

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

***Trichoderma* spp. NO CRESCIMENTO VEGETAL E  
NO BIOCONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum* E DE  
PATÓGENOS EM SEMENTES DE CÁRTAMO  
(*Carthamus tinctorius*)**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Geovana Gomez de Oliveira**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2007**

***Trichoderma* spp. NO CRESCIMENTO VEGETAL E NO  
BIOCONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum* E DE  
PATÓGENOS EM SEMENTES DE CÁRTAMO  
(*Carthamus tinctorius*)**

por

**Geovana Gomez de Oliveira**

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 a obtenção do grau de **Mestre em Agronomia.**

**Orientador: Elena Blume**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2007**

**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

***Trichoderma* spp. NO CRESCIMENTO VEGETAL E NO  
BIOCONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum* E DE PATÓGENOS EM  
SEMENTES DE CÂRTAMO (*Carthamus tinctorius*)**

elaborada por  
**Geovana Gomez de Oliveira**

como requisito parcial para a obtenção do grau de  
**Mestre em Agronomia**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

**PhD. Elena Blume** (UFSM)  
(Presidente/Orientadora)

---

**Dr. Marlove De Fátima Brião de Muniz** (UFSM)  
(Coorientadora)

---

**Dr. Luciana Zago Ethur** (UNIPAMPA)

Santa Maria, 23 de março de 2007.

## **AGRADECIMENTOS**

À Professora Elena Blume pela orientação, amizade, paciência e ensinamentos.

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

À Professora Marlove F. B. Muniz pela força e colaboração na realização do trabalho.

Aos órgãos financiadores CAPES e CNPq, pelo apoio financeiro.

À Coordenação do programa de Pós-Graduação em Agronomia da UFSM, aos professores e funcionários.

Aos amigos do grupo de Controle Biológico – Josi Cruz, Josi Menezes, Graziela, Rodrigo e Vanessa, muito obrigada.

A todos os colegas que fazem parte do grupo de Controle Biológico.

Aos amigos que contribuíram com o trabalho direta ou indiretamente, muito obrigada.

E principalmente aos meus pais, Arlimar Silveira de Oliveira e Eloisa Gomez de Oliveira, e meus irmãos, Gisele, Rogério e Gustavo, pelo afeto, carinho e amor que me ajudaram a vencer este desafio.

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Incidência (%) de fungos associados às sementes de cártamo, submetidas a diferentes tratamentos com <i>Trichoderma</i> spp. Santa Maria – RS, 2006.....	34
TABELA 2 - Plântulas normais fortes e fracas (%) e comprimento de plântulas normais fortes e fracas (cm) na primeira contagem do teste de germinação de sementes de cártamo, submetidas a diferentes tratamentos com <i>Trichoderma</i> spp. Santa Maria - RS, 2006.....	36
TABELA 3 - Percentagem (%) de plântulas normais fortes, fracas, anormais, sementes mortas, comprimento de plântulas normais fortes e fracas (cm) e germinação total (%) na segunda contagem do teste de germinação de sementes de cártamo, submetidas a diferentes tratamentos com <i>Trichoderma</i> spp. Santa Maria -RS, 2006.....	37
TABELA 4 - Parâmetros de emergência de cártamo em substrato comercial, cujas sementes foram submetidas a diferentes tratamentos com <i>Trichoderma</i> spp. Santa Maria -RS, 2006.....	39
TABELA 5 - Índice de velocidade de emergência de cártamo, submetido a diferentes tratamentos com <i>Trichoderma</i> spp. Santa Maria -RS, 2006.....	40
TABELA 6 - Incidência (%) de <i>mofo branco</i> em plantas de cártamo, inoculadas com isolados obtidos de cenoura (CEN), crisântemo (CRI), alface (ALF) e soja (SOJ), em câmara de crescimento e casa-de-vegetação, 15 e 25 dias após a inoculação (DAI). Santa Maria, 2006.....	48
TABELA 7 - Proporções (%) de níveis de severidade de isolados de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> sobre plantas de cártamo em câmara de crescimento, 15 e 25 dias após a inoculação (DAI).Santa Maria, 2007.....	49

TABELA 8 - Teste de significância para a igualdade de duas proporções, com os valores de Z calculado para as proporções de severidade de isolados de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> provenientes de diferentes culturas, sobre plantas de cártamo cultivadas em câmara de crescimento, 15 e 25 dias após a inoculação (DAI). Santa Maria, 2007.....	50
TABELA 9 - Proporções (%) de níveis de severidade de isolados de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> sobre plantas de cártamo em casa-de-vegetação, 15 e 25 dias após a inoculação (DAI). Santa Maria, 2007.....	51
TABELA 10 - Teste de significância para a igualdade de duas proporções, com os valores de Z calculado para as proporções de severidade de isolados de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> provenientes de diferentes culturas sobre plantas de cártamo cultivadas em casa-de-vegetação, 15 e 25 dias após a inoculação (DAI). Santa Maria, 2007.....	52
TABELA 11 - Proporções de plantas de cártamo com diferentes níveis de severidade de isolados de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , quando cultivadas em câmara de crescimento e casa-de-vegetação, 15 e 25 dias após a inoculação (DAI). Santa Maria, 2007.....	53
TABELA 12 - Valores de Z calculado, do teste de significância para a igualdade de duas proporções para comparação de dois ambientes (câmara de crescimento e casa-de-vegetação), quanto ao nível de severidade de diferentes isolados de <i>S. sclerotiorum</i> , 15 e 25 dias após a inoculação (DAI). Santa Maria, 2007.....	54
TABELA 13 - Altura de planta (cm) e comprimento de raízes (cm), peso fresco e peso seco de parte aérea e raízes de cártamo submetido à presença e ausência de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . Santa Maria - RS, 2006.....	63
TABELA 14 - Altura de planta e comprimento de raízes (cm), peso fresco e peso seco de parte aérea e raízes de cártamo submetido à presença e ausência de <i>Trichoderma</i> spp. Santa Maria - RS, 2006.....	64
TABELA 15 - Comprimento parcial e total de planta (cm), número de raízes, peso fresco e seco (g), aos 7 dias após a emergência de plantas de cártamo, submetidas a diferentes tratamentos com <i>Trichoderma</i> spp. Santa Maria -RS, 2006. ....	65

TABELA 16 - Comprimento de parcial e total de planta (cm), número de raízes, peso fresco e seco (g), aos 14 dias após a emergência de plantas de cártamo, submetidas a diferentes tratamentos com <i>Trichoderma</i> spp. Santa Maria -RS, 2006.....	66
TABELA 17 - Temperaturas mínimas, máximas e médias na casa-de-vegetação durante o teste de biocontrole de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> por <i>Trichoderma</i> spp. Santa Maria, RS, 2006.....	75
TABELA 18 - Umidades relativas às 9, 15 e 21 horas na casa-de-vegetação durante o teste de biocontrole de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> por <i>Trichoderma</i> spp. Santa Maria, RS, 2006.....	77

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Flores de cártamo.....	19
FIGURA 2 – Sementes de cártamo (comprimento de 1 a 1,5 cm).....	28
FIGURA 3 – Plântulas normais fortes (a), normais fracas (b e c) e anormais (d) do teste de germinação.....	38
FIGURA 4 – Plantas de cártamo aos quatro dias após a emergência.....	44
FIGURA 5 – Plantas de cártamo com sintomas da infecção por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , planta murcha e planta sem sintoma (a), e planta morta e planta sem sintoma (b).....	46
FIGURA 6 – Temperaturas mínimas, máximas e médias em casa-de-vegetação durante o teste de reação de cártamo a diferentes isolados de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . Santa Maria, 2006.....	55
FIGURA 7 – Umidade relativa às 9, 15 e 21 horas em ambiente externo durante o teste de reação de cártamo à diferentes isolados de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . Santa Maria, 2006.....	56

## LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1 – Dados de temperatura na casa-de-vegetação durante o teste de controle de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> por <i>Trichoderma</i> spp. ....	75
ANEXO 2 – Dados de umidade relativa na casa-de-gvegetação durante o teste controle de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> por <i>Trichoderma</i> spp. ....	77

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	4
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	7
<b>LISTA DE ANEXOS</b> .....	8
<b>SUMÁRIO</b> .....	9
<b>RESUMO</b> .....	12
<b>ABSTRACT</b> .....	13
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
2.1 Características gerais da floricultura brasileira .....	17
2.2 Cultura do cártamo.....	18
2.3 Patógenos de sementes .....	19
2.4 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) De Bary .....	20
2.5 Controle de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary.....	21
2.6 <i>Trichoderma</i> spp. como agente de biocontrole.....	22
2.7 <i>Trichoderma</i> spp. na germinação de sementes e crescimento de plantas.....	24
<b>3 CAPÍTULO I - MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES DE CÁRTAMO COM <i>Trichoderma</i> spp. NO CONTROLE DE PATÓGENOS E DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS</b> .....	26
3.1 Introdução .....	27
3.2 Material e Métodos.....	28
3.2.1 Local.....	28

3.2.2 Sementes de cártamo .....	28
3.2.3 Antagonistas .....	29
3.2.3.1 Obtenção e seleção do isolado TC 1.15.....	29
3.2.3.2 Formulação dos isolados de <i>Trichoderma</i> spp.....	30
3.2.3.3 Concentração de esporos dos formulados de <i>Trichoderma</i> spp.....	30
3.2.4 Teste de Sanidade.....	30
3.2.5 Teste de Germinação.....	31
3.2.6 Emergência em substrato e índice de velocidade de emergência.....	32
3.2.7 Análise estatística.....	33
<b>3.3 Resultados e Discussão .....</b>	<b>33</b>
3.3.1 Eficácia de antagonistas no controle de fitopatógenos de sementes de cártamo.....	33
3.3.2 Ação de antagonistas na germinação de sementes de cártamo.....	35
3.3.3 Ação de antagonistas na emergência de plantas de cártamo em substrato.....	38
<b>3.4 Conclusões .....</b>	<b>40</b>
<b>4 CAPÍTULO II - SUSCETIBILIDADE DE CÁRTAMO (<i>Carthamus tinctorius</i>) À <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....</b>	<b>41</b>
<b>4.1 Introdução .....</b>	<b>42</b>
<b>4.2 Material e Métodos .....</b>	<b>43</b>
4.2.1 Local.....	43
4.2.2 Sementes de cártamo.....	43
4.2.3 Obtenção e cultivo do fitopatógeno.....	43
4.2.4 Cultivo das plantas de cártamo .....	44
4.2.5 Inoculação do fitopatógeno .....	44
4.2.6 Análise estatística .....	46
<b>4.3 Resultados e Discussão .....</b>	<b>47</b>
<b>4.4 Conclusões .....</b>	<b>56</b>
<b>5 CAPÍTULO III - <i>Trichoderma</i> spp. NO CONTROLE DE <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> E NO CRESCIMENTO DE CÁRTAMO .....</b>	<b>57</b>
<b>5.1 Introdução .....</b>	<b>58</b>
<b>5.2 Material e Métodos .....</b>	<b>59</b>

5.2.1 Local .....	59
5.2.2 Sementes de cártamo .....	59
5.2.3 Fungos com potencial antagonista .....	59
5.2.3.1 Concentração de esporos de <i>Trichoderma</i> spp. ....	60
5.2.4 Preparação dos formulados .....	60
5.2.5 <i>Trichoderma</i> spp. no biocontrole de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....	60
5.2.5.1 Tratamentos e delineamento experimental .....	60
5.2.5.2 Obtenção do fitopatógeno .....	61
5.2.5.3 Incorporação dos tratamentos .....	61
5.2.5.4 Parâmetros avaliados .....	61
5.2.6 <i>Trichoderma</i> spp. no crescimento de plantas de cártamo.....	61
5.2.6.1 Tratamentos e delineamento experimental.....	61
5.2.6.2 Incorporação dos tratamentos .....	62
5.2.6.3 Parâmetros avaliados .....	62
5.2.7 Análise estatística .....	62
<b>5.3 Resultados e Discussão .....</b>	<b>63</b>
5.3.1 <i>Trichoderma</i> spp. no biocontrole de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....	63
5.3.2 <i>Trichoderma</i> spp. no crescimento de plantas de cártamo.....	64
<b>5.4 Conclusões .....</b>	<b>67</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>68</b>
<b>7 ANEXOS .....</b>	<b>75</b>

## RESUMO

Dissertação de mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia  
Universidade Federal de Santa Maria

### ***Trichoderma* spp. NO CRESCIMENTO VEGETAL E NO BIOCOTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum* E DE PATÓGENOS EM SEMENTES DE CÁRTAMO (*Carthamus tinctorius*)**

Autor: Geovana Gomez de Oliveira  
Orientadora: Elena Blume  
Local e data da defesa: Santa Maria, 23 de março de 2007.

A floricultura, no Brasil, é relativamente recente, existindo espécies pouco conhecidas com alto potencial ornamental. O cártamo é uma delas e possui cultivares tanto para a produção de óleo quanto para ornamentação. Por ser uma cultura recente no Brasil, pouco se conhece sobre as doenças associadas a ela, especialmente as que afetam as sementes e as veiculadas pelo solo, como o mofo branco, que causa grandes prejuízos a diversas culturas. Seis experimentos foram conduzidos com o objetivo de testar a reação da cultura a isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*, o biocontrole de patógenos associados às sementes e de *Sclerotinia sclerotiorum* e o efeito dos biocontroladores no crescimento de plantas de cártamo. Foram utilizados isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* das culturas do crisântemo, alface, soja e cenoura, e isolados de *Trichoderma* spp. (ETSR 20 e TC 1.15) e formulados comerciais à base de *Trichoderma* spp. (Agrotrich e Trichodel<sup>®</sup>). No teste de reação, a cultura do cártamo foi mais severamente atacada pelo isolado proveniente da alface, o qual, quando incorporado ao substrato comercial, não promoveu o desenvolvimento da doença nas plantas, porém prejudicou seu crescimento. Trichodel<sup>®</sup> foi o produto que maior crescimento proporcionou às plantas quando incorporado ao substrato, mesmo sem a presença do patógeno. O produto mais eficiente no controle dos patógenos das sementes foi o formulado comercial Agrotrich. No crescimento de plântulas, os isolados ETSR 20 e TC 1.15 se sobressaíram quando aplicados às sementes e este obteve melhor resultado na emergência de plântulas em substrato. Assim, os produtos à base de *Trichoderma* são viáveis para controle de patógenos de sementes e crescimento de plantas tanto no tratamento de sementes como do substrato. Existem diferenças na severidade da doença em cártamo entre isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* oriundos de diferentes culturas e sua presença reduz o crescimento da cultura, mesmo na ausência de sintomas visíveis.

**Palavras-Chave:** mofo branco, suscetibilidade, antagonismo, isolados fúngicos, severidade de doença

## ABSTRACT

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

### ***Trichoderma* spp. ON PLANT GROWTH AND BIOCONTROL OF *Sclerotinia sclerotiorum* AND SEED PATHOGENS OF CARTHAMUS (*Carthamus tinctorius*)**

Author: Geovana Gomez de Oliveira

Advisor: Elena Blume

Place and date of presentation: Santa Maria, March 23, 2007.

The cultivation of flowers is, in Brazil, very recent and little known species have a high ornamental potential, Cartamus is such a species and there are cultivars for the production of oil and as well as for ornamental purposes. Being a recent crop in Brazil, little is known about its associated diseases, specially those that affect the seeds and the soil borne, such as white mold that causes great losses to several crops. Six experiments were conducted with the objectives of testing the reaction of the crop to isolates of *Sclerotinia sclerotiorum*, the biocontrol of *S. sclerotiorum* and of pathogens associated to the seeds, and the effect of the biocontrollers on cartamus plant growth. Isolates of the pathogen from chrisantemum, lettuce, soybean, and carrots, as well as isolates of *Trichoderma* sp. (ETSR 20 e TC 1.15) and comercial products of *Trichoderma* spp. (Agrotrich and Trichodel<sup>®</sup>) were used. In the reaction test, the cartamus crop was more severely attacked by the isolate obtained from lettuce, which when incorporated to commercial substrate did not promote the development of the disease in plant, but reduced plant growth. Trichodel<sup>®</sup> was the product that promoted the highest growth of plants when incorporated to the substrate, even in the absence of the pathogen. The product more efficient in controlling seed pathogens was Agrotrich. In the growth of seedlings, the isolates ETSR20 and TC1.15 were the best, when applied to the seeds and the latter promoted the best emergency of seeds in commercial substrate. Therefore, the *Trichoderma* based products can be used in the control of seed pathogens and growth promotion of cartamus plants as seed or substrate treatment. There are differences in disease severity on cartamus among isolates of *S. sclerotiorum* from different crops and its presence reduces the crop's growth, even in the absence of visible symptoms.

**Key-Words:** white mold, susceptibility, antagonism, fungi isolates, disease severity

## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a floricultura empresarial é relativamente recente, sendo que existe há, aproximadamente, 40 anos, e é um dos setores que apresenta maior crescimento no país. O estado de São Paulo é o que detém a maior parte da produção no país, chegando a representar 70% do total da produção.

O Rio Grande do Sul apresenta-se como um estado promissor na área de flores e plantas ornamentais, pois apresenta o maior consumo percapita de flores e plantas ornamentais do Brasil (AFLORI, 2004). As flores que possuem o maior consumo são aquelas propagadas vegetativamente, como o crisântemo e a roseira. Porém, um grupo de menor expressão, que tem sua propagação por sementes, também merece atenção, como boca de leão, lisiantus, cártamo, entre outras.

O cártamo é cultivado, extensivamente, em muitos países, como cultura oleaginosa, mas existem cultivares com características associadas à produção de flores de corte que são pouco conhecidas no Brasil. Seu cultivo pode ser uma alternativa de diversificação para os produtores de flores do Rio Grande do Sul, pois se adapta a regiões mais frias, além de ser de ciclo curto da primavera ao outono.

Por ser uma cultura de cultivo muito recente e sua produção estar muitas vezes, restrita à estufas, pouco se conhece sobre o comportamento de doenças associadas a ela, sendo severamente atacada por microrganismos que são beneficiados devido à temperatura e umidade mais elevadas que no ambiente externo. Existem vários tipos de agentes causadores de doenças em plantas. Segundo Bergamin Filho & Kimati (1995), tais agentes podem ser fungos, bactérias e vírus, genericamente chamados patógenos. Essas doenças são responsáveis por perdas severas em culturas de importância econômica em todo o mundo (LARANJEIRA, 2001).

Um dos problemas que têm afetado e limitado a produção de flores é o ataque de *Sclerotinia sclerotiorum*, um fungo de solo, causador do mofo branco. Esse fungo possui pouca especificidade, ataca agressivamente o hospedeiro e obtém nutrientes às custas da decomposição deste. As plantas que têm seu sistema radicular atacado exibem, como sintoma reflexo na parte aérea, a murcha (BEDENDO, 1995). Porém, alguns estudos mostram que existem diferenças entre

isolados do patógeno quanto à virulência e entre algumas cultivares, que se portam de maneira diferente ao ataque do patógeno. Peres & Regnaultt (1993) demonstram, em trabalho com girassol (*Helianthus annuus* L.), que existem diferenças na virulência entre isolados desse fungo por meio da inoculação de raízes por escleródios. Por isso, é importante estudar a reação da cultura do cártamo a esse patógeno, para determinar se é possível utilizá-la como uma espécie para rotação de culturas em solos infestados com *Sclerotinia sclerotiorum*, por exemplo.

Muitos autores consideram o controle químico como a única medida eficiente e economicamente viável para garantir a alta produtividade e também a alta qualidade de produção. Porém, no controle de patógenos de solo, o controle químico é pouco eficiente, causa impactos negativos ao ambiente, contaminando solos e cursos de água, prejudicando os microrganismos benéficos ao solo, além de selecionar patógenos resistentes ao produto. Uma alternativa é a introdução de organismos antagonistas a esses patógenos.

Segundo Laranjeira (2001), entre os principais microrganismos que têm revelado potencial antagonista a fitopatógenos estão *Trichoderma* spp., *Gliocadium* spp., *Penicillium* spp., *Verticillium lecani* e *Aspergillus niger*. *Trichoderma* spp. é um promissor agente antagonista. Segundo Melo (1998), *Trichoderma* spp. é um fungo natural do solo, encontrado especialmente em solos orgânicos, que pode viver saprofiticamente ou parasitando outros fungos. É um micoparasita necrotrófico eficaz no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos, principalmente aqueles com estruturas de resistência consideradas difíceis de serem atacadas por microrganismos, como esporos, escleródios, clamidósporos e microescleródios (MELO, 1996).

Outro fator importante é que o material propagativo seja livre de patógenos, para obter-se um produto de alta qualidade. O uso de *Trichoderma* spp. e outros agentes para o controle de patógenos de sementes vem crescendo nos últimos anos.

Portanto, este trabalho teve por objetivo utilizar o fungo *Trichoderma* spp. como agente de biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de cártamo e patógenos associados à sementes e, ainda, verificar a influência dos antagonistas na germinação de sementes e crescimento de plantas.

Os objetivos específicos do trabalho foram:

### Capítulo I

- Testar a eficácia de antagonistas no controle de fungos patogênicos de sementes de cártamo.
- Verificar a ação dos antagonistas no desenvolvimento de plântulas.

### Capítulo II

- Avaliar a reação de plantas de cártamo a diferentes isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes ambientes.

### Capítulo III

- Verificar a eficácia *in vivo* de antagonistas à *Sclerotinia sclerotiorum*.
- Avaliar a ação dos antagonistas no crescimento de cártamo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Características gerais da floricultura brasileira

A produção e a comercialização, em larga escala, de flores e plantas ornamentais 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 o país. Nessa época, a produção era concentrada, principalmente, no entorno dos grandes centros como as tradicionais cidades de Atibaia, Holambra e São Paulo, e o pólo das flores em Pernambuco (AKI & PEROSA, 2002).

A produção e o consumo de flores e plantas ornamentais, no Brasil, vêm acompanhando a tendência de crescimento da expansão do mercado mundial e crescendo a cada ano. Avalia-se que a floricultura brasileira movimenta, no mercado doméstico, um valor global em torno de 750 milhões de dólares ao ano.

Embora não seja um exportador tradicional de flores e plantas ornamentais, a profissionalização do segmento exportador no Brasil vem se intensificando nos últimos anos e, hoje, o país já se projeta no cenário internacional como importante referencial de qualidade e competitividade (JUNQUEIRA & PEETZ, 2002). A maior parte da produção brasileira é direcionada para o mercado interno. Da produção nacional, cerca de 2 a 5% destina-se à exportação, principalmente, para o Mercosul, EUA, Holanda, Alemanha, Japão e Itália. Dentre os produtos exportados, destacam-se rosas, flores secas, gladiólos, bulbos, mudas de cordilíne, dracenas, orquídeas, gerânios, crisântemos, folhagem, sementes de palmeiras e flores tropicais (KAMPF, 1997). As exportações brasileiras de flores e plantas ornamentais somaram pouco mais de US\$ 15 milhões no período de janeiro a junho de 2006, valor 7,95% maior que o obtido no mesmo período do ano passado, quando foram exportados US\$ 13,979 milhões (AFLORI, 2006).

## 2.2 Cultura do cártamo

O cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) pertence à família Asteraceae, possui brácteas involúcras externas verdes e receptáculo floral com escamas densas. Sua origem é asiática, onde era utilizado para tingir seda, além de ser muito apreciado no Oriente pelo óleo rico em ácidos graxos poliinsaturados e monoinsaturados obtido de suas sementes (POLUNIN, 1991). Suas sementes apresentam-se na cor branca ou bege e medem cerca de 1 a 1,5 cm. A coloração das flores varia entre amarela, alaranjada ou branca (Figura 1).

Cultivares foram desenvolvidas tanto para fins ornamentais como para a produção de óleo. Na Europa, a espécie é cultivada como ornamental, tendo como cultivares *Carthamus Oranje*, *Donkeoranje Select* e *Carthamus Summersun*, que são semeadas entre julho e setembro (verão/outono) e são utilizados 250-300 gramas, cerca de 6.000 sementes, para semeadura de 100 m<sup>2</sup> (60 pl/m<sup>2</sup>) (SNIJBLOEMENKATALOGUS, 1996). Na Índia, genótipos selecionados para a produção de óleo são usados em sucessão com a cultura do algodão (MALEWAR et al., 1999). Na América do Sul, Argentina e México o cultivam pelo seu potencial para a produção de óleo.

No Brasil, são comercializadas três cultivares ornamentais de cártamo: *Lasting Orange*, que abre com a cor amarela e mais tarde muda para a cor laranja, o *Lasting White* de cor branco-marfim e o *Lasting Yellow* que possui flores puramente amarelas. Essas cultivares são descritas como anuais podendo ser semeadas o ano todo e colhidas aos 90 dias após a semeadura. Atingem altura de 80 a 90 cm e as flores medem cerca de 3,5 cm de diâmetro. A temperatura citada para cultivo é de 20°C e o período de emergência varia de sete a dez dias (SAKATA, 1998).



Figura 1 – Flores de cártamo.

### 2.3 Patógenos de sementes

As sementes são atacadas no campo e nas operações subseqüentes – colheita, secagem e beneficiamento -, o que afeta a sua qualidade, reduz a sua capacidade germinativa, bem como causa tombamento de plântulas recém emergidas (CARNEIRO, 1987). A interferência dos patógenos associados às sementes pode promover redução da população de plantas, debilitação das plantas e desenvolvimento de epidemias (MENTEN, 1991). O estudo da associação de fungos encontrados em maior número e freqüência sobre sementes e avaliação do seu potencial patogênico é de fundamental importância, pois pode fornecer subsídios para modelos epidemiológicos, produção de mudas e armazenamento de sementes (SANTOS et al., 1997).

Os fitopatógenos podem estar associados às sementes na sua superfície, no seu interior ou em mistura. Eles se apresentam nas mais variadas formas de propagação, desde o esporo até estruturas de resistência (os escleródios), micélios, e outras estruturas específicas dos diversos grupos de fungos, bactérias, nematóides e vírus (CAMPACCI & PESSANHA, 1970).

Entre os patógenos fúngicos que atacam sementes, predominam os deuteromicetos, principalmente as espécies pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Diplodia* e *Cladosporium*. Esses fungos são favorecidos quando o teor de umidade da semente está em torno de 25% (BEDENDO, 1995).

## 2.4 *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary

O gênero *Sclerotinia* encontra-se na divisão Eumycota, sub-divisão Ascomycotina, ordem Helotiales, família Sclerotiniaceae (KRUGNER & BACCHI, 1995).

Patógenos radiculares como *Sclerotinia sclerotiorum* causam danos severos às plantas. Esses patógenos formam escleródios que são estruturas de resistência e podem permanecer viáveis no solo por longos períodos na ausência do hospedeiro. Os escleródios são agregados compactos de hifas somáticas formando massas, em geral, arredondadas. Estas estruturas estão presentes em diferentes gêneros de fungos fitopatogênicos tais como *Sclerotium*, *Macrophomina*, *Verticillium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia* e outros (AMORIM, 1995). Em muitos deles, os escleródios apresentam tamanho diminuto, sendo então denominados microescleródios, outras vezes, estas estruturas apresentam dimensões significativas, como é o caso dos escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, que podem alcançar até 5 cm (AMORIM, 1995).

Segundo Bedendo (1995), *Sclerotinia sclerotiorum* pertence a um grupo de fungos de solo que ataca agressivamente o hospedeiro e obtém nutrientes às custas da decomposição deste, mas não apresenta especificidade e por isso pode atacar diferentes espécies vegetais, como plantas ornamentais, hortícolas, culturas comerciais, frutíferas e florestais, principalmente em estádios jovens. Mesmo possuindo essa característica, alguns isolados do fungo podem diferir quanto à virulência, conferindo diferenças de severidade as plantas (PERES & REGNAULTT, 1993). Em cártamo, o ataque de *Sclerotinia sclerotiorum* foi registrado por Rocha (2005), em estudos feitos para determinar a fenologia da cultura.

Em plantas de *Aster ericoides* L. (White Show) da família Asteraceae, no município de Avara, São Paulo, foi diagnosticada a presença de *Sclerotinia sclerotiorum* e os sintomas observados foram necrose de cor pardo-esbranquiçada na haste e presença de folhas amareladas, murchas e secas (BUENO et al., 2005).

As plantas que têm seu sistema radicular atacado por *Sclerotinia sclerotiorum*, exibem sintomas reflexos na parte aérea. Os sintomas característicos da doença são necrose no caule (ou haste) e murchamento seguido da seca das folhas, enquanto os sinais são crescimento de micélio cottonoso e branco na superfície dos tecidos lesionados e a presença de inúmeros escleródios pretos e grandes (KIMATI et al.,

1997). O primeiro sintoma, geralmente observado na parte aérea, é a murcha. Caso ela ocorra, deve-se examinar o colo da planta e seu sistema radicular, buscando-se identificar escurecimento, podridão, micélio branco algodoso e escleródios para diagnosticar o problema (BEDENDO, 1995).

O fungo geralmente sobrevive através de suas estruturas de resistência, os escleródios, que na ausência da planta hospedeira, podem permanecer no solo por longos períodos. Essa sobrevivência vai depender de diversos fatores relacionados ao patógeno e ao ambiente, sendo que geralmente, a alta umidade reduz a longevidade dos escleródios de vários meses para algumas semanas.

## **2.5 Controle de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary**

Segundo Reis et al. (1995), a ocorrência de doenças de plantas causadas por patógenos de solo indica a existência de um desequilíbrio biológico no solo. O solo é um ambiente complexo, onde medidas de controle têm sua eficiência prejudicada ou sua aplicação dificultada, por isso o controle das doenças causadas por patógenos veiculados pelo solo é tarefa difícil (BEDENDO, 1995). Para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* existem diversas formas como controle físico, controle químico, manejo cultural e o controle biológico.

Dentro do controle físico, existe o uso de coletores solares para desinfestação de substratos para produção de mudas e a eliminação de determinados comprimentos de onda, através de filtros que limitam a passagem dos que forem menores que 390nm (GHINI & BETTIOL, 1995). Porém, o tipo de controle físico mais utilizado contra *Sclerotinia sclerotiorum* é a solarização do solo. Com o aumento da temperatura do solo os organismos podem ser inibidos ou virem a morrer. Os escleródios sofrem fissuras causadas pela solarização, o que aumenta a exsudação de substâncias e a colonização por antagonistas e ainda, reduz sua capacidade patogênica (GHINI & BETTIOL, 1995).

Para controlar *Sclerotinia sclerotiorum*, a forma mais utilizada é o controle químico, principalmente pelo fungicida Benomyl, chegando a ter efetividade de 50% a 80% contra o tombamento de pré e pós-emergência, respectivamente, no tratamento de sementes de soja e feijão, como demonstra experimento realizado por Illipronti Jr. & Machado, (1993).

O manejo cultural é geralmente utilizado em áreas com histórico de ocorrência da doença. Entre as medidas culturais adotadas para erradicar o patógeno do solo, destacam-se a inundação da área, tombamento da leiva e evitar excesso de umidade (REIS & FORCELINI, 1995).

O controle biológico é, segundo Bettiol (1991), o controle de um microrganismo através de outro microrganismo. O controle de patógenos de solo pode ser obtido através da manipulação do ambiente e da introdução de antagonistas, tanto no solo como nos órgãos de propagação das plantas (BETTIOL & GHINI, 1997). Esse controle, geralmente, não erradica os patógenos, pois sua ação depende da manipulação do equilíbrio biológico existente no solo. Segundo Lima et al. (2000) a premissa básica do controle biológico é manter a densidade populacional das espécies de pragas, associadas à agricultura, em níveis econômicos e ecologicamente aceitáveis.

Illipronti Jr. & Machado (1993) utilizaram *Trichoderma harzianum*, *T. koningii*, *T. polysporum*, *T. hamatum*, *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus*, *Paecilomyces lilacinus* e *Gliocladium viride* como fungos antagonistas, em experimento de controle biológico de *damping-off* em soja, causado por *Sclerotinia sclerotiorum* em ambiente protegido. Dentre os microrganismos, o melhor desempenho foi do isolado *T. koningii*, em pré-emergência, com índice de controle de 30% e, em pós-emergência, de 45%.

## **2.6 *Trichoderma* spp. como agente de biocontrole**

O gênero *Trichoderma*, pertencente à Ordem Hypocreales, é representado por fungos não patogênicos, que são habitantes do solo. Suas espécies representam os fungos mais estudados e utilizados que possuem atividades antagonistas a fitopatógenos presentes no solo. Segundo Melo (1998), *Trichoderma* spp. é um fungo natural do solo encontrado especialmente em solos orgânicos, que pode viver saprofiticamente ou parasitando outros fungos.

*Trichoderma* spp. é um micoparasita necrotrófico eficaz no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos, principalmente aqueles com estruturas de resistência consideradas difíceis de serem atacadas por microrganismos, como esporos, escleródios, clamidósporos e microescleródios (MELO, 1996).

Em meio de cultura, as colônias de *Trichoderma* sp. crescem rapidamente, apresentando, inicialmente, superfície lisa e quase translúcida, tornando-se, posteriormente, flocosas ou compactas. A coloração da colônia em vários tons de verde (às vezes, muito claro – cor gelo) é, normalmente, devido à pigmentação dos conídios e à quantidade de conídios produzidos, podendo ainda ser influenciada pelo tipo e pH do meio de cultivo. O micélio é composto por hifas hialinas, muito ramificadas e de parede lisa. Clamidósporos estão presentes na maioria das espécies, intercalados nas hifas ou, ocasionalmente, terminais (MELO, 1991).

A sobrevivência de *Trichoderma* sp. em solo natural ou infestado artificialmente é influenciada pela temperatura, umidade, aeração, pH e teor de matéria orgânica do solo. *T. viride* é um antagonista ativo, em condições de solo úmido, mas é inibido em presença de umidade com pH acima de 5,4. Foi observado antagonismo de *T. harzianum* em vários valores de pH menores de 6,5, sendo a faixa ótima entre 4,5 e 5,3 (COOK & BAKER, 1983).

Os mecanismos básicos de antagonismo são: a antibiose, a lise, a competição, o parasitismo, a hipovirulência, a predação e a indução de resistência. Na prática, provavelmente poucos organismos exerçam um único mecanismo antagônico. Um antagonista pode atuar através de um ou mais mecanismos, o que constitui uma característica muito desejável, pois as chances de sucesso do controle biológico serão aumentadas. O conhecimento dos mecanismos de antagonismo é essencial no desenvolvimento de modelos racionais para a introdução de biocontroladores em agroecossistemas.

O estabelecimento de *Trichoderma viride* no solo favorece o cultivo de maçãs, sendo observado que a mistura de *T. viride* com solo parcialmente esterilizado foi capaz de proteger mudas de macieira, por muitos anos, contra podridões causadas por *Phytophthora* sp. e *Rosellinia* sp. (SANHUEZA, 2001); a aplicação de *T. harzianum* (T-22) no solo, protegeu pessegueiros contra *Armillaria mellea* por pelo menos quatro anos; e ainda, a aplicação de T-22 no solo, antes do plantio de mudas de morango, protegeu a cultura mesmo em solos infestados com *Verticillium* sp. e *Phytophthora* sp. (HARMAN, 2000).

## 2.7 *Trichoderma* spp. na germinação de sementes e crescimento de plantas

A promoção de crescimento ocasionada por microrganismos do solo ocorre devido à ação de vários fatores ainda pouco esclarecidos. No solo, macro e micronutrientes sofrem um equilíbrio dinâmico complexo de solubilização e insolubilização, fortemente influenciado pelo pH e pela microflora, que afeta a acessibilidade desses para serem absorvidos pelas raízes das plantas. O ferro e o manganês foram particularmente estudados quanto à sua solubilização pela microflora do solo e sua disponibilidade e influência às doenças em plantas (ALTOMARE et al., 1999). As espécies de *Trichoderma* estão entre os microrganismos mais comumente estudados como agentes de biocontrole e apresentam, também, atividade como promotores de crescimento em plantas. A promoção de crescimento em plantas promovida pelo fungo *Trichoderma harzianum* T-22, está na sua habilidade de solubilizar muitos nutrientes importantes para a planta (ALTOMARE et al., 1999).

Harman (2000) demonstra o maior crescimento de raízes de soja e milho tratadas com *Trichoderma harzianum* T-22 e maior produtividade de pimentão quando comparados com testemunhas não tratadas. Sementes de milho e algodão tratadas com os isolados T12, T95 e T22 (fusão dos dois anteriores) de *Trichoderma harzianum* apresentaram aumento no crescimento das raízes, no tratamento com o isolado T22, em 31,4% em milho e 60% em algodoeiro (SIVAN & HARMAN, 1991). Chang et al. (1986), utilizando tratamento de solo com suspensão de conídios de *Trichoderma harzianum* observaram promoção de crescimento através do peso de massa seca superior à testemunha, no feijão, de 10,3%, no rabanete, de 8,3%, no tomateiro, de 36,8%, na pimenteira, de 41,7% e no pepineiro de 93,3%. No tratamento de solo com isolado *Trichoderma harzianum*, houve aumento significativo quanto à altura das plantas em 23,8 e 17,2% e peso de massa seca em 24,7 e 28,6%, em pepineiro (18 dias) e pimenteira (30 dias), respectivamente (INBAR et al., 1994). Kleifeld & Chet (1992) obtiveram resultados positivos na promoção de crescimento do pepineiro (massa seca) por isolado de *Trichoderma harzianum*, tanto em solo autoclavado (26%) quanto em solo não autoclavado (43%). Já Ousley et al. (1993) observaram que apenas um dos dois isolados de *Trichoderma harzianum* apresentou melhor resultado (5%) do que a testemunha quanto ao crescimento (massa seca) em alface.

A contribuição de *Trichoderma* spp. na germinação também é comprovada. A ação positiva de isolado de *T. harzianum* em tratamento de semente e de solo na germinação de feijão foi de 77 e 100%, rabanete 58 e 100%, tomate 100 e 70%, pimenta 90%, pepineiro 90 e 100%, respectivamente, evidencia que as variações nos resultados, nesse experimento, são decorrentes da forma de tratamento e da cultura (KLEIFELD & CHET, 1992). Já Ousley et al. (1993) observaram que alguns isolados de *Trichoderma harzianum* auxiliaram e outros inibiram a germinação de sementes de alface.

### **3 CAPÍTULO I**

**MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES DE CÁRTAMO COM  
*Trichoderma* spp. NO CONTROLE DE PATÓGENOS E  
DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS.**

### 3.1 Introdução

O cártamo é uma cultura relativamente nova no Rio grande do Sul, sendo seu potencial explorado, principalmente, para fins ornamentais. As flores que possuem o maior consumo são aquelas propagadas vegetativamente, como o crisântemo e a roseira. Porém, um grupo de menor expressão que tem sua propagação por sementes também merece atenção, como cártamo, boca de leão, entre outros.

A semente é um insumo de grande relevância no processo produtivo e sua qualidade é indispensável à implantação de lavouras conduzidas tecnicamente. A qualidade de um lote de sementes compreende uma série de características ou de atributos que determinam o seu valor para a semeadura; dentre os mais relevantes, são considerados os de natureza genética, fisiológica e sanitária (MARCOS FILHO, 1994).

Um importante fator para o cultivo de plantas é ter o material propagativo livre de patógenos, fator que influencia no desenvolvimento normal das plantas. Os fungos são considerados os principais agentes causais de doenças em plantas. Nas sementes, a importância desses organismos está relacionada à frequência com que algumas espécies ocorrem associadas às mesmas. Os fungos que atacam as sementes podem causar perda tanto na produção quanto na qualidade. Sementes infectadas, comumente, exibem redução na germinação, na emergência de plântulas e no vigor, o que leva a uma baixa população de plantas no campo. As plântulas podem ser mortas após a emergência ou terem o seu desenvolvimento reduzido. Além disso, as sementes infectadas ou infestadas por fungos constituem fonte de inóculo primário para as doenças, em condições de campo (PINTO, 1999).

O tratamento de sementes é uma tecnologia recomendada pela pesquisa, diminuindo falhas na germinação. Uma alternativa é o uso de bioprotetores, através da microbiolização de sementes.

*Trichoderma* spp. apresenta amplitude de ação no antagonismo a fungos e quando reintroduzidos no ambiente podem persistir no solo ou nas plantas, podendo dispensar reaplicações. Além dos já conhecidos efeitos de *Trichoderma* spp. no controle de patógenos de plantas, certas linhagens podem ter efeito estimulatório direto no crescimento e no florescimento de plantas hortícolas (BAKER, 1988).

No caso específico do cártamo, são quase inexistentes os estudos de detecção de patógenos em sementes, bem como seu tratamento e ainda a influência

de agentes biológicos na germinação e desenvolvimento das mesmas. Pesquisas nesse sentido são de fundamental importância, pois podem fornecer subsídios para o cultivo da espécie.

Os objetivos deste trabalho foram verificar a eficácia de antagonistas no controle de fungos patogênicos de sementes e na germinação e vigor de plântulas de cártamo.

### **3.2 Material e Métodos**

#### **3.2.1 Local**

Os ensaios experimentais foram desenvolvidos no Laboratório de Fitopatologia e câmara climatizada do Departamento de Defesa Fitossanitária/Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria.

#### **3.2.2 Sementes de cártamo**

As sementes de cártamo (Figura 2) utilizadas nos experimentos foram constituídas de uma mistura de duas variedades, Lasting Orange e Lasting Yellow, produzidas no ano de 2004 em estufa do Departamento de Fitotecnia/Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria, e cedidas pelo Prof. Dr. Rogério Bellé.



Figura 2 - Sementes de cártamo (comprimento de 1 a 1,5 cm).

### 3.2.3 Antagonistas

Foram utilizados os produtos comerciais Agrotich e Trichodel, a base de *Trichoderma* spp., bem como, os isolados ETSR 20 (ETHUR et al., 2005) e TC 1.15.

#### 3.2.3.1 Obtenção e seleção do isolado TC 1.15.

Para o isolamento do isolado TC 1.15 foi utilizado o método de iscas (ROCHA & OLIVEIRA, 1998), de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* (TRUTMANN et al., 1980; UTKHEDE & RAHE, 1980).

Quinhentos gramas de solo da parte superficial do solo de área de cultivo de crisântemo foram coletados na profundidade de, no máximo, 10 cm. O solo foi acondicionado em sacos plásticos e levado até o laboratório.

O método de iscas possibilitou o isolamento de 102 isolados, sendo 43 de *Trichoderma*. A escolha do isolado TC 1.15 foi feita através do teste de confronto direto. Para o teste de confrontação direta, um escleródio de *Sclerotinia sclerotiorum* foi colocado em placa de Petri (9,0 cm) contendo meio BDA, a 0,5 cm da borda. As placas foram incubadas durante 48 horas a 25°C (+/- 2°C) e fotoperíodo de 12 horas. Em seguida, um disco de 12 mm de diâmetro contendo BDA e estruturas dos isolados de *Trichoderma* spp. foi transferido para as placas em posição oposta ao escleródio de *Sclerotinia sclerotiorum*. As placas foram novamente mantidas a 25°C (+/-2°C) e fotoperíodo de 12 horas.

A avaliação foi realizada no oitavo dia após a implantação do experimento, utilizando-se uma escala de notas variando de 1 a 5 (BELL et al., 1982):

- 1 – Antagonista cresce e ocupa toda a placa;
- 2 – Antagonista cresce e ocupa uma parte do patógeno (2/3 da placa);
- 3 – Antagonista e o patógeno crescem até a metade da placa (nenhum organismo domina o outro);
- 4 – Patógeno cresce e ocupa uma parte do antagonista (2/3 da placa);
- 5 – O patógeno cresce e ocupa toda a placa.

No teste, o isolado TC 1.15 foi o que apresentou melhor resultado de antagonismo, sendo o único que obteve nota um (1).

### 3.2.3.2 Formulação dos isolados de *Trichoderma* spp.

Em erlenmeyers de 250 mL, foram colocados 60 g de arroz, acrescentados 60 mL de água e levados para esterilização em autoclave, a 120 °C por 40 min.

A inoculação dos isolados no arroz foi feita através de discos de BDA contendo micélio e esporos dos isolados ETSR 20 e TC 1.15 de *Trichoderma* spp. Após, permaneceram em câmara climatizada, por quinze dias, a 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas, até o substrato ter sido totalmente colonizado. O arroz colonizado foi retirado do erlenmeyer e colocado em envelopes de papel, que foram levados ao forno por 72 h, a 30 °C. O arroz, depois de seco, foi triturado em liquidificador até se tornar um pó fino.

### 3.2.3.3 Concentração de esporos dos formulados de *Trichoderma* spp.

Para estimar a concentração de esporos dos tratamentos foi feita uma suspensão e contagem dos mesmos usando uma câmara de Neubauer. A seguinte concentração de esporos para os quatro formulados foi encontrada: Agrotich –  $10^6$  esporos; TC 1.15 –  $10^7$  esporos; ETSR 20 –  $10^7$  esporos e Trichodel<sup>®</sup> –  $10^9$  esporos/mL.

### 3.2.4 Teste de Sanidade

Para testar a eficácia dos antagonistas no controle de patógenos de sementes, foi realizado o teste de sanidade, por meio do método “Blotter test”, em amostra de 200 sementes, divididas em oito subamostras, colocadas em caixas de plástico tipo “Gerbox”, sobre três folhas de papel filtro esterilizadas e umedecidas com água destilada e esterilizada.

Foi incorporado às sementes 0,02g de formulado em pó a base de *Trichoderma* nos tratamentos com formulados em pó (Agrotich, ETSR 20 e TC 1.15) e 0,05 mL de formulado líquido a base de *Trichoderma* no tratamento com Trichodel<sup>®</sup>, conforme recomendação dos produtos comerciais utilizados. As 200

sementes foram agitadas manualmente em caixa do tipo “Gerbox” para que houvesse uma distribuição uniforme dos pós e do líquido às mesmas.

Após a aplicação dos tratamentos, as sementes ficaram 24 horas em temperatura ambiente e foram congeladas por mais 24 horas para que a semente tivesse sua germinação inibida para facilitar as avaliações. Logo após as sementes foram incubadas em câmara de crescimento, à temperatura de 25° +- 2°C, em regime de 12 horas de iluminação com lâmpadas fluorescentes, durante sete dias.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado e o parâmetro avaliado neste experimento foi a incidência de fungos nas sementes de cártamo nos diferentes tratamentos com *Trichoderma* spp. e os resultados foram expressos em percentagem.

### 3.2.5 Teste de Germinação

A percentagem de germinação corresponde à percentagem de sementes que de acordo com as Regras de Análise Sementes produziram plântulas normais sob as condições e os limites de tempo especificados.

Para verificar a ação dos antagonistas na germinação de sementes de cártamo, foi realizado o teste de germinação. Esse teste foi composto de quatro repetições de 50 sementes, totalizando 200 sementes. O teste realizado foi em rolo de papel (RP), composto de três folhas de papel-filtro de 28 x 38 cm, duas debaixo das sementes e uma cobrindo-as, umedecido com água destilada equivalente à 2,5 vezes o peso do papel seco (BRASIL, 1992).

As sementes de cártamo foram incubadas durante 14 dias em câmara de crescimento sob fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25°C.

Para o teste de germinação foram feitas duas avaliações, uma ao quarto dia, para a verificação do vigor das sementes, quando foram contabilizadas e descartadas as plântulas normais, separadas em normais fortes, aquelas que se apresentam bem desenvolvidas e morfológicamente perfeitas, sem rachaduras ou lesões e normais fracas, aquelas que apresentam algum problema em sua estrutura, muito fina e comprida, pouco desenvolvida ou raquítica ou possuem lesões, mas que não caracterizam anormalidade à plântula. A segunda avaliação foi feita no décimo quarto dia, contabilizando as plântulas normais, anormais, sementes mortas e duras.

Em ambas as contagens, as plântulas normais foram medidas quanto ao comprimento total, ou seja, do ápice das folhas até o final da raiz mais longa, em centímetros, com o auxílio de um escalímetro.

### 3.2.6 Emergência em substrato e índice de velocidade de emergência.

A semeadura ocorreu em bandejas de isopor, preenchidas com substrato comercial Plantmax, próprio para cultivo de plantas ornamentais.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições de 10 sementes cada, totalizando 50 sementes por tratamento.

O teste foi conduzido em câmara de crescimento com temperatura constante de 25° C e fotoperíodo de 12 horas e o substrato umedecido uniformemente para todos os tratamentos, sempre no mesmo horário.

O número de plântulas emergidas foi contado diariamente, à mesma hora, a partir do dia em que surgiram as primeiras plântulas normais. As plântulas normais eram computadas e esse procedimento seguiu até a última contagem, realizada sete dias após o surgimento da primeira plântula normal.

Os parâmetros avaliados foram comprimento parcial, obtido medindo-se do colo da plântula até o ápice das folhas e comprimento total de plântula, medido do ápice das folhas até o final da raiz mais longa, ambos com a ajuda de um escalímetro. Para o peso fresco de plântula, a parte aérea mais as raízes das plântulas foram lavadas em água corrente e postas sobre papel filtro para absorção da água e, logo em seguida, feita a pesagem da plântula. Para o peso seco de plântula, as plântulas foram colocadas em sacos de papel e levadas à estufa a 35°C para retirada da água dos tecidos, sendo pesadas todos os dias até peso constante. Para emergência foi contabilizado o número total de plântulas emergidas ao sete dias.

Para calcular a velocidade de emergência empregou-se o índice de velocidade de emergência ou germinação (MAGUIRE, 1962):

$$IVE = E_1/N_1 + E_2/N_2 + \dots E_n/N_n$$

Onde: IVE = índice de velocidade de emergência.

$E_1, E_2, \dots, E_n$  = número de plântulas normais computadas na primeira contagem, na segunda contagem e na última contagem.

$N_1, N_2, \dots, N_n$  = número de dias da semeadura à primeira, segunda e última contagem.

### 3.2.7 Análise estatística

Os parâmetros avaliados foram submetidos à análise de variância e a comparação de médias feita através do teste de Duncan a 5% de significância no programa SANEST (ZONTA et al., 1984). Dados percentuais foram transformados usando a transformação raiz ( $x + 100$ ).

## 3.3 Resultados e Discussão

### 3.3.1 Eficácia de antagonistas no controle de fitopatógenos de sementes de cártamo

Nove patógenos foram encontrados nas sementes de cártamo (Tabela 1) sendo *Fusarium* sp. o único que se manteve em todos os tratamentos, seguido de *Rhizoctonia* sp. que se desenvolveu em três tratamentos. Os outros sete patógenos apareceram apenas na testemunha, sendo *Rhizopus* sp. o que apresentou maior percentagem.

Tabela 1 - Incidência (%) de fungos associados às sementes de cártamo, submetidas a diferentes tratamentos com *Trichoderma* spp. Santa Maria - RS, 2006.

Patógenos	Tratamentos				
	Testemunha	Agrotrich	ETSR 20	TC 1.15	Trichodel®
<i>Rhizopus</i> sp.	90,89 a	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b*
<i>Fusarium</i> sp.	24,91 ab	0,50 b	27,81 ab	24,67 ab	45,15 a
<i>Aspergillus</i> sp.	9,42 a	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
<i>Penicillium</i> sp.	14,96 a	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
<i>Curvularia</i> sp.	10,37 a	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
<i>Helminthosporium</i> sp.	68,32 a	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
<i>Cladosporium</i> sp.	0,50 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
<i>Epicoccum</i> sp.	0,50 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
<i>Rhizoctonia</i> sp.	0,00 b	1,48 b	0,00 b	0,50 b	9,24 a

\*Médias seguidas de letras distintas na linha diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Duncan.

Entre os patógenos encontrados, *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. e *Fusarium* sp. são fungos causadores de podridões em sementes e órgãos de reserva (RICHARDSON, 1979). *Helminthosporium* sp. pode apodrecer tanto as sementes quanto as raízes e matar plântulas em pré e pós-emergência (NAZARENO, 1982 ) e sua associação às sementes influencia na germinação, no vigor e no estabelecimento de plântulas.

*Fusarium* sp. teve alta incidência no tratamento com Trichodel® (45,15%), seguido do tratamento com ETSR 20 (27,81%). O tratamento mais eficaz no controle de *Fusarium* sp. foi com Agrotrich que apresentou 0,50% do patógeno nas sementes, diferindo significativamente do tratamento com Trichodel®.

Portanto, à exceção de *Fusarium* sp. e *Rhizoctonia* sp., os tratamentos foram eficazes no controle dos patógenos, embora não diferindo significativamente da testemunha para *Cladosporium* sp. e *Epicoccum* sp.

Resultados semelhantes foram encontrados em trabalho com aveia preta, quando o produto comercial Agrotrich obteve redução na incidência de *Rhizopus* sp.

e *Penicillium* sp., ambos com 100% e, para *Cladosporium* sp. e *Rhizoctonia* sp., a redução foi de 80 e 29%, respectivamente (MANZONI et al., 2006).

Resposta positiva e semelhante foi encontrada em experimentos com sementes de milho quando foi verificado que alguns antagonistas controlaram os patógenos *Aspergillus* spp., *Diplodia maydis*, *Fusarium graminearum* e *Fusarium moniliforme* (LUZ, 2001).

Um resultado oposto ao encontrado foi obtido em trabalho com feijão. Furlan (2003) não obteve resultados significativos no tratamento de sementes com antagonistas para *Colletotrichum lindemuthianum*, justificando que o ajuste na dose ou modo de aplicação poderia melhorar os resultados.

### 3.3.2 Ação de antagonistas na germinação de sementes de cártamo

Para o número de plântulas normais fortes, a testemunha obteve maior média, não diferindo significativamente do tratamento com Trichodel<sup>®</sup> nem do tratamento com Agrotrich (Tabela 2). Provavelmente os resultados se devem ao curto tempo de exposição das sementes aos tratamentos, pois a primeira contagem é realizada quatro dias após a implantação do experimento, e os produtos, por se tratarem de organismos vivos, podem não ter tido tempo suficiente para se desenvolver e agir.

Tabela 2 - Plântulas normais fortes e fracas (%) e comprimento de plântulas normais fortes e fracas (cm) na primeira contagem do teste de germinação de sementes de cártamo, submetidas a diferentes tratamentos com *Trichoderma* spp. Santa Maria - RS, 2006.

Tratamento	Plântulas normais fortes ------(%)-----	Plântulas normais fracas	Comprimento de plântulas normais fortes ------(cm)-----	Comprimento de plântulas normais fracas
Testemunha	37,91 a	33,90 a	6,55 a	4,56 a*
Agrotrich	26,96 ab	22,39 ab	6,65 a	3,93 ab
ETSR 20	15,96 b	14,48 b	3,96 c	2,59 c
TC 1.15	18,96 b	10,97 b	5,05 b	3,27 b
Trichodel <sup>®</sup>	31,37 a	20,26 b	5,80 ab	3,85 b

\*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Duncan.

Quanto ao comprimento de plântulas normais fortes, os melhores tratamentos foram os mesmos do parâmetro anterior e Agrotrich obteve a maior média (6,65cm).

Nas plantas normais fracas, o tratamento que mais se destacou foi com TC 1.15 (10,97%), pois permitiu um menor número de plântulas normais fracas. Quanto ao comprimento de plântulas a testemunha obteve maior média, resultado semelhante ao obtido por Ethur (2002), que mostra que isolados de *T. virens*, incorporados ao solo na forma de pó, não promoveram o crescimento de pepineiro, sendo que alguns influenciaram negativamente o crescimento das plantas, pois as médias ficaram abaixo da testemunha.

O isolado ETSR 20, em tratamento de sementes de tomate apresentou, entre todos os isolados testados, o menor comprimento de raiz de plântulas e, ainda, foi um dos dois isolados promoveu uma menor percentagem de germinação na primeira contagem (ETHUR, 2005).

Na percentagem de plântulas normais fortes (Figura 3a), na segunda contagem, feita 14 dias após a implantação do experimento, não houve diferença significativa entre os tratamentos, sendo o TC 1.15 o que melhor média apresentou (Tabela 3). No comprimento das plantas normais fortes, o tratamento com Agrotrich obteve a menor média, diferindo estatisticamente dos outros tratamentos, mostrando que houve efeito negativo às sementes.

Quanto ao número de plântulas normais fracas (Figura 3b e 3c), não houve diferença significativa entre os tratamentos e no comprimento de plântulas, a testemunha diferiu significativamente dos outros tratamentos.

Os tratamentos com ETSR 20 e TC 1.15 apresentaram o maior número de plantas anormais (Figura 3d), indicando que esses podem agir de forma negativa nas sementes, impedindo seu crescimento normal, mesmo que esses se destaquem em relação aos outros parâmetros analisados. Em relação ao número de sementes mortas não houve diferença significativa entre os tratamentos.

Quanto à germinação de plântulas, os produtos testados não obtiveram médias superiores à testemunha, sendo Trichodel<sup>®</sup> e Agrotrich os dois produtos que melhores médias apresentaram, não diferindo significativamente da testemunha.

Tabela 3 – Percentagem (%) de plântulas normais fortes, fracas, anormais, sementes mortas, comprimento de plântulas normais fortes e fracas (cm) e germinação total (%) na segunda contagem do teste de germinação de sementes de cártamo, submetidas a diferentes tratamentos com *Trichoderma* spp. Santa Maria -RS, 2006.

Tratamento	Plântulas normais fortes	Plântulas normais fracas	Plântulas anormais	Sementes mortas	Plântulas normais fortes	Plântulas normais fracas	Germinação total
	-----(%)-----				----- (cm) -----		(%)
Testemunha	12,49 a	5,99 a	6,50 c	3,00 a	11,27 a	9,06 a	90,35 a*
Agrotrich	17,00 a	9,92 a	17,89 b	5,40 a	7,52 b	5,01 b	75,35 ab
ETSR 20	19,87 a	9,49 a	36,46 a	3,49 a	10,90 a	6,63 b	59,93 b
TC 1.15	20,49 a	12,00 a	33,43 a	3,99 a	10,30 a	6,50 b	62,39 b
Trichodel <sup>®</sup>	19,35 a	11,42 a	15,98 b	0,99 a	9,75 a	6,63 b	82,88 a

\*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Duncan.



Figura 3 - Plântulas normais fortes (a) normais fracas (b e c) e anormais (d) do teste de germinação.

### 3.3.3 Ação de antagonistas na emergência de plantas de cártamo em substrato

O teste de emergência em substrato, finalizado após o sétimo dia da primeira planta emergir, não mostrou diferença significativa entre os tratamentos para os parâmetros comprimento parcial de planta, comprimento total de planta e peso fresco, mostrando diferença significativa apenas quanto ao peso seco total e emergência total de plantas (Tabela 4). Esses resultados diferem, em parte, dos resultados obtidos por Harman et al. (1989) que verificaram que a inoculação de sementes de milho por *Trichoderma* promoveu um aumento significativo no crescimento de plantas de milho. Lynck (1992), trabalhando com alface e Menezes (1992) trabalhando com pimentão, verificaram que houve efeito positivo no crescimento das plantas inoculadas com *Trichoderma*.

Tabela 4 - Parâmetros de emergência de cártamo em substrato comercial, cujas sementes foram submetidas a diferentes tratamentos com *Trichoderma* spp. Santa Maria -RS, 2006.

Tratamento	Parâmetros de Crescimento				
	Comp. parcial de planta -----cm-----	Comp. total de planta	Peso fresco de planta	Peso seco de planta -----g-----	Nº total de plantas emergidas
Testemunha	6,02 a	10,60 a	4,24 a	0,28 b	19,20 ab*
Agrotrich	5,92 a	10,09 a	4,32 a	0,25 b	19,19 ab
ETSR 20	5,87 a	9,91 a	4,25 a	0,27 b	19,20 ab
TC 1.15	5,63 a	9,80 a	4,76 a	0,33 a	20,00 a
Trichodel®	5,78 a	10,19 a	4,22 a	0,25 b	18,00 b

\*Médias seguidas de letras distintas diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Duncan.

O tratamento com TC 1.15 diferiu significativamente dos outros tratamentos e promoveu um acúmulo de matéria seca nas plantas, corroborando estudos feitos por Paulitz (1990), que relata aumento da matéria seca de plantas de pepino quando as sementes foram inoculadas por *Trichoderma harzianum* e Yedidia et al. (2001), em casa de vegetação, também demonstrou um aumento no vigor e desenvolvimento de plantas de pepino.

A adição de *Trichoderma* spp. a solos autoclavados aumentou a emergência e a matéria seca de plântulas de tomate e de fumo (WINDHAM et al., 1986). Em solos naturais, observou-se que isolados de *Trichoderma* spp. proporcionaram maior germinação de sementes, emergência e vigor de plântulas de beringela (MARTIN-CORDER & MELO, 1997). Esses dados correspondem aos encontrados no trabalho para o isolado TC 1.15, que permitiu uma maior média de plantas emergidas, mesmo não diferindo significativamente dos outros tratamentos.

A avaliação do índice de velocidade de emergência demonstrou que o tratamento com o isolado TC 1.15 permitiu o crescimento de um maior número de plantas em um menor número de dias (Tabela 5), provavelmente por permitir que essas não fossem atacadas por patógenos habitantes da espermosfera e ou do substrato que poderiam afetar a germinação e estabelecimento das plantas e ainda por disponibilizar os nutrientes presentes no substrato. Menezes (1992), trabalhando

com espécies de *Trichoderma* no controle de *Macrophomina phaseolina*, via tratamento de sementes de feijão e de soja, verificou que os antagonistas promoveram melhor germinação, crescimento e desenvolvimento das plantas de feijão e maior índice de velocidade de germinação em plantas de soja.

Tabela 5 - Índice de velocidade de emergência de cártamo, submetido a diferentes tratamentos com *Trichoderma* spp. Santa Maria -RS, 2006.

Tratamento	IVE
Testemunha	0,23 bc*
Agrotrich	0,24 b
ETSR 20	0,24 b
TC 1.15	0,26 a
Trichodel®	0,21 c

\*Médias seguidas de letras distintas diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Duncan.

### 3.4 Conclusões

- As formulações de *Trichoderma* foram eficazes no controle de fungos patogênicos às sementes de cártamo.

- Quanto maior o tempo de exposição da semente ao antagonista maior seu efeito positivo ou negativo.

## 4 CAPÍTULO II

### SUSCETIBILIDADE DE CÁRTAMO (*Carthamus tinctorius*) À *Sclerotinia sclerotiorum*

## 4.1 Introdução

O cártamo pertence à família Asteraceae e já era cultivado na Ásia antes da Era Cristã. Povos antigos extraíam tintas vermelha e amarela de suas flores, que eram usadas para tingir tecidos de algodão e seda e como corantes para uso culinário. A cartamina, substância alaranjada e insolúvel em água, é o corante mais importante extraído das flores dessa planta.

A planta apresenta caule ereto, ramificado, com 80 a 150 cm de altura, cultivada como planta oleaginosa em vários países, sendo os principais produtores mundiais a China, Egito, Estados Unidos, Índia, México e Rússia.

No Brasil, as cultivares de cártamo com características associadas à produção de flores de corte são pouco conhecidas. Por se adaptar à regiões mais frias, como o Rio Grande do Sul, pode ser uma alternativa de renda para os produtores, além de diversificar o cultivo das flores propagadas por sementes.

Por ser uma cultura relativamente nova no Estado, pouco se sabe sobre os patógenos que a atacam em condições de campo. Rocha (2005) relata que a cultura é afetada por *Sclerotinia sclerotiorum* que, segundo Bedendo (1995), pertence a um grupo de fungos de solo que ataca agressivamente o hospedeiro e obtém nutrientes às custas de sua decomposição, mas não apresenta especificidade e, por isso, pode atacar diferentes espécies vegetais, como plantas ornamentais, hortícolas, culturas comerciais, frutíferas e florestais, principalmente em estádios jovens.

Estudos mostram que isolados do patógeno podem diferir quanto à virulência e, ainda, que algumas cultivares podem se portar de maneira diferente ao ataque do patógeno. Peres & Regnaultt (1993) em trabalho com girassol (*Helianthus annuus* L.), observaram variação na virulência entre isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*. Pratt & Rowe (1991) verificaram diferenças na resistência de genótipos de alfafa (*Medicago sativa* L.) quando inoculadas com o patógeno.

Por isso, é importante estudar a reação da cultura do cártamo à esse patógeno, para determinar se é possível utilizá-la como uma espécie na rotação de culturas em solos infestados com *Sclerotinia sclerotiorum*.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a reação de plantas de cártamo a diferentes isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes ambientes.

## 4.2 Material e Métodos

### 4.2.1 Local

Os ensaios experimentais foram desenvolvidos no Laboratório de Fitopatologia, câmara de crescimento do Departamento de Defesa Fitossanitária/Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria e em casa-de-vegetação do Departamento de Fitotecnia/Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria.

### 4.2.2 Sementes de cártamo

As sementes de cártamo utilizadas nos experimentos foram uma mistura de duas variedades, Lasting Orange e Lasting Yellow, produzidas no ano de 2004 em estufa do Departamento de Fitotecnia/Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria, e cedidas pelo Prof. Dr. Rogério Bellé.

### 4.2.3 Obtenção e cultivo do fitopatógeno

Os isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* utilizados foram obtidos previamente das culturas de alface (ALF), crisântemo (CRI), soja (SOJ) e cenoura (CEN), e se encontravam armazenados em laboratório, em placas de Petri vedadas, a uma temperatura de 22°C.

No laboratório, as estruturas de resistência do patógeno (escleródios) foram colocadas em placas de Petri, contendo meio de cultura BDA. Após sete dias de incubação a 25 °C ( $\pm 2$  °C) e fotoperíodo de 12 horas, foi realizada a repicagem do fitopatógeno, até obter-se cultura pura do mesmo.

#### 4.2.4 Cultivo das plantas de cártamo

A semeadura ocorreu em copos plásticos de 250 mL, com 12 sementes por copo. O desbaste foi feito cerca de 20 dias após a emergência das plantas, deixando-se duas plantas por copo (Figura 4). O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado.

As plantas apresentaram amarelecimento de folhas e, para corrigir a deficiência, foi feita uma correção nutricional adicionando-se quelato de ferro ao substrato por duas vezes, aos 15 e 35 dias após a emergência. As plantas eram irrigadas manualmente todos os dias.



Figura 4 – Plantas de cártamo aos quatro dias após a emergência.

#### 4.2.5 Inoculação do fitopatógeno

Quarenta e um dias após a semeadura foi inoculado, nas plantas, o patógeno *Sclerotinia sclerotiorum*, através do Método do Palito (GASPERI, 2000). Nesse método, para o preparo do inóculo, placas de Petri contendo aproximadamente 100 pontas de palito-de-dente, com 15 mm de comprimento, em posição vertical, foram esterilizadas e vertidas com meio BDA juntamente com Cloranfenicol (1mL de antibiótico/200 mL de meio de cultura), em quantidade suficiente para que cerca de 3 mm da ponta dos palitos permanecesse acima do

meio de cultura (COSTA, 1997). As placas foram posteriormente inoculadas com escleródios dos isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* de ALF, CRI, SOJ e GEN e incubadas em câmara de crescimento durante sete dias a 20°C (+/- 2°C) e fotoperíodo de 12 horas, para promover a colonização dos palitos pelo fungo.

Posteriormente, fez-se a inoculação das plantas com os quatro isolados, que caracterizavam os tratamentos, através da introdução da ponta do palito colonizada no colo de cada uma das plantas. Vasos controle (testemunha) foram utilizados, nos quais cada planta foi inoculada com palitos-de-dente esterilizados e não colonizados. Para cada um dos cinco tratamentos foram utilizadas seis repetições.

Metade dos copos foi levada para casa-de-vegetação onde houve variação de temperatura e umidade e a outra metade foi levada para câmara de crescimento com temperatura média de 23°C (+/- 2°C) e umidade relativa em torno de 70%.

A avaliação da severidade da murcha foi realizada 15 dias após a inoculação, quando os primeiros sintomas começaram a aparecer, e baseou-se em escala de notas variando de 1 a 3, relacionada com a presença de sintomas visíveis na parte aérea (Figura 5). Foram feitas duas avaliações, a primeira no aparecimento dos sintomas, 15 dias após a inoculação, e a segunda 10 dias após o aparecimento dos primeiros sintomas.

Escala de notas para avaliação da severidade da doença:

- 1 = Planta sem sintoma
- 2 = Planta com sintomas intermediários
- 3 = Planta morta



Figura 5 – Plantas de cártamo com sintomas da infecção por *Sclerotinia sclerotiorum*, planta murcha e planta sem sintoma (a), e planta morta e plantas sem sintomas (b).

#### 4.2.6 Análise estatística

Um teste bicaudal de significância para igualdade de duas proporções utilizado para comparar proporções duas a duas foi aplicado para a análise dos dados. Esse teste utiliza a tabela padrão de distribuição normal (Z). Quando a probabilidade de erro escolhida é a 5%, o valor de Z tabelado é = -1,96 e 1,96, indicando diferença significativa entre valores negativos menores que o valor de Z tabelado (-1,96) e os valores positivos maiores que Z tabelado (1,96).

Hipótese H0:  $p_1 = p_2$  (a proporção 1 é igual a proporção 2), ou seja, não existe diferença entre as proporções, em nível de 5% de probabilidade de erro. Hipótese H1:  $p_1 \neq p_2$  (a proporção 1 é diferente da proporção 2), ou seja, existe diferença entre as proporções, em nível de 5% de probabilidade de erro.

O cálculo dos valores de Z calculado, do teste de significância para a igualdade de duas proporções foi realizado com a utilização do programa EXCEL, v.6.0, Windows XP.

Esse teste foi escolhido para comparar as diferenças nas proporções de danos às plantas provocadas pelos isolados oriundos de diferentes culturas e os

dois ambientes (câmara de crescimento e casa-de-vegetação) para cada nível de severidade dos isolados.

### **4.3 Resultados e Discussão**

Incidência de um patógeno é a quantidade de plantas infectadas por ele do total de plantas observadas. Nota-se que a incidência de plantas infectadas por *Sclerotinia sclerotiorum* na primeira avaliação, em câmara de crescimento, foi menor para os isolados CEN e SOJ, e maior para o isolado ALF. Na casa-de-vegetação, na primeira avaliação, os isolados CEN e CRI foram os que apresentaram menor incidência e o isolado ALF foi o que apresentou maior incidência nas plantas.

Para a segunda avaliação na câmara de crescimento o isolado com menor incidência foi o CRI e o com maior incidência foi novamente o isolado ALF. Em casa-de-vegetação os isolados com menor incidência foram os mesmos da primeira avaliação, CEN e CRI, o mesmo ocorrendo para o com maior incidência, pois o isolado ALF foi o que apresentou maior incidência entre todos os isolados avaliados (Tabela 6).

Tabela 6 – Incidência (%) de *mofo branco* em plantas de cártamo, inoculadas com isolados obtidos de cenoura (CEN), crisântemo (CRI), alface (ALF) e soja (SOJ), em câmara de crescimento e casa-de-vegetação, 15 e 25 dias após a inoculação (DAI). Santa Maria, 2006.

	15 DAI		25 DAI	
	Câmara de crescimento	Casa-de-vegetação	Câmara de crescimento	Casa-de-vegetação
CEN				
Sem sintoma	11	9	4	3
Com sintoma	1	3	8	9
CRI				
Sem sintoma	10	9	8	3
Com sintoma	2	3	4	9
ALF				
Sem sintoma	8	4	3	0
Com sintoma	4	8	9	12
SOJ				
Sem sintoma	11	8	6	4
Com sintoma	1	4	6	8

A proporção de plantas sem sintomas, na primeira avaliação, foi superior às demais (Tabela 7). Isso se deve ao fato da primeira avaliação ter sido feita no momento que a primeira planta apresentou o primeiro sintoma. Assim, o tempo transcorrido da implantação do experimento até a primeira avaliação, provavelmente não foi suficiente para que o patógeno se desenvolvesse em todas as plantas de cártamo. Verifica-se, na última avaliação, que o isolado CRI apresentou menor severidade às plantas de cártamo, enquanto que o isolado ALF teve resultado oposto, ou seja, foi o que maior severidade apresentou.

Tabela 7 - Proporções (%) de níveis de severidade de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* sobre plantas de cártamo em câmara de crescimento, 15 e 25 dias após a inoculação (DAI). Santa Maria, 2007.

Isolados	Níveis de Severidade (%)		
	Sem sintoma	Plantas com sintomas intermediários	Plantas mortas
15 DAI			
CEN	91,6667	8,3333	0,0000
CRI	75,0000	16,6667	8,3333
ALF	66,6667	16,6667	16,6667
SOJ	91,6667	8,3333	0,0000
25 DAI			
CEN	33,33	41,67	25,00
CRI	66,67	8,33	25,00
ALF	25,00	33,33	41,67
SOJ	50,00	33,33	16,67

Para todos os isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* observa-se que, em câmara de crescimento, existe diferença entre as proporções de plantas sem sintoma, plantas com sintomas intermediários e plantas mortas (Tabela 8). Porém, a proporção de plantas com sintomas intermediários não foi significativamente diferente da de plantas mortas.

Na segunda avaliação da severidade de ataque dos patógenos às plantas de cártamo, em câmara de crescimento, observa-se que apenas o isolado CRI diferiu quanto à proporção de plantas sem sintoma e plantas com sintomas intermediários e plantas mortas (Tabela 8).

Tabela 8 - Teste de significância para a igualdade de duas proporções, com os valores de Z calculado para as proporções de severidade de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* provenientes de diferentes culturas, sobre plantas de cártamo cultivadas em câmara de crescimento, 15 e 25 dias após a inoculação (DAI). Santa Maria, 2007.

Isolados	Valores de Z calculado		
	Sem sintoma x sintomas intermediários	Sem sintoma x mortas	Sintomas intermediários x mortas
15 DAI			
CEN	4,0829*	4,5066*	1,0213
CRI	2,8676*	3,3126*	0,6177
ALF	2,4843*	2,4843*	0,0000
SOJ	4,0829*	4,5066*	1,0213
25 DAI			
CEN	ne	0,4491	0,8660
CRI	2,9515*	2,0484*	-1,0955
ALF	-0,4491	-0,8660	-0,4216
SOJ	0,8281	1,7321	0,9428

\* Diferença significativa entre duas proporções na coluna, em nível de 5 % de probabilidade de erro.  
ne = valor inexistente

Os isolados ALF e SOJ, na condição de casa-de-vegetação apresentaram maior proporção de plantas com sintomas intermediários (Tabela 9). Verifica-se que o isolado ALF apresentou maior severidade sobre as plantas de cártamo, pois apresentou a maior proporção de plantas mortas, seguido do isolado CRI. Esse resultado pode ser devido à proximidade taxonômica das espécies de alface, crisântemo e cártamo, pois todas pertencem à família Asteraceae.

Tabela 9 - Proporções (%) de níveis de severidade de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* sobre plantas de cártamo em casa-de-vegetação, 15 e 25 dias após a inoculação (DAI). Santa Maria, 2007.

Isolados	Níveis de Severidade (%)		
	Sem sintoma	Plantas com sintomas intermediários	Plantas mortas
15 DAI			
CEN	75,0000	25,0000	0,0000
CRI	75,0000	16,6667	8,3333
ALF	33,3333	66,6667	0,0000
SOJ	66,6667	33,3333	0,0000
25 DAI			
CEN	25,00	41,67	33,33
CRI	25,00	8,33	41,67
ALF	00,00	33,33	66,67
SOJ	33,33	33,33	33,33

O comportamento, em casa-de-vegetação, dos isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* CEN e CRI, foi o mesmo observado em câmara de crescimento. Já os isolados ALF e SOJ apresentaram diferença significativa entre as proporções de plantas com sintomas intermediários e plantas mortas, sendo que as proporções de plantas sem sintoma e com sintomas intermediários não diferiram (Tabela 10).

Na segunda avaliação da severidade em casa-de-vegetação, observa-se que apenas para o isolado ALF as proporções entre plantas sem sintoma e as demais diferiram significativamente (Tabela 10).

Tabela 10 - Teste de significância para a igualdade de duas proporções, com os valores de Z calculado para as proporções de severidade de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* provenientes de diferentes culturas sobre plantas de cártamo cultivadas em casa-de-vegetação, 15 e 25 dias após a inoculação (DAI). Santa Maria, 2007.

Isolados	Valores de Z calculado		
	Sem sintoma x sintomas intermediários	Sem sintoma x mortas	Sintomas intermediários x mortas
15 DAI			
CEN	2,4495*	3,7948*	1,8517
CRI	2,8676*	3,3126*	0,6177
ALF	-1,6334	2,1908*	3,4643*
SOJ	1,6334	3,4643*	2,1908*
25 DAI			
CEN	ne	-0,4491	0,4216
CRI	-0,4489	-0,8660	-0,4216
ALF	-2,1909*	-3,4642*	-1,6330
SOJ	0,0000	0,0000	0,0000

\* Diferença significativa entre duas proporções na coluna, em nível de 5 % de probabilidade de erro.  
ne = valor inexistente

Alguns isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* apresentam uma maior virulência que outros dentro de uma mesma espécie vegetal. Essa afirmação pode ser verificada nos resultados obtidos e é semelhante aos resultados em experimento com o isolado UnB 1.541 inoculado em feijão (TOLÊDO-SOUZA, 2003). Outro resultado semelhante aos encontrados foi detectado por Peres & Regnault (1993), que mostraram diferença na virulência de dois isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* em raízes de girassol.

Os ambientes onde estavam inseridos os experimentos também foram comparados e os resultados estão apresentados nas tabelas 11 e 12.

Tabela 11 - Proporções de plantas de cârtamo com diferentes níveis de severidade de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*, quando cultivadas em câmara de crescimento e casa-de-vegetação, 15 e 25 dias após a inoculação (DAI). Santa Maria, 2007.

Isolados	Níveis de Severidade (%)					
	Sem sintoma		Sintomas Intermediários		Plantas mortas	
	Câmara de crescim.	Casa-de-vegetação	Câmara de crescim.	Casa-de-vegetação	Câmara de crescim.	Casa-de-vegetação
15 DAI						
CEN	55,00	45,00	25,00	75,00	0,00	0,00
CRI	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
ALF	66,66	33,33	20,00	80,00	100,00	0,00
SOJ	57,89	42,11	20,00	80,00	0,00	0,00
25 DAI						
CEN	57,10	42,90	50,00	50,00	42,90	57,10
CRI	72,70	27,30	20,00	80,00	37,50	62,50
ALF	100,00	00,00	50,00	50,00	38,50	61,15
SOJ	60,00	40,00	50,00	50,00	33,30	66,70

Tabela 12 - Valores de Z calculado, do teste de significância para a igualdade de duas proporções para comparação de dois ambientes (câmara de crescimento e casa-de-vegetação), quanto ao nível de severidade de diferentes isolados de *S. sclerotiorum*, 15 e 25 dias após a inoculação (DAI). Santa Maria, 2007.

Valores de Z calculado			
Isolados	Sem sintoma	Sintomas intermediários	Plantas mortas
-----Câmara de crescimento X Casa-de-vegetação-----			
15 DAI			
CEN	0,6325	-1,4142	ne
CRI	0,0000	0,0000	0,0000
ALF	1,6363	-1,6971	4,4721*
SOJ	0,9736	-1,6971	ne
25 DAI			
CEN	0,5346	0,0000	-0,5346
CRI	2,1321*	-1,8974	-1,0000
ALF	2,4496*	0,0000	-1,1769
SOJ	0,8944	0,0000	-1,1549

\* Diferença significativa entre duas proporções na coluna, em nível de 5 % de probabilidade de erro.  
ne = Valor inexistente

Na primeira avaliação, observou-se diferença significativa para o isolado ALF entre as proporções de plantas mortas na câmara climatizada *versus* casa-de-vegetação. As plantas de cártamo da câmara de crescimento quando submetidas ao isolado ALF de *Sclerotinia sclerotiorum* apresentaram 100% de mortalidade, enquanto na casa-de-vegetação essa proporção foi de 0% (Tabela 11). A diferença, na primeira avaliação, entre os dois ambientes deve-se, provavelmente, ao fato de não ter havido tempo suficiente para os isolados agirem de forma diferenciada, pois comparando-se com a segunda avaliação pode-se ver que o quadro se modifica a favor da casa-de-vegetação, sendo esse ambiente o que melhor possibilitou o desenvolvimento do patógeno. A proporção de plantas de cártamo sem sintoma também foi significativamente diferente nos dois ambientes.

Isto ocorreu provavelmente pelo fato de em casa-de-vegetação a temperatura e umidade relativa serem variáveis, proporcionando ao patógeno um melhor desenvolvimento, além de proporcionar uma faixa de temperatura (Figura 6) e

umidade (Figura 7) mais próxima do ideal. Dentre as doenças que afetam o sistema radicular, a podridão de *Sclerotinia sclerotiorum* é uma doença considerada por TOKESHI & CARVALHO (1980), relativamente comum em determinadas condições ambientais. Assim como Vieira et al. (2001), reconhecem as condições de alta umidade e temperaturas amenas para o desenvolvimento de *Sclerotinia sclerotiorum*, causando o mofo branco. Em câmara de crescimento isto não ocorreu, pois a temperatura era fixada em 25°C e a umidade relativa era em torno de 70%. Esses valores foram fixados para testar o comportamento do patógeno frente a condições de ambiente desfavoráveis, o que não impediu o desenvolvimento do mesmo, porém em menor escala que em casa-de-vegetação.

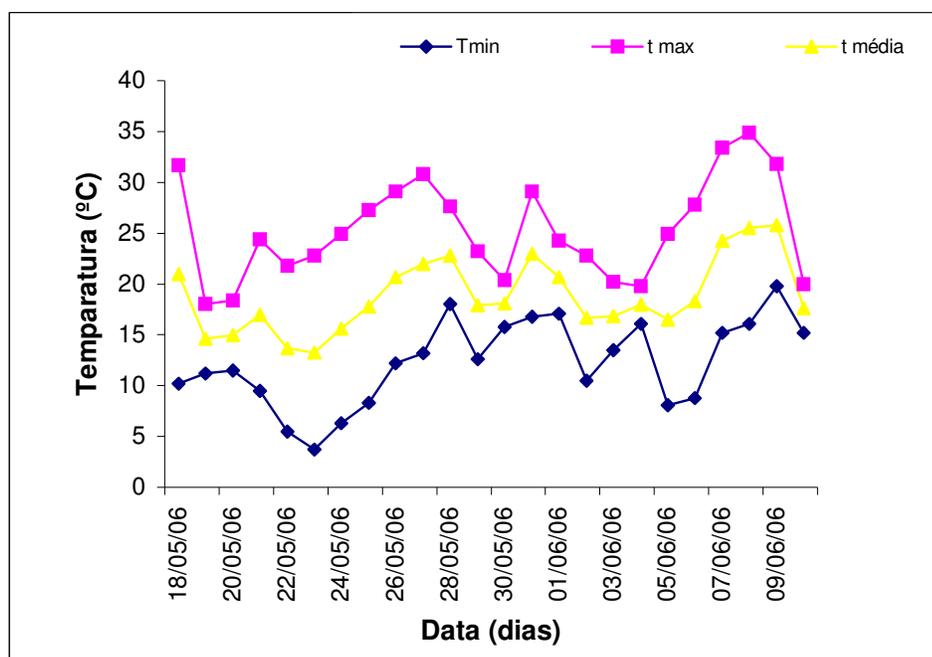


Figura 6 – Temperaturas mínimas, máximas e médias em casa-de-vegetação durante o teste de reação de cártamo a diferentes isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*. Santa Maria, 2006.

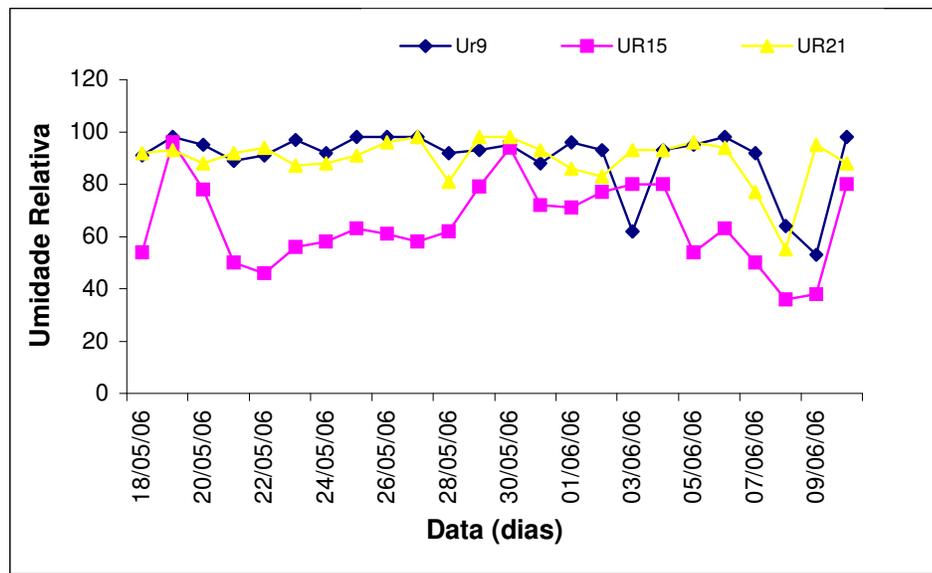


Figura 7 – Umidade relativa às 9, 15 e 21 horas em ambiente externo durante o teste de reação de cártamo a diferentes isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*. Santa Maria, 2006.

#### 4.4 Conclusões

- Isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* provenientes de diferentes culturas diferem quanto à severidade em plantas de cártamo.
- Isolados obtidos de plantas da mesma família são mais agressivos ao cártamo.
- O ambiente com maior variação de temperatura e umidade é o mais adequado para o desenvolvimento de *Sclerotinia sclerotiorum*.

## 5 CAPÍTULO III

***Trichoderma* spp. NO CONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum* E NO  
CRESCIMENTO DE CÁRTAMO**

## 5.1 Introdução

O Rio Grande do Sul apresenta-se como um estado promissor na área de flores e plantas ornamentais, pois apresenta o maior consumo percapita de flores e plantas ornamentais do Brasil (AFLORI, 2004).

O cártamo é cultivado extensivamente, em muitos países, como cultura oleaginosa, mas existem cultivares com características associadas à produção de flores de corte que são pouco conhecidas no Brasil.

Seu cultivo pode ser uma alternativa de renda para os produtores de flores do Rio Grande do Sul, pois se adapta a regiões mais frias, além de diversificar a produção de flores propagadas por sementes. Por ser uma cultura pouco conhecida, estudos quanto ao comportamento da cultura frente a patógenos e novos métodos de controle de doenças merecem atenção, sendo o controle biológico uma alternativa ao controle químico.

*Trichoderma* spp. é um micoparasita necrotrófico eficaz no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos, principalmente aqueles com estruturas de resistência consideradas difíceis de serem atacadas por microrganismos, como esporos, escleródios, clamidósporos e microescleródios (MELO, 1996). Illipronti Jr. & Machado (1993) utilizaram *Trichoderma harzianum*, *T. koningii*, *T. polysporum*, *T. hamatum*, *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus*, *Paecilomyces lilacinus* e *Gliocladium viride* como fungos antagonistas, no controle biológico de *damping-off* em soja, causado por *Sclerotinia sclerotiorum* em ambiente protegido. Dentre os microrganismos, o melhor desempenho foi do isolado *T. koningii*, em pré-emergência, com índice de controle de 30% e, em pós-emergência, de 45%.

Além de ser utilizado em controle de patógenos os fungos do gênero *Trichoderma* são também utilizados como agentes promotores de crescimento. De acordo com pesquisa *in vitro*, realizada por Altomare et al. (1999), a promoção de crescimento em plantas, promovida pelo fungo *Trichoderma harzianum* T-22, está na sua habilidade de solubilizar nutrientes importantes para a planta.

Kleifeld & Chet (1992) observaram aumento na produção de massa seca de pepineiro por isolados de *Trichoderma harzianum*, tanto em solo autoclavado (26%) quanto em solo não autoclavado (43%).

O objetivo deste trabalho foi verificar a eficácia *in vivo* de biocontroladores no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e avaliar a ação dos antagonistas no crescimento de cártamo.

## 5.2 Material e Métodos

Neste capítulo estão relatados dois experimentos, descrevendo-se inicialmente a metodologia comum aos dois.

### 5.2.1 Local

Os ensaios experimentais foram desenvolvidos no Laboratório de Fitopatologia e em casa-de-vegetação do Departamento de Fitotecnia/Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria.

### 5.2.2 Sementes de cártamo

As sementes de cártamo utilizadas nos experimentos são uma mistura de duas variedades, Lasting Orange e Lasting Yellow, produzidas no ano de 2004, em estufa do Departamento de Fitotecnia/Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria, e cedidas pelo Prof. Dr. Rogério Bellé.

### 5.2.3 Fungos com potencial antagonista

Os possíveis antagonistas utilizados foram dois isolados de *Trichoderma* spp., previamente isolados e testados em outras culturas e que obtiveram êxito no controle à *Sclerotinia sclerotiorum* e outros patógenos (ETSR 20 e TC 1.15 (Capítulo I)) e dois formulados comerciais a base de *Trichoderma* spp. (Agrotrich e Trichodel<sup>®</sup>).

#### 5.2.3.1 Concentração de esporos de *Trichoderma* spp.

A metodologia para obtenção da concentração de esporos, assim como a concentração utilizada foi a mesma descrita no Capítulo I.

#### 5.2.4 Preparação dos formulados

Em erlenmeyers de 250 mL, foram colocados 60 g de arroz, acrescentados 60 mL de água e levados para esterilização em autoclave, a 120 °C por 40 min.

A inoculação dos isolados no arroz foi feita através de discos de BDA que continham micélio e esporos de *Trichoderma* spp. Após, permaneceram em câmara de crescimento, por quinze dias, a 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas, até o substrato ser totalmente colonizado. O arroz colonizado foi retirado do erlenmeyer e colocado em envelopes de papel, que foram levados ao forno por 72 h, a 30 °C. O arroz, depois de seco, foi triturado em liquidificador até se tornar um pó fino.

#### 5.2.5 *Trichoderma* spp. no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum*

##### 5.2.5.1 Tratamentos e delineamento experimental

Foi utilizado um esquema bifatorial 4 (Sem *Trichoderma* spp., ETSR 20, TC 1.15 e Agrotich) x 2 (com e sem *Sclerotinia sclerotiorum*), totalizando oito tratamentos, com quatro repetições, sendo cada repetição composta por três plantas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado.

#### 5.2.5.2 Obtenção do fitopatógeno

O isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* utilizado foi retirado de alface e foi o que apresentou maior grau de severidade às plantas de cártamo no teste de reação, sendo denominado ALF (Capítulo II).

#### 5.2.5.3 Incorporação dos tratamentos

Em vaso de 1,3 L foram colocadas cinco partes de substrato comercial Plantmax e uma parte de casca de arroz carbonizado. Dois dias antes da incorporação dos antagonistas e quatro dias antes da semeadura, foram incorporados ao solo cinco discos de BDA de 10 mm contendo micélio do fitopatógeno, a cinco centímetros de profundidade.

O antagonista foi incorporado ao substrato na quantidade de dois gramas para cada quilograma de solo, sendo bem misturado até cinco centímetros de profundidade, para permitir um melhor contato entre patógeno e antagonista.

#### 5.2.5.4 Parâmetros avaliados

A avaliação foi feita depois da floração, aos 83 dias após a implantação do experimento, sendo avaliados os seguintes parâmetros: altura de parte aérea, comprimento de raízes, peso fresco e peso seco de parte aérea e raiz. A metodologia utilizada para as avaliações foi a mesma utilizada no Capítulo I.

### 5.2.6 *Trichoderma* spp. no crescimento de plantas de cártamo

#### 5.2.6.1 Tratamentos e delineamento experimental

O teste de promoção de crescimento foi feito em tubetes, utilizando-se 24 tubetes para cada tratamento, sendo cada tubete uma repetição, preenchidos com

uma mistura de substrato comercial Plantmax e casca de arroz carbonizado, sendo a proporção de três partes de substrato para uma de casca de arroz carbonizado. Foi utilizado um total de cinco tratamentos: testemunha, dois isolados do Laboratório de Fitopatologia/Defesa Fitosanitária/CCR/UFSM (TC 1.15 e ETSR 20 (Capítulo I)) e dois formulados comerciais (Agrotrich e Trichodel<sup>®</sup>). O delineamento utilizado foi blocos ao acaso.

#### 5.2.6.2 Incorporação dos tratamentos

Os formulados de *Trichoderma* spp. foram incorporados ao solo na quantidade de 2g para cada quilograma de substrato, para os formulados em pó e 1mL, diluído em 100mL de água, para o formulado líquido, sendo bem misturados ao mesmo. Após dois dias da incorporação foi feita a semeadura de duas sementes por tubete, fazendo o desbaste aos sete dias após a emergência.

#### 5.2.6.3 Parâmetros avaliados

As avaliações deste teste se deram em duas datas. A primeira no sétimo dia após a primeira planta emergir e a segunda ao décimo quarto dia após a emergência. Doze plantas foram retiradas e os seguintes parâmetros avaliados: comprimento parcial de planta (parte aérea), comprimento total de planta (parte aérea + raiz), número de raízes, peso fresco e seco total (parte aérea + raiz).

#### 5.2.7 Análise estatística

Os dados obtidos nos experimentos foram submetidos à análise de variância no programa estatístico SANEST (ZONTA et al., 1984) e a comparação de médias feita através do teste de Duncan a 5% de significância.

### 5.3 Resultados e Discussão

#### 5.3.1 *Trichoderma* spp. no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum*

A incidência da doença não pode ser avaliada, uma vez que não houve o desenvolvimento de sintomas nas plantas de cártamo. O não desenvolvimento da doença deve-se, provavelmente, ao fato de as condições de temperatura e umidade no local não terem atingido o ideal para o desenvolvimento do fungo (Anexo 1 e 2).

Para os parâmetros de crescimento vegetal, a análise estatística mostrou que não houve interação significativa entre os dois fatores principais (*Trichoderma* spp. e *Sclerotinia sclerotiorum*) testados, indicando que o efeito de um fator independe do outro.

A presença do patógeno no substrato reduziu o crescimento das plantas, pois todos parâmetros de crescimento, exceto o peso fresco de raízes, foram significativamente inferiores em relação à ausência do patógeno (Tabela 13). Isso mostra que, mesmo sem produzir sintomas na planta, o patógeno prejudica seu desenvolvimento.

Tabela 13 – Altura de planta (cm) e comprimento de raízes (cm), peso fresco e peso seco de parte aérea e raízes de cártamo submetido à presença e ausência de *Sclerotinia sclerotiorum*. Santa Maria - RS, 2006.

Tratamento	Parâmetros de crescimento					
	Altura de planta (cm)	Comprim. de raízes (cm)	---Peso fresco (g)---		---Peso seco (g)---	
			P. aérea	Raízes	P. aérea	Raízes
S/ <i>Sclerotinia</i>	78,30 a	22,01 a	34,29 a	13,63 a	10,01 a	2,59 a*
C/ <i>Sclerotinia</i>	74,80 b	19,78 b	31,33 b	12,11 a	9,20 b	1,65 b

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Duncan.

Tabela 14 – Altura de planta e comprimento de raízes (cm), peso fresco e peso seco de parte aérea e raízes de cártamo submetido à presença e ausência de *Trichoderma* spp. Santa Maria - RS, 2006.

Tratamento	Parâmetros de crescimento					
	Altura de planta (cm)	Comprim. de raízes (cm)	----Peso fresco (g)----		--Peso seco (g)--	
			P. aérea	Raízes	P. aérea	Raízes
S/ <i>Trichoderma</i>	77,75 ab	20,97 ab	33,05 a	9,86 b	9,54 a	2,03 a*
ETSR 20	74,57 b	18,95 b	31,87 a	13,12 a	8,98 a	1,83 a
TC 1.15	74,15 b	22,33 a	32,74 a	14,98 a	10,00 a	2,18 a
Agrotrich	79,74 a	21,34 ab	33,59 a	13,53 a	9,92 a	2,44 a

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Duncan.

Analisando o fator *Trichoderma* spp., verifica-se (Tabela 14) que seu efeito depende do isolado e do parâmetro avaliado, não tendo efeito sobre o peso fresco da parte aérea, nem sobre o peso seco da parte aérea e das raízes. No entanto, todos os formulados aumentaram significativamente o peso fresco de raízes e Agrotrich igualou-se à testemunha na altura de planta e comprimento de raízes.

### 5.3.2 *Trichoderma* spp. no crescimento de plantas de cártamo

A primeira avaliação do teste de promoção de crescimento, feita ao sétimo dia após a emergência da primeira planta demonstrou, com exceção do número de raízes, que os tratamentos não diferiram significativamente entre si para todos os parâmetros. Para o número de raízes o melhor tratamento foi o Trichodel<sup>®</sup>, seguido dos tratamentos com Agrotrich e TC 1.15 (Tabela 15), ainda que não significativamente diferentes entre si e da testemunha.

Tabela 15 - Comprimento parcial e total de planta (cm), número de raízes, peso fresco e seco (g), aos 7 dias após a emergência de plantas de cártamo, submetidas a diferentes tratamentos com *Trichoderma* spp. Santa Maria -RS, 2006.

Tratamento	Parâmetros de Crescimento				
	Comp. parcial de planta	Comp. total de planta	Nº de raiz	Peso fresco de planta	Peso seco de planta
	-----cm-----			-----g-----	
Testemunha	8,79 a	19,70 a	26,00 ab	3,27 a	0,20 a*
Agrotrich	8,55 a	20,15 a	31,25 ab	3,92 a	0,23 a
ETSR 20	8,48 a	20,12 a	25,42 b	3,21 a	0,19 a
TC 1.15	8,92 a	17,38 a	30,58 ab	4,23 a	0,24 a
Trichodel®	9,04 a	20,67 a	34,83 a	4,32 a	0,25 a

\*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Duncan.

Harman (2000) realizou experimento que mostra maior crescimento de raízes de soja e milho tratadas com *Trichoderma harzianum* T-22 e maior produtividade de pimentão, comparados com testemunhas não tratadas. Sivan & Harman (1991) tratando sementes de milho e algodão com os isolados T12, T95 e T22 (fusão dos dois anteriores) de *Trichoderma harzianum* observaram que o isolado T22 promoveu crescimento das raízes, em relação à testemunha, de 31,4% em milho e 60% em algodoeiro.

O pouco tempo de exposição das plantas pode ser uma explicação para esses resultados, já que na segunda avaliação aos 14 dias após a emergência, houve diferença para todos os parâmetros avaliados, exceto peso seco de plantas, tendo o tratamento com Trichodel® se destacado em todos eles (Tabela 16).

Tabela 16 - Comprimento de parcial e total de planta (cm), número de raízes, peso fresco e seco (g), aos 14 dias após a emergência de plantas de cártamo, submetidas a diferentes tratamentos com *Trichoderma* spp. Santa Maria -RS, 2006.

Tratamento	Parâmetros de crescimento				
	Comp. parcial de Planta -----cm-----	Comp. total de planta	Nº de Raiz	Peso Fresco	Peso Seco
Testemunha	8,83 c	16,54 d	30,83 b	4,79 b	0,25 a*
Agrotich	14,20 b	25,45 b	37,58 ab	4,91 b	0,27 a
ETSR 20	14,80 ab	26,12 b	39,17 a	5,60 b	0,27 a
TC 1.15	9,54 c	20,56 c	30,75 b	6,20 ab	0,28 a
Trichodel®	15,81 a	28,86 a	43,42 a	7,50 a	0,30 a

\*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Duncan.

Todos os tratamentos foram significativamente superiores à testemunha no comprimento total de planta. No comprimento parcial, o isolado TC 1.15 igualou-se, no peso fresco, Trichodel® foi superior e no número de raízes, Trichodel e ETSR 20 foram superiores à testemunha. No tratamento de solo com isolado de *Trichoderma harzianum*, o pepineiro e a pimenteira tiveram aumento significativo quanto à altura das plantas em 23,8% e 17,2%, respectivamente (INBAR et al., 1994).

O tratamento de solo com suspensão de conídios de *Trichoderma harzianum* promoveu aumento do peso de massa seca superior à testemunha, no feijoeiro de 10,3%, no rabanete de 8,3%, no tomateiro de 36,8%, na pimenteira de 41,7% e no pepineiro de 93,3% (CHANG et al, 1986), o que não foi observado neste trabalho.

Os mecanismos envolvidos no aumento do crescimento induzidos por espécies de *Trichoderma*, aparentemente são o controle de patógenos secundários, que diminuem o crescimento e a atividade das raízes, além da produção de fatores estimulantes de crescimento (BAKER, 1988).

## 5.4 Conclusões

- A presença de *Sclerotinia sclerotiorum* no solo reduz o crescimento de cártamo, mesmo sem produzir sintomas na planta.

- A incorporação de *Trichoderma* spp. no solo reduz o dano causado por *S. sclerotiorum* no crescimento de plantas.

- *Trichoderma* spp. beneficia o crescimento de plantas de cártamo, quando adicionado ao solo e o tempo de contato aumenta sua eficácia.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFLORI. **Situação da floricultura no RS.** Disponível em <www.aflori.com.br> Acessado em 29 Jun. 2004.

AFLORI. **Situação da floricultura no RS.** Disponível em <www.aflori.com.br> Acessado em 21 Ago. 2006.

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.

ALTOMARE, C. 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. 2926-2933, 1999.

AMORIM, L. Sobrevivência do inóculo. Cap. 13. In: BERGAMIM FILHO, A., KIMATI, H., AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 251-253.

BAKER, R. *Trichoderma* spp. as plant growth stimulants. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 7, n. 1, p. 97-105, 1988.

BEDENDO, I. P. Podridão de órgãos de reserva. Cap. 41. In: BERGAMIM FILHO, A., KIMATI, H., AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 810-819.

BEDENDO, I. P. Podridão de raiz e colo. Cap. 43. In: BERGAMIM FILHO, A., KIMATI, H., AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 829-837.

BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, v. 72, n. 4, p. 379-382, 1982.

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

BETTIOL, W. (org) **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. 388p. EMBRAPA-CNPDA. Documentos, 15.

BETTIOL W.; GHINI, R. Controle biológico. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de Fitopatologia**: princípios e conceitos. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p.717-727.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

BUENO, C. J.; AMBROSIO, M. M. De Q.; SOUZA, N. L. de. Ocorrência de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary em *Aster ericoides* L. (White Show) no estado de São Paulo, Brasil. **Summa Phytopathologica**, v.32, n.3, p. 293-294, 2006.

CAMPACCI, C. A.; PASSANHA, B. M. R. Exame fitopatológico das sementes. In: Seminário Brasileiro de Sementes, 2., Pelotas, 1968. **Anais...** Guanabara: MA, 1970. p. 113-118.

CARNEIRO, J. S. Testes de sanidade de sementes de essências florestais. In: SOAVE, J. & WETZEL, M. M. V. S. **Patologia de Sementes**. Cargill, Campinas, 1987. p. 386-393.

CHANG, YA-CHUN; CHANG, YIH-CHANG; BAKER, R. Increased Growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. **Plant Disease**, v. 70, n.2, p. 145-148, 1986.

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

COSTA, C. L. **Variabilidade morfológica e patológica de isolados de *Fusarium solani* associados à podridão vermelha da raiz (PVR) da soja**. Dissertação (Mestrado em Agronomia). 1997. Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 1997.

ETHUR, L. Z. **Avaliação de fungos como antagonistas para o biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary em pepineiro cultivado em estufa**. 2002. 100 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2002.

ETHUR, L. Z. **Dinâmica Populacional e ação de *Trichoderma* no controle de fusariose em mudas de tomateiro e pepineiro.** 2005. 153 f. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

FURLAN, S. H.; VECHIATO, M. H. Efeito de *Bacillus subtilis* e *Trichoderma* sp. em tratamento de sementes de feijão visando o controle de *Colletotrichum lindemuthianum*. In: Congresso Nacional de pesquisa de feijão, 8, Goiânia, 2005, **Anais...** Santo Antônio de Goiás, GO: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. v.1. p. 182-185.

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.

GHINI, R.; BETTIOL, W. Controle físico. Cap 39. In: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia.** 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 786-801.

HARMAN, G. E.; TAYLOR, A. G.; STASK, T. E. Combining effective strains of *Trichoderma harzianum* and soil matrix priming to improve biological seed treatment. **Plant Disease**, v. 73, n. 8, p. 631-637, 1989.

HARMAN, G.E. Myth and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v.84, p.377-393, 2000.

ILLIPRONTI JR, R. A. & MACHADO, J. C. Antagonismo de fungos a *Sclerotinia sclerotiorum* em soja e feijão. **Fitopatologia Brasileira**, v. 18, n. 2, p. 162-166, 1993.

INBAR, J.; ABRAMSKY, M.; CHET, I. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings under commercial conditions. **European Journal of Plant Pathology**, v. 100, n. 5, 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 de Horticultura Ornamental**, v.8, n.1/2, p. 25-47, 2002.

KAMPF, A.N. A floricultura brasileira em números. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.3, n.1, p.1-7, 1997.

KIMATI et al. **Manual de Fitopatologia**: doenças das plantas cultivadas. 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. 774p.

KLEIFELD, O.; CHET, I. *Trichoderma*: plant interaction and its effects on increased growth response. **Plant Soil**, v. 144, n. 2, p. 267-272, 1992.

KRUGNER, T. L.; BACCHI, L.M.A. Fungos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia**: princípios e conceitos. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, 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, H. C.; DE MARCO, J.L.; FELIX, C.R. Enzimas hidrolíticas envolvidas no controle biológico por micoparasitismo. Cap. 8. In: MELO, I.S. & AZEVEDO, J.L. (Ed) **Controle biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA, 2000. v. 2, p 263-304.

LUZ W. C. Efeito de bioprotetores em patógenos de sementes e na emergência e rendimento de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 16-20, 2001.

LYNCK, J. Pesquisa inglesa com agentes biológicos. **Jornal Agroceres**, v. 212, p. 2, 1992.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

MALEWAR, G. U. et al. S. Impact of oilseed-based cropping systems on physico-chemical properties, soil nutrient dynamics and nutrient balance. **Journal of Maharashtra Agricultural Universities**. v. 24, n. 2, p. 125-127, 1999. Resumo publicado no Biological Abstracts, 2000, v. 107, n. 17.

MANZONI, C. G. et al. **Tratamento sanitário de sementes de aveia-preta com *Trichoderma* sp., extrato vegetal e agroquímico**. In: 21ª Jornada Acadêmica Integrada, 2006, Santa Maria, RS. Resumos.

MARCOS FILHO, J. Utilização de testes de vigor em programas de qualidade de sementes. **Informativo ABRATES**, Londrina, 1994. v. 4, n. 2, p 33-35.

MARTIN-CORDER, M. P. P.; MELO, I. S. de. Influência de *Trichoderma viride* e *T. koningi* na emergência de plântulas e no vigor de mudas de berinjela. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 57, n. 1, p. 39-45, 1997.

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

MELO, I. S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **RAPP**, v. 4, p. 261 – 295, 1996.

MELO, I.S. de. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I.S., AZEVEDO, J.L. **Controle biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998. v. 1. Cap. 1. 262p.

MENEZES, M. **Avaliação de espécies de *Trichoderma* no tratamento de feijão e do solo, visando o controle de *Macrophomina phaseolina***. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 25, Gramado, RS, 1992. Resumos... Brasília: SBS, 1992. p. 159.

MENTEN, J. O. M. **Patógenos em sementes, detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 1991. 312 p.

NAZARENO, N. R. X. Controle de doenças. In Iapar. O milho no Paraná. **Circular Iapar**, v. 29, p. 149-63, 1982.

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.

PAULITZ, T. C. Biochemical and ecological aspects of competition in biological control. In: BAKER, R. R. (Ed.). **New directions in biological control: alternatives for suppressing agricultural pests and diseases**. New York: Liss, 1990. p. 713-724.

PERES, A. & Y. REGNAULTT. ***Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de bary on root-collar: biology and development of contamination method on sunflower**, p. 1-7, 1993. In: Intern. *Sclerotinia* workshop, 8<sup>th</sup>. Toronto, Ontário. 51 p. Abstract.

PINTO, N. F. J. A. Avaliação de fungicidas no controle de *Sphacelia sorghi* (*Claviceps africana*) agente etiológico da “ergot” ou doença açucarada do sorgo. **Summa Phytopathologica**, v.25, n.1, p. 4-8, 1999.

POLUNIN, O. **Guia de campo de las flores de Europa**. Ediciones OMEGA S.A., Barcelona, 1991. 796p.

PRATT, R. G. & D. E. ROWE. Differential responses of alfafa genotypes to stem inoculations with *Sclerotinia trifoliorum* and *Sclerotinia Sclerotiorum*. **Plant Disease**, v. 75, p. 188-191, 1991.

REIS, E. M. & FORCELINI, A. Controle cultural. Cap. 35. In: BERGAMIM FILHO, A., KIMATI, H., AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 710- 716.

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

RICHARDSON, M. J. An annotated list of seed-borne diseases. 3. ed. Zurich. CAB/CMI/ISTA. **Phytopathological Papers**, 320 p, 1979.

ROCHA, J. R. de. & OLIVEIRA, N. T. de. 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.

ROCHA, E. K. **Fenologia e qualidade de *Carthamus tinctorius* L. em diferentes populações e épocas de cultivo**. 2005. 58f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Santa Maria, 2005.

SAKATA – **Sakata’s reliable seeds**. Flower seed. Sakata seed corporation, Yokohama, Japan, 1998. 87p.

SANHUEZA, R. M. V. Controle biológico de doenças de fruteiras de clima temperado. 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. p. 61-68.

SANTOS, M. F. et al. Fungos associados às sementes de baru (*Dipterys alata* Vog.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 1; p. 135-139. 1997.

SIVAN, A. & HARMAN, G.E. Improved rhizosphere competence in a protoplast fusion progeny of *Trichoderma harzianum*. **Journal of General Microbiology**, v. 137, p. 23-29, 1991.

SNIJBLOEMENKATALOGUS – **Hamer – Bloemzaden B.V.** Ambacht, H. I, 1996. 48p.

SOAVE, J. Diagnóstico da patologia de sementes de algodoeiro no Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SEMENTES, 1., Piracicaba, 1984. **Anais...** Piracicaba: ESALQ, 1984. 83 p.

TOKESHI, H.; CARVALHO, P. CT de. Doenças da alface Doenças da Cenoura. In: **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. v. 2, p. 23-28.

TOLÊDO-SOUZA, E. D. de, COSTA, J. L. S., Métodos de inoculação de plântulas de feijoeiro para avaliação de germoplasma quanto a resistência a *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 33, n. 2, p 57-63, 2003.

TRUTMANN, P.; KEANG, P.J.; MERRIMAN, P. R. Reduction of sclerotial inoculum of *Sclerotinia sclerotiorum* with *Coniothyrium minitans*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 12, p. 461-465, 1980.

UTKHEDE, R. S., RAHE, J.E. Biological control of onion with rot. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 12, p. 101-104, 1980.

VIEIRA, R.F. et al. Fungicidas aplicados via água de irrigação no controle do mofo-branco no feijoeiro e incidência do patógeno na semente. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 770-773, 2001.

YEDIDIA, I.; SRIVASTVA, K. Y.; CHET, I. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. **Plant and Soil**, v. 235, n. 2, p. 235-242, 2001.

WINDHAN, M.T.; ELAD, Y.; BACKER, R. A mechanism for increases plant growth induced by *Trichoderma* sp. **Phytopathology**, v.76, n.6, p.518-521, 1986.

ZONTA, E.P.; MACHADO, A.D.; SILVEIRA JUNIOR,P. **Sistema de análise estatística para microcomputadores: SANEST**. Pelotas: UFPEL, 1984. (Registro SEI nº 06606-0 categoria AO).

## 7 ANEXOS

**Anexo 1** - Dados de temperatura na casa-de-vegetação durante o teste de controle de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma* spp.

Tabela 17 – Temperaturas mínimas, máximas e médias na casa-de-vegetação durante o teste de biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma* spp. Santa Maria, RS, 2006.

Data	Temperatura mínima	Temperatura Máxima	Temperatura média
27/07/2006	17,4	29,3	23,35
28/07/2006	12,8	24,8	18,8
29/07/2006	9,0	17,0	13,0
30/07/2006	2,6	18,8	10,7
31/07/2006	2,2	18,2	10,2
01/08/2006	2,0	21,4	11,7
02/08/2006	2,0	20,8	11,4
03/08/2006	6,0	23,2	14,6
04/08/2006	8,8	20,4	14,6
05/08/2006	11,6	24,5	18,05
06/08/2006	15,7	25,8	20,75
07/08/2006	15,1	32,6	23,85
08/08/2006	18,4	30,5	24,45
09/08/2006	19,8	35,8	27,8
10/08/2006	13,7	28,1	20,9
11/08/2006	12,2	29,2	20,7
12/08/2006	13,8	33,2	23,5
13/08/2006	20,2	33,4	26,8
14/08/2006	19,7	26,2	22,95
15/08/2006	14,8	18,8	16,8
16/08/2006	9,4	19,5	14,45
17/08/2006	9,5	22,7	16,1
18/08/2006	11,5	23,8	17,65
19/08/2006	5,3	25,6	15,45
20/08/2006	8,0	23,1	15,55
21/08/2006	3,0	21,6	12,3
22/08/2006	2,6	26,2	14,4
23/08/2006	8,8	30,6	19,7
24/08/2006	8,5	32,5	20,5
25/08/2006	11,5	36,6	24,05
26/08/2006	18,6	25,0	21,8

Tabela 17 – Temperaturas mínimas, máximas e médias na casa-de-vegetação durante o teste de biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma* spp. Santa Maria, RS, 2006.

27/08/2006	13,8	22,2	18,0
28/08/2006	6,0	24,6	15,3
29/08/2006	4,8	25,4	15,1
30/08/2006	6,8	27,2	17,0
31/08/2006	9,6	29,6	19,6
01/09/2006	14,3	26,4	20,35
02/09/2006	10,3	19,2	14,75
03/09/2006	6,5	22,4	14,45
04/09/2006	5,8	18,2	12,0
05/09/2006	3,8	24,4	14,1
06/09/2006	3,8	26,7	15,25
07/09/2006	7,8	28,8	18,3
08/09/2006	11,2	27,8	19,5
09/09/2006	16,7	29,8	23,25
10/09/2006	10,4	33,1	21,75
11/09/2006	19,7	37,8	28,75
12/09/2006	21,0	30,8	25,9
13/09/2006	7,0	24,4	15,7
14/09/2006	15,3	25,0	20,15
15/09/2006	15,8	27,5	21,65
16/09/2006	10,0	27,7	18,85
17/09/2006	10,2	30,4	20,3
18/09/2006	12,4	32,9	22,65
19/09/2006	14,9	33,8	24,35
20/09/2006	16,2	25,0	20,6
21/09/2006	15,9	26,6	21,25
22/09/2006	15,7	34,9	25,3
23/09/2006	17,1	26,7	21,9
24/09/2006	9,8	27,4	18,6
25/09/2006	7,6	30,0	18,8
26/09/2006	11,2	32,1	21,65
27/09/2006	15,1	33,7	24,4
28/09/2006	18,9	28,2	23,55
29/09/2006	14,0	32,4	23,2
30/09/2006	12,9	34,2	23,55
01/10/2006	16,0	33,6	24,8
02/10/2006	16,0	35,0	25,5
03/10/2006	18,0	34,4	26,2
04/10/2006	20,8	29,5	25,15
05/10/2006	18,9	24,9	21,9
06/10/2006	12,3	30,6	21,45
07/10/2006	15,2	22,2	18,7
08/10/2006	13,5	32,1	22,8

Tabela 17 – Temperaturas mínimas, máximas e médias na casa-de-vegetação durante o teste de biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma* spp. Santa Maria, RS, 2006.

09/10/2006	13,2	35,6	24,4
10/10/2006	19,5	38,9	29,2
11/10/2006	20,2	31,0	25,6
12/10/2006	17,6	31,2	24,4
13/10/2006	18,1	38,8	28,5
14/10/2006	20,2	39,2	29,7
15/10/2006	19,7	23,0	21,35
16/10/2006	13,2	31,0	22,1
17/10/2006	14,5	29,9	22,2
18/10/2006	15,7	27,5	21,6

**Anexo 2** - Dados de umidade relativa na casa-de-vegetação durante o teste de controle de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma* spp.

Tabela 18 – Umidades relativas às 9, 15 e 21 horas na casa-de-vegetação durante o teste de biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma* spp. Santa Maria, RS, 2006.

Data	UR9	UR15	UR21
27/07/2006	88,0	60,0	83,0
28/07/2006	86,0	50,0	64,0
29/07/2006	83,0	58,0	74,0
30/07/2006	84,0	45,0	90,0
31/07/2006	83,0	56,0	88,0
01/08/2006	93,0	49,0	88,0
02/08/2006	94,0	63,0	86,0
03/08/2006	97,0	71,0	95,0
04/08/2006	98,0	89,0	93,0
05/08/2006	96,0	74,0	92,0
06/08/2006	98,0	82,0	96,0
07/08/2006	100,0	36,0	68,0
08/08/2006	37,0	36,0	47,0
09/08/2006	38,0	38,0	96,0
10/08/2006	93,0	56,0	86,0
11/08/2006	96,0	86,0	96,0
12/08/2006	92,0	62,0	90,0
13/08/2006	61,0	74,0	89,0

Tabela 18 – Umidades relativas às 9, 15 e 21 horas na casa-de-vegetação durante o teste de biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma* spp. Santa Maria, RS, 2006.

14/08/2006	37,0	79,0	85,0
15/08/2006	93,0	83,0	87,0
16/08/2006	91,0	71,0	89,0
17/08/2006	84,0	70,0	78,0
18/08/2006	93,0	63,0	82,0
19/08/2006	92,0	36,0	89,0
20/08/2006	64,0	53,0	72,0
21/08/2006	76,0	46,0	91,0
22/08/2006	91,0	35,0	87,0
23/08/2006	73,0	34,0	84,0
24/08/2006	85,0	47,0	85,0
25/08/2006	65,0	32,0	79,0
26/08/2006	96,0	66,0	81,0
27/08/2006	93,0	64,0	85,0
28/08/2006	84,0	32,0	80,0
29/08/2006	78,0	42,0	72,0
30/08/2006	79,0	48,0	89,0
31/08/2006	84,0	52,0	88,0
01/09/2006	100,0	70,0	96,0
02/09/2006	93,0	81,0	94,0
03/09/2006	69,0	43,0	73,0
04/09/2006	72,0	57,0	76,0
05/09/2006	72,0	48,0	85,0
06/09/2006	85,0	74,0	74,0
07/09/2006	80,0	48,0	71,0
08/09/2006	84,0	73,0	98,0
09/09/2006	94,0	61,0	91,0
10/09/2006	89,0	42,0	90,0
11/09/2006	62,0	47,0	76,0
12/09/2006	76,0	67,0	82,0
13/09/2006	95,0	89,0	93,0
14/09/2006	89,0	81,0	92,0
15/09/2006	96,0	50,0	80,0
16/09/2006	98,0	41,0	69,0
17/09/2006	79,0	58,0	89,0
18/09/2006	98,0	56,0	84,0
19/09/2006	98,0	58,0	77,0
20/09/2006	81,0	90,0	96,0
21/09/2006	89,0	71,0	85,0
22/09/2006	92,0	44,0	83,0
23/09/2006	75,0	50,0	80,0
24/09/2006	65,0	48,0	89,0

Tabela 18 – Umidades relativas às 9, 15 e 21 horas na casa-de-vegetação durante o teste de biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma* spp. Santa Maria, RS, 2006.

25/09/2006	79,0	37,0	72,0
26/09/2006	78,0	47,0	69,0
27/09/2006	56,0	54,0	94,0
28/09/2006	92,0	72,0	65,0
29/09/2006	78,0	48,0	69,0
30/09/2006	75,0	56,0	76,0
01/10/2006	82,0	58,0	83,0
02/10/2006	94,0	55,0	82,0
03/10/2006	92,0	61,0	73,0
04/10/2006	93,0	74,0	96,0
05/10/2006	96,0	92,0	94,0
06/10/2006	68,0	57,0	80,0
07/10/2006	93,0	76,0	92,0
08/10/2006	82,0	48,0	72,0
09/10/2006	85,0	60,0	86,0
10/10/2006	79,0	43,0	77,0
11/10/2006	78,0	74,0	85,0
12/10/2006	78,0	69,0	89,0
13/10/2006	88,0	67,0	81,0
14/10/2006	66,0	47,0	89,0
15/10/2006	98,0	89,0	80,0
16/10/2006	62,0	53,0	69,0
17/10/2006	83,0	63,0	72,0
18/10/2006	82,0	68,0	75,0

---