dias em sistema de iluminação artificial através de lâmpadas incandescentes de 100 W colocadas a 2 m de altura, com o objetivo de fornecer dia longo para as mudas. Foram feitas pulverizações diárias com água para evitar a desidratação excessiva das mudas e o molhamento diário e individual, sempre com a mesma quantidade de água para todas as plantas.

Completados quinze dias, as plantas foram transportadas para outra estufa com fotoperíodo natural. A partir dos 20 dias após o transplante, foi iniciada a fertirrigação com uma solução composta de 35 g de nitrato de amônia, 40 g de nitrato de cálcio, 40 g de nitrato de potássio, 30 g de sulfato de magnésio e 7,5 g de fosfato monoamônico (MAP). Essas quantidades foram usadas em 100 litros de água.

Durante o cultivo, as plantas foram molhadas diariamente de forma individual e pulverizadas com água, quando necessário, e mantidas sob sombrite para evitar a excessiva perda de água.

Durante o experimento foram feitas 2 pulverizações com inseticidas a base de deltamethrina e imidacloprid nas dosagens de 1 mL/L de água e 350 g/L de água, respectivamente, para o controle de pulgões.

Medidas de temperatura e umidade do ar foram feitas com auxílio de um termômetro de máximas e mínimas, e de um termohigrógrafo, respectivamente. As temperaturas foram medidas durante todo o experimento, enquanto os valores de umidade relativa foram obtidos somente a partir de 15 dias após o transplante das mudas (Anexo B). Foram feitas, ainda, determinações do conteúdo de umidade do solo a partir de amostras retiradas de saquinhos contendo plantas que não receberam tratamentos, conforme a metodologia proposta por Hillel (1998) e Righes *et al.* (2003). Ao todo foram realizadas quatro amostragens de solo durante o experimento.

4.2.1.8 Avaliações do experimento

As plantas foram enraizadas por um período de 20 dias e após foram realizados os tratamentos. O experimento teve início no dia 03/10/2003 e término no dia 03/12/2003. Após esse período, foram analisadas as seguintes variáveis: altura de planta, massa seca de parte aérea e raiz, e incidência de *Fusarium* nos fragmentos das hastes. A metodologia para avaliação foi semelhante a do experimento I e II.

4.2.2 Resultados e Discussão

A análise de variância mostrou significância somente para os fatores principais, isolados e doses de pós de *Trichoderma virens* (Anexos K, L, M). Comparando as médias de altura de plantas para os diferentes isolados de *T. virens* (Tabela 6) foi constatado que os isolados TE8, TH10, TH1, TH15, TH17 e o tratamento testemunha não diferiram estatisticamente entre si. Não foi verificada diferença estatística entre os isolados TH15, TH17 e TH12, sendo que o isolado TH12 promoveu a menor altura de planta.

TABELA 6. Altura de planta (cm) e massa seca de parte aérea (g) de plantas de crisântemo para os diferentes isolados de *Trichoderma virens*. Santa Maria - RS, 2003.

Isolados de <i>T. virens</i>	Altura de planta (cm)	Massa seca de parte aérea (g)
TE8	61,49 a*	4,73 a b
TH10	61,48 a	4,64 b
Testemunha	61,44 a	4,65 a b
TH1	61,06 a	4,46 b c
TH15	60,50 a b	4,98 a
TH17	59,00 a b	4,16 c
TH12	58,34 b	4,36 b c

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro.

Diferentemente dos resultados da variável altura de plantas, para a variável massa seca de parte aérea o isolado TH15 obteve a maior média de massa seca, não diferindo estatisticamente do isolado TE8 e da testemunha. Também não houve diferença estatística entre os isolados TE8, a testemunha e os isolados TH10, TH1 e TH12. Os isolados TH1, TH12 e TH17 não diferiram entre si, sendo que o isolado TH17 obteve a menor média de todos os tratamentos. Para a variável massa seca de raiz a interação, bem como os fatores estudados, não foram significativos, não havendo, portanto, diferença significativa entre os tratamentos testados.

Na análise de regressão para as diferentes doses dos pós contendo o inóculo de *T. virens* foi verificado que o comportamento da altura de planta com o aumento das doses pode ser representado por uma curva quadrática. O tratamento testemunha (0 g) proporcionou a maior altura de planta e a dose de 6 g resultou na menor altura de planta (Figura 4).

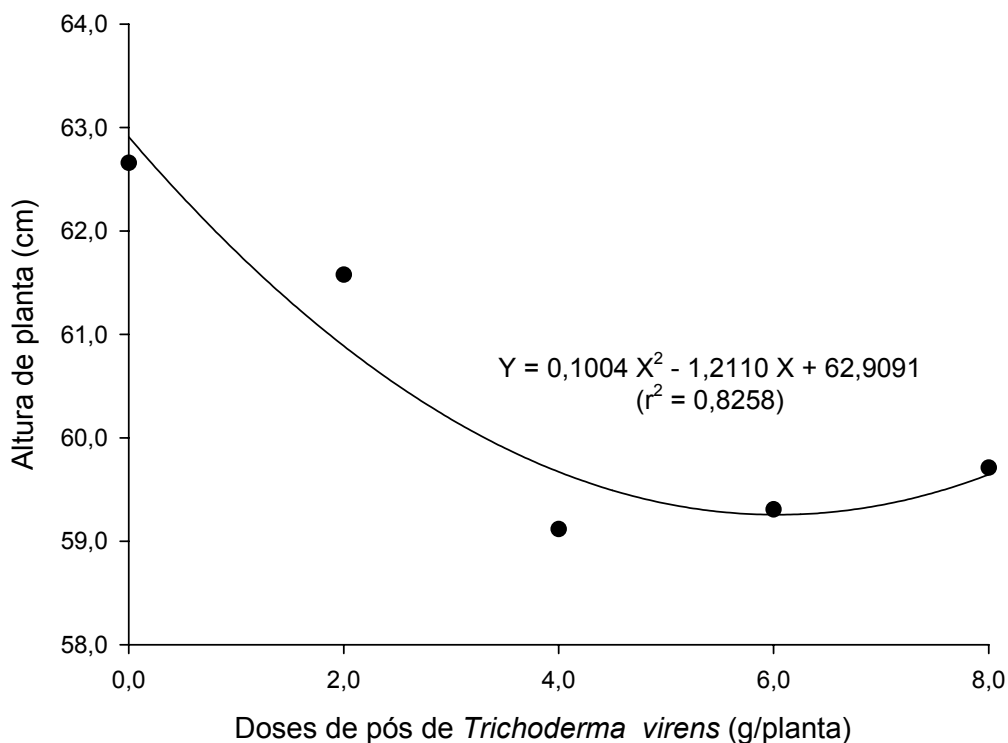


FIGURA 4. Altura de planta de crisântemo (cm) em função das diferentes doses de pós de *Trichoderma virens*. Santa Maria – RS, 2003.

O comportamento verificado para a variável massa seca de parte aérea foi semelhante ao encontrado na variável altura de plantas, ou seja, houve uma tendência decrescente da massa seca da parte aérea das plantas com o aumento das doses de *Trichoderma virens*. A dose de 0 g resultou na maior massa seca de parte aérea de plantas. Não foi possível determinar o ponto de mínima eficiência técnica para esta variável (Figura 5).

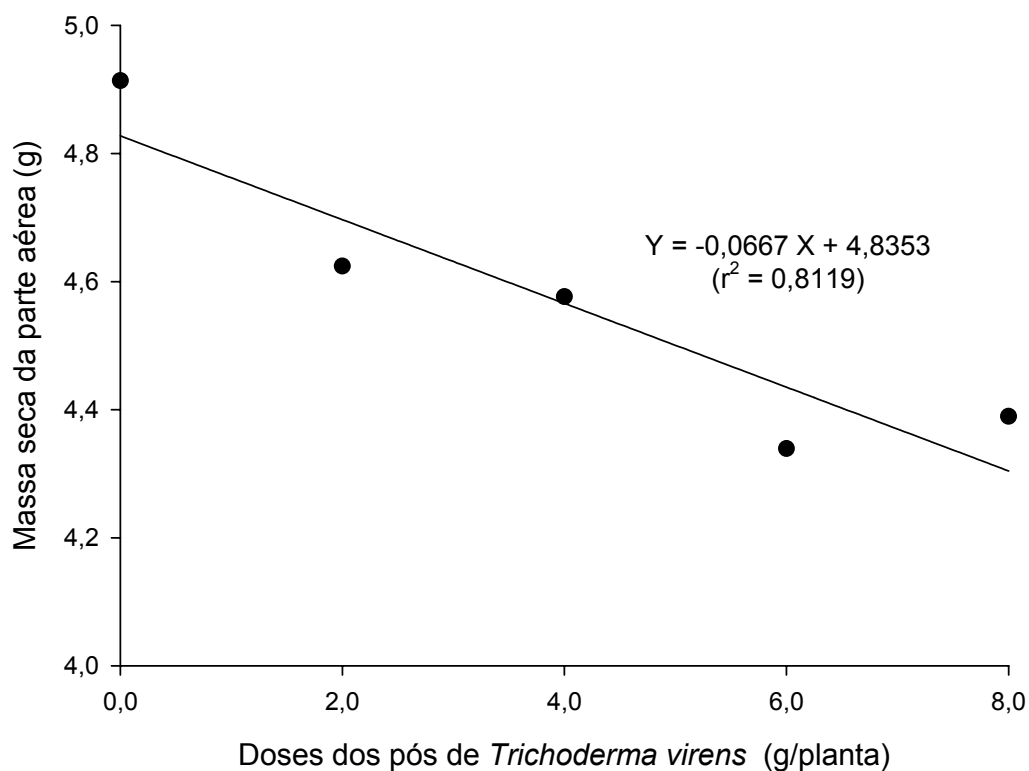


FIGURA 5. Massa seca da parte aérea (g) de crisântemo em função das diferentes doses de pós de *Trichoderma virens*. Santa Maria – RS, 2003.

Durante o experimento não foram detectados sintomas da murcha de *Fusarium*, possivelmente devido às condições de ambiente, como a temperatura que pode ter afetado o desenvolvimento do fungo em função das variações que ocorreram ao longo do experimento. A temperatura média durante o experimento foi de 27°C, porém as variações que ocorreram foram

de 10°C, temperatura mínima registrada enquanto que temperatura máxima foi de 46,5°C (Anexo B). Além disso, os baixos valores de umidade do solo também podem ter afetado o desenvolvimento do fungo, pois a média de umidade foi de 22,5% (Anexo C). Outro fator a ser considerado foi a competição com as outras espécies de *Fusarium* presentes no solo utilizado. As espécies encontradas no solo foram: *F. acuminatum*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. sambucinum*. O solo utilizado neste experimento foi proveniente do mesmo local citado no experimento I.

Como as condições para o desenvolvimento da doença não foram adequadas, possivelmente tenha ocorrido a infecção latente de *Fusarium*, pois quando os fragmentos das hastes foram plaqueados em meio de cultura foi detectada a presença do *Fusarium* em 100% das hastes, semelhante ao ocorrido no experimento I do capítulo 1.

Segundo Melo (1996), a competição entre microrganismos pode ocorrer quando o espaço ou os nutrientes são limitantes. De acordo com o autor, as fontes disponíveis de carbono, nitrogênio, fósforo, oxigênio, fatores de crescimento, água e outros, são recursos pelos quais as populações microbianas podem competir. Nesse experimento, como foi utilizado solo de estufa existiam vários gêneros competindo entre si, inclusive o *Fusarium* e *Trichoderma* utilizados.

Durante o experimento, as plantas permaneceram na casa de vegetação apenas por 60 dias, pois os saquinhos plásticos não proporcionaram o crescimento adequado das plantas, já que o espaço para o crescimento das raízes foi limitado. Além disso, as altas temperaturas exigiam uma constante manutenção da quantidade de irrigação, a fim de evitar estresse hídrico que viesse a comprometer o crescimento das plantas. Essas condições adversas, associadas à competição com os microrganismos presentes no solo, podem ter influenciado na atuação dos isolados de *Trichoderma virens* utilizados.

A competição entre os microrganismos representa uma relação negativa entre duas populações, onde ambas são afetadas em relação à sua sobrevivência (Melo, 1996). Com a limitação do espaço, a competição entre os

microrganismos foi aumentada também em relação a outros fatores como, por exemplo, oxigênio, água, nutrientes e outros elementos necessários ao crescimento. Possivelmente esse ambiente de competição gerado tenha estimulado os isolados de *Trichoderma virens* a produzirem metabólitos em níveis tóxicos para as plantas de crisântemo e reduzido a altura de planta e massa seca de parte aérea do crisântemo, especialmente nas doses mais elevadas do antagonista. É possível, também, que as doses administradas tenham sido muito elevadas para o patossistema em que foram utilizadas, resultando em um ambiente de competição entre os antagonistas e a planta.

4.3 Experimento IV - Comportamento dos isolados e influência das doses de pós de *Trichoderma virens* no crescimento de crisântemo cv. Calabria.

4.3.1 Material e Métodos

4.3.1.1 Local do experimento e análise estatística

O experimento foi realizado no laboratório de Fitopatologia do Departamento de Defesa Fitossanitária da UFSM e nas estufas do setor de floricultura do Departamento de Fitotecnia da UFSM, em esquema fatorial (6X5): isolados (TE8, TH1, TH10, TH12, TH15, TH17) e doses (0, 2, 4, 6, 8 g) dos pós de *Trichoderma virens*. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições sendo que cada planta constituiu uma unidade experimental. Os dados obtidos no experimento foram analisados no programa estatístico (SAS Institute, 1996) através da análise da variância e, quando o teste F foi significativo, a comparação de médias foi feita através do teste de Tukey a 5% de significância, para comparação dos diferentes isolados. Foi realizada análise de regressão a partir do método dos polinômios ortogonais, para o fator doses de pós de *T. virens*.

4.3.1.2 Obtenção, cultivo e multiplicação de *Trichoderma virens*

Nesse experimento os isolados utilizados, os processos de cultivo, multiplicação e produção dos pós de *Trichoderma virens* foram os mesmos do experimento III.

4.3.1.3 Obtenção e enraizamento das mudas de crisântemo

As mudas de crisântemo cv. Calabria utilizadas no experimento foram adquiridas da Empresa RicaFlor Mudas de Crisântemo - São Paulo e enraizadas conforme o item 3.2.1.5 do experimento I.

4.3.1.4 Inoculação dos pós de *Trichoderma*

Os pós dos isolados de *Trichoderma virens* nas diferentes doses foram inoculados através de infestação de solo um dia antes do transplante das mudas em sacos plásticos contendo 600g de solo de estufa peneirado.

O manejo de cultivo utilizado neste experimento foi semelhante ao experimento III.

Durante o experimento foram feitas medidas de temperatura e umidade do ar. A partir de um termômetro de máximas e mínimas foi medida a temperatura e com auxílio de um termohigrógrafo foram feitas medições de umidade relativa. As temperaturas foram medidas durante todo o experimento enquanto que os valores de umidade relativa foram obtidos somente a partir de 15 dias após o transplante das mudas (Anexo B).

4.3.1.5 Avaliações do experimento

As plantas foram enraizadas por um período de 20 dias e após foram realizados os tratamentos. O experimento teve início no dia 03/10/2003 e término no dia 03/12/2003), sendo realizadas as seguintes avaliações: altura de planta (cm) e massa seca de parte aérea e de raiz (g).

A altura das plantas foi determinada com auxílio de uma régua. As massas secas de raiz e parte aérea foram determinadas a partir da pesagem das plantas após secagem em estufa a 60°C durante 96 horas.

4.3.2 Resultados e Discussão

Nesse experimento, apenas para o fator doses de *T. virens* houve significância para as variáveis altura de planta, massa seca de parte aérea e massa seca de raiz (Anexos N, O, P), enquanto que para o fator isolados de *T. virens* não houve diferença estatística para as variáveis testadas. Tais resultados discordam dos obtidos por Ethur & Silva (2001) que, avaliando a interferência de três isolados de *Trichoderma* spp. no crescimento do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* cv. Carioca), verificaram que dois isolados, J10 e I1, apresentaram menor altura de plântulas quando comparados com os tratamentos controle e isolado TSM1.

Menezes (2003), utilizando pós de dois isolados de *T. virens* e um pó comercial à base de *Trichoderma* spp. (Biotrich®) no enraizamento de estacas de crisântemo cv. Calabria, não observou diferença significativa entre a testemunha e os tratamentos quanto à variável altura e comprimento de raiz.

Pela análise de regressão, foi constatada uma redução na altura das plantas em relação ao tratamento testemunha (Figura 6). Esta pode ser representada por uma curva quadrática, na qual foi calculado o ponto de mínima eficiência técnica, localizado na dose de 4,69 g de pó de *Trichoderma*. A dose de 0 g resultou na maior altura de planta.

Observa-se que o comportamento para a variável altura de planta deste experimento foi semelhante ao comportamento apresentado pela mesma variável no experimento III. Isto pode estar relacionado com o fato de os experimentos terem sido conduzidos em época e condições de ambiente semelhantes.

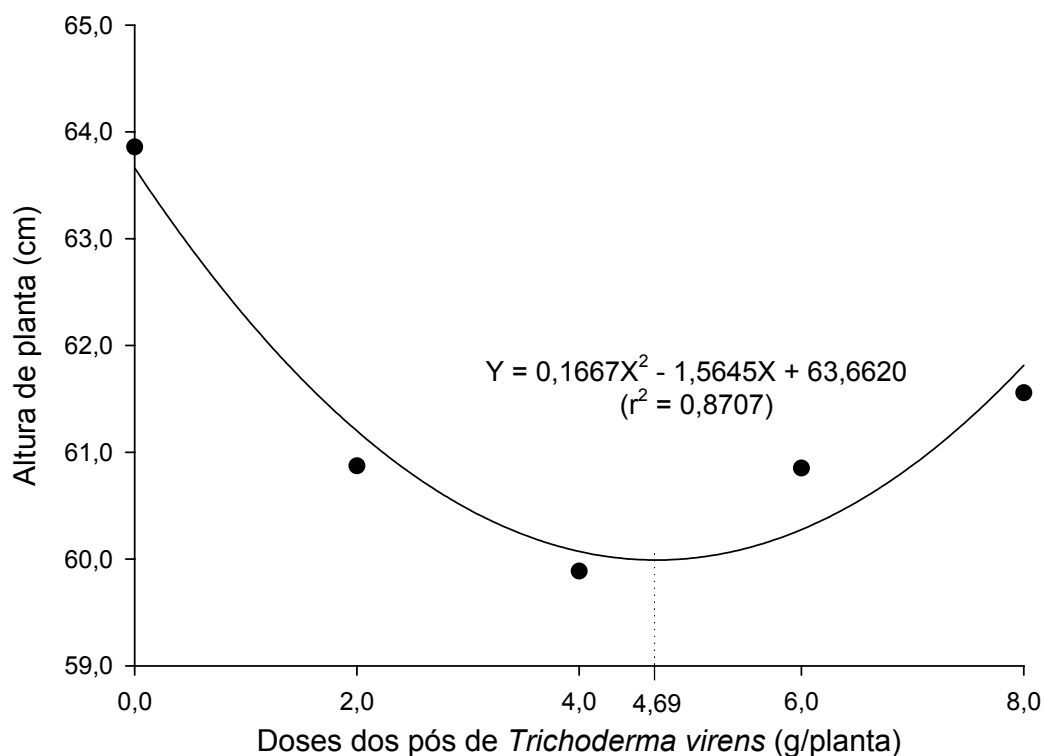


FIGURA 6. Altura de planta de crisântemo (cm) em função das diferentes doses de pó de *Trichoderma virens*. Santa Maria – RS, 2003.

Na análise de regressão para a variável massa seca de parte aérea em função das doses de *T. virens* foi verificado um comportamento linear decrescente com o aumento das doses. As doses administradas (2, 4, 6 e 8 g) provocaram uma redução de 11,17%, 5,63%, 12,09% e 10,74%, respectivamente, na massa seca de parte aérea das plantas (Figura 7).

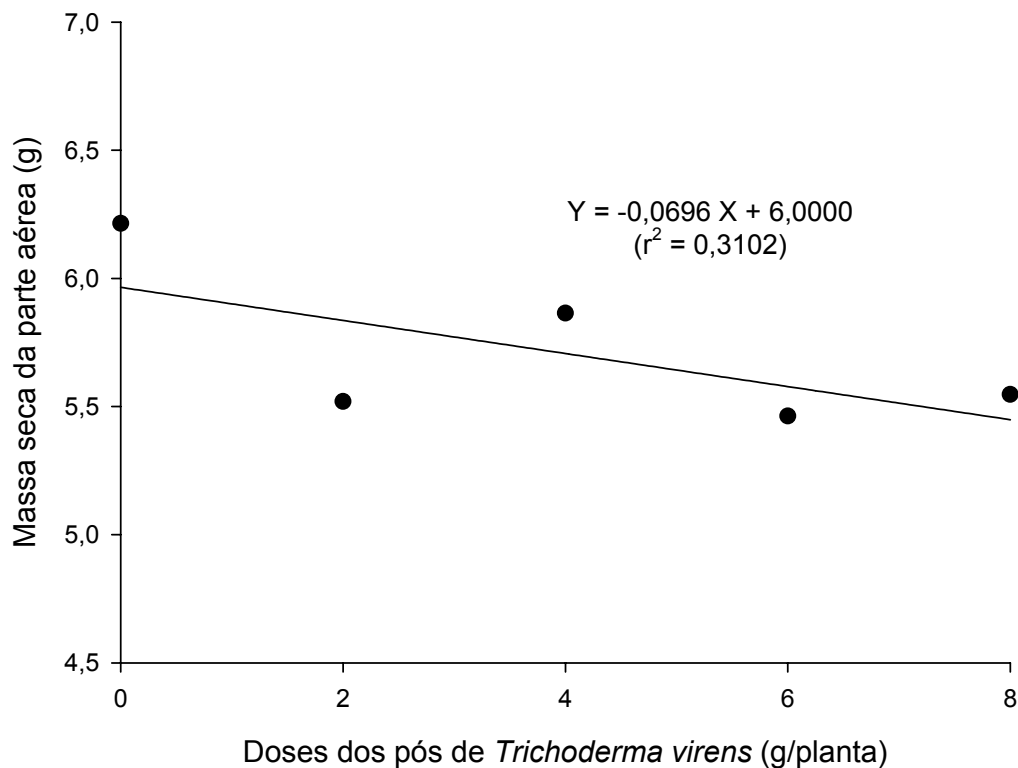


FIGURA 7. Massa seca da parte aérea (g) de crisântemo em função das diferentes doses de pós de *Trichoderma virens*. Santa Maria – RS, 2003.

Os resultados da análise de regressão demonstram a mesma tendência linear de decréscimo da massa seca da raiz com o aumento das doses dos pós de *Trichoderma* que a variável massa seca de parte aérea. No entanto, as reduções de massa seca de raiz para as mesmas doses administradas foram de 17,10%, 9,72%, 17,91% e 15,57%, respectivamente (Figura 8).

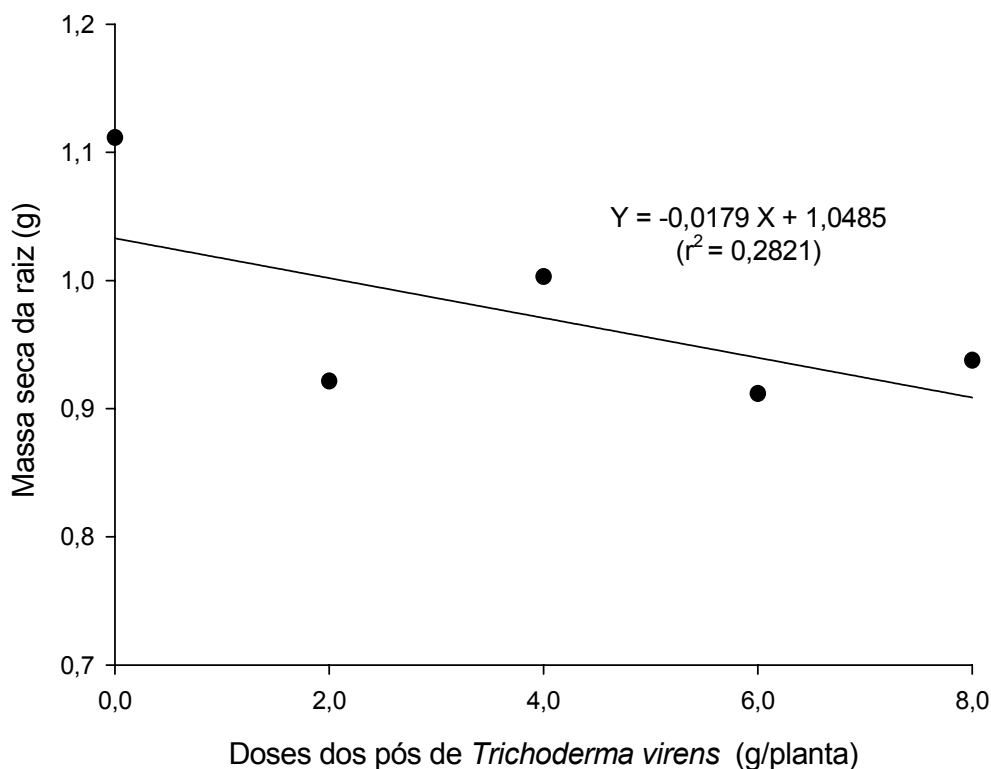


FIGURA 8. Massa seca de raiz (g) de crisântemo em função das diferentes doses de pós de *Trichoderma virens*. Santa Maria – RS, 2003.

Os resultados obtidos nesse trabalho discordam dos obtidos por Inbar *et al.* (1994) que, a partir da utilização de *Trichoderma harzianum*, obtiveram aumento na altura de plantas de 23,8 e 17,2% e na massa seca de plantas de 24,7 e 28,6% em pepineiro e tomateiro, respectivamente.

Os resultados obtidos no presente trabalho sugerem que a atuação de *Trichoderma virens* pode ser prejudicial dependendo do isolado e da dose que são utilizados. Segundo Ousley *et al.* (1993), a interferência de *Trichoderma* no crescimento das plantas está relacionada com a produção de metabólitos secundários. Foi verificado que alguns isolados que produziram ácidos graxos e glicerol auxiliaram no crescimento das plantas de trigo, enquanto outro isolado, produtor de viridiol, prejudicou a germinação de alface.

No decorrer do experimento foram detectadas algumas condições que podem ter influenciado no comportamento dos pós de *Trichoderma*. Durante o experimento, foi verificada uma grande amplitude de temperatura e umidade relativa, assim como no experimento III, pois os experimentos foram conduzidos simultaneamente (Anexo B). A média de temperatura para o período foi de 27°C, porém ocorreram temperaturas bastante elevadas. De 67 medições de temperatura realizadas, 34 apresentaram temperatura máxima acima de 35°C. As altas temperaturas que ocorreram durante o período, baixa umidade do solo, o pouco suporte as plantas em função do espaço restrito para o desenvolvimento das raízes, a presença de microrganismos nativos entre outros fatores, provavelmente tenham resultado em um ambiente de competição entre os isolados de *Trichoderma virens* e a planta, tendo como resultado a produção de metabólitos secundários prejudiciais ao crescimento das plantas. Além disso, as doses administradas, 2, 4, 6 e 8 g para cada 600 g de solo, podem ter sido elevadas para as condições em que foram testadas, resultando num decréscimo de altura e massa seca de parte aérea e raiz.

5 CONCLUSÕES

Doses crescentes de *Fusarium solani* f. sp. *chrysanthemi* tendem a diminuir o crescimento das plantas de crisântemo cv. Calabria em solo autoclavado e aumentar em solo não autoclavado.

A inoculação das plantas via imersão de raízes facilitou a expressão dos sintomas da murcha de *Fusarium* (amarelecimento das folhas e escurecimento das hastes) em plantas de crisântemo cv. Calabria quando as plantas foram mantidas em câmara de crescimento numa temperatura de 21 °C.

Em decorrência da ausência de sintomas nas plantas de crisântemo, não foi possível quantificar a dose de *Trichoderma virens* mais eficiente no controle de *Fusarium solani* f. sp. *chrysanthemi*.

Fatores externos como a temperatura, umidade do ar e do solo, luminosidade, compactação e outros microrganismos presentes no solo, podem interferir na ação de *Trichoderma virens* provocando a redução no crescimento das plantas de crisântemo.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTOMARE, C.; NORVELL, W. A., BJÖRKMAN, T. *et al.* Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 7, p. 292-293, 1999.

ARBOS, A. M. **El crisantemo - cultivo, multiplicacion y enfermedades**. Madrid: Ediciones Mundi – Prensa, 1992. 170p.

Agriculture and Agri-Food Canada. Integrated Taxonomic Information System. Disponível em: <http://sis.agr.gc.ca/brd/fusarium/intro.html>. Acesso em: 04 março. 2002.

AKI, A.; PEROSA, M. Y. Aspectos da produção e consumo de flores e plantas ornamentais no Brasil. **Revista Brasileira Horticultura Ornamental**, v. 8, p.13-23, 2002.

BALARDIN, C. R. R. **Resistência genética e transmissão da podridão vermelha da raiz da soja**. 2001. 118f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2001.

BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia**. v 1: Princípios e conceitos. 3 ed. São Paulo: Ceres, 1995. 919p.

BELLÉ, R. A. **Apostila didática de floricultura**. Santa Maria, 1998. 142 p.

CATHEY, H. M. Chrysanthemum temperature study - thermal modifications of photoperiods previous to and after flower bud initiation. **Proc. Am. Soc. Hortic. Science**, v. 64, p. 462-498, 1954.

CHO, J. H.; RUPE, J. C.; CUMMINGS, M. S. *et al.* Isolation and identification of *Fusarium solani* f. sp. *glycines* from soil on modified Nash and Snyder's medium. **Plant Disease**, v. 85, p. 256-260, 2001.

COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L.; BASTOS, C. N. *et al.* Ação antagonista de *Trichoderma* spp. sobre a produção de *Crinipelis pernicioso* no Estado da Bahia. In: Simpósio de controle biológico. Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro, 2001.p. 89.

ETHUR, L. Z. **Avaliação de fungos como antagonistas para o biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary em pepineiro cultivado em estufa.** 2001, 100f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2001.

ETHUR, L. Z.; SILVA, A. C. F. Interferência de *Trichoderma* spp. no crescimento do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* cv. carioca). **Ciência & Natura**, v. 23, p. 81-87, 2001.

FREITAS, T. M. Q. **Dano, dinâmica populacional e fontes de resistência genética a *Fusarium solani* f. sp. *glycines*.** 2003. 85f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.

GHINI, R. & BETTIOL, W. Controle físico. Cap. 39. p. 786-801. In: BERGAMIN FILHO, A., KIMATI, H., AMORIM, L. (Ed.) **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1995.

GASPERI, A. C. **Variabilidade de isolados, reação de cultivares e danos causados por *Fusarium solani* f. sp. *glycines*.** 2000. 91f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2000.

GRUSZYNSKI, C. **Produção comercial de crisântemos: vaso, corte e jardim.** Guaíba : Agropecuária, 2001. 166 p.

HILLEL, D. **Environmental soil physics.** New York : Academic Press, 1998.

HOMECHIN, M. Situação atual da podridão de *Sclerotinia* causada por *Sclerotinia sclerotiorum*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 7, n. 3, p. 46-48, 1982.

HORST, R. K.; NELSON, P. E. **Compendium of chrysanthemum diseases**. St. Paul : APS Press, 1997. 62 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA. **Padrão ibraflor de qualidade**. São Paulo, junho/2000. 87 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA. **Levantamento ibraflor 2001/02**. Banco de Dados, 2002.

IMENES, S. de L.; ALEXANDRE, M. A. V. **Boletim Técnico: aspectos fitossanitários do Crisântemo**. n. 5. São Paulo : Instituto Biológico, 1995. p. 5-47 (bimestral).

INBAR, J.; ABRAMSKY, M.; COHEN, D.; CHET, I. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grow under commercial conditions. **European Journal of Plant Pathology**, v. 100, p. 337-346, 1994.

JUNQUEIRA, A. H ; PEETZ, M. S. Os pólos de produção de flores e plantas ornamentais do Brasil: uma análise do potencial exportador. **Revista Brasileira Horticultura Ornamental**, v. 8, p. 25-47,2002.

KOFRANEK, A. M. Cut chrysanthemum. In: LARSON, A. R. **Introductin to floriculture**. 2nd ed. New York, 1992.p. 3-42. 610p.

KYUNA, I.; FRANCISCO, V. L. F. S; COELHO, P. J. *et al.* A floricultura brasileira no início do século XXV: o perfil do produtor. **Revista Brasileira Horticultura Ornamental**, v. 8, p. 57-76,2002.

KRUGNER, T. L.; BACCHI, L.M.A. Fungos. Cap. 4. In: BERGAMIN FILHO, A., KIMATI, H., AMORIN, L. **Manual de fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 46-95.

LARANJEIRA, D. Situação atual do controle biológico de *Fusarium* spp. In: VII

Reunião de Controle Biológico de Fitopatógenos. Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves : UFSM e EMBRAPA Uva e Vinho, 27 e 28 de novembro de 2001.

LIMA, M. F.; LOPES, C. A. Variabilidade da virulência de isolados de *Fusarium solani* em batata. **Revista Fitopatologia Brasileira**, v. 23, n. 2, p.121–126, 1998.

LOCKE, J. C. Biological control of *Fusarium* wilt of greenhouse-grown chrysanthemum. **Plant Disease**, v. 69, n. 2, p. 167-169, 1985.

LUCON, C. M. M.; NASCIMENTO, L. M.; CORRÊA, C. K. Tratamento em pós-colheita de mamão, *carica papaya*, com isolados de *Trichoderma* spp. In: VII Reunião de Controle Biológico de Fitopatógenos. Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves : UFSM e EMBRAPA Uva e Vinho, 27 e 28 de novembro de 2001.

MELO, I. S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revista Anual de Patologia de Plantas**, v. 4, p. 261-295, 1996.

MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. Cap. 1. In: MELO, I. S. de.; AZEVEDO, J. L. de. **Controle biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA, v. 1, 264 p, 1998.

MELLO, J. B. **Ação do ácido giberélico e dias curtos interrompidos em crisântemo de corte** (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev.). 2003. 67f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.

MENEZES, J. P. ***Trichoderma* spp. como bioprotetor de crisântemo e reação de cultivares de crisântemo a *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi***. 2003. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.

MOTOS, J. R.; OLIVEIRA, M. J. G. **Produção de crisântemos em vaso**. Holambra, Flortec, 1999, 34 p.

NELSON, P. E.; TOUSSON, T. A.; MARASAS, W. F. O. **Fusarium species**. London : Pennsylvania State University Press, 1983.

NJITI, V. N.; SUTTNER, R. J.; GRAY, L. E.; GIBSON, P. T. & LIGHTFOOT, D. A. Rate-reducing resistance to *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*. underlies field resistance to soybean sudden death syndrome. **Crop Science**, v. 37, p. 132-138. 1997.

OUSLEY, M. A.; LYNCH, J. M.; WHIPPS, J. M. Effect of *Trichoderma* on plant growth: a balance between inhibition and growth promotion. **Microbial Ecology**, v. 26, p. 277-285, 1993.

PATRICIO, F. R. A.; KIMATI, H.; BARROS, B. C. Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. antagonísticos a *Pythium aphanidermatum* e *Rizoctonia solani*. **Summa Phytopathologica**, v. 27, n. 2, p. 223-229, 2001.

PEREIRA, J. R. D. **Análise dos efeitos da época de suspensão da fertirrigação e de níveis de reposição de água à cultura do crisântemo (*Dendranthema grandiflora*) cv. White Diamond**. 2002. 54f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

REIS, A., OLIVEIRA, S. M. A., MENEZES, M. *et al.* Potencial de isolados de *Trichoderma* para biocontrole da murcha de *Fusarium* do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 21, n. 1, p. 16-20, 1995.

RIGHES, A. A.; AMARAL, L. G. H. do; DALLA COSTA, R. *et al.* Determinação do conteúdo de água no solo. In: RIGHES, A. A., AMARAL, L. G. H. do, DALLA COSTA, R. *et al.* **Determinação da água no solo e na planta para irrigação**. Santa Maria : Imprensa Universitária, 2003. p. 3-50.

ROCHA, J. de R. de S.; OLIVEIRA, N. T. Método de isolamento do solo de *Trichoderma* antagônico a *Colletotrichum gloeosporioides*, agente da antracnose em maracujá (*Passiflora*). **Summa Phytopathologica**, v. 24, n. 2, p. 180-182, 1998.

SALINGER, J. P. **Producción Comercial de Flores**. Editorial Acrabia, Zaragoza (Espanã), p. 223-244, 1991. 371p.

SAS Institute. 1996. SAS/STAT Users Guide. Version 6.11. SAS Institute, Cary, NC.

SCHMIDT, C. M. **Utilização do Ácido Giberélico no Manejo de cultivo de crisântemo de corte “Viking”**. 2001. 112f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2001.

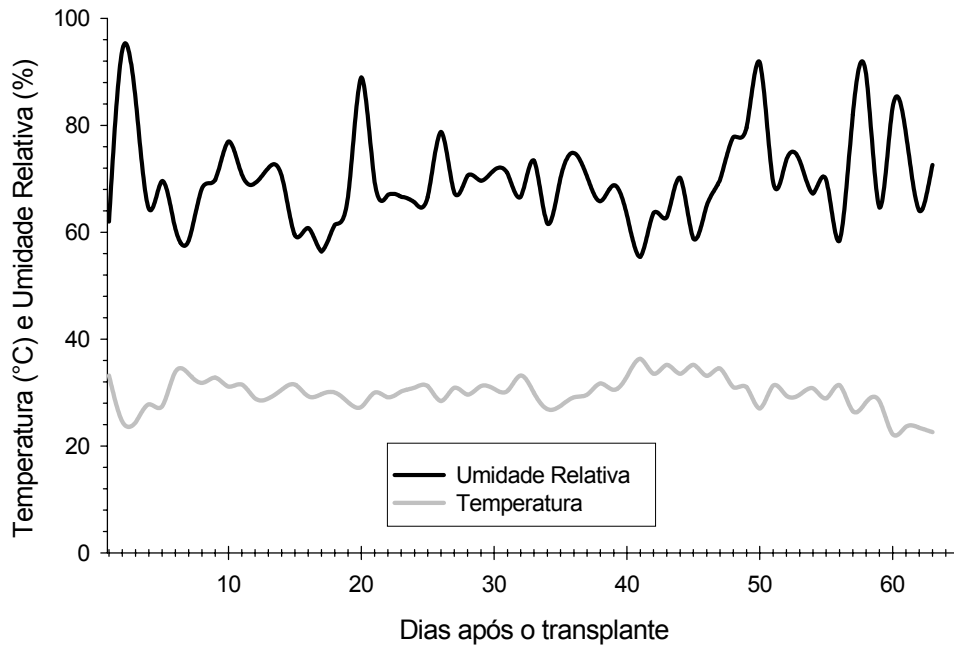
SUTTON, J. C. Strategies for biological control of necrotrophic pathogens in perennial crops. **Fitopatologia Brasileira**, v. 25 (suplemento), p. 235-238, 2000.

VENTURA, J. A. Taxonomia de *Fusarium* e seus segregados: I – história, meios e procedimentos de cultivo. **Revista Anual de Patologia de Plantas**, v. 7, p. 271-297, 1999.

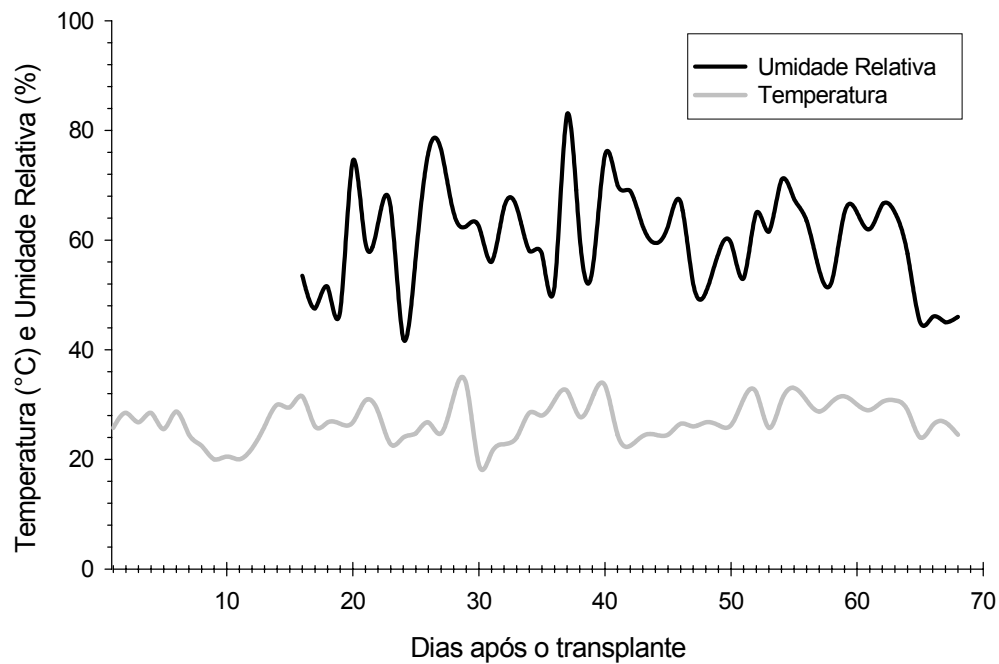
ZANCHET, D. **Rendimento e qualidade de cultivares de crisântemo de corte sob diferente duração do período de dia longo**. 2003. 94f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.

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

7 ANEXOS



ANEXO A – Médias de temperatura e umidade relativa referentes ao experimento I, período de dezembro (2002) a fevereiro (2003). Santa Maria - RS, 2003.



ANEXO B – Médias de temperatura e umidade relativa referentes ao experimento III e IV, período de outubro a dezembro de 2003. Santa Maria – RS, 2003.

ANEXO C - Densidade (g cm^{-3}), porosidade total (%), umidade volumétrica (% vol.) e espaço aéreo do solo de estufa, experimento III, para as quatro observações realizadas. Santa Maria – RS, 2003.

Parâmetro	Amostragens			
	1	2	3	4
Densidade do solo (g cm^{-3})	1,08	0,90	0,95	0,89
Porosidade total (%)	58,29	65,41	63,45	65,79
Umidade volumétrica (% vol.)	38,16	18,41	21,79	11,85
Espaço aéreo (%)	20,14	47,00	41,66	53,94

ANEXO D - Análise química de solo de estufa não autoclavado (Nº 1) e autoclavado (Nº 2) do experimento I. Santa Maria – RS, 2003.

Nº	Registro	Textura	%argila m/V	pH:H ₂ O 1:1	Índice SMP	P mg/L	K mg/L
1	127	4	23	6,3	6,6	69,5	200,0
2	128	4	19	6,3	6,6	69,5,	200,0

Nº	Al cmol _c /L	Ca cmol _c /L	Mg cmol _c /L	H+Al cmol _c /L	CTC cmol _c /L		Saturação	
					Efetiva	pH	Al	Bases
1	0,0	7,7	3,7	2,1	11,9	14,0	0	85
2	0,0	7,5	3,5	2,1	11,5	13,6	0	85

Nº	S mg/L	Cu mg/L	Zn mg/L	B mg/L	Fe mg/L	Mn mg/L	Na mg/L	Mo mg/L
1	X	0,9	4,3	X	195,4	15,4	X	X
2	X	0,8	4,3	X	235,6	27,8	X	X

Nº	Relações			
	Ca/Mg	Ca/K	Mg/K	K/√Ca+Mg
1	2,1	15,0	7,2	0,152
2	2,1	14,6	6,8	0,155

Identificação da amostra	% MO m/V
01 - Não autoclavado	5,5
02 – Autoclavado	5,5

ANEXO E. Análise da variância da massa seca da parte aérea em função da autoclavagem do solo e das quantidades de inóculo de *Fusarium*. Experimento I. Santa Maria – RS, 2003.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F calc. (Sob Ho)	F tab. (5%)
Autoclavagem	1	360,35	360,35	1838,51*	3,95
Doses de <i>Fusarium</i>	4	5,13	1,28	6,54*	2,47
Interação	4	11,96	2,99	15,25*	2,47
Erro	90	17,64	0,20		
Total	99	395,08			

* significativo a 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação 9,98%.

ANEXO F. Análise da variância da massa seca da raiz em função da autoclavagem do solo e das quantidades de inóculo de *Fusarium*. Experimento I. Santa Maria – RS, 2003.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F calc. (Sob Ho)	F tab. (5%)
Autoclavagem	1	290,50	290,50	117,93*	3,95
Doses de <i>Fusarium</i>	4	12,82	3,21	1,30 ^{ns}	2,47
Interação	4	10,99	2,75	1,12 ^{ns}	2,47
Erro	90	221,69	2,46		
Total	99	536,00			

*significativo a 5% de probabilidade de erro;^{ns} não significativo. Coeficiente de variação 47,84%.

ANEXO G. Análise da variância da altura de planta em função da existência de dano na raiz e das formas de inoculação de *Fusarium*. Experimento II. Santa Maria RS, 2003.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F calc. (Sob Ho)	F tab. (5%)
Existência de Dano	1	272,25	272,25	13,51*	4,17
Formas de inoculação	2	433,01	216,51	10,75*	3,32
Interação	2	8,04	4,02	0,20 ^{ns}	3,32
Erro	30	604,33	20,14		
Total	35	1317,64			

* significativo a 5% de probabilidade de erro; ^{ns} não significativo. Coeficiente de variação 11,57%.

ANEXO H. Análise da variância da massa seca da parte aérea em função da existência de dano na raiz e das formas de inoculação de *Fusarium*. Experimento II. Santa Maria – RS, 2003.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F calc. (Sob Ho)	F tab. (5%)
Existência de dano	1	1,48	1,48	12,14*	4,17
Formas de inoculação	2	4,48	2,24	18,37*	3,32
Interação	2	0,19	0,09	0,77 ^{ns}	3,32
Erro	30	3,66	0,12		
Total	35	9,80			

* significativo a 5% de probabilidade de erro; ^{ns} não significativo. Coeficiente de variação 19,78%.

ANEXO I. Análise da variância da massa seca da raiz em função da existência de dano na raiz e das formas de inoculação de *Fusarium*. Experimento II. Santa Maria – RS, 2003.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F calc. (Sob Ho)	F tab. (5%)
Existência de dano	1	0,022	0,022	6,38*	4,17
Formas de inoculação	2	0,109	0,054	16,15*	3,32
Interação	2	0,012	0,006	1,75 ^{ns}	3,32
Erro	30	0,101	0,003		
Total	35	0,243			

* significativo a 5% de probabilidade de erro; ^{ns} não significativo. Coeficiente de variação 32,06%.

ANEXO J. Análise da variância do número de botões por planta em função da existência de dano na raiz e das formas de inoculação de *Fusarium*. Experimento II. Santa Maria – RS, 2003.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F calc. (Sob Ho)	F tab. (5%)
Existência de dano	1	44,44	44,44	8,37*	4,17
Formas de inoculação	2	88,39	44,19	8,32*	3,32
Interação	2	1,72	0,86	0,16 ^{ns}	3,32
Erro	30	159,33	5,31		
Total	35	293,89			

* significativo a 5% de probabilidade de erro; ^{ns} não significativo. Coeficiente de variação 33,19%.

ANEXO K. Análise da variância da altura de planta em função dos isolados e doses de *Trichoderma*. Experimento III. Santa Maria – RS, 2003.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F calc. (Sob Ho)	F tab. (5%)
Isolados de <i>Trichoderma</i>	6	252,00	42,00	2,22*	2,18
Doses de <i>Trichoderma</i>	4	341,97	85,49	4,52*	2,45
Interação	24	417,48	17,39	0,92 ^{ns}	1,60
Erro	140	2647,06	18,91		
Total	174	3658,50			

*significativo a 5% de probabilidade de erro; ^{ns} não significativo. Coeficiente de variação 7,19%.

ANEXO L. Análise da variância da massa seca da parte aérea em função dos isolados de *Trichoderma* e das doses de *Trichoderma*. Experimento III. Santa Maria – RS, 2004.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F calc. (Sob Ho)	F tab. (5%)
Isolados de <i>Trichoderma</i>	6	10,78	1,80	3,18*	2,18
Doses de <i>Trichoderma</i>	4	7,24	1,81	3,21*	2,45
Interação	24	21,18	0,88	1,56 ^{ns}	1,60
Erro	140	79,01	0,56		
Total	174	118,22			

* significativo a 5% de probabilidade de erro; ^{ns} não significativo. Coeficiente de variação 16,44%.

ANEXO M. Análise da variância da massa seca da raiz em função dos isolados e das doses de *Trichoderma*. Experimento III. Santa Maria – RS, 2003.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F calc. (Sob Ho)	F tab. (5%)
Isolados de <i>Trichoderma</i>	6	1,170	0,195	1,771 ^{ns}	2,18
Doses de <i>Trichoderma</i>	4	0,544	0,136	1,235 ^{ns}	2,45
Interação	24	2,699	0,112	1,021 ^{ns}	1,60
Erro	140	15,418	0,110		
Total	174	19,831			

* significativo a 5% de probabilidade de erro; ^{ns} não significativo. Coeficiente de variação 32,91%.

ANEXO N. Análise da variância da altura de planta em função dos isolados e das doses de *Trichoderma*. Experimento IV. Santa Maria – RS, 2004.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F calc. (Sob Ho)	F tab. (5%)
Isolados de <i>Trichoderma</i>	6	368,54	61,42	2,05 ^{ns}	2,18
Doses de <i>Trichoderma</i>	4	312,74	78,19	2,61*	2,45
Interação	24	747,38	31,14	1,04 ^{ns}	1,60
Erro	140	4187,42	29,91		
Total	174	5616,08			

* significativo a 5% de probabilidade de erro; ^{ns} não significativo. Coeficiente de variação 8,91%.

ANEXO O. Análise da variância da massa seca da parte aérea em função dos isolados e das doses de *Trichoderma*. Experimento IV. Santa Maria – RS, 2004.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F calc. (Sob Ho)	F tab. (5%)
Isolados de <i>Trichoderma</i>	6	2,82	0,47	0,78 ^{ns}	2,18
Doses de <i>Trichoderma</i>	4	14,03	3,51	5,80*	2,45
Interação	24	21,44	0,89	1,48 ^{ns}	1,60
Erro	140	84,76	0,61		
Total	174	123,05			

* significativo a 5% de probabilidade de erro; ^{ns} não significativo. O coeficiente de variação 13,60%.

ANEXO P. Análise da variância da massa seca da raiz em função dos isolados e das doses de *Trichoderma*. Experimento IV. Santa Maria – RS, 2004.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F calc. (Sob Ho)	F tab. (5%)
Isolados de <i>Trichoderma</i>	6	0,574	0,096	1,08 ^{ns}	2,18
Doses de <i>Trichoderma</i>	4	0,967	0,242	2,73*	2,45
Interação	24	2,745	0,114	1,29 ^{ns}	1,60
Erro	140	12,397	0,089		
Total	174	16,683			

* significativo a 5% de probabilidade de erro; ^{ns} não significativo. O coeficiente de variação 30,46%.