

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

***Trichoderma* spp. ASSOCIADO A NÍVEIS DE  
ADUBAÇÃO NPK NO PATOSSISTEMA *Sclerotinia  
sclerotiorum* – FEIJOEIRO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Johnathan Rodrigues**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2010**

***Trichoderma spp. ASSOCIADO A NÍVEIS DE ADUBAÇÃO  
NPK NO PATOSSISTEMA Sclerotinia sclerotiorum –  
FEIJOEIRO***

**por**

**Johnathan Rodrigues**

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

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Ph.D. Elena Blume**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2010**

**Rodrigues, Johnathan, 1983-**

**R696t**

*Trichoderma spp.* associado a níveis de adubação NPK no patossistema *Sclerotinia sclerotiorum* - feijoeiro / Johnathan Rodrigues. - 2010.

84 f. ; il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2010.

“Orientador: Prof.<sup>a</sup> PhD Elena Blume”

1. Agronomia 2. *Phaseolus vulgaris*. 3. Controle biológico 4. Mofo branco 5. Nutrientes I. Blume, Elena II. Título

CDU: 635.652

Ficha catalográfica elaborada por

Patrícia da Rosa Corrêa – CRB 10/1652

Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Rurais/UFSM

---

© 2010

Todos os direitos autorais reservados a Johnathan Rodrigues. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita com autorização por escrito do autor.

Endereço: Rua Tenente Portela, n. 22, Bairro Ipiranga, Frederico Westphalen, RS, 98400-000

Fone (0xx)55 99463527; End. Eletr: jr\_ufsm@yahoo.com.br

---

**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. ASSOCIADO A NÍVEIS DE ADUBAÇÃO NPK  
NO PATOSSISTEMA *Sclerotinia sclerotiorum* – FEIJOEIRO**

elaborada por  
**Johnathan Rodrigues**

Como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Agronomia**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**



---

**Elena Blume, Ph.D.**  
(Presidente/Orientadora) - UFSM



---

**Rute Teresinha da Silva Ribeiro, Dra. (UCS)**



---

**Fernando Teixeira Nicoloso, Dr. (UFSM)**

*Dedico este trabalho aos meus  
pais Nelacir e Onadir (in memória), aos meus irmãos Alexandre e Magnus.  
“ Vocês são o esteio que sustenta toda a minha construção .”*

## **AGRADECIMENTOS**

À professora Elena Blume pelos ensinamentos, paciência, amizade e orientação.

À banca examinadora, constituída pela Prof<sup>a</sup>. Dra. Rute Ribeiro e Dr. Fernando Nicoloso.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UFSM, aos professores, funcionários e colegiado pela oportunidade.

Ao órgão financiador CAPES pela ajuda financeira através de bolsa de mestrado.

Ao professor Fernando Teixeira Nicoloso pelo apoio e ajuda na execução deste projeto.

À laboratorista e grande amiga Maria Nevis, aos funcionários Geraldo e Fernando e aos professores do Departamento de Defesa Fitossanitária, muito obrigado.

Aos bolsistas Carlos e Ricardo pela ajuda durante a execução deste trabalho.

Aos amigos e colegas de laboratório Paola Milanesi, Daniele Pedroso, Simone Brand, Miria Durigon, Fábio Hamann, Vanessa Ocum, Clarice Manzoni, Emanuele Junges e Maria Georgina, muito obrigado.

Ao meu amigo Emerson Dalla Chieza pela ajuda durante toda a execução deste trabalho.

À minha companheira Angela M. Brancher pela paciência, ajuda, incentivo e amizade nesta difícil caminhada, muito obrigado.

À minha amiga Paola Milanesi pelo apoio, incentivo e ajuda nesta caminhada, muito obrigado.

Ao grande apoio de minha mãe Nelacir, minha companheira Angela, os irmãos Alexandre e Magnus, minha cunhada Mari, meu padrasto Elton e tios – meu terno e eterno agradecimento.

E, a todos que contribuíram direta ou indiretamente nessa minha caminhada, obrigado pelo incentivo e apoio!

## RESUMO

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

### ***Trichoderma* spp. ASSOCIADO A NÍVEIS DE ADUBAÇÃO NPK NO PATOSSISTEMA *Sclerotinia sclerotiorum* – FEIJOEIRO**

AUTOR: JOHNATHAN RODRIGUES

ORIENTADOR: ELENA BLUME

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 25 de fevereiro de 2010.

O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* causa grandes perdas na produção de grãos de feijão. Por ser um fungo de solo, é de difícil manejo sendo o controle biológico com *Trichoderma* sp. uma alternativa viável. Existem muitos fatores que podem interferir no desempenho do antagonista no controle biológico, como pH, quantidade de água no solo, tipo de solo e nutrientes. Estes estão presentes em abundância no solo pela adubação realizada para suprir as necessidades da cultura, porém pouco se sabe sobre a interferência no desempenho do controle biológico de *S. sclerotiorum* pelo antagonista *Trichoderma* sp. Dessa forma, os objetivos deste trabalho foram avaliar a influência de doses de NPK (nitrogênio, fósforo e potássio) no crescimento de diferentes isolados de *Trichoderma* sp. e *S. sclerotiorum* *in vitro*, assim como o desempenho de *Trichoderma* sp. no controle *in vitro* e *in vivo* de *Sclerotinia* sp. e verificar a ação de *Trichoderma* sp. na absorção de NPK pelo feijoeiro. O trabalho foi realizado em laboratório e casa de vegetação em Santa Maria, RS, Brasil. Os parâmetros avaliados foram crescimento micelial, esporulação de *Trichoderma* sp. e porcentagem de controle do patógeno *in vitro*. *In vivo* foram avaliadas a incidência de mofo branco, altura de planta, comprimento de raízes, número de folhas, massa fresca e seca de parte aérea e raiz e diâmetro de colo de plantas de feijoeiro. Também se avaliou a população de *Trichoderma* sp. no solo e o teor de NPK em tecido vegetal da parte aérea do feijoeiro. O maior crescimento micelial foi obtido pelo isolado de *Trichoderma* sp. UFSMT16 para todas as doses de NPK *in vitro*, diferindo do isolado UFSMT17 somente nas doses de 75 a 125% de NPK. Na quantificação de esporos de *Trichoderma* sp., o isolado UFSMT17 apresentou a maior esporulação na maioria das diferentes doses de NPK. O isolado UFSMT16 obteve melhor resultado no teste de pareamento de culturas, apresentando o maior desempenho nas doses de 50, 75 e 100% de NPK (notas de 1,00, 1,25 e 1,00, respectivamente). Na população final o isolado de *Trichoderma* spp. UFSMT15.1 obteve maior média de UFCs g<sup>-1</sup> de solo ( $1,3 \times 10^4$ ), diferindo estatisticamente do isolado UFSMT16 e da testemunha. Para a variável teor de fósforo na parte aérea, na interação entre isolados de *Trichoderma* sp. na ausência e presença de *S. sclerotiorum* associados a doses de NPK, observou-se diferença estatística entre os isolados de *Trichoderma* spp. UFSMT15.1, UFSMT16 e tratamento testemunha nas doses de 25 e 125% de NPK, na presença e na dose de 25% na ausência de *S. sclerotiorum*. Concluiu-se que as doses de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) no meio de cultura Elad interferem no crescimento e reprodução do gênero *Trichoderma* *in vitro*; os isolados de *Trichoderma* sp. (UFSMT15.1, UFSMT16 e UFSMT17) têm maior crescimento de colônias *in vitro*, do que os isolados de *S. sclerotiorum*, independente da dose de NPK; as doses de 25, 50, 75, 100 e 125% NPK da estabelecida para o meio de cultura Elad interferem na eficácia de controle de *S. sclerotiorum* pelos isolados UFSMT15.1, UFSMT16 e UFSMT17 de *Trichoderma* sp.; a população de *Trichoderma* sp. não é afetada pela variação da aplicação de diferentes doses de NPK em solo; a presença de *S. sclerotiorum* diminuiu a altura de parte aérea do feijoeiro, mesmo na ausência de sintomas visíveis da doença, enquanto que os isolados de *Trichoderma* sp. UFSMT15.1 e UFSMT16 aumentaram em solo com baixa aplicação de NPK; os isolados UFSMT15.1 e UFSMT16 na presença e ausência de *S. sclerotiorum* em diferentes doses de NPK interferem na quantidade de fósforo na parte aérea do feijoeiro, porém não apresentam efeito significativo no teor de nitrogênio e potássio.

Palavras-chave: controle biológico; nutrientes; mofo branco; *Phaseolus vulgaris*.

## ABSTRACT

Master Thesis  
Program of Pos-Graduation in Agronomy  
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil

### ***Trichoderma* spp. ASSOCIATED TO LEVELS OF NPK FERTILIZATION IN THE *Sclerotinia sclerotiorum* – BEANS PATHOSYSTEM**

AUTHOR: JOHNATHAN RODRIGUES

ADVISER: ELENA BLUME

Date and Location of Presentation: Santa Maria, February 25<sup>th</sup>, 2010.

The fungus *Sclerotinia sclerotiorum* causes major losses in the production of beans. Because it is a soil fungus, it is difficult to control and the biological control with *Trichoderma* sp. is a viable alternative. There are many factors that can interfere with the performance of the antagonist in biological control, such as pH, amount of water in the soil, soil type and nutrients. The latter are present in abundance in the soil by fertilization performed to meet the needs of the crop, but little is known about their interference in the performance of biological control of *S. sclerotiorum* by the antagonist *Trichoderma* sp. Thus, the objectives of this study were to evaluate the influence of NPK (nitrogen, phosphorus and potassium) on the growth of different isolates of *Trichoderma* sp. and *S. sclerotiorum* *in vitro*, as well as the performance of *Trichoderma* sp. on the *in vitro* and *in vivo* control of *Sclerotinia* sp. and to verify the effect of *Trichoderma* sp. in the NPK uptake by bean plants. The study was conducted in laboratory and greenhouse in Santa Maria, RS, Brazil. The parameters measured were mycelial growth, sporulation of *Trichoderma* sp. and percentage of control of the pathogen *in vitro*. *In vivo* the incidence of white mold, plant height, root length, leaf number, fresh and dry weight of shoot and root and stem diameter of bean plants were evaluated. The population of *Trichoderma* sp. in soil and NPK content in plant tissue of the shoot bean were also evaluated. The highest micelial growth was achieved by *Trichoderma* sp. UFSMT16 for all doses of NPK *in vitro*, differing from the isolate UFSMT17 only at rates of 75 to 125% of NPK. In the quantification of spores of *Trichoderma* sp., the isolate UFSMT17 had the highest sporulation in the majority of the different doses of NPK. The isolate UFSMT16 obtained better results in the test of paired cultures, with the highest performance at doses of 50, 75 and 100% NPK (notes 1.00, 1.25 and 1.00, respectively). In the final population, *Trichoderma* sp. UFSMT15.1 obtained higher CFU g<sup>-1</sup> soil ( $1.3 \times 10^4$ ), differing significantly from the isolate UFSMT16 and the control treatment. For the variable content of phosphorus in plant tissue of the shoot, the interaction between *Trichoderma* sp. in the absence and presence of *S. sclerotiorum* associated with doses of NPK, there was statistical difference between the isolates of *Trichoderma* spp. UFSMT15.1, UFSMT16 and the control treatment at the doses of 25 and 125% of NPK, in the presence and at the dose of 25% in the absence of *S. sclerotiorum*. It was concluded that the levels of nitrogen, phosphorus and potassium (NPK) in the Elad medium influence growth and reproduction of the genus *Trichoderma* *in vitro*; isolates of *Trichoderma* sp. (UFSMT15.1, UFSMT16, and UFSMT17) have higher growth of colonies *in vitro* than isolates of *S. sclerotiorum*, regardless of the dose of NPK; the levels of 25, 50, 75, 100 NPK and 125% of the growth medium Elad interfere with effective control of *S. sclerotiorum* by isolates UFSMT15.1, UFSMT16, and UFSMT17 of *Trichoderma* sp.; the population of *Trichoderma* sp. is not affected by varying the application of different doses of NPK in soil and the presence of *S. sclerotiorum* reduced the height of the aerial parts of beans, even without visible symptoms of the disease, while *Trichoderma* sp. UFSMT15.1 UFSMT16 and increased in soil with low application of NPK; and UFSMT16 and UFSMT15.1 isolates in the presence and absence of *S. sclerotiorum* in different levels of NPK interfere with the amount of phosphorus in the shoots of beans, but have no significant effect on the content of nitrogen and potassium.

Keywords: biological control; nutrients; white mold; *Phaseolus vulgaris*.

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – A) Medição do crescimento de uma colônia utilizando paquímetro digital; B) detalhe dos dois sentidos perpendiculares. Santa Maria, RS, 2009. ....22
- FIGURA 2 – Hemacitômetro (ou Câmara de Neubauer) em microscópio ótico para contagem de conídios. Santa Maria, RS, 2009. ....23
- FIGURA 3 – Pareamento de culturas; placas com discos contendo os isolados UFSMT17 (A) e UFSMT16 (B) de *Trichoderma* sp. e *S. sclerotiorum* em lados opostos, após sete dias de incubação. Santa Maria, RS, 2009. ....24
- FIGURA 4 – A) Gabarito com a escala de Bell modificada; B) escala sob a placa de Petri para atribuição da nota em teste de pareamento de culturas. Santa Maria, RS, 2009. ....25
- FIGURA 5 – Crescimento micelial (mm) do isolado SCL-FE de *S. sclerotiorum* em diferentes doses de NPK em meio de cultura Elad modificado. Santa Maria, RS, 2009. ....28
- FIGURA 6 – Esporulação (número de esporos / mL) de *Trichoderma* spp. (UFSMT15.1 e UFSMT17) cultivado em meio de cultura Elad modificado na concentração de NPK. Santa Maria, RS, 2009. ....30
- FIGURA 7 – Pesagem dos vasos para aferição da capacidade de campo do solo. Santa Maria, RS, 2009. ....42
- FIGURA 8 – Procedimento para medir a altura da parte aérea (A) e de raiz (B) de plantas de feijoeiro. Santa Maria, RS, 2009. ....46
- FIGURA 9 – Mensuração do diâmetro do caule de plantas de feijoeiro na altura do colo com paquímetro digital. Santa Maria, RS, 2009. ....47
- FIGURA 10 – Antagonismo de *Trichoderma* spp. (isolado UFSMT15.1) a *S. sclerotiorum* (SCL-FE) em solo cultivado com feijoeiro. Santa Maria, RS, 2009. A) coloração verde clara em concentrado em um único ponto indicando processo inicial de antagonismo; B) coloração verde oliva presente em todo o micélio de *S. sclerotiorum* indicando processo avançado de antagonismo. ....50
- FIGURA 11 – Altura da parte aérea de feijoeiro cultivado em diferentes doses de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) na presença do isolado de *Trichoderma* sp. UFSMT15.1. Santa Maria, RS, 2009. ....52

FIGURA 12 – Comprimento total do sistema radicular (cm) de feijoeiro na ausência de <i>S. sclerotiorum</i> (SCL-FE) em função de doses de NPK. Santa Maria, RS, 2009.	53
FIGURA 13 – Diâmetro de colo (mm) de feijoeiro em diferentes doses de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK). Santa Maria, RS, 2009.	54
FIGURA 14 – Massa fresca de parte aérea (g) de feijoeiro em função de isolados de <i>Trichoderma</i> sp. (UFSMT15.1 e UFSMT16) em diferentes doses de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK). Santa Maria, RS, 2009.	55
FIGURA 15 – Massa fresca de raiz (g) de feijoeiro em função de isolado de <i>Trichoderma</i> sp. UFSMT15.1 em diferentes doses de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK). Santa Maria, RS, 2009.	56
FIGURA 16 – Nitrogênio (%) em tecido vegetal de parte aérea de feijoeiro em função de doses de nitrogênio, fósforo e potássio (25, 50, 75, 100 e 125% de NPK) aplicados no solo. Santa Maria, RS, 2009.	58
FIGURA 17 – Teor de fósforo (%) na parte aérea de feijoeiro em função de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. (UFSMT15.1, UFSMT16 e UFSMT17) e doses de NPK na presença de <i>S. sclerotiorum</i> . Santa Maria, RS, 2009.	62
FIGURA 18 – Teor de potássio (%) na parte aérea de feijoeiro em função de diferentes doses de NPK aplicados ao solo. Santa Maria, RS, 2009.	63

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Siglas dos tratamentos no experimento de pareamento de culturas entre <i>S. sclerotiorum</i> e <i>Trichoderma</i> sp. Santa Maria, RS, 2009. ....	20
TABELA 2 – Comparativo entre as notas atribuídas pela escala de Bell et al. (1982) e a escala proposta para teste de pareamento de culturas.....	24
TABELA 3 – Crescimento de micelial (cm) de <i>Trichoderma</i> spp. e <i>S. sclerotiorum</i> em meio Elad modificado com diferentes doses de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK). Santa Maria, RS, 2009. ....	27
TABELA 4 – Esporulação (número de esporos / mL) de <i>Trichoderma</i> spp. cultivado em meio de cultura Elad acrescido de diferentes doses de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK). Santa Maria, RS, 2009. ....	28
TABELA 5 – Notas do teste de pareamento de culturas obtidas por isolados de <i>Trichoderma</i> sp. em confronto com o isolado de <i>S. sclerotiorum</i> SCL-AL. Santa Maria, RS, 2009. ....	31
TABELA 6 – Notas do teste de pareamento de culturas obtidas por isolados de <i>Trichoderma</i> sp. em confronto com o isolado de <i>S. sclerotiorum</i> SCL- FE. Santa Maria, RS, 2009. ....	32
TABELA 7 – Fatores testados no experimento conduzido em casa de vegetação na cultura do feijoeiro. Santa Maria, RS, 2009.....	40
TABELA 8 – Quantidade (g) de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) aplicados em cada dose por repetição. Santa Maria, RS, 2009.....	43
TABELA 9 – Unidades formadoras de colônias (UFC g-1 de solo) na presença e ausência de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. em solo cultivado com feijoeiro até estágio R6. Santa Maria, RS, 2009. ....	50
TABELA 10 – Altura de parte aérea de feijoeiro na presença e ausência de <i>S. sclerotiorum</i> (SCL-FE), no solo. Santa Maria, RS, 2009. ....	52
TABELA 11 – Teor de fósforo (P %) na parte aérea de feijoeiro, na interação entre <i>S. sclerotiorum</i> com isolados de <i>Trichoderma</i> sp. associados a doses de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) em solo. Santa Maria, RS, 2009.....	59

TABELA 12 – Teor de fósforo (%) na parte aérea de feijoeiro, cultivado na presença e ausência de *Trichoderma* sp. e *S. sclerotiorum* em diferentes doses de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) em solo. Santa Maria, RS, 2009.....61

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO .....	14
CRESCIMENTO E CONFRONTO DE COLÔNIAS DE <i>S. sclerotiorum</i> E <i>Trichoderma</i> sp. EM DIFERENTES DOSES DE NITROGÊNIO, FÓSFORO E POTÁSSIO <i>IN VITRO</i> .....	17
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>2.0 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>19</b>
2.1 Local .....	19
2.2 Delineamento experimental e tratamentos testados.....	20
2.3 Obtenção de isolados de <i>Trichoderma</i> sp. e <i>S. sclerotiorum</i> .....	20
2.4 Crescimento micelial de <i>Trichoderma</i> sp. e <i>S. sclerotiorum</i> em doses de NPK e quantificação de esporos de <i>Trichoderma</i> sp.....	21
2.5 Teste de pareamento de culturas .....	23
2.6 Análise estatística .....	25
<b>3 Resultados e discussão.....</b>	<b>26</b>
3.1. Crescimento micelial de <i>Trichoderma</i> spp. e <i>S. sclerotiorum</i> e quantificação de esporos de <i>Trichoderma</i> spp. em meio de cultivo Elad acrescido com diferentes doses de NPK .....	26
3.2 Teste de pareamento de culturas .....	29
<b>4 CONCLUSÕES .....</b>	<b>33</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>34</b>
DOSES DE NITROGÊNIO, FÓSFORO E POTÁSSIO ASSOCIADAS A <i>S. sclerotiorum</i> E <i>Trichoderma</i> spp. EM SOLO CULTIVADO COM FEIJOEIRO, EM AMBIENTE CONTROLADO.....	37
<b>5 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>37</b>
<b>6 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>39</b>
6.1 Local .....	39
6.2 Delineamento experimental e tratamentos .....	40

<b>6.3 Coleta e preparo do solo .....</b>	<b>41</b>
<b>6.4 Adubação .....</b>	<b>42</b>
<b>6.5 Teste de germinação de sementes de feijão.....</b>	<b>43</b>
<b>6.6 Preparo dos inóculos e inoculação de <i>Trichoderma</i> sp. e <i>S. sclerotiorum</i> .</b>	<b>44</b>
<b>6.7 Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) <i>Trichoderma</i> spp.....</b>	<b>45</b>
<b>6.8 Avaliação de mofo branco na planta .....</b>	<b>45</b>
<b>6.9 Parâmetros avaliados no crescimento de planta .....</b>	<b>46</b>
<b>6.10 Análise de tecido vegetal.....</b>	<b>47</b>
<b>6.11 Instalação e condução do experimento .....</b>	<b>48</b>
<b>6.12 Análise estatística .....</b>	<b>49</b>
<b>7 Resultados e discussão.....</b>	<b>49</b>
<b>7.1. População de <i>Trichoderma</i> spp. em solo cultivado com feijoeiro sob diferentes doses de NPK e inoculado com <i>Trichoderma</i> spp.....</b>	<b>49</b>
<b>7.2 – Parâmetros de crescimento do feijoeiro .....</b>	<b>51</b>
7.2.1 – Altura de parte aérea e comprimento total de raiz de feijoeiro .....	51
7.2.2 – Número de folhas e diâmetro de colo.....	53
7.2.3 – Massa fresca e seca de parte aérea e raiz.....	55
<b>7.3 Teores de nitrogênio, fósforo e potássio na parte aérea de feijoeiro, em solo inoculado com <i>Trichoderma</i> sp. e <i>S. sclerotiorum</i>, sob diferentes doses de NPK.....</b>	<b>57</b>
7.3.1 Teor de nitrogênio (N) na de parte aérea de feijoeiro.....	57
7.3.2 Teor de fósforo (P) na de parte aérea de feijoeiro.....	58
7.3.3 Teor de potássio (K) na parte aérea de feijoeiro .....	63
<b>8 CONCLUSÃO .....</b>	<b>64</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>65</b>
<b>APÊNDICE .....</b>	<b>69</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>82</b>

## INTRODUÇÃO

O feijoeiro tem grande importância para a sociedade brasileira, tanto alimentar quanto social. Essa leguminosa tem caráter fundamental para a nutrição dos brasileiros, sendo uma das principais fontes protéica e energética de todas as classes sociais. Para as classes de baixa renda, essa é a principal fonte de proteína. Juntamente com o arroz, compõe uma refeição com as principais necessidades nutricionais diárias, como vitaminas, carboidratos, proteínas e sais minerais.

A produção brasileira de feijão tem uma estabilidade com pequena variação entre as safras, mas nos últimos cinco anos apresenta tendência de crescimento. Essa estabilidade se deve à característica produtiva, predominando produtores familiares com áreas de lavoura menores que 10 hectares.

Porém, na maioria dos casos dos pequenos produtores do Estado do Rio Grande do Sul, não são utilizadas tecnologias adequadas no cultivo, sendo a cultura implantada em áreas marginais com solos erodidos de baixa fertilidade e poucos insumos (SAA/RS Rural, 1999). Outro entrave é a utilização de sementes oriundas de cultivos na propriedade sem o devido cuidado para diminuir a ocorrência de patógenos associados às mesmas. Esses fatores são responsáveis pela baixa produtividade e comprometem o aumento da média de produção nacional da cultura.

O incremento na produção nacional de feijão é devido à inclusão de áreas antes consideradas desfavoráveis devido ao déficit hídrico e baixa fertilidade dos solos, pela utilização de métodos de irrigação, como o pivô central, e o uso de adubação química. Com isso, houve o favorecimento de fatores que proporcionam microclima favorável para o surgimento de doenças, em especial o mofo-branco.

O mofo-branco, causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary, é uma doença de solo que causa grandes perdas de produção da cultura podendo chegar a 100% em condições favoráveis. Com a presença da doença no campo ocorre a produção de estruturas de resistência a partir do micélio, chamadas de escleródios, que permanecem viáveis no solo por longos períodos. O controle da doença é difícil, pois a aplicação de agroquímicos na floração, período crítico no qual ocorre a infecção pelos ascósporos, é dificultado pelo porte da cultura. Já o controle dos escleródios no solo é dificultado pelo pouco alcance dos produtos no alvo e pelo

solo atuar na degradação do produto. A resistência genética de plantas tem sido estudada, mas até o momento não apresentou eficiência adequada.

Logo, uma alternativa que se mostra promissora é o uso de controle biológico. Nesse, o gênero fúngico *Trichoderma* pode constituir um grande potencial para controle dessa doença, principalmente, por atuar tanto no micélio do fungo quanto na estrutura de resistência. A eficácia na utilização do antagonista *Trichoderma* spp. (Persoon) Gray no controle biológico de doenças fúngicas de solo já é comprovada, a exemplo dos gêneros *Fusarium* spp. (Link) Gray e *Sclerotinia* spp. que causam doenças em diversas culturas. A eficácia de *Trichoderma* spp. no controle biológico de diversos gêneros de fitopatógenos ocorre devido aos complexos mecanismos que estão envolvidos no controle biológico. Além disso, há muitas vantagens na sua utilização devido à fácil obtenção, aplicação, baixo risco ambiental e fácil multiplicação em laboratório, potencializando o uso em escala comercial. Entretanto, existem lacunas no conhecimento de fatores que atuam sobre o desempenho no controle biológico, como tipo de solo, pH, disponibilidade de água no solo, nutrientes, etc.

Dentre os fatores potencialmente atuantes estão os nutrientes, como nitrogênio, fósforo e potássio, que são inseridos no sistema através da adubação das culturas. Esses assumem maior importância pelo fato de ser atribuído ao antagonista *Trichoderma* spp. a habilidade de promotor de crescimento de plantas através da solubilização de nutrientes do solo.

O trabalho, para melhor entendimento, foi dividido em duas partes, sendo a primeira parte realizada em laboratório para testar a eficácia do agente de controle e seu comportamento frente a nutrientes em placas, e a segunda parte em casa de vegetação para a verificação do controle de mofo-branco em feijoeiro e o efeito de *Trichoderma* sp. no desenvolvimento da cultura.

O entendimento dos fatores que interferem no controle biológico auxiliará na melhor recomendação de uso dos produtos formulados a base do antagonista *Trichoderma* sp. no controle de doenças em plantas. Portanto, os objetivos deste trabalho foram:

- avaliar a influência de doses de NPK (nitrogênio, fósforo e potássio) no crescimento de diferentes isolados de *Trichoderma* sp. e *S. sclerotiorum* *in vitro*;

- avaliar o efeito de doses de NPK no controle *in vitro* de *S. sclerotiorum* por isolados de *Trichoderma* spp.;
- verificar o efeito de doses de NPK na população de *Trichoderma* sp. no rizoplano de feijoeiro;
- avaliar o efeito de doses de NPK no biocontrole de *S. sclerotiorum* por *Trichoderma* spp. em feijoeiro; e
- avaliar a interferência de *Trichoderma* sp. na absorção de NPK pelo feijoeiro.

# **CRESCIMENTO E CONFRONTO DE COLÔNIAS DE *S. sclerotiorum* E *Trichoderma* sp. EM DIFERENTES DOSES DE NITROGÊNIO, FÓSFORO E POTÁSSIO *IN VITRO***

## **1 INTRODUÇÃO**

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) tem grande importância econômica e social no Brasil, provendo proteínas à alimentação. A produção brasileira de feijão, de acordo com dados da CONAB (2007), passou a ser a maior do mundo nos últimos quatro anos, atingindo a marca de 3,1 milhões de toneladas anuais e uma área cultivada com 4,2 milhões de hectares.

A cadeia produtiva do feijoeiro é composta por lavouras com área inferior a 10 ha, que compõem 74% das áreas cultivadas com feijoeiro no país e corresponde, aproximadamente, a 64% da produção nacional, enquanto lavouras entre 10 a 100 ha representam 19% da produção e maiores que 100 ha somam apenas 7% da produção. Para atender as necessidades nutricionais da cultura, são recomendadas grandes quantidades de adubo buscando-se um adequado crescimento e desenvolvimento do dossel, fatores esses que proporcionam maior produtividade ao feijoeiro (ROLAS, 2004).

Por ser cultivado essencialmente por pequenos produtores, as sementes de feijão utilizadas são produzidas na propriedade rural, sem o devido cuidado fitossanitário. No Rio Grande do Sul, em somente 3% das lavouras são utilizadas sementes fiscalizadas, o que repercute diretamente na baixa produtividade da cultura (ABRASEM, 2006). Além disso, essas sementes podem atuar como disseminadores de doenças, tais como as provocadas por *Colletotrichum lindemuthianum* (Penz.) Sacc, *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* Kuhn e *Sclerotinia sclerotiorum*.

Com o advento da irrigação, houve uma expansão nas áreas cultivadas com feijoeiro. A utilização de irrigação e a alta população de plantas por hectare formam um microclima altamente favorável à ocorrência de mofo branco, doença provocada

por *S. sclerotiorum*. Além disso, a nutrição mineral empregada na cultura do feijoeiro pode afetar o patógeno e/ou a doença. Lumsden (1979) relata que para os fungos do gênero *Sclerotinia* spp. a disponibilidade de nutrientes minerais no solo durante os estágios iniciais do desenvolvimento da doença é o principal fator que determina o sucesso ou falha do estabelecimento da doença no hospedeiro. Barbosa et al. (2002) testaram diferentes fontes de nitrogênio orgânico e inorgânico no crescimento e esporulação dos isolados JAB 02 e JAB 45 de *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viégas e observaram que as fontes inorgânicas de N ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> e NaNO<sub>3</sub>) favorecerem o crescimento dos fungos, porém o isolado JAB 02 teve baixa esporulação.

Atualmente, essa doença é um dos maiores problemas nas lavouras de soja, feijão e algodão e de maior severidade em áreas irrigadas. Grande importância tem sido dada a essa doença em função da escassez de métodos eficientes para seu controle (POMELLA; RIBEIRO, 2009) e a utilização de *Trichoderma* spp. como agente de controle biológico pode constituir uma medida eficaz para seu controle.

O gênero fúngico *Trichoderma* apresenta espécies que exercem antagonismo a vários fitopatógenos através do parasitismo e/ou antibiose e tem sido utilizado com sucesso como agente de biocontrole, promotor de crescimento e na melhoria da germinação e sanidade de sementes (ETHUR et al., 2006). Isolados de *Trichoderma* spp. são conhecidos pela habilidade em produzir enzimas e metabólitos extracelulares voláteis e não voláteis responsáveis pela degradação e lise da parede celular de fungos e oomicetos fitopatogênicos, como exoglucanases, endoglucanases, celobiase, quitinase (RIDOUT et al., 1988; PAPAVIDAS, 1985; ELAD et al., 1982 apud MARTINS-CORDER, 1998) e celulase (HARMAN et al., 2004).

Produtos à base de *Trichoderma* podem ser eficientes no controle de doenças ocasionadas por patógenos de solo como *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Sclerotium* spp. e *Sclerotinia* spp. Esses produtos podem ser utilizados para o tratamento de substratos e sementes, além de pulverização na parte aérea das plantas. De acordo com Howel (2003), espécies de *Trichoderma* são capazes de suprimir o desenvolvimento de vários fungos fitopatogênicos e seus mecanismos antagonistas são influenciados pelo tipo de solo, condições de temperatura e umidade e também, pela microflora associada.

Vários fatores como disponibilidade de água e tipo de solo (COLEY-SMITH, 1987 apud CLARKSON, 2004), temperatura (LEE, 2004), umidade, nutrientes,

matéria orgânica e pH do solo (HOWEL, 2003) influem no crescimento de *Trichoderma* spp. A resposta de *Trichoderma* spp. a esses fatores é pouco conhecida, podendo ocasionar oscilação de desempenho no controle de doenças em diferentes locais e épocas do ano.

Menezes et al. (2009) testaram duas fontes de N (extrato de levedura e  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) em diferentes doses *in vitro* e observaram que o maior crescimento micelial ocorreu na presença de nitrato de amônio. Segundo Altomare et al. (1999), *Trichoderma* spp. pode solubilizar minerais pouco solúveis ou insolúveis envolvendo, nesse processo, quelação e redução, mostrando que *T. harzianum*, isolado Rifai 1295-22, solubilizou fosfato de rocha, óxidos de manganês ( $\text{MnO}_2$ ) e ferro ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) e zinco metálico. Ambos os mecanismos têm um papel importante na capacidade de biocontrole de patógenos de plantas e podem ser parte de uma ação de competências múltiplas para conseguir eficácia sob diversas circunstâncias ambientais. Nitrogênio, fósforo e potássio (NPK), adicionados ao solo através de adubação química, entram em contato com a população de *Trichoderma* sp., podendo afetar diretamente seu crescimento e desempenho.

Dessa forma, os objetivos deste trabalho foram avaliar a influência de doses de NPK (nitrogênio, fósforo e potássio) no crescimento de diferentes isolados de *Trichoderma* spp. e de *S. sclerotiorum* *in vitro* e avaliar o efeito de doses de NPK no controle *in vitro* de *S. sclerotiorum* por isolados de *Trichoderma* sp.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia Elocy Minussi, localizado no Departamento de Defesa Fitossanitária (DFS) do Centro de Ciências Rurais (CCR) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) – RS, no período de setembro de 2008 a fevereiro de 2009.

## 2.2 Delineamento experimental e tratamentos testados

O experimento *in vitro* consistiu de dois ensaios, sendo que no primeiro foi realizada a avaliação do crescimento individual de colônias de cada fungo em placas de Petri e no segundo realizou-se o pareamento de culturas entre os isolados de *S. sclerotiorum* e *Trichoderma* spp., ambos em meio de cultura com diferentes doses de NPK.

Para o primeiro ensaio o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dois fatores (fungos vs. NPK), os quais foram compostos pelos níveis: isolados de *S. sclerotiorum* (SCL-AL e SCL-FE) e *Trichoderma* spp. (UFSMT15.1, UFSMT16 e UFSMT17) vs. 25, 50, 75, 100 e 125 % de NPK da dose estabelecida para o meio de cultura específico Elad, respectivamente. Cada tratamento teve quatro repetições, perfazendo um total de 100 unidades experimentais.

No segundo ensaio, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três fatores (*Trichoderma* sp. x *S. sclerotiorum* x NPK), com níveis (3 x 2 x 5, Tabela 1) e quatro repetições por tratamento, totalizando 120 unidades experimentais conforme descrito na Tabela 1.

**Tabela 1 – Siglas dos tratamentos no experimento de pareamento de culturas entre *S. sclerotiorum* e *Trichoderma* sp. Santa Maria, RS, 2009.**

<b>Sigla</b>	<b>Significado da sigla</b>
UFSMT15.1	Isolado UFSMT15.1 de <i>T. koningiopsis</i>
UFSMT16	Isolado UFSMT16 de <i>Trichoderma</i> sp.
UFSMT17	Isolado UFSMT17 de <i>T. aureoviride</i>
SCL AL	<i>S. sclerotiorum</i> de alface
SCL FE	<i>S. sclerotiorum</i> de feijoeiro
25	25% da dose de NPK
50	50% da dose de NPK
75	75% da dose de NPK
100	100% da dose de NPK
125	125% da dose de NPK

## 2.3 Obtenção de isolados de *Trichoderma* sp. e *S. sclerotiorum*

Foram utilizados três isolados de *Trichoderma* sp. (UFSMT15.1, UFSMT16 e UFSMT17), coletados e identificados por Menezes (2007), em função dos resultados eficazes que esses antagonistas apresentaram no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi*. Os isolados de *Trichoderma* spp. fazem parte da micoteca do Laboratório Elocy Minussi / Departamento de Defesa Fitossanitária – CCR e encontravam-se armazenados em geladeira com temperatura de 4 °C em frascos de vidro fechados hermeticamente contendo discos de meio BDA (Anexo 1) com estruturas dos fungos em água esterilizada.

A identificação dos isolados de *Trichoderma* sp. foi realizada através da caracterização molecular. O isolado UFSMT17 possui 99% de similaridade filogenética com a espécie *T. aureoviride*. O isolado UFSMT16 possui similaridade de aproximadamente 93% com um grupamento constituído das espécies *T. hamatum*, *T. polysporum*, *T. koningii*, *T. viride* e *T. longipile*. O isolado T15.1 possui similaridade com *T. koningiopsis*.

Para *S. sclerotiorum* foram utilizados um isolado obtido de alface (*Lactuca sativa*) e um de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*), nos anos de 2006 e 2007, respectivamente. Foram retiradas escleródios do fungo a partir de plantas com sintomas de mofo branco. Essas estruturas foram colocadas em meio de cultura BDA, repicando-as até a obtenção de colônias puras do fungo.

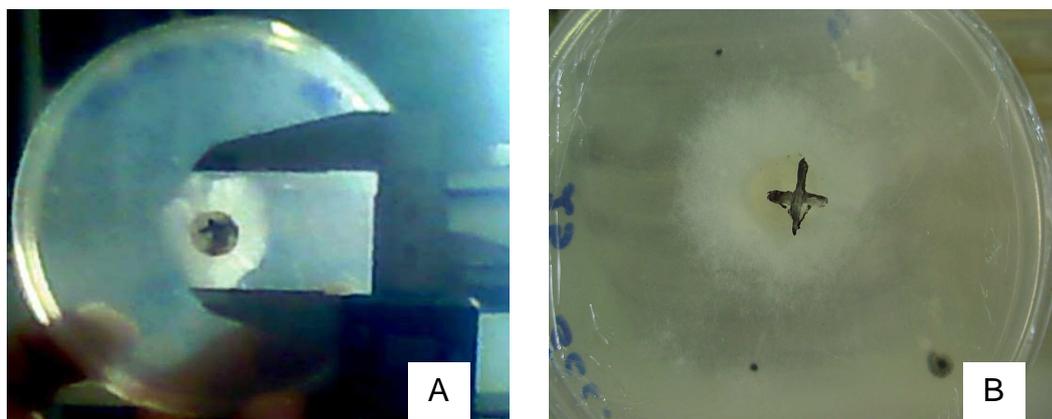
Todos os procedimentos de isolamento dos fungos utilizados nesse estudo foram realizados no Laboratório de Fitopatologia Elocy Minussi, na UFSM.

#### **2.4 Crescimento micelial de *Trichoderma* sp. e *S. sclerotiorum* em doses de NPK e quantificação de esporos de *Trichoderma* sp.**

Após os isolados fúngicos terem sido multiplicados em meio BDA, foram cortados discos com 10 mm de diâmetro contendo micélio de *Trichoderma* sp. e *S. sclerotiorum*. Esses discos foram repicados para placas de Petri contendo meio Elad (Anexo 2), acrescido de diferentes doses de NPK. O meio de cultura Elad (ELAD et al., 1981) foi utilizado por apresentar todos os reagentes com composição conhecida e, ainda, por possuir em sua formulação a presença de NPK, possibilitando a sua manipulação. As doses de NPK utilizadas foram 25, 50, 75, 100 e 125% da

quantidade estabelecida para o meio Elad. A manipulação dos elementos NPK sempre se deu de forma conjugada no meio de cultura. Os elementos minerais utilizados foram sais puros, conforme indicados para esse meio de cultura, sendo feito ajuste estequiométrico para as diferentes doses. Foram avaliados o crescimento micelial dos isolados e a esporulação de *Trichoderma* sp. cultivados em meio Elad sob diferentes doses de NPK.

As medições do crescimento micelial foram realizadas ao final do quinto dia de incubação em temperatura de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  com fotoperíodo de 12h. Foram tomadas medidas, com o auxílio de um paquímetro digital, em dois sentidos perpendiculares marcados no fundo de cada placa para a aferição ser sempre no mesmo sentido (Figura 1). Para determinar o crescimento micelial, foi calculada a média de duas medidas perpendicularmente opostas e esta diminuída de 10 mm, tamanho do disco inicial colocado no centro da placa de Petri.



**Figura 1 – A) Medição do crescimento de uma colônia utilizando paquímetro digital; B) detalhe dos dois sentidos perpendiculares. Santa Maria, RS, 2009.**

A quantificação da esporulação de *Trichoderma* sp. foi feita através da lavagem do meio de cultura contendo estruturas do fungo, nas placas de Petri, acrescentando-se 3 mL de água destilada e esterilizada, acrescidos de 2 gotas por 100 mL de água do emulsificante Tween 80<sup>®</sup>. As colônias tiveram, posteriormente, a superfície do meio levemente raspada com o auxílio de uma alça de Drigalski, para a liberação de micélio e conídios. A suspensão foi diluída e agitada por 3 min, em agitador do tipo Fisher – Flexa Mix<sup>™</sup> (USA). Em seguida, uma alíquota de suspensão

foi pipetada, com uma pipeta volumétrica, para um hemacitômetro ou câmara de Neubauer (Figura 2), que foi levada ao microscópio ótico e permitiu determinar, por contagem, o número de conídios por mL de suspensão.



**Figura 2 – Hemacitômetro (ou Câmara de Neubauer) em microscópio ótico para contagem de conídios. Santa Maria, RS, 2009.**

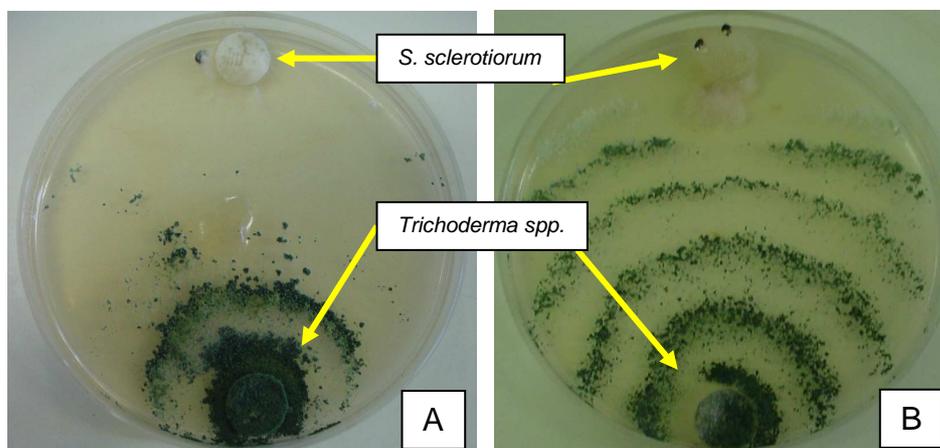
## 2.5 Teste de pareamento de culturas

Para o teste de pareamento de culturas, um disco de meio de cultura BDA (10 mm de diâmetro) contendo micélio do patógeno foi colocado a uma distância de 0,5 cm do bordo da placa de Petri, com diâmetro de 9,0 cm, contendo meio Elad acrescido de diferentes doses de NPK. As placas foram incubadas por 48 h a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , com fotoperíodo de 12h. Após esse período, foi colocado um disco de meio de cultura (10 mm de diâmetro) contendo micélio de *Trichoderma* sp. na outra extremidade da placa (ETHUR, 2006) (Figura 3). As placas foram incubadas em câmara de crescimento a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , com fotoperíodo de 12h, por sete dias.

Para avaliação dos testes de pareamento de culturas, o modelo de notas mais adotado é a escala de Bell et al. (1982), atribuindo notas que variam de 1 a 5, sendo:

1. Antagonista cresce e ocupa toda a placa.
2. Antagonista cresce e ocupa uma parte do patógeno (2/3 da placa).
3. Antagonista e patógeno crescem até a metade da placa (nenhum domina o outro).

4. Patógeno cresce e ocupa uma parte do antagonista (2/3 da placa).
5. Patógeno cresce e ocupa toda a placa.



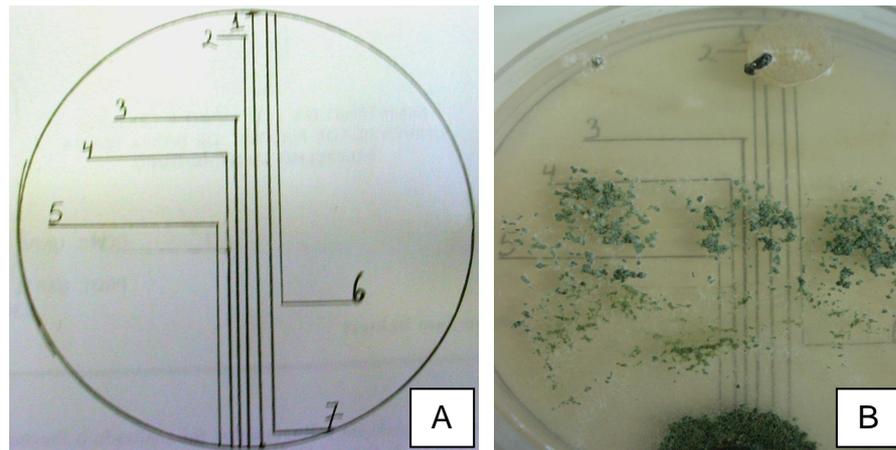
**Figura 3 – Pareamento de culturas; placas com discos contendo os isolados UFSMT17 (A) e UFSMT16 (B) de *Trichoderma* sp. e *S. sclerotiorum* em lados opostos, após sete dias de incubação. Santa Maria, RS, 2009.**

No entanto, como algumas notas nem sempre refletiam adequadamente o comportamento do fungo antagonista, foi criada uma escala buscando aproximar, ao máximo possível, o padrão de crescimento de *Trichoderma* sp. (Tabela 2). A proposição para aumentar a escala está em ampliar a diferenciação entre isolados de antagonistas *in vitro* para avaliações em testes de pareamento de culturas.

**Tabela 2 – Comparativo entre as notas atribuídas pela escala de Bell et al. (1982) e a escala proposta para teste de pareamento de culturas.**

Escala de Bell et al. (1982)	Escala proposta
1- Antagonista cresce e ocupa toda placa;	1- Antagonista cresce por toda a placa de Petri e sobre o disco do patógeno;
2- Antagonista cresce sobre 2/3 da placa;	2- Antagonista cresce por toda a placa de Petri, porém não sobrepõe-se sobre o disco do patógeno;
3- Antagonista e patógeno crescem até a metade da placa;	3- Antagonista cresce sobre 3/4 da placa;
4- Patógeno cresce sobre 2/3 da placa;	4- Antagonista cresce sobre 2/3 da placa;
5- Patógeno cresce por toda a placa de Petri.	5- Antagonista e patógeno crescem até a metade da placa;
	6- Patógeno cresce sobre 2/3 da placa;
	7- Patógeno cresce por toda a placa de Petri.

No momento da avaliação, quando as notas foram atribuídas, buscando uma melhor uniformidade nas avaliações, foi utilizado um gabarito sob o fundo das placas, em que era possível visualizar as notas conforme crescimento das colônias (Figura 4).



**Figura 4 – A) Gabarito com a escala de Bell modificada; B) escala sob a placa de Petri para atribuição da nota em teste de pareamento de culturas. Santa Maria, RS, 2009.**

## 2.6 Análise estatística

Os dados obtidos no experimento de crescimento de colônias em doses de NPK foram submetidos à análise da variância para verificação da significância e, em caso positivo, foi realizada análise de regressão ou comparação de médias utilizando-se o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. Para essas análises, foi utilizado o software estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000).

No teste de pareamento de culturas, como os dados não seguiram uma distribuição normal, foi aplicado o teste de Kruskal Wallis, que é um teste não paramétrico, para a comparação de médias. Para essa análise, foi utilizado o software estatístico ASSISTAT (SILVA, 1996).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Crescimento micelial de *Trichoderma* spp. e *S. sclerotiorum* e quantificação de esporos de *Trichoderma* spp. em meio de cultivo Elad acrescido com diferentes doses de NPK

A análise de variância (Apêndice A) dos resultados mostrou que houve interação significativa entre os isolados dos fungos e as doses de NPK em meio de cultura Elad modificado para o parâmetro crescimento micelial. Quando a interação foi desdobrada (Apêndice A), pode-se observar que as maiores médias de crescimento de micelial foram obtidas pelo isolado de *Trichoderma* sp. UFSMT16 para todas as doses de NPK em meio de cultura. Houve diferença estatística entre esse isolado e o UFSMT17 nas doses de 75 e 125%. Já o isolado de *S. sclerotiorum* SCL-AL apresentou as menores médias de crescimento de colônia em todas as doses de NPK, exceto nas doses de 100 e 125% de NPK que não diferiu estatisticamente do isolado SCL FE (Tabela 3).

Os isolados do antagonista tiveram maior crescimento de colônia *in vitro* do que os do fitopatógeno. Isso pode se refletir em uma vantagem, já que um dos mecanismos de controle biológico apresentados por *Trichoderma* sp. é a competição, podendo esta ser por espaço e/ou nutrientes. Ghisalberti e Sivasithamparam (1991) relataram que o potencial hiperparasítico de espécies de *Trichoderma* sp. está relacionado com a competição por espaço e atividades metabólicas, fatores que conferem eficiência a esse antagonista durante o hiperparasitismo de estruturas de fungos patogênicos.

Foi realizada análise de regressão para o fator doses de NPK no meio Elad para os isolados UFSMT15.1, UFSMT16 e UFSMT17 de *Trichoderma* spp. e SCL-AL e SCL-FE de *S. sclerotiorum*. Somente para o isolado SCL-FE de *S. sclerotiorum* houve interação significativa (Apêndice A). O comportamento do crescimento micelial foi representado por uma regressão cúbica (Figura 5). Maior crescimento micelial ocorreu nas doses de 50 e 75% e menor na dose de 100% de NPK, sugerindo a possibilidade de existirem limites de tolerância para o crescimento do

**Tabela 3 – Crescimento de micelial (cm) de *Trichoderma* spp. e *S. sclerotiorum* em meio Elad modificado com diferentes doses de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK). Santa Maria, RS, 2009.**

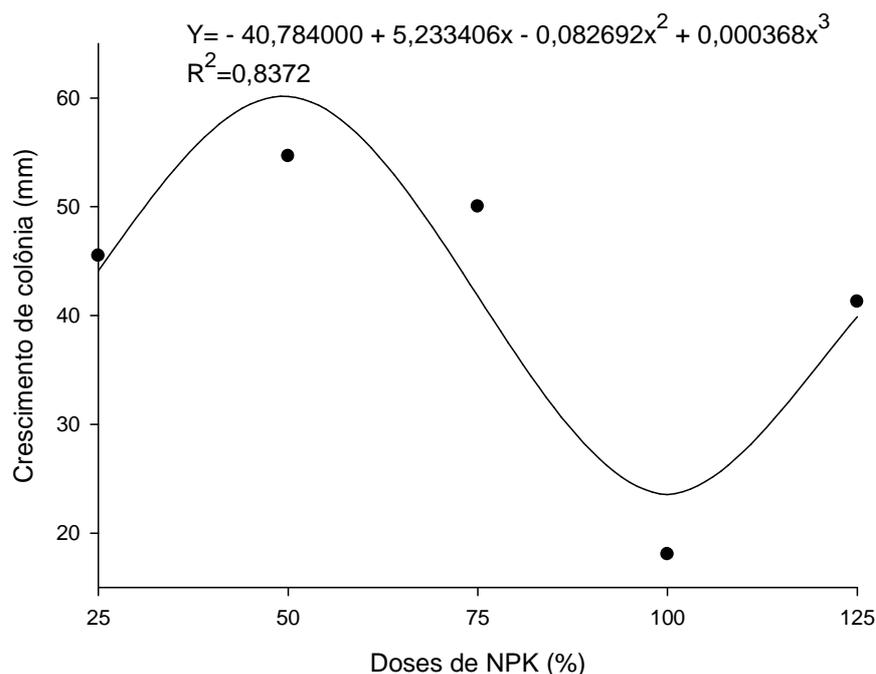
Fungos	Doses de NPK em meio de cultura (%)				
	25	50	75	100	125
UFSMT15.1**	68,08* b	64,53 b	72,80 b	73,13 a	72,03 b
UFSMT16	80,64 a	79,70 a	82,07 a	83,50 a	83,27 a
UFSMT17	78,36 a	76,16 a	71,63 b	76,56 a	69,32 b
SCL AL	25,39 d	19,06 d	18,06 d	18,45 b	18,32 c
SCL FE	45,49 c	54,65 c	50,02 c	18,05 b	41,26 c

\*Média de 5 placas. Médias seguidas com diferentes letras minúsculas na coluna diferem entre si com nível de significância de 5%, pelo teste Scott-Knott.

\*\*Isolados de *Trichoderma* sp. (UFSMT15.1, UFSMT16 e UFSMT17) e *S. sclerotiorum* de alface (SCL-AL) e feijoeiro (SCL-FE).

fitopatígeno. Na faixa de 25 a 50% de NPK, o fitopatígeno aumentou seu crescimento, havendo uma posterior redução até a dose de 100%. No entanto, da dose 100 a 125% de NPK o fungo readaptou-se à concentração maior e retomou o seu crescimento.

Já para os isolados do antagonista a variação da quantidade de nutrientes no meio de cultura não interferiu no crescimento micelial (Apêndice A). Tão importante quanto à capacidade de controle de fitopatógenos e o rápido crescimento do antagonista no ambiente, é a sua capacidade de multiplicação (reprodução). Na análise de variância para a variável número de esporos por mL, observou-se significância para a interação doses de NPK e isolados de *Trichoderma* spp. (Apêndice B). Na quantificação de esporos de *Trichoderma* sp., o isolado UFSMT17 apresentou a maior média de esporulação em todas as doses de NPK testadas, porém não diferiu estatisticamente do isolado UFSMT 15.1 nas doses de 50 e 125% de NPK e do isolado UFSMT16 na dose de 125% de NPK (Tabela 4). Apesar do isolado UFSMT17 ter sido classificado, segundo a classificação Bell et al. (1982) modificada, como antagonista de potencial intermediário, sua capacidade de aumentar rapidamente a quantidade de inóculo pode se refletir em um agente de biocontrole com maior eficiência no solo.



**Figura 5 – Crescimento micelial (mm) do isolado SCL-FE de *S. sclerotiorum* em diferentes doses de NPK em meio de cultura Elad modificado. Santa Maria, RS, 2009.**

Em ambiente natural, a proliferação de *Trichoderma* spp. pode ser influenciada pelo grau de decomposição de matéria orgânica, uma vez que populações do antagonista não se alteram em resposta a compostos verdes (NELSON et al., 1988).

**Tabela 4 – Esporulação (número de esporos/mL) de *Trichoderma* spp. cultivado em meio de cultura Elad acrescido de diferentes doses de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK). Santa Maria, RS, 2009.**

Antagonistas	Doses de NPK em meio de cultura (%)				
	25	50	75	100	125
UFSMT15.1	2,90E+07* b	1,19E+07 a	5,15E+06 b	4,06E+06 b	5,24E+06 a
UFSMT16	2,24E+06 c	2,39E+06 b	2,05E+06 b	5,25E+06 b	4,30E+06 a
UFSMT17	4,26E+07 a	1,60E+07 a	1,58E+07 a	2,22E+07 a	5,25E+06 a

\*Média de 5 placas. Médias seguidas com diferentes letras minúsculas na coluna diferem entre si com nível de significância de 5%, pelo teste Scott-Knott.

Os isolados de *Trichoderma* spp. UFSMT15.1 e UFSMT16 apresentaram desempenhos semelhantes, diferindo estatisticamente somente nas menores doses

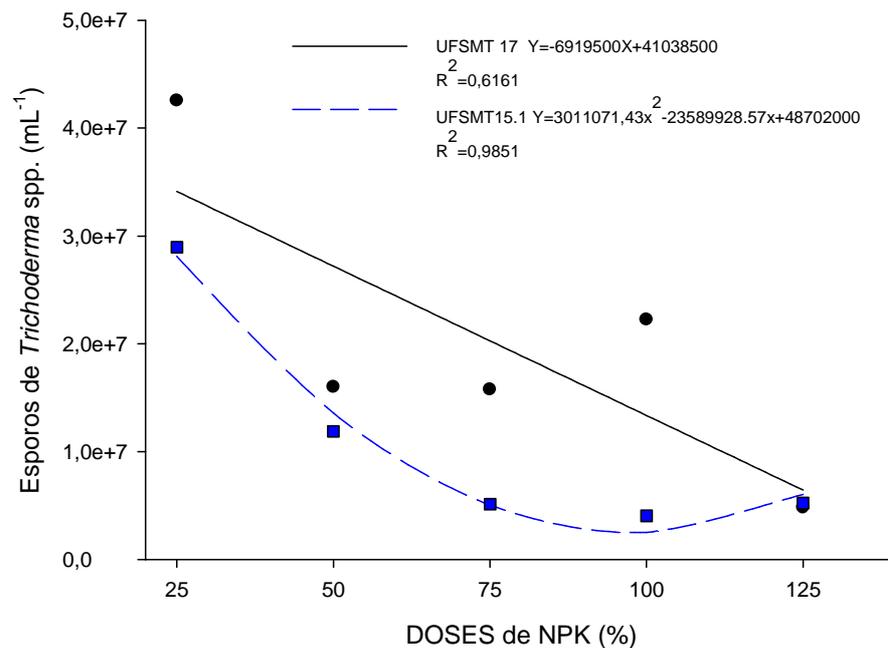
de NPK (25 e 50%), nas quais o UFSMT15.1 se sobressaiu. No entanto, a número de esporos por mL foi elevado para todos os isolados, ficando entre  $10^6$  e  $10^7$  esporos  $\text{mL}^{-1}$ . Selecionando isolados de *Trichoderma* spp. para o controle de *Sclerotium rolfsii* Sacc. em soja, Lohmann et al. (2007) observaram que os isolados do antagonista (I, II e III), oriundos de amostras de solo coletadas em diferentes áreas, apresentaram eficiência no controle do patógeno, provocando menor incidência de *damping off* em plântulas de soja. Além disso, a contagem do número de esporos dos isolados de *Trichoderma* spp. I e II foi maior quando comparada ao isolado III, o que segundo os autores estaria associado ao fato desses dois isolados terem sido mais agressivos e capazes de dominar o ambiente, controlando o fitopatógeno.

Na análise de regressão para a quantificação de esporos por mL das doses de NPK para os isolados de *Trichoderma* spp., somente o isolado UFSMT16 não apresentou diferença estatística (Apêndice B). Para o isolado UFSMT15.1, houve resposta quadrática da quantidade de esporos por mL em relação aos níveis de NPK, sendo a menor produção obtida entre as doses de 75 e 125% da dose padrão. Para o isolado UFSMT17, pode-se observar que o comportamento da esporulação de *Trichoderma* spp. respondeu negativamente ao aumento das doses de NPK no meio de cultura (Figura 6).

Os resultados obtidos na quantificação de esporos para os isolados UFSMT15.1, UFSMT16 e UFSMT17 demonstram a diversidade de respostas dos antagonistas a diferentes doses de NPK *in vitro*. Em experimento a campo, Kowalski et al. (1984) observaram que, em áreas onde houve aplicação de uréia e cloreto de potássio (KCl), houve um aumento nas populações de *Trichoderma* spp. Em contrapartida, Hubrard et al. (1983) verificaram que elevados teores de ferro (Fe) no solo prejudicam o estabelecimento e a eficiência do antagonismo desse fungo.

### 3.2 Teste de pareamento de culturas

Na avaliação da eficácia de isolados de *Trichoderma* sp. usualmente utiliza-se a escala de Bell et al. (1982). No entanto, a escala possui uma faixa muito ampla



**Figura 6 – Esporulação (número de esporos / mL) de *Trichoderma* spp. (UFSMT15.1 e UFSMT17) cultivado em meio de cultura Elad modificado na concentração de NPK. Santa Maria, RS, 2009.**

entre as notas o que pode não discriminar antagonistas de maior potencial dos de potencial intermediário (próximos a classe de antagonistas não eficientes). Isso pode ocorrer com mais frequência quando se aplica algum tratamento restritivo para selecionar antagonistas para determinada característica. Isso se comprovou neste trabalho, no qual a escala proposta propiciou uma diferenciação maior dos isolados testados (Apêndice C) e foi utilizada para mostrar os resultados do teste de pareamento de culturas.

Para a comparação das médias de notas do pareamento de culturas foi utilizado o teste Kruskal-Wallis, que compara a diferença entre duas médias quaisquer. Os testes não paramétricos são empregados sempre que os dados não apresentarem distribuição normal.

Os isolados de *Trichoderma* spp. UFSMT15.1, UFSMT16 e UFSMT17 sob diferentes concentrações de NPK, tiveram um desempenho *in vitro* satisfatório frente aos dois isolados de *S. sclerotiorum* (Tabelas 5 e 6). No teste de pareamento de culturas entre os isolados de *Trichoderma* spp. e o isolado de *S. sclerotiorum* obtido de alface, todos os antagonistas mostraram eficiência no controle do patógeno, ou seja, apresentaram nota igual ou inferior a 4.

O isolado UFSMT16 obteve melhor resultado de controle dentre os antagonistas em todas as doses de NPK, exceto na dose 25% de NPK, na qual não diferiu do isolado UFSMT15.1, o que pode ser explicado pela pouca variação na escala de notas em resposta as diferentes doses de NPK testadas no meio de cultura Elad modificado (Tabela 5). Isso sugere que o controle do patógeno pelo antagonista UFSMT16 ocorre por outros mecanismos, sendo pouca a contribuição por competição de nutrientes. O menor desempenho do isolado UFSMT16 foi a 25% de NPK (média de notas = 2,50) e o maior foi observado nas doses 50, 75 e 100% de NPK, com médias de notas de 1,00, 1,25 e 1,00, respectivamente.

**Tabela 5 – Notas do teste de pareamento de culturas obtidas por isolados de *Trichoderma* sp. em confronto com o isolado de *S. sclerotiorum* SCL-AL. Santa Maria, RS, 2009.**

Fungos	25%	50%	75%	100%	125%
UFSMT15.1	2,50* de	3,25 g	2,25 d	1,50 bc	3,00 fg
UFSMT16	2,50 de	1,00 a	1,25 ab	1,00 a	1,75 c
UFSMT17	2,75 ef	3,75 h	2,75 ef	3,25 g	4,00 h

\*Média da leitura de 4 placas. Médias seguidas com diferentes letras minúsculas na tabela diferem entre si com nível de significância de 5%, pelo teste Kruskal-Wallis.

Os isolados UFSMT15.1 e UFSMT17 tiveram um desempenho bastante similar entre as doses 25 e 75% de NPK. Observou-se perda de eficiência no controle de *S. sclerotiorum* nas doses de 25 e 50% e, em seguida, essa eficiência aumentou novamente nas doses de 50 e 75% de NPK para ambos, sendo que para o isolado UFSMT15.1 o ganho de eficiência persistiu até a dose de 100% de NPK, onde obteve sua melhor eficiência dentre as doses de NPK apresentando média de 1,5 de nota.

Em geral, nas concentrações de NPK de 50, 75 e 100% do padrão favoreceram o antagonista no controle *in vitro* de *S. sclerotiorum*, o que pode ser comprovado por apresentarem o melhor desempenho de notas destes isolados dentro dessa faixa. Em contrapartida, em elevada restrição (25%) e/ou alta disponibilidade de NPK (125%), o antagonista mostrou-se menos eficiente. Com isso, há indicação de que um dos mecanismos que pode estar envolvido no controle biológico de *S. sclerotiorum* é a competição por nutrientes, porém, não foi o principal.

A nutrição de *S. sclerotiorum*, em todos os estágios de desenvolvimento da doença causada por ela, provavelmente, é o principal fator que determina o sucesso ou falha do estabelecimento da doença no hospedeiro (LUMSDEN, 1979).

Para o pareamento de culturas dos isolados de *Trichoderma* sp. e o isolado de *S. sclerotiorum* obtido de feijoeiro (SCL FE), o isolado UFSMT16 obteve, novamente, melhor desempenho dentre os demais isolados do antagonista testados, nas doses de 50, 75, 100 e 125% de NPK, não diferindo somente na dose 25% NPK do isolado UFSMT 17 (Tabela 6). Esse isolado teve seu menor crescimento (2,50) na dose de 25% de NPK e o maior crescimento na dose 50% de NPK (1,25).

**Tabela 6 – Notas do teste de pareamento de culturas obtidas por isolados de *Trichoderma* sp. em confronto com o isolado de *S. sclerotiorum* SCL- FE. Santa Maria, RS, 2009.**

Fungos	25%	50%	75%	100%	125%
UFSMT15.1	3,25* gh	3,25 gh	3,00 efg	2,75 ef	2,00 bc
UFSMT16	2,50 de	1,25 a	2,00 bc	2,00 bc	1,75 b
UFSMT17	2,50 de	4,00 i	3,25 fg	2,25 cd	2,75 efg

\* Média da leitura de 4 placas. Médias seguidas com diferentes letras minúsculas na tabela diferem entre si com nível de significância de 5%, pelo teste Kruskal-Wallis.

O isolado UFSMT15.1 não apresentou diferença estatística no controle de *S. sclerotiorum* nas doses de 25, 50 e 75% de NPK. Na dose de 125% esse isolado obteve o melhor controle do fitopatógeno (nota 2,00), diferindo das demais doses de nutrientes.

Para o isolado de *Trichoderma* sp. UFSMT17 não houve diferença estatística entre as doses de 25, 100 e 125% de NPK em meio de cultura. Nessas dosagens, houve o melhor desempenho de controle de *S. sclerotiorum* (notas 2,50, 2,25 e 2,75, respectivamente). Em contrapartida, esse isolado teve a pior eficiência de controle dentre os isolados de *Trichoderma* sp. testados (nota 4,00), quando a dose testada foi de 50% de NPK no meio de cultura.

Apesar da ampla variação das notas nesse teste, a maior média de notas dentre todos os pareamentos foi 4,00 (isolado UFSMT17 nas doses de 50 e 125% de NPK) o que, segundo Bell et al. (1982), classifica os três isolados de *Trichoderma* sp. utilizados, como antagonistas eficientes. Ethur (2006), selecionando isolados de

*Trichoderma* spp. pelo teste de confrontação direta, classificou como “eficientes” aqueles que apresentaram notas de 2,0 a 2,5 e “muito eficientes” aqueles com notas de 1,0 a 1,5, sendo que dois isolados de *Trichoderma* spp. (HTSR5-1 e ETSR8-2) foram selecionados como muito eficientes no controle de *Fusarium solani*.

Além disso, Menezes (2007) testou 100 isolados de *Trichoderma* spp. e, dentre esses, os isolados que se destacaram no teste de confrontação direta foram UFSMT15.1, UFSMT16 e UFSMT17 com potencial antagônico a *Fusarium oxysporum f. sp. chrysanthemi*. Os isolados UFSMT15.1 e UFSMT16 destacaram-se, com média de notas igual a 1,25. Já o *T. aureoviride* isolado UFSMT17 apresentou média de notas igual a 2,5, o que o classificou como um dos piores isolados testados. O mesmo foi observado neste trabalho confrontando esses isolados de *Trichoderma* spp. com os isolados de *S. sclerotiorum* SCL AL (alface) e SCL FE (feijão). UFSMT16 e UFSMT15.1 obtiveram alto potencial antagonista (muito eficiente) e UFSMT17 obteve média geral de notas superior a 3,00, sendo classificado com potencial intermediário de antagonismo (eficiente).

## 4 CONCLUSÕES

1. As doses de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) no meio de cultura Elad interferem no crescimento e reprodução *in vitro* dos fungos do gênero *Trichoderma*.
2. Os isolados de *Trichoderma* sp. (UFSMT15.1, UFSMT16 e UFSMT17) têm maior crescimento de colônias *in vitro*, do que os isolados de *S. sclerotiorum*, independente da dose de NPK do meio.
3. As doses de 25, 50, 75, 100 e 125% de NPK da estabelecida para o meio de cultura Elad interferem na eficácia de controle de *S. sclerotiorum* pelos isolados UFSMT15.1, UFSMT16 e UFSMT17 de *Trichoderma* sp.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRASEM – Associação Brasileira de Sementes e Mudras. **Estatística**. Disponível em <[www.abrasem.com.br/estatisticas/index.asp](http://www.abrasem.com.br/estatisticas/index.asp)>. Acesso em: 22 jun. 2008.

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. 07, p. 2926–2933, 1999.

BARBOSA, C.C et al. Crescimento e esporulação de isolados de *Verticillium lecanii* sob diferentes condições nutricionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 6, p. 821-829, jun. 2002.

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

CLARKSON, J.P. et al. Effect of environmental factors and *Sclerotium cepivorum* isolate on sclerotial degradation and biological control of white rot by *Trichoderma*. **Plant Pathology**, v. 53, p. 353-362, 2004.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Indicadores Agropecuários**. Índices e insumos agrícolas. Relações de troca: fertilizantes X produtos. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/conabweb/download/precos\\_minimos/proposta\\_de\\_precos\\_minimos\\_safra\\_2006\\_07\\_feijao.pdf](http://www.conab.gov.br/conabweb/download/precos_minimos/proposta_de_precos_minimos_safra_2006_07_feijao.pdf)>. Acesso em: 27 mai. 2008.

ELAD, Y.; CHET, I.; HENIS, Y. A selective medium for improving quantitative isolation of *Trichoderma* spp. from soil. **Phytoparasitica**, v. 9, p. 59-67, 1981.

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

ETHUR, L.Z. et al. Sanidade de sementes e emergência de plântulas de nabo forrageiro, aveia preta e centeio submetidas a tratamentos com bioprotetor e fungicida. **Ciência e Natura**, UFSM, v. 28, p. 17-27, 2006.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. **Anais...** São Carlos, SP: UFSCar, 2000. p. 255-258.

GHISALBERTI, E.L.; SIVASITHAMPARAM, K. Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 23, n. 11, p. 1011-1020, 1991.

HARMAN, G.E. et al. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews – Microbiology**, v. 2, jan., p. 43-56, 2004.

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

HUBRARD, J.P.; HARMAN, G.E.; HADAR, Y. Effect of soilborne *Pseudomonas* spp. on the biological control agent, *Trichoderma hamatum*, on pea seeds. **Phytopathology**, v. 73, n. 5, p. 655-659, 1983.

KOWALSKI, S.; DAHM, H.; ROZYCKI, H. Effect of the mineral fertilizers on soil fungi and mycotrophism of Scots pine in Cladio-Pinetium Forest. **Acta Agricultural**, v. 23, n. 3, 1984.

LEE, C. **Sclerotinia blight most devastating**. Jul 1, 2004 12:00 PM, Texas A&M Extension Plant Pathologist. Disponível em: <[http://southwestfarmpress.com/mag/farming\\_sclerotinia\\_blight\\_devastating/](http://southwestfarmpress.com/mag/farming_sclerotinia_blight_devastating/)>. Acesso em: 16 jun. 2008.

LOHMANN, T.R. et al. Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. para controle de *Sclerotium rolfsii* em soja. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, p. 1665-1668, 2007.

LUMSDEN, R.D. Histology and physiology of pathogenesis in plant diseases caused by *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, St. Paul, v. 69, n. 8, p.890-896, 1979.

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

MENEZES, J.P. **Caracterização populacional e molecular, e seleção de *Trichoderma* spp. para biocontrole de *Fusarium* sp. em crisântemo.** 2007. 112f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

MENEZES, M.E.L. et al. **Crescimento de isolados de *Trichoderma* sp. em diferentes fontes e concentrações de nitrogênio.** Disponível em: <[http://www.cpatsa.embrapa.br/public\\_eletronica/downloads/OPB1567.pdf](http://www.cpatsa.embrapa.br/public_eletronica/downloads/OPB1567.pdf)>. Acesso em: 29 jan. 2009.

NELSON, E.B.; HARMAN, G.E.; NASH, G.T. Enhancement of *Trichoderma* induced biological control of *Pythium* seed rot pre-emergence damping-off of peas. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 20, p. 145-150, 1988.

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

POMELLA, A.W.V; RIBEIRO, R.T.S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas – uma visão empresarial. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. (Eds.). **Biocontrole de doenças de plantas: usos e perspectivas.** 1 ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. cap. 15, p. 239-244.

RIDOUT, C.J.; COLEY-SMITH, J.R.; LYNCH, J.M. Fractionation of extracellular enzymes from mycoparasitic strain of *Trichoderma harzianum*. **Enzyme and Microbial Technology**, v.10, p. 180-187, 1988.

ROLAS - Recomendações de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **Comissão de Fertilidade do Solo - RS/SC.** 10ª ed. Porto Alegre: Núcleo Regional Sul, 2004. 400 p.

SAA – SECRETARIA DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO – PROGRAMA RS RURAL. **Manual operativo: estrutura e gerenciamento.** Programa de Manejo dos Recursos Naturais e de Combate à Pobreza Rural. Volume I. Porto Alegre, 1999. 45p.

SILVA, F. de A.S. e. The ASSISTAT Software: statistical assistance. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 6, Cancun, 1996. **Anais...** Cancun: American Society of Agricultural Engineers, 1996. 294-298 p.

# DOSES DE NITROGÊNIO, FÓSFORO E POTÁSSIO ASSOCIADAS A *S. sclerotiorum* E *Trichoderma* spp. EM SOLO CULTIVADO COM FEIJOEIRO, EM AMBIENTE CONTROLADO

## 5 INTRODUÇÃO

A utilização de *Trichoderma* sp. (Persoon) Gray no controle biológico de doenças de solos em plantas data de 1930 (HOWELL, 2003) e esses estudos prosseguem até os dias atuais. O uso de *Trichoderma* como agente de controle biológico tem apresentado bastante sucesso com fitopatógenos de solo como *Sclerotium rolfsii* Sacc, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary, *Fusarium* spp. (Link) Gray, *Rhizoctonia solani* Kuhn e *Pythium* sp. Pringsh (CORABI-ADELL, 2004).

O gênero *Trichoderma* pertence a sub-divisão Ascomycotina e família Moniliaceae (AGRIOS, 1995), sendo composto por fungos necrotróficos e não fitopatogênicos (exceto para a planta do gênero *Tulipa*), que habitam naturalmente os diversos tipos de solos, sendo antagonista a vários fitopatógenos.

O sucesso no uso de *Trichoderma* sp. como antagonista de fitopatógenos ocorre devido as complexas substâncias que agem no controle biocontrole, sendo que muitas dessas ainda estão em fase de descoberta. Alguns mecanismos de ação em que o *Trichoderma* atua são antibiose, hiperparasitismo e competição (MELO, 1998; MENEZES, 2003; HARMAN, 2004; DJONOVIC, 2006).

*S. sclerotiorum* constitui um dos principais fungos de ocorrência em feijoeiro, causando a doença mofo-branco. O gênero *Sclerotinia* é um fungo pertence à subdivisão Ascomycotina e família Sclerotinaceae, apresentando micélio septado de coloração branca e formando escleródios e apotécios (AGRIOS, 1995). O escleródio é uma estrutura de enovelamento de micélio adensado capaz de resistir a intempéries por longos períodos de tempo, sendo um grande problema em lavouras. A formação de apotécios, resultante da germinação carpogênica de escleródios, é principal fonte de disseminação do inóculo a curtas distâncias. O fungo tem seu melhor desenvolvimento em temperaturas que variam entre 18 a 25°C e umidade relativa do ar acima de 70%. As perdas no rendimento de feijoeiro atingem em média

50% podendo, entretanto, ser mais elevadas sob condições favoráveis (EMBRAPA, 2008). Napoleão et al. (2005), para observar o comportamento de *S. sclerotiorum* em cultivo sob irrigação, testaram gradientes de lâminas de água em dois sistemas de cultivo e observaram que ocorreu aumento da produção de escleródios com o incremento da lâmina de água.

O mofo-branco é disseminado, principalmente, pelo uso de sementes infectadas com micélio, proveniente da infecção de ascósporos nas flores, e/ou infestação com escleródios, que são coletados na colheita. Os sintomas da doença são caracterizados por lesões úmidas cobertas por micélio cotonoso que pode recobrir caules e folhas até o ápice da planta, podendo estas apresentar escleródios (AGRIOS, 1995).

Os tratamentos químicos existentes para o controle de mofo branco, não controlam adequadamente esse patógeno no solo e/ou são muitos dispendiosos. Vieira et al. (2001) testaram os fungicidas benomyl (1 kg/ha), iprodione (0,75 kg/ha), procimidone (0,5 kg/ha) e fluazinam (0,5 l/ha) em aplicações com água de irrigação, sendo que não houve diferença significativa para a incidência do fungo nas sementes. A resistência genética do hospedeiro está restrita a algumas cultivares de feijão branco obtidas no Canadá, as quais, embora com potencial de uso nos programas de melhoramento, não apresentam possibilidades de utilização direta pelos produtores.

Estratégias como espaçamentos maiores entre fileiras e/ou entre plantas podem contribuir para que haja condições menos favoráveis à ocorrência da doença, por propiciarem maior penetração de luz no dossel e no solo e maior ventilação (VIEIRA et al., 2005).

*Trichoderma* spp. por atuar sobre o micélio e escleródios, torna-se uma alternativa aos demais métodos de controle potencialmente eficaz. Além disso, é atribuído aos fungos do gênero *Trichoderma* a habilidade de promover o crescimento de algumas espécies de plantas através da solubilização de nutrientes na rizosfera da planta (WINDHAM et al., 1986 apud PERES; MELO, 1995). Harman (2000) avaliando o efeito interativo entre o isolado de *Trichoderma* spp. T-22 inoculado junto às sementes e diferentes doses de nitrogênio aplicadas à cultura do milho constatou que as plantas inoculadas foram mais eficientes no aproveitamento do N.

Segundo Chang et al. (1986), o potencial de *Trichoderma* sp. para incrementar o crescimento de plantas ornamentais e hortaliças já é comprovado.

Harman (2000) demonstrou em raízes de milho inoculadas com esporos de *Trichoderma* sp., a associação dos esporos que germinam e crescem em contato com raízes em toda a sua extensão. Lo (1996) afirma que o isolado de *Trichoderma harzianum* isolado T-22 tem a mesma capacidade em colonizar raízes tanto em solos alcalinos quanto ácidos.

É possível que enzimas que atuam no controle de patógenos e metabólicos secundários, como celulasas, também possam solubilizar minerais do solo, especialmente naqueles de menor fertilidade (HARMAN, 2004). Uma hipótese que tem sido estudada é que enzimas como quitinases e/ou glucanases, produzidas pelo agente de controle biológico, são responsáveis pela supressão do patógeno na planta. Essas enzimas têm a função de quebrar os polissacarídeos, quitina  $\beta$ -glucanas, que são responsáveis pela rigidez da parede celular fúngica, destruindo assim a integridade da parede celular (HOWELL, 2003).

Além disso, em estudos *in vitro*, Altomare (1999) mostrou a capacidade que T-22 possui em solubilizar fosfato de rocha e metais  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{4+}$ ,  $Fe^{3+}$  e  $Cu^{2+}$ , porém, essas atividades não são devido à acidificação do meio ou a produção de ácidos orgânicos. A disponibilidade de nutrientes, como o manganês, é essencial para diversas funções fisiológicas nas plantas, incluindo o crescimento das plantas e resistência a doenças (GRAHAM, 1991). Um mecanismo que se acredita estar diretamente envolvido na solubilização de nutrientes é a capacidade quelante de metabólitos produzidos por *Trichoderma* sp. Embora ainda não tenha sido demonstrada, existem fortes evidências da atuação dela (HARMAN, 2000).

Dessa forma, os objetivos deste trabalho foram verificar o efeito de doses de NPK na população de *Trichoderma* sp. no rizoplano de feijoeiro; avaliar o efeito de doses de NPK no biocontrole de *S. sclerotiorum* por *Trichoderma* sp. no feijoeiro e avaliar a interferência de *Trichoderma* sp. na absorção de NPK pelo feijoeiro.

## 6 MATERIAL E MÉTODOS

### 6.1 Local

O experimento com feijoeiro foi conduzido em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) – RS, no período de setembro de 2009 a janeiro de 2010.

## 6.2 Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com três fatores (*Trichoderma* sp. x *Sclerotinia* sp. x NPK), com os níveis dos fatores demonstrados na tabela 7. Foram utilizados 30 tratamentos com três repetições cada e duas plantas por vaso (foram semeadas seis sementes por vaso e após a emergência foi feito o desbaste das plântulas), totalizando 90 unidades experimentais.

**Tabela 7 – Fatores testados no experimento conduzido em casa de vegetação na cultura do feijoeiro. Santa Maria, RS, 2009.**

<b>Sigla</b>	<b>Significado da sigla</b>
25	25% da dose de NPK*
50	50% da dose de NPK
75	75% da dose de NPK
100	100% da dose de NPK
125	125% da dose de NPK
Com	Com <i>S. sclerotiorum</i>
Sem	Sem <i>S. sclerotiorum</i>
UFSMT15.1	Isolado UFSMT15.1 de <i>T.koningiopsis</i>
UFSMT16	Isolado UFSMT16 de <i>Trichoderma</i> sp.
Testemunha	Sem <i>Trichoderma</i> spp.

\*Dose de NPK recomendada pela ROLAS (2004) para a cultura do feijoeiro.

Os dois isolados de *Trichoderma* spp. foram selecionados para o experimento em casa de vegetação, para inoculação em solo, com base no experimento *in vitro*, levando-se em consideração o melhor controle no teste de pareamento de culturas e menor crescimento micelial em meio de cultura, sendo selecionados, respectivamente, os isolados UFSMT16 e UFSMT15.

Já para a seleção do isolado de *S. sclerotiorum* levou-se em consideração o maior crescimento micelial em meio de cultura, sendo apresentado por SCL-FE.

### 6.3 Coleta e preparo do solo

O substrato dos vasos foi solo proveniente de um horizonte A (unidade de mapeamento São Pedro – Argissolo Vermelho distrófico arênico), por ter baixa fertilidade natural, possibilitando corrigir o pH e o teor de nutrientes a valores desejados. O solo foi peneirado em peneiras com malha de 8 mm para a retirada de raízes e uniformização, sendo após seco ao ar para determinação da umidade do solo. Previamente à sua utilização, foi determinada a população de *Trichoderma* spp. existente no solo.

Uma amostra de solo foi coletada e enviada ao Laboratório de Análise de Solos da UFSM, para análise química. Também foi determinada a capacidade de campo do solo em vaso (CCSV), uma vez que a amostra de solo foi deformada pela tamisação, para a correção da umidade durante o experimento. O solo nos vasos foi mantido a 80% da capacidade de campo e, para isso, os vasos foram pesados diariamente para reposição da água evapotranspirada (Figura 7).

A CCSV foi determinada no Laboratório de Física dos Solos – UFSM pelo método gravimétrico. O solo apresentou 16% de CCSV, ou seja, em 100g de solo seco havia 16g de água (total 116g de água+solo). A umidade do solo em vasos foi mantida a 80% da CCSV (12,8% de água), para que o solo não permanecesse saturado.

A umidade do solo foi determinada coletando 20 amostras de solo armazenado sobre lona plástica, sendo que 10 amostras foram utilizadas para determinar a umidade pelo método de Terra Fresca Seca ao Ar (TFSA) e as outras 10 amostras foram colocadas em latas de alumínio, contendo aproximadamente  $20 \pm 3$  g de solo, e então levadas ao forno a 30 °C por 72 horas, obtendo a Umidade Total (UT).



**Figura 7 – Pesagem dos vasos para aferição da capacidade de campo do solo. Santa Maria, RS, 2009.**

Chegou-se a umidade em porcentagem com o seguinte cálculo:  $((TFSA - \text{Solo Seco}) \div (\text{Solo Seco} - \text{Peso lata})) \times 100$ . A TFSA e a UT apresentaram médias de umidade de 6,9 e 8,44%, respectivamente. Cada vaso recebeu 1,8 kg de TFSA e, após, teve a umidade corrigida para 12,8%. Ao final, cada vaso apresentou peso total de 1940 g (solo+água+vaso).

#### **6.4 Adubação**

Os dados da análise de solo apresentaram pH em água de 4,4, índice SMP de 5,7, saturação de base de 29%, matéria orgânica 1,9%, potássio  $120 \text{ mg/dm}^3$  e fósforo  $5,3 \text{ mg/dm}^3$  (Anexo 3). Com base nos resultados da análise de solo foram feitas a correção do pH e adubação de acordo com a recomendação para a cultura do feijoeiro (ROLAS, 2004).

Para a elevação do pH a 5,5 foi utilizado calcário calcítico ( $\text{CaCO}_3$ ) com PRNT de 75%. Assim, foi necessário adequar a quantidade de calcário a ser aplicada, devido à recomendação ser para calcário com PRNT de 100%. Para a aplicação de calcário sobre o solo foi quantificado o volume de um recipiente (balde) e calculada a quantidade de calcário a ser aplicada para esse dado volume, sendo ambos misturados em misturador manual tipo tonel por 10 min, 30 dias antes da semeadura.

As doses de NPK nos diferentes tratamentos foram 25, 50, 75, 100 e 125% da dose recomendada, sendo que a dose 100%, segundo ROLAS (2004), é de 50 kg/ha de nitrogênio, 170 kg/ha de fósforo e 60 kg/ha de potássio.

Foram utilizados na adubação, os elementos na forma de: nitrato de amônia ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ), pentóxido de difosfóro ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) e cloreto de potássio (KCl). Para ajustar a quantidade de cada elemento mineral (NPK) na adubação foram realizados cálculos estequiométricos, levando-se em consideração a fórmula química utilizado para adubação e a quantidade de cada elemento mineral recomendado pela ROLAS e, também, o volume dos vasos, os quais possuíam 1,9 L. Após a determinação da quantidade de NPK a ser aplicada em cada vaso, para aumentar a homogeneidade entre as repetições, foi feita uma solução em água destilada de 200 mL com todos os elementos para cada dose e desta retirou-se uma alíquota de 10 mL para cada vaso correspondente ao tratamento (Tabela 8).

**Tabela 8 – Quantidade (g) de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) aplicados em cada dose por repetição. Santa Maria, RS, 2009.**

Doses de NPK --(%)--	Quantidade de N, P e K -- g --		
	N	P	K
<b>25</b>	0,012	0,040	0,012
<b>50</b>	0,024	0,081	0,024
<b>75</b>	0,036	0,121	0,035
<b>100</b>	0,048	0,162	0,047
<b>125</b>	0,059	0,202	0,059

### 6.5 Teste de germinação de sementes de feijão

O teste de germinação de sementes foi realizado pelo teste do papel filtro (Blotter test), de acordo com as Regras de Análise de Sementes – RAS (BRASIL, 1992), para determinar sua condição fisiológica. Foram utilizadas 200 sementes de feijão, cultivar Fepagro 26, divididas em duas amostras de 100 sementes cada, sobre três folhas de papel filtro umedecido 2,5 vezes o seu peso em água.

O teste de germinação no lote de sementes utilizado no experimento conduzido em casa de vegetação apresentou 87% de germinação, sendo o lote considerado em boas condições fisiológicas para uso.

## 6.6 Preparo dos inóculos e inoculação de *Trichoderma* sp. e *S. sclerotiorum*

Os fungos *Trichoderma* sp. e *S. sclerotiorum* foram adicionados ao solo 30 dias antes da semeadura do feijoeiro, sendo que os dois isolados de *Trichoderma* spp. foram inoculados por meio de suspensão de esporos em meio líquido e *S. sclerotiorum* por segmentos de micélio crescidos sobre arroz. As suspensões de esporos de *Trichoderma* sp. foram produzidas a partir de colônias do fungo em meio de cultura BDA. Foram retirados discos de meio de cultura contendo micélio e esporos do antagonista que, em seguida, foram colocados em Erlenmeyers contendo arroz (sem casca, tipo parboilizado) previamente umedecido e autoclavado (30 min a 121°C e 1 atm). Os frascos permaneceram em câmara de incubação a 24°C com fotoperíodo de 12 h por 20 dias. Após esse período, água esterilizada foi acrescentada ao recipiente contendo arroz colonizado por *Trichoderma* sp. (1000 mL de água para cada 200 g de arroz). Nessa suspensão, foi acrescentado o dispersante de partículas Tween<sup>®</sup> 80 (duas gotas para cada 100 mL de água) e os frascos foram agitados por 10 min. A suspensão resultante foi coada, para a separação dos esporos das partículas de arroz. Foi quantificado o número de esporos por mL, com auxílio de um hemacitômetro, até a concentração desejada de 10<sup>6</sup> esporos por mL. Após o ajuste da suspensão, aplicou-se uma alíquota de 10 mL da suspensão na superfície do solo de cada vaso, correspondente ao tratamento desejado.

Para a produção de inóculo de *S. sclerotiorum* foram utilizadas placas de Petri, com meio BDA como base para a multiplicação do fungo. Após cinco dias de incubação, a 20°C e fotoperíodo de 12h, retiraram-se discos de meio de cultura com micélio do fungo, sendo colocados em Erlenmeyers contendo arroz (sem casca, tipo parboilizado) previamente umedecido e autoclavado (30 min a 121°C e 1 atm). Após dez dias de incubação a 20 °C e fotoperíodo de 12h, o arroz colonizado com *S. sclerotiorum* foi colocado sobre uma bandeja, sendo feita a retirada dos escleródios

presentes. Foram pesados cinco gramas de arroz com micélio, sendo essa a quantidade aplicada por vaso para os tratamentos com inoculação de *S. sclerotiorum* (FALCÃO et al., 2005). O arroz foi inoculado no solo dos vasos a uma profundidade de dois a três cm da superfície.

### **6.7 Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) *Trichoderma* spp.**

A população de *Trichoderma* spp. foi determinada antes da instalação do experimento e ao final do experimento. Foram feitas suspensões de solo constituídas por 10 g de solo para 90 mL de água destilada esterilizada. Os frascos foram colocados em agitador mecânico tipo Fisher – Flexa Mix™ (USA) durante 5 min. A partir dessa suspensão original foi realizada uma diluição de 10 vezes, ou seja, 1 mL da solução foi acrescentado em um tubo de ensaio contendo 9 mL de água destilada e esterilizada. Dessa diluição, uma alíquota de 0,5 mL foi transferida para quatro placas de Petri contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA) acrescido de sulfato de estreptomicina (1 mL/100 mL de meio). A suspensão foi espalhada nas placas com o auxílio de uma alça de Drigalski. Posteriormente, as placas foram incubadas em incubadora tipo BOD a 24 °C e fotoperíodo de 12 h, por cinco dias. Após o período de incubação foi realizada a contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) por grama de solo.

### **6.8 Avaliação de mofo branco na planta**

Os vasos foram avaliados diariamente quanto à emergência de plântulas e, semanalmente quanto à incidência e severidade de mofo branco, em percentagem. A incidência é determinada pelo número de indivíduos da população no qual é diagnosticada a presença de *S. sclerotiorum*, em percentagem. Já a severidade é determinada pela área de parte aérea atacada com sintomas da doença, sendo representada em percentagem.

## 6.9 Parâmetros avaliados no crescimento de planta

Trinta e cinco dias após semeadura – DAS (estádio R6) as plantas foram retiradas da casa de vegetação e determinaram-se o número de folhas, altura da parte aérea, comprimento de raízes, massa fresca e seca de raiz e da parte aérea, diâmetro de colo, população de *Trichoderma* sp. do solo e teor de NPK em tecido da parte aérea.

A altura da parte aérea e o comprimento de raízes foram determinados com uma régua milimetrada, sendo a parte aérea medida do colo da planta até a última folha do ápice (Figura 8A) e as raízes do colo até a ponta da raiz mais desenvolvida (Figura 8B). As raízes e parte aérea do feijoeiro foram acondicionadas em sacos de papel, separadamente, e, em seguida, pesadas e secas em estufa com circulação de ar forçado com temperatura entre 45-50<sup>0</sup>C até peso constante. Para a medição do diâmetro de colo foi usado um paquímetro digital (Figura 11). Para a análise de tecido vegetal de parte aérea, após determinação da massa seca, as amostras foram moídas (em moinho com peneira malha 1 mm) e encaminhadas para determinação dos teores de nitrogênio, fósforo e potássio (TEDESCO, 1995).



**Figura 8 – Procedimento para medir a altura da parte aérea (A) e de raiz (B) de plantas de feijoeiro. Santa Maria, RS, 2009.**



**Figura 9 – Mensuração do diâmetro do caule de plantas de feijoeiro na altura do colo com paquímetro digital. Santa Maria, RS, 2009.**

### **6.10 Análise de tecido vegetal**

O tecido vegetal de parte aérea de feijoeiro foi analisado quanto aos teores de N, P e K. Das amostras previamente moídas foram pesados dois gramas de material vegetal que, em seguida, foram colocados em tubos de ensaio com marcações para 20 e 50 mL. Após, em capela de exaustão de gases, foi realizada a digestão de tecidos, acrescentando-se dois mL de ácido sulfúrico concentrado, um mL de água oxigenada (30 vol.) e 0,7g de mistura de digestão. Os tubos foram cobertos com funis de vidro e levados ao bloco digestor por 100 °C/30 min., 150 °C/30 min., 200 °C/30 min., 250 °C/30 min., 300 °C/30 min. e 360 °C/1h30 min. Em seguida, as amostras foram retiradas do bloco digestor e deixadas na capela para resfriamento natural. Quando as amostras encontravam-se completamente resfriadas, completou-se o volume dos tubos com água destilada até a marca de 50 mL (TEDESCO, 1995). A partir dessa solução base, retirou-se uma alíquota de 10 mL para determinação de nitrogênio, três mL para fósforo e um mL para potássio.

O nitrogênio foi determinado pelo método de Kjeldahl. Acrescentou-se à alíquota de 10 mL, três mL de hidróxido de sódio (10M). As amostras foram colocadas em destilador de Kjeldahl. Em copos descartáveis, acrescentaram-se cinco mL de indicador ácido bórico e foram coletados 40 mL de destilado da amostra. Essas amostras foram então tituladas com ácido sulfúrico 0,0025M.

Para a determinação de fósforo acrescentaram-se, na alíquota de três mL, três mL de água destilada, uma gota de paranitrofenol (0,025%), uma gota de NaOH (10M) e 0,5 mL de solução B. Após 30 minutos foram feitas leituras em aparelho fotocolorímetro com 882 nm de absorvância (MURPHY; RILEY, 1962). Para o ajuste da curva, utilizaram-se 5 mL das soluções padrão (0,0; 0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 2,0; 2,5 e 4,5) com cinco mL de água destilada. Acrescentaram-se os demais reagentes, anteriormente citados, para a determinação das amostras, sendo que, na primeira leitura, o aparelho foi zerado.

A determinação de potássio foi realizada acrescentando-se uma alíquota de um mL da solução em dez mL de água destilada e, em seguida, foi feita a leitura. A leitura dos teores de potássio foi realizado em fotômetro de chama, calibrado em zero e 20 ppm.

### **6.11 Instalação e condução do experimento**

O experimento foi instalado, inicialmente, sobre duas bancadas em casa de vegetação, sendo distribuídos 45 vasos por bancada. A semeadura foi realizada utilizando-se seis sementes por vaso dispostas eqüidistantes e a 2 cm de distância do bordo do vaso. Após a emergência fez-se raleio das mudas, permanecendo somente 2 plântulas por vaso. A inoculação dos antagonistas e do fitopatógeno (item 6.6) e a adubação (item 6.4) foram feitas 30 dias antes da semeadura, possibilitando o estabelecimento de ambos os fungos no solo com os devidos tratamentos com adubação de NPK.

O controle de umidade do solo nas duas primeiras semanas foi diário, pesando-se individualmente todos os vasos e repondo a quantidade de água evapotranspirada. Após a segunda semana, foram feitas duas pesagens por semana, porque o volume de água a ser acrescentado variou muito pouco entre os dias, embora a irrigação permanecesse diária.

A partir da segunda semana de emergência das plântulas, os vasos foram redistribuídos igualmente sobre três bancas (30 vasos/bancada), os quais eram mudados de bancada uma vez a cada sete dias. As disposições dos vasos sobre as bancadas equivaleram a uma população de 350 mil plantas por hectare com

espaçamento de 12 cm entre fileiras e plantas. O experimento foi conduzido até os 35 dias após a semeadura, período no qual as plantas de feijoeiro atingiram estágio de desenvolvimento R6 (Anexo 4).

## 6.12 Análise estatística

Os dados obtidos nos diferentes parâmetros avaliados foram submetidos à análise da variância para verificação da significância e, em caso positivo, foi realizada análise de regressão ou comparação de médias utilizando-se o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. Valores das variáveis Unidades Formadoras de Colônias, massa fresca de parte aérea, teores de fósforo e potássio foram transformados para raiz quadrada de  $(x + k)$  com  $k = 0,5$  para aproximação da curva normal. As demais variáveis não necessitaram e/ou não foi eficiente a transformação dos dados. Para essas análises, foi utilizado o software estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000).

## 7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 7.1. População de *Trichoderma* spp. em solo cultivado com feijoeiro sob diferentes doses de NPK e inoculado com *Trichoderma* spp.

A população inicial (ocorrência natural) de *Trichoderma* sp. no solo utilizado nos vasos antes da inoculação foi de  $2,97 \times 10^3$  Unidades Formadoras de Colônias (UFCs)  $g^{-1}$  de solo. A população final de *Trichoderma* spp. foi estatisticamente diferente ( $\alpha=0,05$ ) somente para o fator *Trichoderma* spp., não sendo significativa para os fatores doses de NPK e *S. sclerotiorum* (Apêndice D).

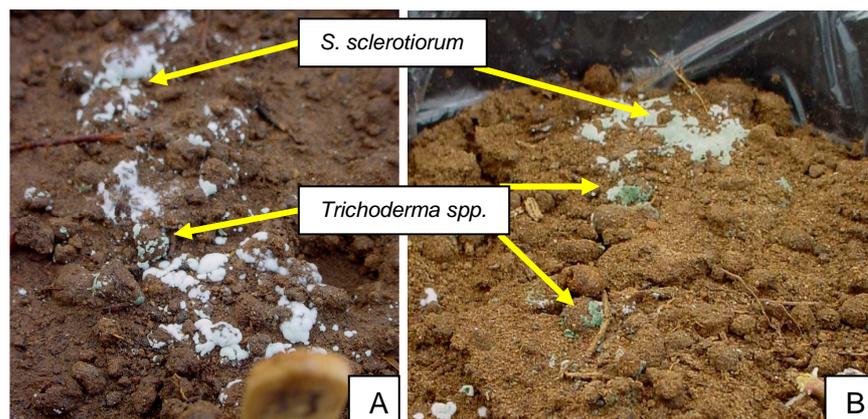
O isolado de *Trichoderma* spp. UFSMT15.1 obteve maior densidade de UFCs  $\text{g}^{-1}$  de solo ( $1,3 \times 10^4$ ), do que os isolados UFSMT16 ( $7,3 \times 10^3$  UFCs  $\text{g}^{-1}$  de solo) e do tratamento testemunha ( $5,9 \times 10^3$  UFCs  $\text{g}^{-1}$  de solo (Tabela 9).

**Tabela 9 – Unidades formadoras de colônias (UFC  $\text{g}^{-1}$  de solo) na presença e ausência de isolados de *Trichoderma* spp. em solo cultivado com feijoeiro até estágio R6. Santa Maria, RS, 2009.**

Tratamento	UFCs $\text{g}^{-1}$ de solo
UFSMT15.1	$1,32 \times 10^4$ * a
UFSMT16	$7,31 \times 10^3$ b
Testemunha	$5,93 \times 10^3$ b

\* Média de 120 placas. Médias seguidas com diferentes letras minúsculas na coluna, diferem entre si com nível de significância de 5%, pelo teste Scott-Knott.

A maior capacidade do isolado UFSMT15.1 de se estabelecer no solo, sugere uma grande vantagem competitiva contra os demais microrganismos de solo, aumentando as chances do antagonista entrar em contato com fungos fitopatogênicos, obtendo sucesso no controle biológico (Figura 10).



**Figura 10 – Antagonismo de *Trichoderma* spp. (isolado UFSMT15.1) a *S. sclerotiorum* (SCL-FE) em solo cultivado com feijoeiro. Santa Maria, RS, 2009.** A) coloração verde clara em concentrado em um único ponto indicando processo inicial de antagonismo; B) coloração verde oliva presente em todo o micélio de *S. sclerotiorum* indicando processo avançado de antagonismo.

Possivelmente, a presença de exudatos radiculares de feijoeiro no solo tiveram um efeito favorável no ambiente de desenvolvimento de *Trichoderma* sp., visto que, a população inicial em solo naturalmente infestado passou de  $2,9 \times 10^3$  UFCs  $g^{-1}$  de solo para  $5,9 \times 10^3$  UFCs  $g^{-1}$  de solo, ou seja, dobrou em 35 dias. Yedidia (2000) e Metcalf e Wilson (2001) relataram que é possível ocorrer interferência dos exudatos radiculares da planta no desenvolvimento do fungo.

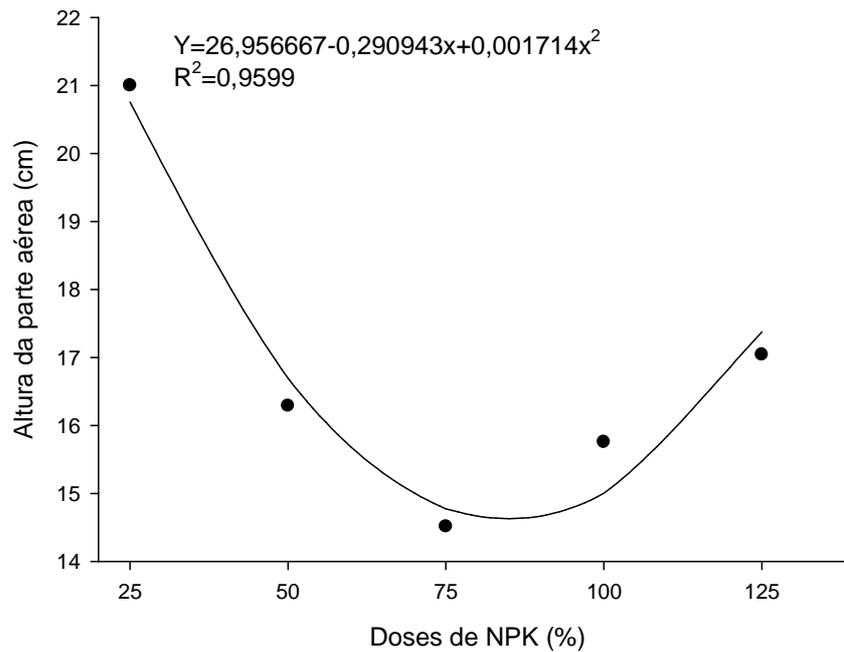
## 7.2 – Parâmetros de crescimento do feijoeiro

### 7.2.1 – Altura de parte aérea e comprimento total de raiz de feijoeiro

A altura de parte aérea respondeu à interação entre doses de NPK e *Trichoderma* spp. e para o fator *S. sclerotiorum* (Apêndice E). Na análise de regressão das diferentes doses de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) com *Trichoderma* spp. para a variável a altura da parte aérea de feijoeiro, somente o isolado UFSMT15.1 diferiu estatisticamente (Apêndice E) e seu comportamento foi descrito por uma função quadrática (Figura 11).

A média de altura de plantas na dose de 25% de NPK foi maior do que nas demais doses de NPK, corroborando com a hipótese de que o antagonista tem maior efeito no crescimento de plantas em locais com maiores restrições nutricionais. Harman (2000) demonstrou que o tratamento de sementes de milho com *T. harzianum* (T-22), cultivadas em solo com baixa quantidade de nitrogênio, resultou em plantas mais vigorosas nos primeiros estádios fenológicos da cultura. Chang et al (1986) também observaram incremento no tamanho das plantas de crisântemo, quando *T. harzianum* foi inoculado no solo, porém, quando foram encontradas populações de *T. harzianum* maiores que  $10^5$  UFCs por grama de solo.

Quando analisado a altura de parte aérea com e sem a inoculação de *S. sclerotiorum* (SCL-FE) no solo, pode-se observar uma diferença de 1,26 cm na média da altura de parte aérea, para mais, nos tratamentos sem inoculado SCL-FE, sendo que as médias diferiram estatisticamente ( $\alpha=0,05$ ) (Tabela 10). Apesar de a doença não manifestar sintomas visíveis, a menor altura de parte aérea na presença



**Figura 11 – Altura da parte aérea de feijoeiro cultivado em diferentes doses de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) na presença do isolado de *Trichoderma* sp. UFSMT15.1. Santa Maria, RS, 2009.**

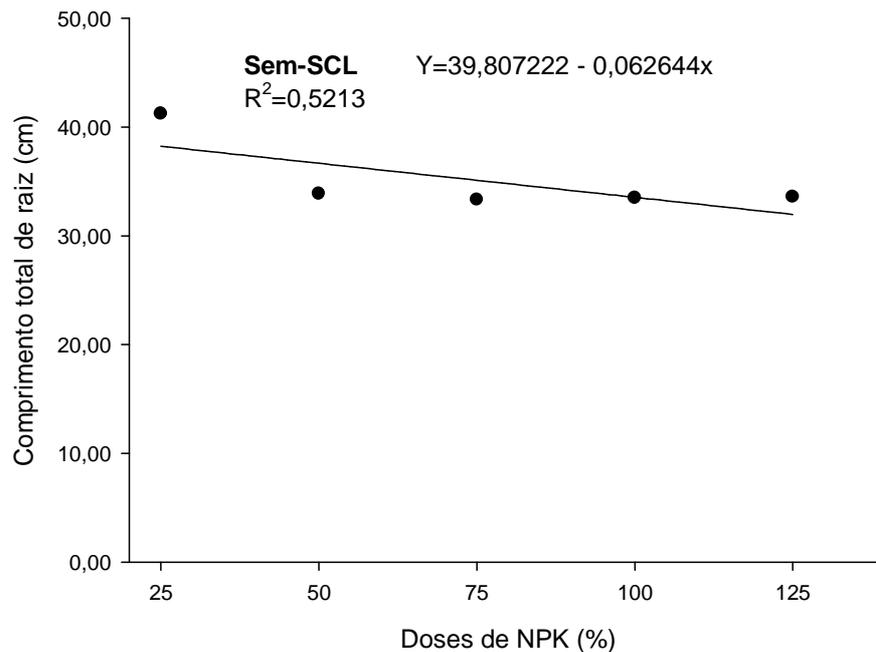
de *S. sclerotiorum*, provavelmente, ocorreu por reflexo da liberação de micotoxinas nas raízes e/ou competição por nutrientes no solo. Segundo Lumsden (1979), a patogenicidade de *S. sclerotiorum* está relacionada com a produção de ácido oxalacético pelo patógeno, pois esse composto baixa o pH dos tecidos do hospedeiro, inibindo enzimas envolvidas no mecanismo de defesa da planta e aumentando a atividade das enzimas do patógeno, responsáveis pela degradação da parede celular da planta.

**Tabela 10 – Altura de parte aérea de feijoeiro na presença e ausência de *S. sclerotiorum* (SCL-FE), no solo. Santa Maria, RS, 2009.**

SCL-FE	Altura da parte aérea (cm)
Com	15,84* b
Sem	17,10 a

\* Média de 45 plantas. Médias seguidas com diferentes letras minúsculas na coluna diferem entre si com nível de significância de 5%, pelo teste Scott-Knott.

O comprimento de raízes respondeu à interação entre doses de NPK e *S. sclerotiorum* (Apêndice F). A análise de regressão das doses com *S. sclerotiorum* para a variável comprimento total de raízes em solo cultivado com feijoeiro, apresentou diferença significativa somente para solo sem inóculo de SCL-FE (Apêndice F), sendo este representado por regressão linear (Figura 12). Sem a presença de SCL-FE no solo, é possível visualizar que o comprimento de raízes teve uma diminuição acentuada da dose 25 a 50% de NPK, sendo que nas demais doses de NPK a diminuição do tamanho das raízes continuou, porém, em menor intensidade. O maior comprimento de raiz na menor dose de NPK, possivelmente, se deve ao fato da baixa disponibilidade de macro nutrientes no solo, levando a planta a explorar uma maior quantidade de solo.

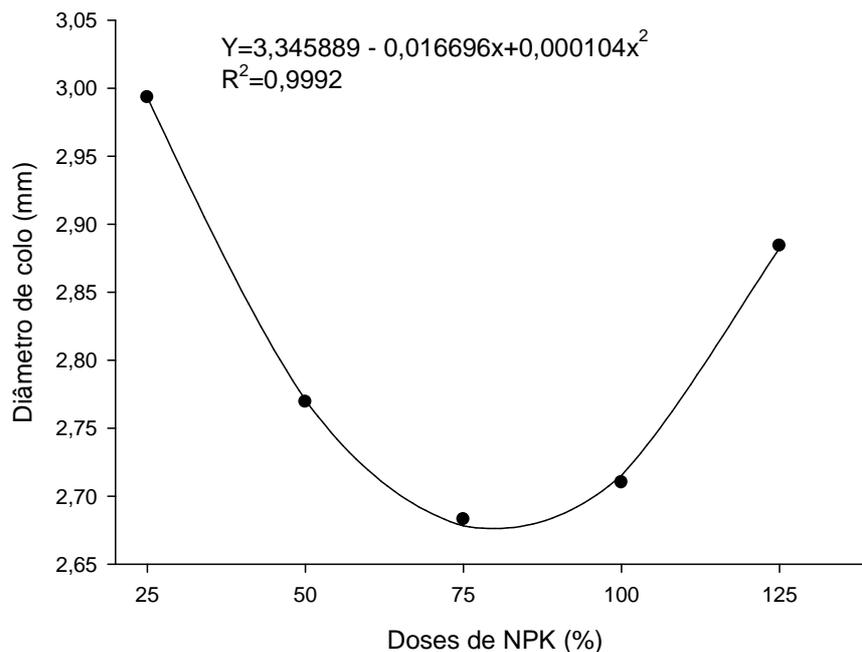


**Figura 12 – Comprimento total do sistema radicular (cm) de feijoeiro na ausência de *S. sclerotiorum* (SCL-FE) em função de doses de NPK. Santa Maria, RS, 2009.**

#### 7.2.2 – Número de folhas e diâmetro de colo

O número de folhas não foi afetado por nenhum fator testado (Apêndice G). Já para o diâmetro de colo constatou-se significância para o fator doses de NPK (Apêndice H). O diâmetro de colo das plantas de feijoeiro, apresentou resposta quadrática em relação as doses de NPK (Figura 13).

O comportamento da variável diâmetro de colo em diferentes doses de NPK foi similar ao comportamento da variável altura da parte aérea (Figura 11), apresentando maior diâmetro de colo e altura da parte aérea na dose de 25% de NPK e na presença de 50, 75 e 100% da dose recomendada ocorreu a diminuição para ambos os parâmetros. A partir da dose de 75% até a dose de 125% de NPK, houve a retomada do aumento na altura da parte aérea e do o diâmetro de colo, possivelmente, pelo aumento da disponibilidade de nutrientes na solução do solo.



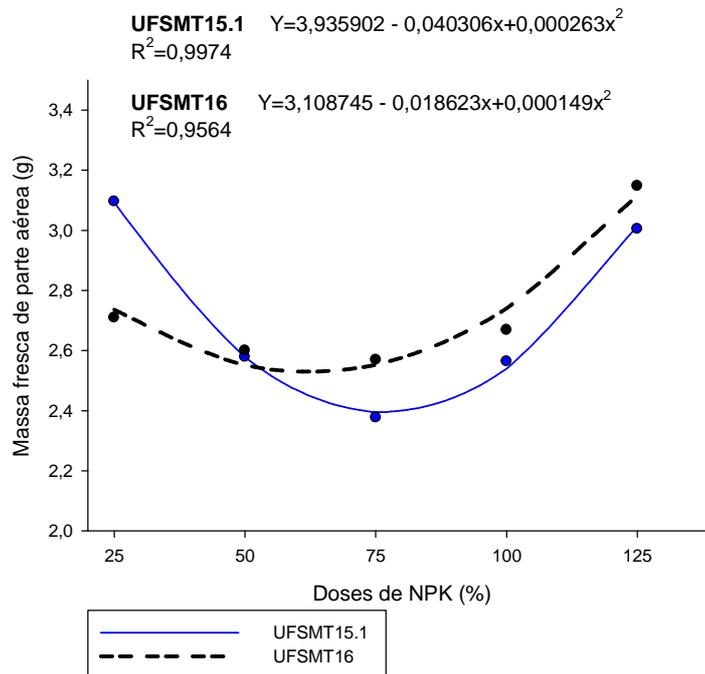
**Figura 13 – Diâmetro de colo (mm) de feijoeiro em diferentes doses de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK). Santa Maria, RS, 2009.**

Uma possível causa das variáveis diâmetro de colo e número de folhas não ter apresentado resposta ao fator *Trichoderma* sp. pode estar relacionada a densidade de esporos de  $10^6$  esporos mL<sup>-1</sup> utilizada nos tratamentos. Phuwawat e Kaewkong (2001) testaram as doses de 2,5, 5,0 e  $10 \times 10^9$  conídios/mL de *T.*

*harzianum* e encontraram incremento no diâmetro de colo e número de folhas em rabanete chinês na maior doses testada.

### 7.2.3 – Massa fresca e seca de parte aérea e raiz

A massa fresca da parte aérea e de raiz mostrou significância somente para a interação entre doses de NPK e isolados de *Trichoderma* spp. (Apêndices I e J, respectivamente). O desdobramento dessa interação para a massa fresca da parte aérea demonstrou que houve diferença estatisticamente significativa somente para os isolados UFSMT15.1 e UFSMT16. O comportamento de ambos foi representado por uma regressão quadrática (Figura 14).



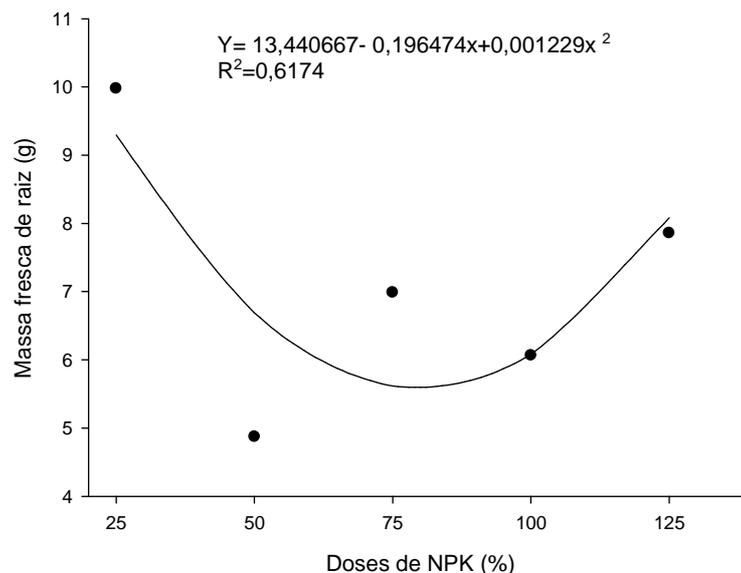
**Figura 14 – Massa fresca de parte aérea (g) de feijoeiro em função de isolados de *Trichoderma* sp. (UFSMT15.1 e UFSMT16) em diferentes doses de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK). Santa Maria, RS, 2009.**

O isolado UFSMT15.1 proporcionou maior massa fresca de parte aérea de feijoeiro na dose 25% de NPK, no entanto da dose de 25 a 75% de NPK esta teve

uma diminuição acentuada, provavelmente, porque o aumento na quantidade de NPK no solo desfavorece o crescimento do isolado de *Trichoderma* sp. Já entre as doses de 75 a 125% de NPK o ganho de massa fresca de parte aérea parece ser independente da inoculação de *Trichoderma* spp. no solo, sendo a resposta devido ao aumento da adubação.

O isolado UFSMT16 apresentou menor quantidade de massa fresca de parte aérea nas doses de 25 a 50% de NPK do que o isolado UFSMT15.1, pois esse isolado é mais sensível à alta disponibilidade de NPK no solo. Porém, o resultado é muito similar na presença de alta disponibilidade de NPK, ou seja, a nutrição da planta depende consideravelmente do fornecimento de NPK pela adubação. Além disso, nessa condição o efeito benéfico do *Trichoderma* sp., observado na menor dose de NPK, mostra-se ausente.

Na interação entre as diferentes doses de NPK com isolados de *Trichoderma* spp. para massa fresca de raízes, constatou-se diferença estatisticamente significativa somente para o isolado UFSMT15.1. O comportamento foi representado por uma regressão quadrática (Figura 15), similar aquela da massa fresca de parte aérea (Figura 14).



**Figura 15 – Massa fresca de raiz (g) de feijoeiro em função de isolado de *Trichoderma* sp. UFSMT15.1 em diferentes doses de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK). Santa Maria, RS, 2009.**

Yedidia et al. (2001) mostraram que em plantas de pepino cultivadas em solo inoculado com *T. harzianum* (T-203) houve aumento na área de raízes, bem como no comprimento das mesmas, e também houve aumento significativo no peso seco, comprimento de parte aérea e área foliar quando essas plantas foram comparadas ao tratamento controle.

Quando analisada a correlação entre as variáveis massas fresca de parte aérea e raiz de feijoeiro, constatou-se correlação positiva de 0,6174 com significância de 1% de probabilidade, ou seja, tanto o aumento da massa fresca das raízes quanto da parte aérea da planta desenvolveram de forma conjunta, mantendo uma proporção entre as partes.

Distintamente do observado para a massa fresca da parte aérea e de raiz, a massa seca de parte aérea e de raiz, bem como a relação entre massa seca da parte aérea e de raízes de feijoeiro, não respondeu para nenhum dos fatores estudados (Apêndices K, L e M, respectivamente).

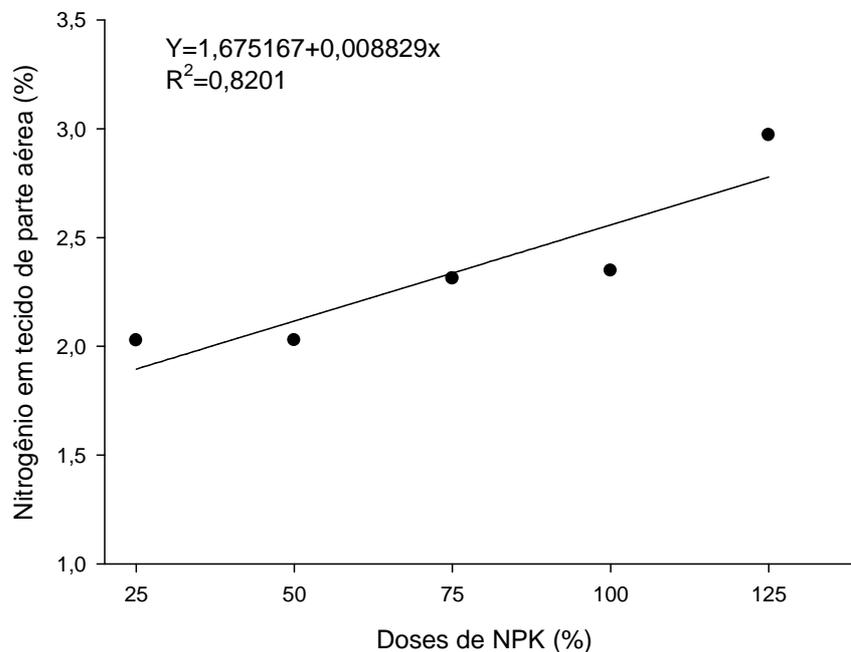
Phuwiwat e Kaewkong (2001) observaram maior relação de massa seca de parte aérea e de raízes em rabanete chinês quando inoculado com *T. harzianum* na concentração de  $10 \times 10^9$  conídios/mL de solução. O balanço entre parte aérea e sistema radicular é dinâmico e sujeito a modificações (JESKO, 1994). Cakmak et al. (1994) verificaram que plantas de feijão apresentaram uma relação parte aérea e raiz de 4,9 no tratamento controle e 1,8 nas plantas sem fósforo (P). Marschener (2002) reporta que a relação entre parte aérea e sistema radicular cai de 5,0 para 1,9 quando as plantas de feijão são submetidas à deficiência de P.

### **7.3 Teores de nitrogênio, fósforo e potássio na parte aérea de feijoeiro, em solo inoculado com *Trichoderma* sp. e *S. sclerotiorum*, sob diferentes doses de NPK**

#### **7.3.1 Teor de nitrogênio (N) na de parte aérea de feijoeiro**

O teor de nitrogênio na parte aérea de feijoeiro respondeu apenas ao fator doses de NPK (Apêndice N), sendo que a resposta foi linear positiva (Figura 16).

Como não houve efeito da adição de *Trichoderma* sp. no solo, os dados sugerem que a nutrição mineral da planta depende exclusivamente do que foi adicionado ao solo. Harman (2000) avaliou o efeito da inoculação do isolado de *Trichoderma* spp. T-22 junto às sementes e diferentes doses de nitrogênio aplicadas à cultura do milho e constatou que as plantas oriundas de sementes inoculadas com T-22 foram mais eficientes no aproveitamento do N. Também foi possível reduzir em 38% a quantidade de nitrogênio aplicado sem afetar a produção.



**Figura 16 – Nitrogênio (%) em tecido vegetal de parte aérea de feijoeiro em função de doses de nitrogênio, fósforo e potássio (25, 50, 75, 100 e 125% de NPK) aplicados no solo. Santa Maria, RS, 2009.**

### 7.3.2 Teor de fósforo (P) na de parte aérea de feijoeiro

O teor de P na parte aérea do feijoeiro respondeu a interação entre os fatores estudados (Apêndice O).

A presença de *S. sclerotiorum* no solo associado à ausência de *Trichoderma* sp. e à aplicação de 25 e 125% de NPK diminuiu o teor de P na parte aérea da

planta. Esse comportamento também foi observado na presença do isolado UFSMT 15.1 na dose de 125% de NPK. Isso sugere que o fitopatógeno apresentou maior atividade nas doses de 25 e 125% de NPK. No entanto, na dose de 25% de NPK os isolados de *Trichoderma* sp. apresentaram atividade antagonista de forma que o fitopatógeno não apresentasse interferência significativa no teor de P na parte aérea. Porém, na dose de 125% o isolado UFSMT 15.1 não teve um bom desempenho antagonista ao fitopatógeno.

**Tabela 11 – Teor de fósforo (P %) na parte aérea de feijoeiro, na interação entre *S. sclerotiorum* com isolados de *Trichoderma* sp. associados a doses de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) em solo. Santa Maria, RS, 2009.**

<i>S. sclerotiorum</i>	25%			50%			75%			100%			125%		
	UFSMT 15.1	UFSMT 16	Testemunha												
Com <sup>1</sup>	0,210* a	0,150 a	0,103 b	0,116 a	0,110 a	0,116 a	0,160 a	0,106 a	0,150 a	0,163 a	0,143 a	0,140 a	0,106 b	0,186 a	0,113 b
Sem <sup>1</sup>	0,183 a	0,096 a	0,173 a	0,173 a	0,166 a	0,160 a	0,166 a	0,136 a	0,153 a	0,140 a	0,160 a	0,120 a	0,183 a	0,166 a	0,193 a

\* Média de 6 plantas. Médias seguidas com diferentes letras minúsculas na coluna diferem entre si com nível de significância de 5%, pelo teste Scott-Knott.

<sup>1</sup>Com e sem a presença de *S. sclerotiorum* no solo.

Quando foi analisada a diferença entre isolados de *Trichoderma* sp. na ausência e presença de *S. sclerotiorum* associados a doses de NPK para a variável conteúdo de fósforo em tecido vegetal de parte aérea (Apêndice O), observou-se diferença estatística entre os isolados de *Trichoderma* spp. UFSMT15.1, UFSMT16 e tratamento testemunha na doses 25% de NPK, na presença e ausência de *S. sclerotiorum*. Já na dose de 125% de NPK, houve diferença entre os isolados somente na presença de *S. sclerotiorum* (Tabela 12).

Os resultados apresentados na tabela 12 vêm ao encontro dos dados encontrados na tabela 11, pois o fitopatógeno *S. sclerotiorum* associado as doses de 25 e 125% de NPK, novamente apresentou maior atividade e interferiu no teor de fósforo da parte aérea do feijoeiro. Também o desempenho dos isolados de *Trichoderma* sp. diferiu com as doses, sendo que o isolado UFSMT 15.1 e o isolado UFSMT 16 apresentaram maior teor de P na parte aérea do feijoeiro nas doses de 25 e 125% de NPK, respectivamente.

**Tabela 12 – Teor de fósforo (%) na parte aérea de feijoeiro, cultivado na presença e ausência de *Trichoderma* sp. e *S. sclerotiorum* em diferentes doses de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) em solo. Santa Maria, RS, 2009.**

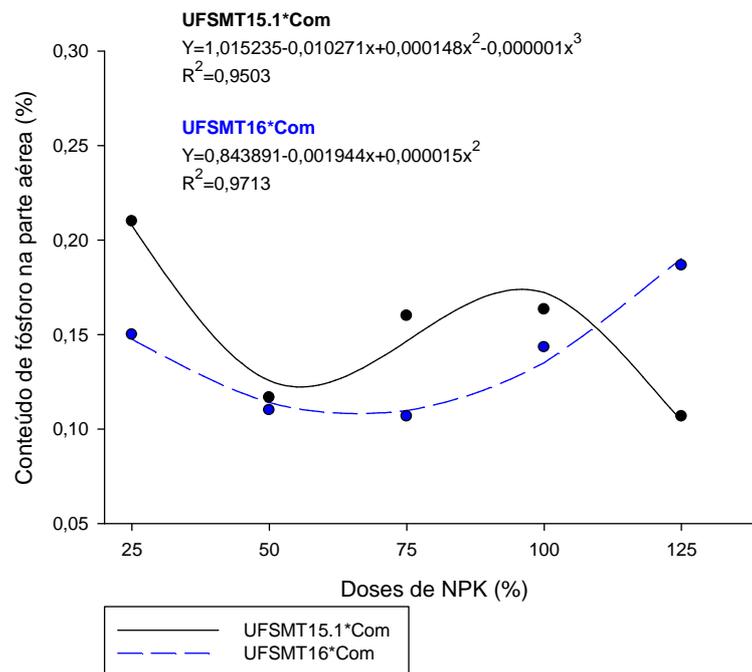
<i>Trichoderma</i> spp.	Doses de NPK									
	25%		50%		75%		100%		125%	
	Com <sup>1</sup>	Sem <sup>1</sup>	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
UFSMT15.1	0,210* a	0,183 a	0,116 a	0,173 a	0,160 a	0,166 a	0,163 a	0,140 a	0,106 b	0,183 a
UFSMT16	0,150 b	0,096 b	0,110 a	0,166 a	0,106 a	0,136 a	0,143 a	0,160 a	0,186 a	0,166 a
Testemunha	0,103 b	0,173 a	0,116 a	0,160 a	0,150 a	0,153 a	0,140 a	0,120 a	0,113 b	0,193 a

\* Média de 6 plantas. Médias seguidas com diferentes letras minúsculas na coluna diferem entre si com nível de significância de 5%, pelo teste Scott-Knott.

<sup>1</sup>Com e Sem a presença de *S. sclerotiorum* no solo.

O desdobramento da interação dos fatores doses de NPK associado aos fatores *Trichoderma* sp. e *S. sclerotiorum* apresentou significância somente para as interações entre isolados de *Trichoderma* spp. (UFSMT15.1 e UFSMT16) na presença de *S. sclerotiorum*.

Na interação entre o isolado UFSMT15.1 na presença de *S. sclerotiorum* em diferentes doses de NPK, o comportamento foi descrito por regressão cúbica (Figura 17). Na menor dose de NPK, observou-se o maior teor de fósforo na parte aérea, podendo ser devido a possível ação antagonista do isolado UFSMT15.1 sobre o fitopatógeno *S. sclerotiorum*, liberando enzimas junto a rizosfera da raiz que estimularam e/ou disponibilizaram fósforo.



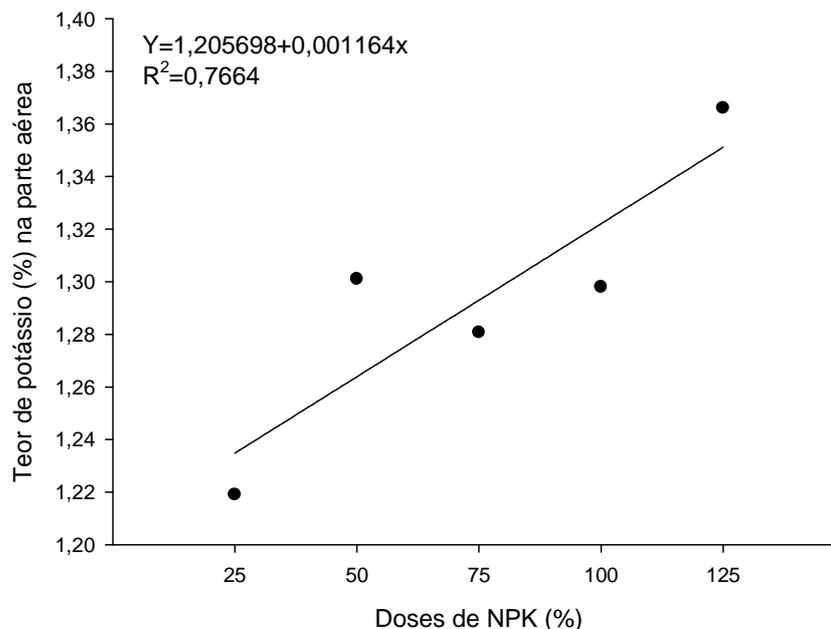
**Figura 17 – Teor de fósforo (%) na parte aérea de feijoeiro em função de isolados de *Trichoderma* spp. (UFSMT15.1, UFSMT16 e UFSMT17) e doses de NPK na presença de *S. sclerotiorum*. Santa Maria, RS, 2009.**

Quando se analisa o isolado UFSMT15.1 de *Trichoderma* spp. com a Testemunha (Tabela 12), observa-se que o teor de fósforo no tecido da parte aérea se mostrou igual ou maior nas dose de 25, 50, 75 e 100% de NPK, tanto na presença quanto ausência de *S. sclerotiorum*, mostrando favorecimento de *Trichoderma* spp. na disponibilidade de fósforo para a planta. Krauss e Soberanis (2002) reforçam a premissa de que os fungos do gênero *Trichoderma* são hábeis na solubilização de fósforo em solo, pois encontraram, em área cultivada com cacau, maior teor de fósforo quando aplicado *Trichoderma* spp. associado a adubação com

Guano e KCl. Altomare et al. (1999) demonstrou que o isolado de *Trichoderma harzianum* T22 foi capaz de solubilizar, *in vitro*, fósforo pouco solúvel, na forma de fosfato de rocha.

### 7.3.3 Teor de potássio (K) na parte aérea de feijoeiro

O teor de potássio na parte aérea de feijoeiro, respondeu apenas ao fator doses de NPK (Apêndice P), com resposta linear positiva (Figura 18).



**Figura 18 – Teor de potássio (%) na parte aérea de feijoeiro em função de diferentes doses de NPK aplicados ao solo. Santa Maria, RS, 2009.**

Esse resultado sugere que a nutrição potássica do feijoeiro foi independente dos potenciais efeitos benéficos de *Trichoderma* sp. Krauss e Soberanis (2002) encontraram em área cultivada com cacau, maior quantidade de potássio quando aplicado, frequentemente, *Trichoderma* spp. ao solo do comparado com a adubação isoladamente.

## 8 CONCLUSÃO

1. A população de *Trichoderma* sp. não é afetada pela variação da aplicação de diferentes doses de NPK.
2. A presença de *S. sclerotiorum* diminuiu a altura de parte aérea do feijoeiro, mesmo na ausência de sintomas visíveis da doença.
3. Os isolados de *Trichoderma* sp. UFSMT15.1 e UFSMT16 aumentaram a altura de planta e a massa fresca de parte aérea de feijoeiro, em solo com baixa aplicação de NPK.
4. Os isolados de *Trichoderma* spp. na presença e ausência de *S. sclerotiorum* na dose de 25% e na presença na dose de 125% de NPK interferem na quantidade de fósforo na parte aérea de feijoeiro.
5. Os isolados UFSMT15.1 e UFSMT16 de *Trichoderma* spp. não apresentam efeito significativo no teor de nitrogênio e potássio na parte aérea de feijoeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G.N. **Fitopatologia**. 2 ed. Balderas, México: Ed. Uteha Noriega, 1995. 838 p.
- 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. 07, p. 2926–2933, 1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DND/CLAV, 1992. 365p.
- CAKMAK, I.; HENGELER, C.; MARSHENER, H. Partitioning of shoot and root dry carbohydrate in bean plants suffering from phosphorus, potassium and magnesium deficiency. **Journal of Experimental Botany**, v.45, p.1245-1250, 1994b.
- CHANG, Y.; CHANG, Y.; 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, February, 1986.
- CORABI-ADELL, C. **Biodiversidade do gênero *Trichoderma* (HYPOCREALES - FUNGI) mediante técnicas moleculares e análise ecofisiográfica**. 2004. 220 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de São Paulo, Rio Claro, 2004.
- DJONOVIĆ, S. Sm1, a proteinaceous elicitor secreted by the biocontrol fungus *Trichoderma virens* induces plant defense responses and systemic resistance. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 19, n. 8, p. 838–853, 2006.
- EMBRAPA Arroz e Feijão. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br>>. Acesso em: 27 mai. 2008.
- FALÇÃO, J.V. et al. Estabelecimento de metodologia para contaminação de solo com propágulos de fungos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*, e expressão da doença em soja. **Comunicado Técnico**, Brasília, DF, n. 135, p. 9, out. 2005.
- FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. **Anais...** São Carlos, SP: UFSCar, 2000. p. 255-258.

GRAHAM, R.D.; WEBB, M.J. Micronutrients and plant disease resistance and tolerance in plants. In: MORTVEDT, J.J. et al. (Ed.). **Micronutrients in Agriculture**. Madison: Soil Science Society of America, 1991. p. 329-370. (Soil Science Society of America Book Series, 4).

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol. **Plant Disease**, v. 84, n. 4, p. 377-393, abr. 2000.

HARMAN, G.E. et al. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews – Microbiology**, v. 2, p. 43-56, jan. 2004.

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

JESKO, T. The root as an integral part of the plant. KOLEK, J.; KOZINKA, V. (Ed.) **Physiology of the Plant Root System**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1994. p. 1-30.

KRAUSS, U.; SOBERANI, W. Effect of fertilization and biocontrol application frequency on cocoa pod diseases. **Biological Control**, v. 24, n.1, p. 82-89, May. 2002.

LO, C.T. Biological control of turfgrass diseases with a rhizosphere competent strain of *Trichoderma harzianum*. **Plant Disease**, New York, v. 80, p. 736-741, Mar. 1996.

LUMSDEN, R. D. Histology and physiology of pathogenesis in plant diseases caused by *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, St. Paul, v.69, n.8, p.890-896, 1979.

MURPHY, J.; RILEY, J.P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Analytica Chimica Acta**, v. 27, p. 31-36, 1962.

MARSCHENER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. San Diego: Academic Press, 2002. 889 p.

MELO, I.S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I.S., AZEVEDO, J.L. (Eds.) **Controle biológico**, Jaguariúna: EMBRAPA, 1998.

MENEZES, J.P. *Trichoderma* spp. como bioprotetor de crisântemo e a reação de cultivares de crisântemo a *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi*. 2003. 76 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.

METCALF, D.A.; WILSON, C.R. The process of antagonism of *Sclerotium cepivorum* in white rot affected onion roots by *Trichoderma koningii*. **Plant Pathology**, v. 50, p. 249–257, 2001.

NAPOLEÃO, R. et al. Intensidade do mofo-branco do feijoeiro em plantio convencional e direto sob diferentes lâminas de água. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 374-379, jul-ago. 2005.

PHUWIWAT, W.; KAEWKONG, P. Effects of *Trichoderma* hurzianum strain PC01 and planting media on growth and yield of Chinese Radish. **Thammasat International Journal Science Technology**, v.6, n.3, p. 1-5, Sep.-Dec., 2001.

PERES, E.; MELO, I.S. De. Variabilidade entre isolados de *Trichoderma harzianum*: I - Aspectos citológicos. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 52, n. 1, Apr., 1995.

ROLAS - Recomendações de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **Comissão de Fertilidade do Solo** - RS/SC. 10ª ed. Porto Alegre: Núcleo Regional Sul, 2004. 400 p.

TEDESCO, M.J. et al. **Análises de solo, planta e outros materiais**. 2 ed., Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul/ Departamento de solos, 1995, p. 443. (Boletim Técnico, 5).

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, n. 4, p. 770-773, dez, 2001.

VIEIRA, R.F.; PAULA JÚNIOR, T.J. de; PINTO, C.M.F. Intensidade de mofo branco influenciada por fungicida, espaçamento entre fileiras e densidade de plantas. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO – CONAFE, 8. 2005, Goiânia. **Anais eletrônicos...** Goiânia: [s.n.], 2005. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/conafe/pdf/conafe2005-0128.pdf>>. Acesso em: 19 nov. 2009.

YEDIDIA, I. et al. Induction and accumulation of PR protein activity during early stages of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 863–873, 2000.

YEDIDIA, I. et al. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. **Plant Soil**, v. 235, p. 235-242, 2001.

## APÊNDICE A

Tabela de análise de variância do crescimento micelial dos isolados de *Trichoderma* sp. UFSMT15.1, UFSMT16 e UFSMT17 e de *S. sclerotiorum* SCL-FE e SCL-AL para diferentes doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) em meio de cultura.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRICH	4	5,30E+02	1,32E+02	2,570	0,0424
DOSES	4	6,74E+04	1,69E+04	327,284	0,0000
DOSES*TRICH	16	4,33E+03	2,71E+02	5,257	0,0000
erro	100	5,15E+03	5,15E+01		
Total corrigido	124	7,75E+04			
CV (%) =	12,46				
Média geral:	57,6252	Número de observações:		125	

Análise do desdobramento de doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) para cada nível do fator fungos (UFSMT15.1, UFSMT16, UFSMT17, SCL-FE e SCL-AL).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES*UFSMT15.1	4	2,76E+02	6,91E+01	1,341	0,2592
DOSES*UFSMT16	4	5,42E+01	1,36E+01	0,263	0,9009
DOSES*Testemunha	4	2,85E+02	7,11E+01	1,381	0,2453
DOSES*SCL-FE	4	4,05E+03	1,01E+03	19,671	0,0000
DOSES*SCL-AL	4	1,94E+02	4,85E+01	0,941	0,4428
erro	100	5,15E+03	5,15E+01		

## APÊNDICE B

Tabela de análise de variância do número de esporos por mL dos isolados de *Trichoderma* sp. UFSMT15.1, UFSMT16 e UFSMT17 para diferentes doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) em meio de cultura.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRICH	2	3,64E+15	1,82E+15	25,937	0,0000
DOSES	4	3,51E+15	8,77E+14	12,508	0,0000
DOSES*TRICH	8	2,61E+15	3,27E+14	4,660	0,0002
erro	60	4,21E+15	7,01E+13		
Total corrigido	74	1,40E+16			
CV (%) =	72.64				
Média geral:	1152600	Número de observações:		75	

Análise do desdobramento de doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) para cada nível do fator isolados de *Trichoderma* sp. (UFSMT15.1, UFSMT16 e UFSMT17).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES*UFSMT15.1	4	2,19E+15	5,48E+14	7,821	0,0000
DOSES*UFSMT16	4	4,16E+13	1,04E+13	0,148	0,9629
DOSES*Testemunha	4	3,89E+15	9,71E+14	13,858	0,0000
erro	60	4,21E+15	7,01E+13		

## APÊNDICE C

### ESCALA DE BELL

Notas (segundo escala de Bell) do teste de pareamento de culturas obtidas por isolados de *Trichoderma* sp. em confronto com o isolado de *S. sclerotiorum* SCL-AL. Santa Maria, RS, 2009

Fungos	25%	50%	75%	100%	125%
UFSMT15.1	1,00* d	1,50 b	1,00 d	1,00 d	1,50 b
UFSMT16	1,00 d	1,00 d	1,00 d	1,00 d	1,00 d
UFSMT17	1,00 d	1,75 a	1,25 c	1,50 b	2,00 a

\* Média da leitura de 4 placas. Médias seguidas com diferentes letras minúsculas na tabela diferem entre si com nível de significância de 5%, pelo teste Kruskal-Wallis.

### ESCALA PROPOSTA

Notas do teste de pareamento de culturas obtidas por isolados de *Trichoderma* sp. em confronto com o isolado de *S. sclerotiorum* SCL-AL. Santa Maria, RS, 2009.

Fungos	25%	50%	75%	100%	125%
UFSMT15.1	2,50* de	3,25 b	2,25 e	1,50 fg	3,00 bc
UFSMT16	2,50 de	1,00 h	1,25 gh	1,00 h	1,75 f
UFSMT17	2,75 cd	3,75 a	2,75 cd	3,25 b	4,00 a

\* Média da leitura de 4 placas. Médias seguidas com diferentes letras minúsculas na tabela diferem entre si com nível de significância de 5%, pelo teste Kruskal-Wallis.

### ESCALA DE BELL

Notas(segundo escala de Bell) do teste de pareamento de culturas obtidas por isolados de *Trichoderma* sp. em confronto com o isolado de *S. sclerotiorum* SCL-FE. Santa Maria, RS, 2009.

Fungos	25%	50%	75%	100%	125%
UFSMT15.1	1,25 c	1,50 b	1,50 b	1,25 c	1,00 d
UFSMT16	1,00 d				
UFSMT17	1,00 d	2,00 a	1,75 b	1,00 d	1,00 d

\* Média da leitura de 4 placas. Médias seguidas com diferentes letras minúsculas na tabela diferem entre si com nível de significância de 5%, pelo teste Kruskal-Wallis.

### ESCALA PROPOSTA

Notas do teste de pareamento de culturas obtidas por isolados de *Trichoderma* sp. em confronto com o isolado de *S. sclerotiorum* SCL-FE. Santa Maria, RS, 2009.

Fungos	25%	50%	75%	100%	125%
UFSMT15.1	3,25* bc	3,25 bc	3,00 cde	2,75 de	2,00 gh
UFSMT16	2,50 ef	1,25 i	2,00 gh	2,00 gh	1,75 h
UFSMT17	2,50 ef	4,00 a	3,25 cd	2,25 fg	2,75 cde

\* Média da leitura de 4 placas. Médias seguidas com diferentes letras minúsculas na tabela diferem entre si com nível de significância de 5%, pelo teste Kruskal-Wallis.

### APÊNDICE D

Tabela de análise de variância para a variável UFCs g-1 de solo após o cultivo com feijoeiro. Santa Maria, RS, 2009.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES	4	160270944,444	40067736,111	1,155	0,339
TRICH	2	903000166,667	451500083,333	13,014	0,000
SCL	1	256000,000	256000,000	0,007	0,931
TRICH*SCL	2	56337500,000	28168750,000	0,812	0,448
DOSES*TRICH	8	204233722,222	25529215,278	0,736	0,659
DOSES*SCL	4	111545944,444	27886486,111	0,804	0,527
DOSES*TRICH*SCL	8	485148055,556	60643506,944	1,748	0,105
Erro	60	2,081531667E+09	34692194,444		
Total corrigido	89	4,002324000E+09			
CV (%) =	66,78				
Média geral:	8820,000	Número de observações:	90		

### APÊNDICE E

Tabela de análise de variância da altura da parte aérea de feijoeiro (cm) para os fatores isolados de *Trichoderma* sp. UFSMT15.1, UFSMT16 e testemunha, isolado de *S. sclerotiorum* SCL-FE e diferentes doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) em casa de vegetação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES	4	77,168889	19,29222	2,860	0,0309
TRICH	2	28,018722	14,00936	2,077	0,1343
SCL	1	35,658028	35,65803	5,286	0,0250
TRICH*SCL	2	37,271722	18,63586	2,763	0,0712
DOSES*TRICH	8	152,665444	19,08318	2,829	0,0099
DOSES*SCL	4	15,545444	3,886361	0,576	0,6810
DOSES*TRICH*SCL	8	40,503556	5,062944	0,751	0,6470
erro	60	404,756667	6,745944		
Total corrigido	89	1,40E+23			
CV (%) =	72.64				
Média geral:	1152600	Número de observações:	75		

Análise do desdobramento de doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) para cada nível do fator isolados de *Trichoderma* sp. (UFSMT15.1, UFSMT16 e testemunha) para a variável altura de parte aérea (cm).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES*UFSMT15.1	4	145,088833	36,272208	5,377	0,0009
DOSES*UFSMT16	4	52,779667	13,194917	1,956	0,1123
DOSES*Testemunha	4	31,965833	7,991458	1,185	0,3260
erro	60	404,756667	6,745944		

## APÊNDICE F

Tabela de análise de variância do comprimento de raiz de feijoeiro (cm) para os fatores isolados de *Trichoderma* sp. UFSMT15.1, UFSMT16 e testemunha, isolado de *S. sclerotiorum* SCL-FE e diferentes doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) em casa de vegetação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES	4	259,224889	64,80622	1,527	0,2059
TRICH	2	0,494056	0,247028	0,006	0,9942
SCL	1	8,587111	8,587111	0,202	0,6545
TRICH*SCL	2	136,833722	68,41686	1,612	0,2080
DOSES*TRICH	8	266,770944	33,34637	0,786	0,6170
DOSES*SCL	4	436,078444	109,0196	2,569	0,0470
DOSES*TRICH*SCL	8	169,570722	21,19634	0,499	0,8519
erro	60	2546,65167	42,44419		
Total corrigido	89	3824,21156			
CV (%) =	18,39				
Média geral:	35,41778	Número de observações:	90		

Análise do desdobramento de doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) para cada nível do fator *S. sclerotiorum* SCL-FE para a variável comprimento de raiz (cm).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES*Com SCL-FE	4	271,894111	67,973528	1,601	0,1850
DOSES*Sem SCL-FE	4	423,409222	105,85231	2,494	0,0520
erro	60	2546,65167	42,444194		

### APÊNDICE G

Tabela de análise de variância do número de folhas por planta de feijoeiro para os fatores isolados de *Trichoderma* sp. UFSMT15.1, UFSMT16 e testemunha, isolado de *S. sclerotiorum* SCL-FE e diferentes doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) em casa de vegetação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES	4	5,111111	1,277778	2,000	0,1060
TRICH	2	0,505556	0,252778	0,396	0,6750
SCL	1	1,002778	1,002778	1,570	0,2151
TRICH*SCL	2	0,038889	0,019444	0,030	0,9700
DOSES*TRICH	8	4,772222	0,596528	0,934	0,4958
DOSES*SCL	4	1,733333	0,433333	0,678	0,6097
DOSES*TRICH*SCL	8	3,183333	0,397917	0,623	0,7553
erro	60	38,333333	0,638889		
Total corrigido	89	54,680556			
CV (%) =	15,9				
Média geral:	5,027778	Número de observações:		90	

### APÊNDICE H

Tabela de análise de variância do diâmetro de colo (mm) de feijoeiro para os fatores isolados de *Trichoderma* sp. UFSMT15.1, UFSMT16 e testemunha, isolado de *S. sclerotiorum* SCL-FE e diferentes doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) em casa de vegetação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES	4	1,202347	0,300587	2,683	0,0399
TRICH	2	0,195529	0,097764	0,873	0,4231
SCL	1	0,000063	0,000063	0,001	0,9812
TRICH*SCL	2	0,131527	0,065763	0,587	0,5592
DOSES*TRICH	8	0,914088	0,114261	1,020	0,4312
DOSES*SCL	4	0,170575	0,042644	0,381	0,8216
DOSES*TRICH*SCL	8	0,854723	0,10684	0,954	0,4804
erro	60	6,721933	0,112032		
Total corrigido	89	10,190785			
CV (%) =	11,92				
Média geral:	2,808056	Número de observações:		90	

## APÊNDICE I

Tabela de análise de variância da massa fresca de parte aérea (g) de feijoeiro para os fatores isolados de *Trichoderma* sp. UFSMT15.1, UFSMT16 e testemunha, isolado de *S. sclerotiorum* SCL-FE e diferentes doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) em casa de vegetação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES	4	2,390951	0,597738	4,848	0,0019
TRICH	2	0,424239	0,212119	1,720	0,1877
SCL	1	0,137973	0,137973	1,119	0,2944
TRICH*SCL	2	0,122424	0,061212	0,496	0,6112
DOSES*TRICH	8	2,104565	0,263071	2,134	0,0462
DOSES*SCL	4	0,39856	0,09964	0,808	0,5249
DOSES*TRICH*SCL	8	0,336328	0,042041	0,341	0,9464
erro	60	7,398187	0,123303		
Total corrigido	89	13,313225			
CV (%) =	13,09				
Média geral:	2,683265	Número de observações:		90	

Análise do desdobramento de doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) para cada nível do fator isolados de *Trichoderma* sp. (UFSMT15.1, UFSMT16 e testemunha) para a variável massa fresca de parte aérea (g).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES*UFSMT15	4	2,306795	0,576699	4,677	0,0023
DOSES*UFSMT16	4	1,327434	0,331858	2,691	0,0391
DOSES*UFSMT17	4	0,861286	0,215322	1,746	0,1511
erro	60	7,398187	0,123303		

## APÊNDICE J

Tabela de análise de variância da massa fresca de raízes (g) de feijoeiro para os fatores isolados de *Trichoderma* sp. UFSMT15.1, UFSMT16 e testemunha, isolado de *S. sclerotiorum* SCL-FE e diferentes doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) em casa de vegetação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES	4	50,229443	12,55736	2,465	0,0545
TRICH	2	3,657007	1,828503	0,359	0,6999
SCL	1	2,957547	2,957547	0,581	0,4491
TRICH*SCL	2	2,375362	1,187681	0,233	0,7928
DOSES*TRICH	8	103,866449	12,98331	2,549	0,0184
DOSES*SCL	4	16,047696	4,011924	0,788	0,5378
DOSES*TRICH*SCL	8	24,364182	3,045523	0,598	0,7759
erro	60	305,661867	5,094364		
Total corrigido	89	509,159552			
CV (%) =	32,39				
Média geral:	6,967833	Número de observações:		90	

Análise do desdobramento de doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) para cada nível do fator isolados de *Trichoderma* sp. (UFSMT15.1, UFSMT16 e testemunha) para a variável massa fresca de raízes (g).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES*UFSMT15	4	89,225405	22,306351	4,379	0,0035
DOSES*UFSMT16	4	32,907212	8,226803	1,615	0,1816
DOSES*UFSMT17	4	31,963275	7,990819	1,569	0,1936
erro	60	305,661867	5,094364		

### APÊNDICE K

Tabela de análise de variância da massa seca de parte aérea (g) de feijoeiro para os fatores isolados de *Trichoderma* sp. UFSMT15.1, UFSMT16 e testemunha, isolado de *S. sclerotiorum* SCL-FE e diferentes doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) em casa de vegetação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES	4	0,779841	0,19496	1,748	0,1514
TRICH	2	0,125056	0,062528	0,561	0,5739
SCL	1	0,004551	0,004551	0,041	0,8406
TRICH*SCL	2	0,160309	0,080154	0,719	0,4916
DOSES*TRICH	8	1,182803	0,14785	1,325	0,2486
DOSES*SCL	4	0,119763	0,029941	0,268	0,8972
DOSES*TRICH*SCL	8	0,671894	0,083987	0,753	0,6449
erro	60	6,693	0,11155		
Total corrigido	89	9,737216			
CV (%) =	30,4				
Média geral:	1,098778	Número de observações:		90	

### APÊNDICE L

Tabela de análise de variância da massa seca de raízes (g) de feijoeiro para os fatores isolados de *Trichoderma* sp. UFSMT15.1, UFSMT16 e testemunha, isolado de *S. sclerotiorum* SCL-FE e diferentes doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) em casa de vegetação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES	4	0,263373	0,065843	1,250	0,2997
TRICH	2	0,008247	0,004123	0,078	0,9248
SCL	1	0,00009	0,00009	0,002	0,9672
TRICH*SCL	2	0,028727	0,014363	0,273	0,7623
DOSES*TRICH	8	0,703178	0,087897	1,669	0,1249
DOSES*SCL	4	0,047216	0,011804	0,224	0,9239
DOSES*TRICH*SCL	8	0,535526	0,066941	1,271	0,2758
erro	60	3,160633	0,052677		
Total corrigido	89	4,74699			
CV (%) =	35,51				
Média geral:	0,646333	Número de observações:		90	

### APÊNDICE M

Tabela de análise de variância da relação entre massa seca de parte aérea e raízes (g) de feijoeiro para os fatores isolados de *Trichoderma* sp. UFSMT15.1, UFSMT16 e testemunha, isolado de *S. sclerotiorum* SCL-FE e diferentes doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) em casa de vegetação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES	4	1,17492	0,29373	1,001	0,4144
TRICH	2	0,170873	0,085436	0,291	0,7485
SCL	1	0,161121	0,161121	0,549	0,4617
TRICH*SCL	2	0,618763	0,309382	1,054	0,3549
DOSES*TRICH	8	4,390699	0,548837	1,870	0,0817
DOSES*SCL	4	0,381387	0,095347	0,325	0,8603
DOSES*TRICH*SCL	8	2,581104	0,322638	1,099	0,3767
erro	60	17,612553	0,293543		
Total corrigido	89	27,09142			
CV (%) =	30,35				
Média geral:	1,7852	Número de observações:		90	

### APÊNDICE N

Tabela de análise de variância do teor de nitrogênio (%) em tecido vegetal da parte aérea de feijoeiro para os fatores isolados de *Trichoderma* sp. UFSMT15.1, UFSMT16 e testemunha, isolado de *S. sclerotiorum* SCL-FE e diferentes doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) em casa de vegetação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES	4	10,693149	2,673287	8,265	0,0000
TRICH	2	0,907167	0,453583	1,402	0,2539
SCL	1	0,37636	0,37636	1,164	0,2850
TRICH*SCL	2	0,697687	0,348843	1,079	0,3466
DOSES*TRICH	8	4,594111	0,574264	1,776	0,0999
DOSES*SCL	4	1,259184	0,314796	0,973	0,4289
DOSES*TRICH*SCL	8	3,400036	0,425004	1,314	0,2541
erro	60	19,405867	0,323431		
Total corrigido	89	41,33356			
CV (%) =	24,33				
Média geral:	2,3373333	Número de observações:		90	

## APÊNDICE O

Tabela de análise de variância do teor de fósforo (%) em tecido vegetal da parte aérea de feijoeiro para os fatores isolados de *Trichoderma* sp. UFSMT15.1, UFSMT16 e testemunha, isolado de *S. sclerotiorum* SCL-FE e diferentes doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) em casa de vegetação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES	4	0,001325	0,000331	0,704	0,5922
TRICH	2	0,002483	0,001242	2,639	0,0797
SCL	1	0,003421	0,003421	7,270	0,0091
TRICH*SCL	2	0,001262	0,000631	1,341	0,2694
DOSES*TRICH	8	0,008598	0,001075	2,284	0,0331
DOSES*SCL	4	0,005431	0,001358	2,886	0,0298
DOSES*TRICH*SCL	8	0,008336	0,001042	2,215	0,0386
erro	60	0,028231	0,000471		
Total corrigido	89	0,059088			
CV (%) =	2,7				
Média geral:	0,80478	Número de observações:		90	

Análise do desdobramento de doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) para cada nível do fator isolados de *Trichoderma* sp. (UFSMT15.1, UFSMT16 e testemunha) na presença e ausência de *S. sclerotiorum* para a variável teor de fósforo (%) na parte aérea de feijoeiro.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES*UFSM15.1 Com	4	0,007752	0,001938	4,119	0,0051
DOSES*UFSM15.1 Sem	4	0,001448	0,000362	0,769	0,5489
DOSES*UFSMT16 Com	4	0,004992	0,001248	2,652	0,0414
DOSES*UFSMT16 Sem	4	0,004297	0,001074	2,283	0,0703
DOSES*Testemunha Com	4	0,001831	0,000458	0,973	0,4285
DOSES*Testemunha Sem	4	0,003372	0,000843	1,792	0,1417
erro	60	0,028231	0,000471		

Análise do desdobramento dos níveis de *Trichoderma* sp. (UFSMT15.1, UFSMT16 e testemunha) dentro de doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) em presença ou não de *S.sclerotiorum* para a variável teor de fósforo em tecido vegetal de parte aérea de feijoeiro (%).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRICH*25 Com	2	0,006502	0,003251	6,910	0,0019
TRICH*25 Sem	2	0,005383	0,002691	5,720	0,0051
TRICH*50 Com	2	0,000035	0,000018	0,038	0,9646
TRICH*50 Sem	2	0,000097	0,000049	0,104	0,9032
TRICH*75 Com	2	0,001887	0,000943	2,005	0,1409
TRICH*75 Sem	2	0,000509	0,000254	0,541	0,5822
TRICH*100 Com	2	0,000367	0,000183	0,390	0,6770
TRICH*100 Sem	2	0,000943	0,000471	1,002	0,3693
TRICH*125 Com	2	0,004546	0,002273	4,831	0,0110
TRICH*125 Sem	2	0,00041	0,000205	0,436	0,6463
erro	60	0,028231	0,000471		

Análise do desdobramento dos níveis de *S.sclerotiorum* dentro de doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) associados a *Trichoderma* spp. (UFSMT15.1, UFSMT16 e testemunha) para a variável massa fresca de raízes (g).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SCL*25 UFSMT15.1	1	0,000364	0,000364	0,773	0,3828
SCL*25 UFSMT16	1	0,001759	0,001759	3,739	0,0579
SCL*25 Testemunha	1	0,002887	0,002887	6,135	0,0161
SCL*50 UFSMT15.1	1	0,001859	0,001859	3,952	0,0514
SCL*50 UFSMT16	1	0,001878	0,001878	3,991	0,0503
SCL*50 Testemunha	1	0,001113	0,001113	2,365	0,1294
SCL*75 UFSMT15.1	1	0,000028	0,000028	0,059	0,8088
SCL*75 UFSMT16	1	0,000549	0,000549	1,167	0,2843
SCL*75 Testemunha	1	0,000004	0,000004	0,008	0,9272
SCL*100 UFSMT15.1	1	0,000312	0,000312	0,663	0,4187
SCL*100 UFSMT16	1	0,000158	0,000158	0,335	0,5648
SCL*100 Testemunha	1	0,000238	0,000238	0,506	0,4796
SCL*125 UFSMT15.1	1	0,003405	0,003405	7,237	0,0092
SCL*125 UFSMT16	1	0,000227	0,000227	0,483	0,4896
SCL*125 Testemunha	1	0,003669	0,003669	7,797	0,0070
erro	60	0,028231	0,000471		

## APÊNDICE P

Tabela de análise de variância do teor de potássio em tecido vegetal de parte aérea de feijoeiro para os fatores isolados de *Trichoderma* sp. UFSMT15.1, UFSMT16 e testemunha, isolado de *S. sclerotiorum* SCL-FE e diferentes doses de NPK (25, 50, 75, 100 e 125%) em casa de vegetação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES	4	0,198834	0,049708	4,522	0,0029
TRICH	2	0,034554	0,017277	1,572	0,2161
SCL	1	0,000657	0,000657	0,060	0,8078
TRICH*SCL	2	0,011277	0,005639	0,513	0,6013
DOSES*TRICH	8	0,122938	0,015367	1,398	0,2160
DOSES*SCL	4	0,085377	0,021344	1,942	0,1151
DOSES*TRICH*SCL	8	0,172905	0,021613	1,966	0,0664
erro	60	0,659531	0,010992		
Total corrigido	89	1,286073			
CV (%) =	8,11				
Média geral:	1,2929893	Número de observações:		90	

## ANEXO 1

### Meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA)

- 200 g de batatas descascadas e fatiadas;
- 20 g de dextrose;
- 15 g de ágar;
- 1 L de água destilada
- 1 mL de estreptomicina / 100 mL de meio de cultura.

DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic Plant Pathology Methods**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 1995. 434 p.

## ANEXO 2

### Meio de cultura Elad para *Trichoderma* sp.

- 3 g de glicose;
- 0,15 g de KCl;
- 15 g de ágar;
- 0,9 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>;
- 0,2 g de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O
- 1 g de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>;
- 1 L de água destilada
- 1 mL de estreptomicina / 100 mL de meio de cultura.

ELAD, Y.; CHET, I.; HENIS, Y. A selective medium for improving quantitative isolation of *Trichoderma* spp. from soil. **Phytoparasitica**, v. 9, p. 59-67, 1981.

**ANEXO 3**

Características químicas do solo na camada de 0 – 10 cm de profundidade  
(horizonte A) proveniente da Unidade de Mapeamento São Pedro.

Características	Horizonte A
Textura	4
Argila (% m/V)	16
Mat. Orgânica (% m/V)	1,9
pH (água)	4,4
P (mg/L)	5,3
K (mg/L)	120
Ca (cmol <sub>c</sub> /L)	1,6
Mg (cmol <sub>c</sub> /L)	0,6
Al (cmol <sub>c</sub> /L)	4,2
CTC (cmol <sub>c</sub> /L)	8,7
S (mg/L)	9,4
Cu (mg/L)	1,0
Zn (mg/L)	1,7
B (mg/L)	0,4
Saturação Al (%)	63
Saturação Bases (%)	29

Laboratório de análise de solos- UFSM / CCR – Departamento de Solos.

## ANEXO 4

Estádios de desenvolvimento da planta de feijão comum.

Estádio*	Descrição**
V0	<u>Germinação</u> : absorção de água pela semente; emissão da radícula e sua e sua transformação em raiz.
V1	<u>Emergência</u> : os cotilédones aparecem ao nível do solo, separam-se e o epicótilo começa seu desenvolvimento.
V2	<u>Folhas primárias</u> : folhas primárias totalmente abertas.
V3	<u>Primeira folha trifoliada</u> : abertura da primeira folha trifoliada e aparecimento da segunda folha trifoliada.
V4	<u>Terceira folha trifoliada</u> : abertura da terceira folha trifoliada e formação de ramos nas gemas dos nós inferiores.
R5	<u>Pré-floração</u> : aparecimento do primeiro botão floral e do primeiro rácemo. Os botões florais das variedades determinadas se formam no ultimo nó do talo e do ramo. Nas variedades indeterminadas os rácemos aparecem primeiro nos nós mais baixos.
R6	<u>Floração</u> : abertura da primeira flor.
R7	<u>Formação da vagens</u> : aparecimento da primeira vagem até aparecer 2,5 cm de comprimento.
R8	<u>Enchimento das vagens</u> : início do enchimento da primeira vagem (crescimento da semente). Ao final do estágio, as sementes presdem a cor verde e começam a mostrar as características das variedades. Início da desfolha.
R9	<u>Maturação fisiológica</u> : as vagens perdem sua pigmentação e começam a secar. As sementes desenvolvem a cor típica da variedade.

\* V= vegetativa; R= reprodutiva.

\*\*Cada etapa começa quando 50% das plantas apresentam as condições relativas ao estágio.

CIAT. **Etapas de desarrollo de la planta de frijol común**. Eds.: F. Fernández; P. Gepts; M. López. Cali, Colombia. CIAT. 1983. 26p.