

GILVAN JOSÉ CAMPELO DOS SANTOS

EFEITO BIOLÓGICO DE *Trichoderma viride* Pers. ex S.F. Gray e *T. harzianum* Rifai NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE AROEIRA DO SERTÃO (*Astronium urundeuva* (Fr. All.) Engl.) E NA INCORPORAÇÃO AO SOLO.

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura de Lavras, como parte das exigências do curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitossanidade, sub-área Fitopatologia, para obtenção do grau de «MESTRE».

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS
LAVRAS - MINAS GERAIS
1993

EFEITO BIOLÓGICO DE *Trichoderma viride* Pers ex. S. F. Gray e
T. harzianum Rifai NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE AROEIRA DO
SERTÃO [*Astronium urundeuva* (Fr. All.) Engl] E NA INCORPORA-
ÇÃO AO SOLO.

GILVAN JOSÉ CAMPELO DOS SANTOS.

APROVADA

Hilário A. C. Castro

PROF. HILARIO ANTONIO DE CASTRO

ORIENTADOR

Mário Sobral de Abreu

PROF. MARIO SOBRAL DE ABREU

Ricardo M. Magela de Souza

PROF. RICARDO MAGELA DE SOUZA

Ao meu sogro ("in memoriam"),
minha sogra e cunhados,

MINHA HOMENAGEM

Aos meus pais Elza Campelo e Danilo José dos Santos pela mi-
nha formação, carinho, dedicação, apoio e compreensão em
todos os momentos importantes e decisivos de minha
vida,

DEDICO

A minha esposa

Conceição de Lourdes

e aos meus filhos

Kennedy Dannilo e

Klivisson Dennison,

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela vida.

A minha mãe pelo amor, carinho, dedicação e incentivo ao longo da minha vida.

A minha esposa e filhos pelo amor, carinho, apoio e compreensão em todos os momentos.

A Universidade Federal da Paraíba (UFPB), em especial ao Departamento de Engenharia Florestal, do Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Campus VII, Patos-PB, pela liberação para realização do curso de mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), através do Programa de Integração e Capacitação de Docentes (PICD), pela concessão da bolsa de estudo.

A Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL), Departamento de Fitossanidade e Coordenação do Curso de Pós-Graduação pela oportunidade concedida para realização deste trabalho.

Ao Prof. Hilário Antônio de Castro pela amizade, orientação, ensinamentos, apoio e liberdade para desenvolver este trabalho.

Ao Prof. Mário Sobral de Abreu pelo incentivo, sugestões, amizade e convivência, junto com Floriana durante todo o curso.

Ao Prof. Ricardo Magela de Souza pela amizade, sugestões para este trabalho.

Ao Prof. Marcelo Silva de Oliveira pela amizade e sugestões na parte estatística do trabalho.

Ao Prof. Vicente Paulo Campos e família pela amizade, apoio e convivência.

Ao Prof. Valdemar Faquim pela colaboração na parte de fertilidade do solo.

A Marta Faiad e família pela amizade, colaboração, apoio e convivência.

A Hélio Heroshi Nozaki ("in memoriam"), Rosemary Nozaki, D. Zenira e família pela amizade, colaboração, apoio e convivência.

Aos amigos José Aleixo, Mariá, Pep, Maria Lúcia, Celso e filhos pela amizade, apoio, confiança e convivência em Lavras-MG.

A Olaf e Ivonete pelo apoio, amizade e pelo trabalho desempenhado como procurador(es) em Patos-PB.

A Prof^ã. Maria de Fátima Freitas, pela amizade, apoio e pela minha substituição durante a realização do curso.

A Prof^ã. Maria do Carmo Learth Cunha pela amizade, apoio e doação das sementes de aroeira do sertão.

Ao Departamento de Micologia da UFPE, pelo envio dos isolados antagonistas.

Ao colega Augusto Carlos pela amizade e colaboração na parte fotográfica.

A Eloísa Leite e Ana M. Santos pela amizade, colaboração e apoio.

A João e família pela amizade, colaboração e apoio.

Ao colega Joel pela amizade e esforço na digitação deste trabalho.

Aos colegas do Curso de Fitossanidade.

Aos funcionários da Biblioteca da ESAL, Antônio Márcio, Sebastião e Neli pela amizade e apoio no que foi preciso.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho,

MUITO OBRIGADO

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Aos meus irmãos Sônia, Selma, Sydney e Suely pelo sacrifício, amizade, apoio, compreensão e incentivo em todos os momentos, para que eu pudesse galgar mais este degrau em minha vida.

INDICE

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Importância da aroeira do sertão	4
2.2. O gênero <i>Trichoderma</i> e sua capacidade de antagonismo	4
2.3. Substratos para desenvolvimento e multiplicação de antagonistas	11
2.4. Tratamento biológico de sementes	14
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1. Procedência das sementes	17
3.2. Isolados de <i>Trichoderma sp</i>	18
3.3. Avaliação da sanidade das semente de aroeira do sertão	18
3.4. Substratos para multiplicação dos isolados de <i>Trichoderma</i>	19
3.5. Obtenção dos inóculos de <i>Trichoderma</i> para incorporação ao solo	19
3.6. Tratamento biológico das sementes de aroeira do sertão	20
3.7. Efeito biológico da incorporação dos antagonistas TR2 e T25 ao solo	21

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1. Sanidade das sementes de aroeira do sertão	24
4.2. Tratamento biológico das sementes de aroeira	26
4.2.1. Incidência de fungos nas sementes	26
4.2.2. Teste de germinação	26
4.3. Efeito biológico da incorporação dos antagonistas TR2 e T25 ao solo	29
4.3.1. Stand inicial	29
4.3.2. Stand final	31
4.3.3. Índice de Velocidade de Emergência (IVE)	34
5. CONCLUSÕES	37
6. RESUMO	38
7. SUMMARY	40
8. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA	42

LISTA DE TABELAS

TABELAS		PAGINA
1	Fungos associados (%) as sementes de aroeira do sertão, detectados pelo teste de incubação em papel de filtro. ESAL, Lavras - MG, 1992 ...:	25
2	Percentual médio de plântula emergidas aos 7 dias, em solo incorporado com <i>T. viride</i> (TR2) e <i>T. harzianum</i> (T25) cultivados em três substratos. ESAL, Lavras - MG, 1992	31
3	Percentual médio de plântulas emergidas aos 14 dias, em solo incorporado com <i>T. viride</i> (TR2) e <i>T. harzianum</i> (T25) cultivados em três substratos. ESAL, Lavras - MG, 1992	34
4	Valores médios do Índice de Velocidade de Emergência (IVE) aos 14 dias, em solo incorporado com <i>T. viride</i> (TR2) e <i>T. harzianum</i> (T25) cultivados em três substratos. ESAL, Lavras - MG, 1992	36

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS	PAGINA
1	Incidência média de <i>Aspergillus sp</i> em sementes de aroeira do sertão, tratadas biologicamente com <i>T. viride</i> (TR2) e <i>T. harzianum</i> (T25) cultivados em três substratos. ESAL, Lavras-MG, 1992 27
2	Percentual de germinação das semente de aroeira do sertão tratadas biologicamente com <i>T. viride</i> (TR2) e <i>T. harzianum</i> (T25) cultivados em três substratos. ESAL, Lavras - MG, 1992 28
3	Percentual médio de plântulas emergidas aos 7 dias, pela incorporação ao solo de substratos colonizados com <i>T. viride</i> (TR2) e <i>T. harzianum</i> (T25). ESAL, Lavras - MG, 1992 30
4	Percentual médio de plântulas emergidas aos 14 dias, pela incorporação ao solo de substratos colonizados com <i>T. viride</i> (TR2) e <i>T. harzianum</i> (T25). ESAL, Lavras - MG, 1992 32

- 5 Média do Índice de Velocidade de Emergência (IVE) aos 14 dias, pela incorporação ao solo de substratos colonizados com *T. viride* (TR2) e *T. harzianum* (T25). ESAL, Lavras-MG, 1992 .. 35

1. INTRODUÇÃO

O estudo das essências florestais nativas é importante em vários aspectos, destacando-se entre eles sua potencialidade de uso, bem como a escassez de informações sobre estas plantas. No caso do Nordeste brasileiro, as essências nativas da região Semi-árida assumem especial importância por cobrirem uma grande área. Dentre essas a aroeira do sertão [*Astronium urundeuva* (Fr. All.) Engl.] se destaca pela multiplicidade de uso de sua madeira.

Microorganismos podem estar associados às sementes de aroeira. Esta associação pode favorecer a sua sobrevivência e disseminação, já que as sementes são propágulos que apresentam maior potencial de viabilidade no tempo em comparação com outros segmentos de propagação do vegetal.

A incidência de fungos em sementes pode provocar apodrecimentos, manchas necróticas, deformações, descolorações do tegumento etc., trazendo como consequência a diminuição do vigor e do poder germinativo, problemas na formação de mudas, além de constituir em focos primários de infecção no viveiro e no campo.

O controle dos patógenos de sementes das grandes culturas é

feito atualmente através do tratamento com fungicidas, que pode ser ou não eficiente. Além disso tais produtos podem agir sobre as populações microbianas, naturalmente associados às sementes, alterando o equilíbrio biológico do sistema.

O avanço das pesquisas sobre o controle biológico nos últimos anos, tem demonstrado a viabilidade deste método de controle, para muitos patógenos. O tratamento biológico pela aplicação de antagonistas através de sementes e/ou sulcos, vem a ser uma boa alternativa, já que os fungos antagônicos podem oferecer proteção de pré e pós-emergência de plântulas contra patógenos nas sementes e solo, sem causar o desequilíbrio do ecossistema (BROWN, 1974; COOK & BAKER, 1963 e KOMENDAHL & WINDELS, 1976).

O gênero *Trichoderma* tem sido testado em experimentos de controle de patógenos de sementes por se apresentar como um antagonista saprófita dos mais eficientes (KELMAN & COOK, 1977).

Em relação as sementes de essências florestais nativas do semi-árido nordestino não se tem relato sobre tratamento biológico de sementes, mesmo sabendo-se que em testes de germinação algumas espécies podem chegar a ter 0% de germinação, devido a incidência de fungos e/ou outros fatores.

Dentro desse contexto, o presente trabalho teve como objetivos:

- Avaliar a eficiência do tratamento biológico das sementes de aroeira em relação a incidência de fungos.
- Verificar se o tratamento biológico melhora o poder germinativo das sementes de aroeira.
- Verificar o efeito do substrato de cultivo do antagonista na sua atividade.

- Comparar a eficiência da aplicação de antagonistas ao solo em relação a sua fumigação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Importância da aroeira do sertão

A aroeira do sertão (*Astronium urundeuva* (Fr. All.) Enq1.), pertencente a família Anacardiaceae, é uma árvore nativa e em vias de extinção da região semi-árida. É uma importante madeira de lei, usada para diversos fins como: construção civil, dormentes, vigamentos, esteios, postes, obras hidráulicas, forragem, medicinal (RIZZINI, 1981).

FELICIANO (1989), em seu trabalho diz ser a unidade de semeio o fruto-semente, uma drupa globósa ou ovóide, com uma percentagem de germinação de 80% com início da germinação após dois dias. Entretanto, segundo MACHADO et alii (1992), o percentual de germinação está entre 60 e 70%, com início da germinação ocorrendo a partir 69 dia após a semeadura.

2.2. O gênero *Trichoderma* e sua capacidade de antagônismo.

O gênero *Trichoderma* Pers. ex Fr., de distribuição

cosmopolita, é um fungo imperfeito, pertencente a subdivisão Deuteromycotina, classe Hyphomycetes, ordem moniliales, família Moniliaceae, com seu estado perfeito (sexual) em Ascomycotina (Pyrenomycetes, Sphaeriales, Hypocreaceae e gênero *Hypocrea*). As espécies de *Trichoderma* são facilmente distinguidas através da comparação de aspectos morfológicos como: forma, ornamentação e tamanho dos esporos, tipo de ramificação dos conidioforos e maneira como as fiálides estão dispostas. No gênero são incluídas nove diferentes espécies (RIFAI, 1969).

As espécies tem sido identificadas em solos de todo o mundo apresentando atividade parasítica a fitopatógenos. Há relatos de sua eficiencia contra *Pythium spp*, *Phytophthora spp*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Macrophomina phaseolina*, *Heterobasidium annosum*, *Armillaria mellea* (COOK & BAKER, 1983; ELAD et alii, 1980, 1981, 1982, 1983; SHOKES, 1977 e THIRUMALACHAR & OBRIEN, 1977).

Muitos fatores influenciam na sobrevivência de *Trichoderma* em solos natural ou artificialmente infestados, tais como temperatura, umidade, aeração, pH e teor de matéria orgânica (BAKER & COOK, 1974; DANIELSON & DAVEY, 1973; MIHUTA-GRIMM & ROWE, 1986).

Assim *T. viride* é favorecido em solos úmidos, porém, é inibido em condições de encharcamento e pH > 6,5. A faixa ótima de pH está entre 4,5 e 5,3 e temperatura acima de 22°C (CHET & BAKER, 1980). SY et alii (1983a), trabalhando com quatro espécies de *Trichoderma*, verificaram forte inibição do crescimento de *Pyricularia oryzae* a 15, 28 e 35°C.

Já MARTINS (1988), trabalhando com *T. koningii* e *T. viride*,

verificou que a temperatura ótima de crescimento foi de 28°C, enquanto que para o pH existe uma preferência a níveis mais ácidos, principalmente na produção de metabólitos.

Com o despertar das pessoas para o perigo do uso de produtos químicos na agricultura, não só pelos danos que podem causar à saúde humana e ao meio ambiente, mas também devido ao maior conhecimento das consequências decorrentes do desequilíbrio causado pelo homem, o interesse em pesquisar o controle biológico tem aumentado em todo o mundo, principalmente nos dias de hoje.

COOK & BAKER (1983), conceituaram "controle biológico" como a redução da soma de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocada por um patógeno, realizada através de um ou mais organismos. De acordo com esses autores as atividades determinantes de doenças são aquelas que envolvem o crescimento, infectividade, virulência, agressividade e outras qualidades do patógeno, ou processos que determinam infecção, desenvolvimento de sintomas e reprodução. Antagonistas são definidos como microorganismos que interferem na sobrevivência ou atividades determinantes de doenças causadas por patógenos. Ainda segundo esses autores o controle biológico pode ser acompanhado por práticas culturais para criar ambiente favorável aos antagonistas e resistência hospedeira ou ambos os casos.

As interações antagônicas entre microorganismos com o hospedeiro, podem ter seus mecanismos divididos em: antibiose, competição, parasitismo, predação, hipovirulência e indução de defesa do hospedeiro (BOOSALIS, 1964; BAKER & COOK, 1974; SCHROTH & HANCOCK, 1981; BLAKEMAN & FOKKEMA, 1982; COOK & BAKER, 1983;

MEINHARDT, 1984 e COOK, 1985).

Tem-se por definição de antibiose a interação entre dois ou mais organismos na qual uma substância produzida por um microorganismo, tem um efeito capaz de causar danos ao outro, podendo ocorrer inibição no crescimento ou a morte. A competição entre microorganismos se dá principalmente por alimentos (carboidratos, nitrogênio e fatores de crescimento), espaço e oxigênio. O termo parasitismo é utilizado para referenciar o fenômeno de um microorganismo parasitar o outro, podendo este microorganismo atacar hifas e estruturas de frutificação dos patógenos, diminuindo a infestação e/ou a fonte de inóculo. Organismos predadores são os que obtêm seu alimento dos patógenos e de várias outras fontes. As interações antagonista podem atingir um ou mais mecanismo.

De acordo com as características supra citadas, que coincidem com as afirmações de ELAD et alii (1980), as espécies de *Trichoderma* que possuem capacidade de hiperparasitismo, podem ser classificados como antagonistas altamente eficientes. Alguns autores tem demonstrado, através de testes "in vitro", a atividade antagonista de várias espécies de *Trichoderma* (HENNIS et alii, 1979; BELL et alii, 1982; SIVAN et alii, 1984; HOMECHIN, 1987; ILLIPRONT JUNIOR, 1991 e MARTINS, 1988).

Segundo MENEZES (1988) o conhecimento do potencial antagônico do *Trichoderma spp*, principalmente o *T. harzianum*, tem despertado a atenção dos pesquisadores para a sua utilização no biocontrole de patógenos do solo, tais como: *Pythium spp*; *Sclerotium rolfsii*, *Macrophomina phaseolina* e *Rhizoctonia solani*.

LINCK (1992), vê um grande futuro na utilização de agentes

biológicos na agricultura, pela excepcional habilidade do fungo *Trichoderma* em estimular o crescimento de plantas, visto que este aumentou de 54 a 100% a produção de alface, quando incorporado ao composto utilizado na adubação dos canteiros. Também na floricultura, bons resultados foram conseguidos no cultivo de petúnias.

Vários autores atribuíram a supressividade de alguns solos à *R. solani* à uma alta população de *Trichoderma spp* (CHET & BAKER, 1980; COOK & BAKER, 1983 e WIJETUNGA et alli, 1984).

ELAD et alii (1982), verificaram que a habilidade de isolados de *T. harzianum* para o controle de *Pythium aphanidermatum* foi correlacionada com o nível de produção de enzimas hidrolíticas no solo. Segundo KELLEY (1976), uma preparação de *T. harzianum* quando incorporada ao solo simultaneamente com inóculo de *Phytophthora cinnamomi*, foi efetivo na redução da incidência de tombamento induzido pelo patógeno em *Pinus*.

Estudando a ação de algumas espécies de *Trichoderma* a *Rhizoctonia solani* em meio de cultura, WEINDLING (1934) verificou que o princípio inibidor era excretado no meio pelas hifas jovens. Em condições de solo estéril, o mesmo autor observou que o princípio inibidor a *R. solani* é produzido 2 dias após a germinação dos esporos do antagonista.

Segundo alguns autores (ALLEN & HAENSLER, 1935, STESSÉL et alii, 1953; SYCHEV & SHAPOSHNIK, 1982 e WASKMAN & HORNING, 1943), filtrados de culturas de algumas espécies de *Trichoderma* possuem efeito sobre o crescimento micelial de *R. solani*, *Fusarium sp* e

S. sclerotiorum.

Já na inibição de determinados patógenos ARTIGUES & DAVET (1982) afirmaram que a capacidade de isolados de *Trichoderma* varia em função da sua origem e da soma de atividade das enzimas produzidas como quitinases e glucanases. O mecanismo de antagonismo de *Trichoderma* sobre *R. solani*, segundo afirmam CHET & BAKER (1980), é o parasitismo seguido de lise e antibiose.

VIRGENS et alii (1990), no sentido de encontrar agentes de controle biológico contra *R. solani* e *M. phaseolina* em feijoeiro comum e caupi, selecionaram diversos isolados de *Trichoderma spp.* Cinco reduziram acima de 20% a incidência da podridão radicular de *Rhizoctonia*, sete apresentaram alta capacidade de controle independente do hospedeiro e outros sete isolados suprimiram significativamente a doença do feijoeiro.

Em experimentos realizados em casa de vegetação SY et alii (1983b) verificaram que isolados de *Micromonospora sp* e *Trichoderma sp* inibiram a severidade da doença causada por *Pyricularia oryzae*. RIBEIRO (1987) estudando a ação de microorganismos no controle biológico de doenças do arroz irrigado, verificou que *Trichoderma*, *Trichothecium* e *Nigrospora* inibiram o crescimento de colônias de *P. oryzae* e *Helminthosporium oryzae*.

SILVEIRA et alii (1991), trabalhando "in vitro" com cinco isolados de *T. viride*, visando selecionar os antagônicos a *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*, *R. solani*, *S. rolfsii*, *M. phaseolina* e *S. sclerotiorum*, tendo como meios de cultura BDA e malte - agar (MA), verificaram que em BDA os isolados testados inibiram totalmente *R. solani*, *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii*,

enquanto que para *F. oxysporum* houve menor sensibilidade a metabólitos de *T. viride* nos dois meios.

JÁ MICHEREFF & MENEZES (1991), observaram a influência "in vitro" de metabólitos não voláteis produzidos por *T. viride* (isolado TR2), *T. aureoviride* (T10), *T. koningi* (T15), *T. harzianum* (T25) e *T. pseudokoningii* (T26) no antagonismo a *Colletotrichum graminicola*, causador da antracnose do sorgo. Verificou-se que em 5 dias T25 inibiu o crescimento do patógeno em 100%. Outro aspecto importante foi analisado por MICHEREFF et alii, (1991), nas interações entre três espécies de *Trichoderma* e *C. graminicola* no filoplano de plantas de sorgo. Observou-se que o número de tubos germinativos formados pelo patógeno variou de 1 a 4 por conídio, entretanto, esse número foi reduzido nas amostras onde os antagonistas foram aplicados.

O biocontrole de *Verticillium dahliae* através de *T. viride* em cultura de algodão e em berinjela, foi alcançado pela primeira vez na Rússia (MÁROIS et alii, 1982). Em solo previamente infestado com *V. dahliae*, JORDAN & TARR (1978), empregaram *T. viride* e constataram uma redução significativa na incidência da doença em plantas de morangueiro, além de um considerável aumento no tamanho das mesmas.

MARTINS (1988), trabalhando com isolados de *Trichoderma*, provenientes de diferentes locais testou o potencial antagônico contra *Verticillium dahliae* em berinjela e verificou que alguns isolados foram capazes de exterminar *V. dahliae* em meio de cultura extrato de malte e milho pipoca. Verificou ainda que ocorreu parasitismo por muitos mecanismos, e que os antibióticos

produzidos em meio de cultura por *T. koningii* e *T. viride* podem inibir seu próprio metabolismo. Também que estes antagonistas favoreceram a emergência de plântulas, sobrevivendo no solo durante o ciclo da cultura controlando ou reduzindo a incidência da murcha, e que o isolado CNP17 (*T. harzianum*) foi eficiente na redução do inóculo de *V. dahliae*, proporcionando o controle da doença em até 95%, em condições naturais de campo.

BASTOS (1990), avaliou em condições de campo a capacidade antagônica de *T. viride* em reduzir e/ou impedir a esporulação de *Crinipellis perniciosus*, agente causador da vassoura-de-bruxa em cacauzeiros e os resultados mostraram que os tratamentos inibiram significativamente a produção de basidiocarpos em relação a testemunha.

BLUM & LIN (1991), avaliaram o potencial de controle de *Trichoderma* e *Pseudomonas* fluorescentes no tombamento de mudas de eucalipto causado por *Cylindrocladium spp.*, utilizando diversos isolados e três substratos. Alguns isolados de *Trichoderma* se mostraram eficientes no controle do tombamento causado por *C. scoparium* e *C. clavatum* em *Eucalyptus urophylla*.

2.3. Substratos para desenvolvimento e multiplicação dos antagonistas.

A incapacidade de se estabelecerem em novo ambiente é um dos grandes problemas na aplicação de antagonistas ao solo

(ALEXANDER, 1977 e BOOSALIS & MANKAU, 1970). Segundo COOK & BAKER (1983) a adição de substrato colonizado pelo antagonista pode não ser útil se os nutrientes nele contidos estimularem o crescimento do patógeno. *T. harzianum* pode sobreviver em solo sem uma boa base alimentar por mais de 130 dias, mas não se multiplica na rizosfera de plântulas de feijão e ervilha quando não se dispuser de substrato em condições favoráveis (PAPAVIZAS, 1982).

Nos últimos anos partes desses problemas têm sido eliminadas através da adição de agentes de biocontrole ao solo após serem desenvolvidos em substratos que sirvam de alimento como base (BACKMAN & RODRIGUEZ-KABANA, 1975 e HADAR et alii, 1979).

Diferentes substratos tem sido testados na produção de inóculo de antagonistas, principalmente para espécies do gênero *Trichoderma*, como farelo de trigo (CHANG et alii, 1986; ELAD et alii, 1980; HADAR et alii, 1980), farelo de trigo - turfa 1:1 (CHANG & KOMMENDAHL, 1968), grãos de centeio (WELLS et alii, 1972) grãos de cevada triturados (MIALL, 1975; WELLS et alii, 1972) haste de algodão segmentada (CHANG et alii, 1986) palhas de gramíneas picadas e umidecidas com solução mineral ácida (DAVET et alii, 1981). Segundo SANTOS & PEREIRA (1986) o fungo *Trichoderma* teve ótimo crescimento no meio de cultura chamado de BAA (Batata - Algaroba - Agar), onde a dextrose utilizada no conhecido BDA foi substituída pelo caldo da vagem de algaroba, devido a riqueza de sua composição química.

Os pesquisadores tem procurado estudar misturas de dois ou mais produtos para multiplicação de *T. harzianum* e *T. hamatum*, entre os quais: farelo de trigo, serragem, água (3:1:4) (ELAD et

alii. 1980); farelo de trigo, turfa vegetal, água em partes iguais (CHANG et alii, 1986); farelo de trigo -200g, areia -200g, água - 200ml (MIHUTA-GRIMM & ROWE, 1986), tendo conseguido excelentes resultados, na multiplicação dos antagonistas.

LYNCH (1992), tem conseguido boa multiplicação, incorporando *Trichoderma* em resíduos do refino do açúcar e depois adicionado a composto orgânico.

MIALL (1975), trabalhando com hastes de plantas de trigo e serragem de madeira, para multiplicar e incorporar ao solo *T. viride*, antes de infestar com os patógenos *R. solani* e *S. rolfsii*, observou que a haste de trigo foi superior a serragem, para esporo pulverizado, bem como para aplicação do substrato colonizado.

SANTOS (1989) na procura de substratos de boa qualidade e de baixo custo, utilizou a farinha do fruto da algaroba (FFA), devido a grande ocorrência desta leguminosa no semi-árido nordestino e pela riqueza de sua composição química, confirmada nos trabalhos de SILVA (1986) e de BATISTA (1992), verificando que *Trichoderma* se desenvolve bem neste substrato. PAPAIVIZAS (1985), afirma que a colonização primária do substrato por *Trichoderma* antes da adição ao solo, é uma das maneira de superar a colonização secundária dos microorganismos no solo e aumentar as chances do estabelecimento e proliferação do antagonista.

2.4. Tratamento biológico de sementes

De acordo com BROWN (1974) e COOK & BAKER (1983), o método de controle biológico é um dos mais efetivos e econômicos, porque se pode introduzir antagonistas junto com o material de plantio, com a finalidade de proteger as raízes contra patógenos e aumentar o desenvolvimento de plântulas.

KOMMEDAHL & WINDELS (1978), afirmaram que o tratamento biológico de sementes com antagônicos é um método importante e econômico, pois pode dar proteção de pré e pós-emergência das plântulas, atuando na destruição do inóculo de patógenos nas sementes.

Segundo alguns autores (DHINGRA et alii, 1980; HALLOIN, 1986 e HOMECHIN, 1986), os fungos antagonistas mais empregados e efetivos no tratamento de sementes de várias culturas são *Chaetomium spp*, *Penicillium spp* e *Trichoderma spp*.

As principais características que um antagonista deve ter para que seja eficiente no tratamento de sementes, é que tenha capacidade de rápido estabelecimento e habilidade para competir por nutrientes, produzir antibióticos, atuar por parasitismo direto e lise, e que sobreviva por longos períodos na superfície das sementes tratadas (AYRES & ADAMS, 1981; HENNIS, 1984; COOK & BAKER, 1983 e WOOD & TVEIT, 1955).

Espécies de *Trichoderma* e *Gliocladium* além de serem boas produtoras de metabólitos tóxicos podem produzir várias enzimas, como as exo e endoglucanases, as celobiases e as quitinases (PAPAVIZAS, 1985).

O sucesso das espécies do fungo *Trichoderma*, no controle



biológico pela inoculação de sementes depende de fatores tais como: idade do esporo (KOMMEDAHL et alii, 1981), concentração de inóculo em função do tipo de solo (HADAR et alii, 1984), pH e temperatura (HARMAN et alii, 1981 e KAISER, 1984), concentração e potencial de inóculo do patógeno a ser controlado no solo (KAISER, 1984).

O gênero *Trichoderma* possui espécies como *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. viride* e *T. koningii*, que aplicadas em sementes na forma de esporos, exercem proteção contra os patógenos causadores de doenças em plântulas, sendo ainda ativos na colonização da rizosfera de plântulas de algodão, beterraba, *Citrus spp.*, ervilha, grão-de-bico, milho, mostarda, rabanete e soja (LIU & VAUGHAM, 1965; HARMAN et alii, 1980; GRAY, 1981; KOMMENDAHL et alii, 1981; HUBBARD et alii, 1982; PAPAIVIZAS, 1982; HADAR et alii, 1984 e KAISER, 1984).

Já LIFSHITZ et alii (1986), aplicando conídios de *T. harzianum* e *T. koningii*, verificaram uma redução no tombamento de mudas causado por *Pythium sp.* em sementes de ervilha.

HOMECHIN (1987), trabalhando com isolados brasileiros de *T. harzianum* para controle de patógenos da soja, observou que alguns isolados foram capazes de inibir os fungos *M. phaseolina*, *S. rolfsii* e *R. solani* em meio de cultura, onde *R. solani* também foi inibida pelo tratamento biológico das sementes de soja, tendo os substratos influenciado *T. harzianum* no tratamento das sementes de soja, elevando a emergência de plântulas. Mostrou também que os isolados antagonistas tem potencial para proteção de sementes e posteriormente da planta contra fungos presentes em sementes e

Cont
biod
de
cont
Cont
biod
Atuel

no solo.

LARANJEIRA & MENEZES (1991), trabalhando com os isolados de *T. harzianum* (T25), *T. viride* (TR2) e *T. koningii* (T15), No controle de *R. solani* em plântulas de algodão, obtiveram maior eficiência quando os isolados foram aplicados ao solo do que no tratamento das sementes.

ILLIPRONTI JUNIOR (1991), selecionou entre os diversos isolados de fungos antagônicos do Alto-Paranaíba - MG, cinco isolados de *Trichoderma* para avaliar o potencial no tratamento biológico de sementes de soja e feijão contra *Sclerotinia sclerotium*, obtendo resultados satisfatórios, em relação aos parâmetros estande, germinação e índice de velocidade de emergência.

MENEZES (1992) avaliou o efeito de espécies de *Trichoderma* no controle de *M. phaseolina*, através do tratamento de sementes de feijão (CV. IPA 7419) e do solo. Das espécies estudadas o *T. harzianum* destacou-se por mostrar um controle mais efetivo no solo. Verificou-se ainda que os antagonistas promoveram uma boa germinação e crescimento das plantas de feijão. Também, PORFIRIO-SILVA & HOMECHIN (1992), buscando selecionar isolados de *Trichoderma spp* com potencial para proteção de sementes e plântulas de tomateiro cv. AGROCICA 33, contra *R. solani*, obtiveram bons resultados com solo não tratado em casa de vegetação, empregando isolados de *T. koningii* (Tch-2) e *T. hamatum* (Tch-4), obtidos de plantas de tomateiro infectadas pelo patógeno e verificaram aumento no percentual de emergência e redução do número de plantas colonizadas pelo patógeno.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado nos Laboratórios de Sementes Florestais, de Análises de Sementes e de Patologia de Sementes dos Departamentos de Ciências Florestais, de Agricultura e de Fitossanidade, respectivamente, da Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL), Minas Gerais, em 1992.

3.1. Procedência das sementes

As sementes de aroeira do sertão [*Astronium urundeuva* (Fr. All.) Engl.] foram provenientes do semi-árido paraibano e posteriormente, armazenadas no Laboratório de Sementes, do Departamento de Engenharia Florestal, do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal da Paraíba, Campus VII, na cidade de Patos-PB. Em Lavras as sementes foram armazenadas em câmara própria do Laboratório de Patologia de Sementes a uma temperatura de $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$. As sementes utilizadas nos experimentos foram aquelas que externamente se apresentavam perfeitas.

3.2. Isolados de *Trichoderma* sp.

Os isolados TR2 (*Trichoderma viride* Pers ex S.F. Gray) e o T25 (*Trichoderma harzianum* Rifai), já devidamente identificados, foram procedentes do Departamento de Micologia da UFPE em Recife-PE.

3.3. Avaliação da sanidade das sementes de aroeira do sertão

A sanidade das sementes de aroeira (*Astronium urundeuva*) foi avaliada pelo método de incubação em papel de filtro ("Blotter Test") (NEERGAARD, 1977), onde foram analisadas 400 sementes não tratadas, divididas em 8 repetições, sendo cada uma formada por uma placa de Petri de polietileno (tipo STD) de 15,0cm de diâmetro, contendo 50 sementes. Nas placas devidamente esterilizadas foram colocados assepticamente 3 discos de papel de filtro umedecidos com água estéril, onde as sementes foram colocadas e em seguida levadas para a câmara de incubação por um período de 7 dias, com temperatura regulada em $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, sob um regime de luz alternada (12h luz/12h escuro).

Após o período de incubação, realizou-se a identificação e quantificação, em percentagem, dos fungos sobre as sementes, com auxílio de microscópio estereoscópico, bem como através de preparação de lâminas e observações ao microscópio ótico.

Os fungos que não puderam ser identificados no DFS da ESAL, foram enviados para o Departamento de Micologia da UFPE para identificação.

Os fungos antagonistas, assim como os obtidos no teste de

sanidade, foram preservados em tubos de ensaio contendo água destilada esterilizada, segundo a técnica descrita por Castelaní, citada por FIGUEIREDO (1967).

3.4. Substratos para multiplicação dos isolados de *Trichoderma*.

Os três substratos utilizados na multiplicação dos isolados de *Trichoderma* (TR2 e T25) foram: arroz, quirera de milho, ambos obtidos em Lavras - MG e o fruto (vagem) da algarobeira (*Prosopis juliflora* (SW) D.C.) triturado, procedente da cidade de Patos - PB. 100g de cada substrato seco foram recolhidos em sacos de polipropileno de 1 kg de capacidade e umedecidos com 100ml de água destilada. Após a homogeneização da mistura, os sacos foram selados e autoclavados a 121°C/30 min. por duas vezes.

3.5. Obtenção dos inóculos de *Trichoderma* para incorporação ao solo.

Os isolados TR2 e T25 foram desenvolvidos em placas com meio BDA por 4 dias em câmara de incubação a temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$, sob regime de luz alternada (12h luz/12h escuro). Após esse período tomou-se uma placa de cada isolado preparou-se as suspensões de esporos pela diluição em água destilada esterilizada e ajustou-se a concentração das suspensões em 10^6 esporos/ml, pela contagem em Câmara de Newbauer.

Os três substratos foram infestados com as suspensões de

esporos de TR2 e T25, 24h após a última autoclavagem, através de seringas de uso veterinário de 50ml, colocando-se apenas 10ml da suspensão por saco com 100g do substrato. Após a aplicação, o orifício da agulha foi tampado com fita crepe, para em seguida serem acondicionados em câmara de incubação por um período de 15 dias, a uma temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, sob regime de luz alternada (12h luz/12h escuro).

3.6. Tratamento biológico das sementes de aroeira do sertão.

Segundo metodologia usada por HOMECHIN (1987), os esporos de *Trichoderma* para tratamento das sementes de aroeira do sertão foram obtidos pela retirada de 5g dos substratos (algaroba, quirera de milho e arroz) colonizados com os isolados TR2 e T25, que colocados em Erlenmeyers contendo 100ml de água destilada esterilizada, procedeu-se a agitação por 2 minutos, para em seguida passarem na peneira de 325 mesh (0,044mm ABNT). Foram feitas diluições para se ajustar a concentração das suspensões, no total de 6, para 10^6 esporos/ml.

Para cada tratamento foram adicionados 2 ml de suspensão de esporos sobre 10g de sementes de aroeira (*A. urundeuva*), acondicionadas em placas de Petri esterilizadas. As sementes foram revolvidas por dois minutos afim de promover uma impregnação homogênea dos esporos. Após o tempo de tratamento as sementes foram secas ao ar na sombra.

Neste experimento os tratamentos utilizados foram T1 (algaroba X TR2), T2 (quirera X TR2), T3 (algaroba X T25), T4 (arroz X TR2), T5 (quirera X T25), T6 (arroz X T25) e T7

(testemunha), onde os tratamentos foram realizados com 400 sementes em 8 repetições de 50. As sementes acondicionadas em caixas tipo "gerbox", tendo como substrato papel "kimpak" umidificado com água destilada e depois levadas para germinador, fabricado pela Fanem, à temperatura constante de 25°C, na presença de luz por 7 dias.

Para este experimento os parâmetros avaliados foram:

a) Incidência de fungos: ao 7º dia, observou-se a incidência dos fungos que resistiram ao tratamento biológico das sementes, apresentando o resultado em percentagem.

b) Teste de germinação: ao 7º dia as caixas gerbox foram retiradas do germinador. Considerou-se germinadas as sementes que apresentavam no mínimo emissão de radícula, avaliada em termos percentuais.

3.7. Efeito biológico da incorporação dos antagonistas TR2 e T25 ao solo.

O solo utilizado foi uma mistura de Latossolo + areia, na proporção de 1:1, bem revolvido e peneirado. Parte do solo foi separado e fumigado com brometo de metila, ficando em repouso por uma semana. A análise do solo revelou pH 4,3 e alto (70%) teor de Al^{+++} .

As misturas areia + solo fumigado e não fumigado foram colocadas em caixas plásticas com dimensão de 42 X 28 X 10cm, preenchidas e niveladas na altura de 8cm.

As caixas receberam calagem, adubação e solução de

micronutrientes, ficando em repouso por 40 dias.

Após este período, com umidade inicial regulada para 70% da capacidade de campo, procedeu-se a infestação do solo incorporando-se 100g de substrato (algaroba ou quirera ou arroz) colonizados pelos isolados antagonistas TR2 e T25. Revolveu-se bem o solo para obter uma mistura homogênea (solo + substrato), ficando as caixas em repouso por 48h.

Em seguida foram semeadas 400 sementes de aroeira por tratamento, com os mesmos 7 tratamentos descritos em 3.6., com adição de mais um (o T8 - solo fumigado) em 8 repetições de 50 sementes. O semeio se deu em sulcos a uma profundidade de 2cm, com o fechamento dos sulcos em seguida. As caixas foram regadas uniformemente e levadas para a Câmara de Crescimento Vegetal, a uma temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa em torno de 80%, sob regime de luz alternada (12h luz/12h escuro) e com regas controladas. Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado (DIC).

Foram feitas observações diárias da emergência das plântulas.

Para este experimento os parâmetros avaliados foram:

a) Stand inicial: determinado efetuando-se a contagem das plântulas normais emergidas aos 7 dias após a semeadura. Considerou-se como emergidas todas as plântulas que apresentavam os cotilédones em posição inteiramente na vertical fechados ou abertos, com os resultados expressos em percentagem.

b) Stand final: determinado através da contagem de plântulas emergidas aos 14 dias após a semeadura, considerando-se normais todas as plântulas que pelo menos apresentavam os cotilédones em

posição vertical fechados ou abertos, com os resultados expressos em percentagem.

c) Índice de Velocidade de Emergência (IVE): para a obtenção deste parâmetro, foram contados diariamente o número de plântulas emergidas, a partir do 1º dia até a completa estabilização, considerando-se emergidas as que apresentavam pelo menos os cotilédones na vertical fechados ou abertos. De posse dos dados calculou-se o índice de emergência de acordo com a metodologia descrita por MARCOS FILHO et alii (1983), utilizando-se a fórmula de Maguirre:

$$IVE = \frac{E1}{N1} + \frac{E2}{N2} + \dots + \frac{En}{Nn} ; \text{ onde:}$$

IVE = Índice de Velocidade de Emergência;

E1 ... En = nº de plântulas emergidas em cada dia considerado;

N1 ... Nn = nº de dias decorridos da sementeira até a respectiva contagem.

Os dados obtidos foram analisados segundo o esquema fatorial 3 X 2, com um tratamento adicional para o item 3.6. e com dois adicionais para o item 3.7.

Nos parâmetros em que os dados foram obtidos em percentagem foi feita sua transformação para arc sen $\sqrt{X/100}$, e as médias comparadas pelo teste de Tuckey a 5%.



4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Sanidade das sementes de aroeira do sertão.

Pode-se observar (Tabela 1) que dentre os fungos associados as sementes de aroeira, os de maiores ocorrências foram *Aspergillus sp* (69%) (incluindo as cinco espécies em ordem decrescente *A. flavus*, *A. niger*, *A. glaucus*, *A. ochraceus*, e *A. candidus*) e *Penicillium variabile* (19,5%). Estes dois gêneros são considerados como os principais fungos de grãos e sementes armazenadas (CHRISTENSEN & KAUFMANN, 1969), sendo considerados um dos importantes fatores de deteriorização de sementes, incluindo redução da germinação, descoloração do embrião ou de toda semente, mudanças bioquímicas, acumulação de toxinas e perda de peso. Isto vem mostrar a necessidade de se fazer o teste de sanidade como rotina, tendo em vista a diversificação de fungos que vem associados as sementes.

Tabela 1. Fungos associados (%) as sementes de aroeira do Sertão, detectados pelo teste de incubação em papel de filtro. ESAL, Lavras-MG, 1992.

FUNGOS	% OCORRENCIA
<i>Aspergillus sp.</i>	69,0
<i>Penicillium variabile</i>	19,5
<i>Epicocum pupuracens</i>	2,5
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	2,5
<i>Fusarium sp.</i>	1,75
<i>Nigrospora sphaerica</i>	1,5
<i>Phomopsis sp.</i>	1,5
<i>Phoma destructiva</i>	0,25
<i>Papulaspora imersa</i>	0,25
<i>Chaetomium cupreum</i>	0,25
<i>Torula herbarum</i>	0,25
<i>Alternaria alternata</i>	0,5
<i>Pestalotiopsis sp.</i>	0,25

4.2. Tratamento biológico das sementes de aroeira.

4.2.1. Incidência de fungos nas sementes.

Após o tratamento biológico das sementes de aroeira com TR2 e T25, observou-se que todos os fungos foram controlados, com exceção do gênero *Aspergillus*, onde apareceram as espécies *A. flavus* e *A. niger*, caindo de 69% para 6,75% em relação ao teste de sanidade. Pode-se observar (Figura 1), que todos os tratamentos foram significativamente superiores em relação a testemunha, confirmando o potencial antagônico do gênero *Trichoderma* para o tratamento de sementes, como verificado em outros trabalhos (COOK & BAKER, 1983; HADAR et alii, 1984; KAI-SER, 1984; KOMMEDAHL et alii, 1981; LIU & VAUGHAM, 1965; PAPA-VIZAS, 1982; LIFSHITZ et alii, 1986 e HOMECHIN, 1987).

4.2.2. Teste de germinação.

Analisando a Figura 2, pode-se observar que o tratamento 7 (testemunha) apresentou uma taxa de germinação em torno de 61%. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por MACHADO et alii (1992), que verificaram a germinação de aroeira em torno de 60-70%. Entretanto, discordam de FELICIANO (1989) que obteve 81%. Dos tratamentos com os fungos antagonistas apenas o tratamento 1 (algaroba x *T. viride*), o 5 (quirera x *T. harzianum*) e o 6 (arroz x *T. harzianum*) diferiram significativamente do tratamento 7 (testemunha), aumentando em quase 15% o poder germinativo das sementes de aroeira. Embora os demais tratamentos não tenham

TRATAMENTOS

1. Algaroba x *T. viride*
2. Quirera x *T. viride*
3. Algaroba x *T. harzianum*
4. Arroz x *T. viride*
5. Quirera x *T. harzianum*
6. Arroz x *T. harzianum*
7. Testemunha

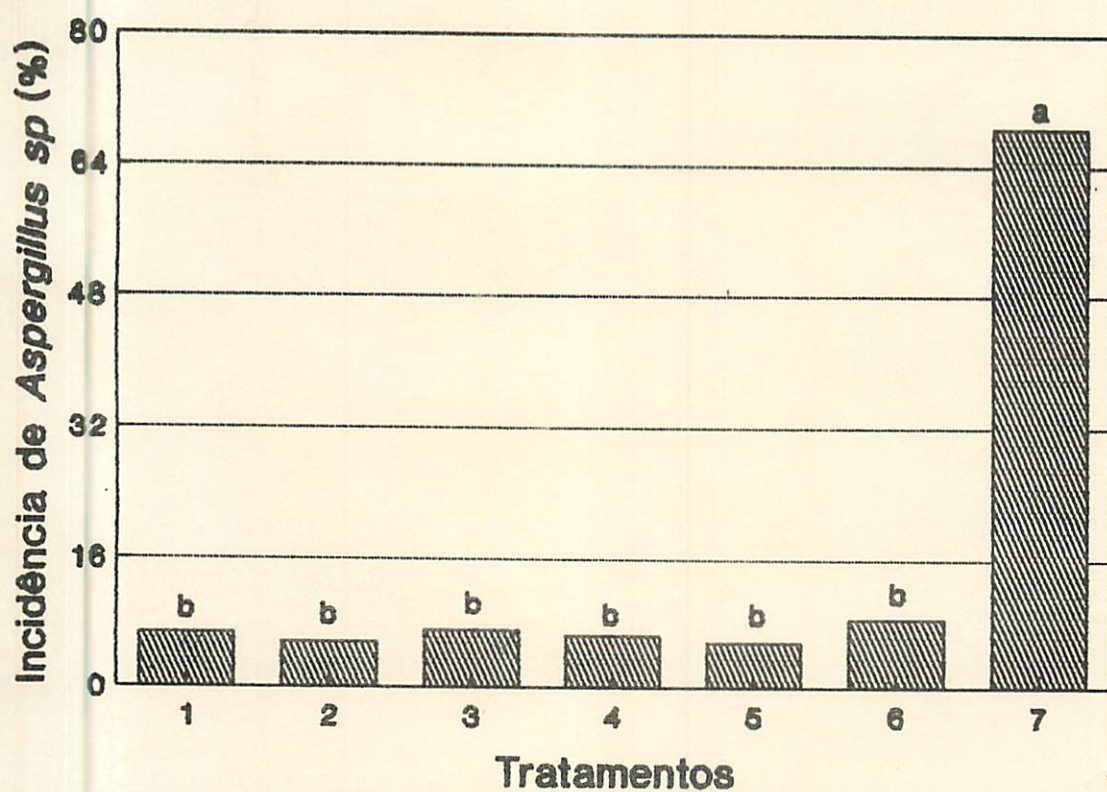


Figura 1. Incidência média de *Aspergillus* sp. em sementes de aroeira do sertão, tratadas biologicamente com *T. viride* (TR2) e *T. harzianum* (T25) cultivados em tres substratos. ESAL, Lavras-MG, 1992.

TRATAMENTOS

1. Algaroba x *T. viride*
2. Quirera x *T. viride*
3. Algaroba x *T. harzianum*
4. Arroz x *T. viride*
5. Quirera x *T. harzianum*
6. Arroz x *T. harzianum*
7. Testemunha

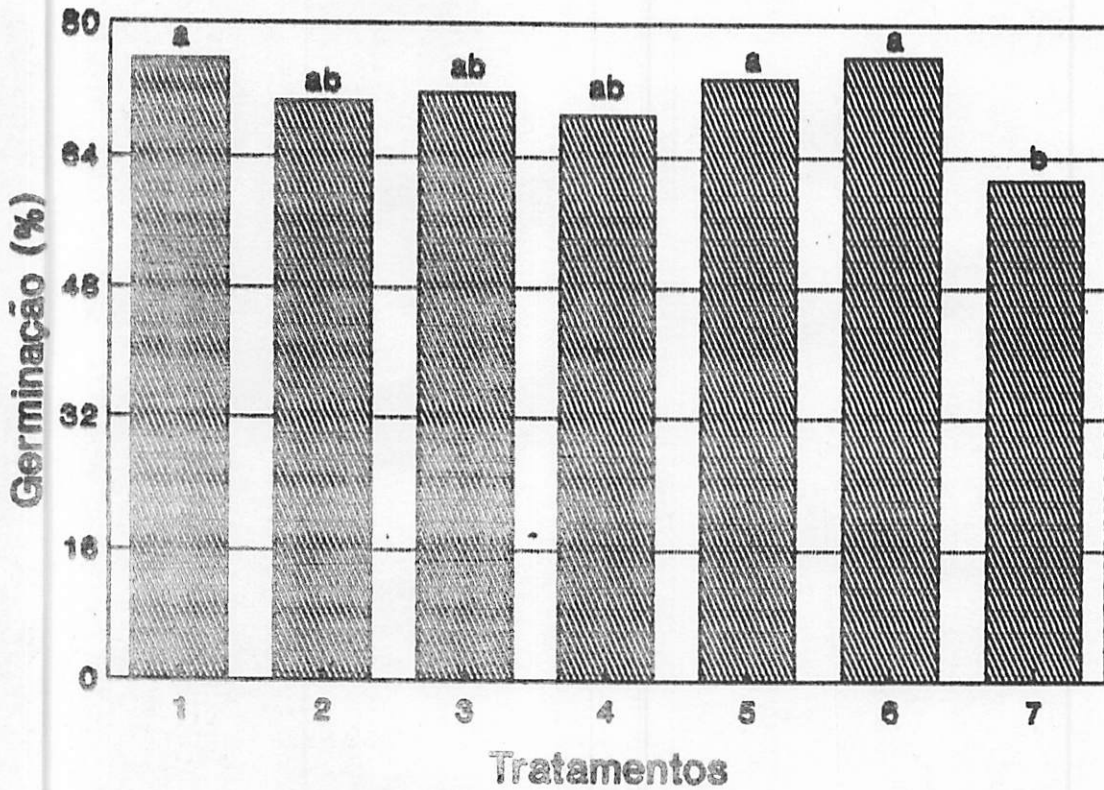


Figura 2. Percentual de germinação das sementes de aroeira do sertão, tratadas biologicamente com *T. viride* (TR2) e *T. harzianum* (T25) cultivados em três subtratos aos 7 dias. ESAL, Lavras-MG, 1992.

diferido significativamente da testemunha todos aumentaram o percentual de germinação. Resultados semelhantes foram verificados em trabalhos por ILLIPRONTI JUNIOR (1991) e MENEZES (1992), trabalhando respectivamente com feijão e soja, e com feijão.

4.3. Efeito biológico da incorporação dos antagonistas TR2 e T25 ao solo.

4.3.1. Stand inicial.

Pela Figura 3 observa-se que os tratamentos 8 (solo fumigado) e 4 (algaroba x *T. viride*), foram superiores a todos os tratamentos com os fungos antagonistas. Ambos diferiram significativamente em relação ao tratamento 6 (arroz x *T. harzianum*) e a testemunha. Os demais não diferiram significativamente. Dessa forma o solo fumigado mostrou-se melhor para este parâmetro.

Na Tabela 2, pode-se observar que houve diferença significativa do *T. harzianum* cultivado em arroz (Trat. 6) em relação aos demais substratos e *T. viride*, mostrando que o stand inicial para esta combinação (arroz x *T. harzianum*), foi similar a testemunha.

TRATAMENTOS

1. Algaroba x *T. viride*
2. Quirera x *T. viride*
3. Algaroba x *T. harzianum*
4. Arroz x *T. viride*
5. Quirera x *T. harzianum*
6. Arroz x *T. harzianum*
7. Testemunha
8. Solo fumigado

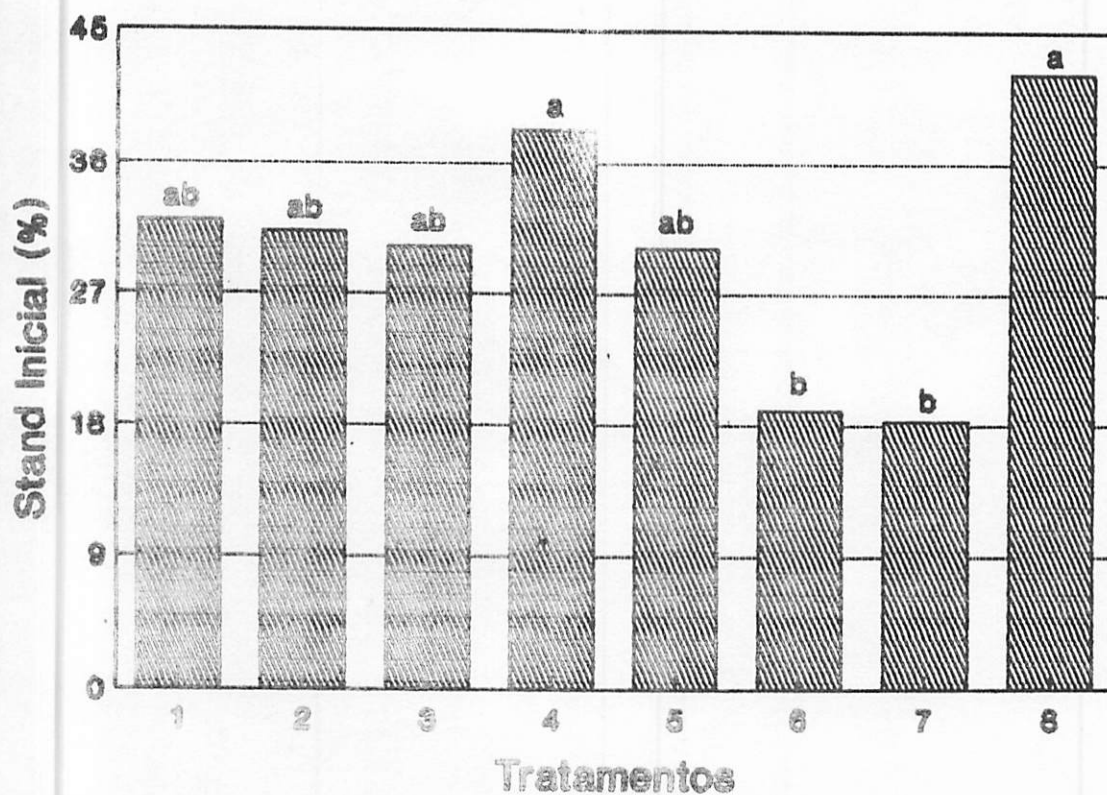


Figura 3. Percentual médio de plantas emergidas aos 7 dias, pela incorporação ao solo de substratos colonizados com *T. viride* (TR2) e *T. harzianum* (T25). ESAL Lavras-MG, 1992.

Tabela 2. Percentual médio de plântulas emergidas aos 7 dias, em solo incorporado com *T. viride* (TR2) e *T. harzianum* (T25) cultivados em três substratos. ESAL, Lavras - MG, 1992.

SUBSTRATO	FUNGO	
	<i>T. viride</i>	<i>T. harzianum</i>
ALGAROBA	32,00aA	30,27aA
QUIRERA	31,27aA	30,17aA
ARROZ	38,29aA	19,04bA

Médias seguidas de letras minúsculas iguais na linha e letras maiúsculas iguais na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tuckey 5%.

4.3.2. Stand final

Observa-se na Figura 4, que embora estatisticamente o tratamento 1 (algaroba x *T. viride*) não tenha diferido significativamente do 3 (algaroba x *T. harzianum*), do 4 (arroz x *T. viride*) e do B (solo fumigado), houve diferença significativa dele em relação aos demais, principalmente em relação a testemunha. Pode-se observar ainda que os tratamentos 1 e 3 aumentaram em torno de 16% a emergência de plântulas de aroeira, em relação ao solo fumigado.

Os resultados mostram que a incorporação de substrato já

TRATAMENTOS

1. Algaroba x *T. viride*
2. Quirera x *T. viride*
3. Algaroba x *T. harzianum*
4. Arroz x *T. viride*
5. Quirera x *T. harzianum*
6. Arroz x *T. harzianum*
7. Testemunha
8. Solo fumigado

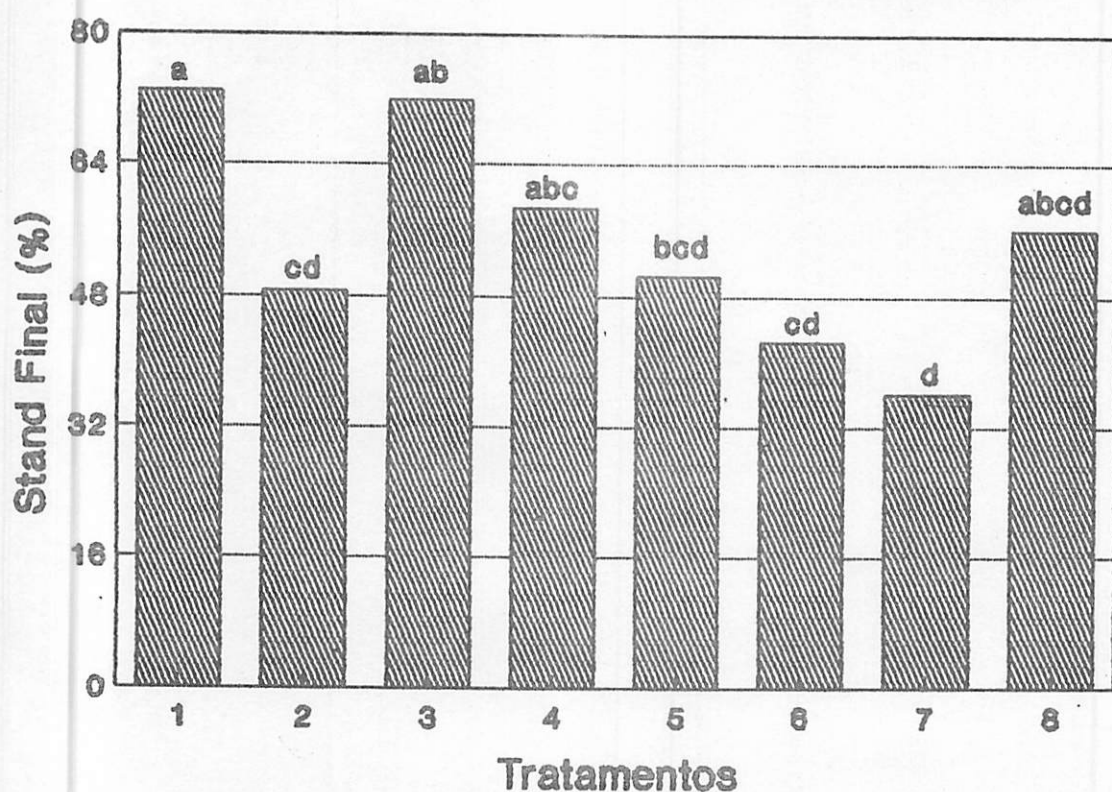


Figura 4. Percentual médio de plantas emergidas aos 14 dias, pela incorporação de substratos colonizados com *T. viride* (TR2) e *T. harzianum* (T25). ESAL, Lavras-MG, 1992.

colonizado com antagonistas ao solo antes do plantio tem efeito biológico externado através do desenvolvimento das plântulas (PAPAVIZAS, 1985 e LYNCK, 1992).

Em termos percentuais observa-se que a fumigação do solo mostrou maior eficiência quando se avaliou o stand inicial do que a avaliação do stand aos 14 dias. Isto se explica pelo fato de que o tratamento químico tem ação imediata, enquanto o tratamento biológico tem ação lenta, porém prolongada.

Já em relação aos substratos, pode-se observar (Tabela 3), que houve diferença significativa do substrato algaroba em relação aos outros dois (quirera e arroz), mostrando que a composição química do substrato pode influenciar na colonização e desenvolvimento de fungos antagonistas antes e depois da incorporação ao solo. Desta forma a riqueza da composição química da algaroba destacada por SILVA (1986) e por BATISTA (1992), deve ser responsável pelo aumento em termos percentuais, da emergência de plântulas aos 14 dias, certamente por propiciar melhor desenvolvimento dos antagonistas, ou não favorecer o patógeno. Em relação aos fungos antagonistas não ocorreu diferença significativa entre eles para este parâmetro.

Tabela 3. Percentual médio de plântulas emergidas aos 14 dias, em solo incorporado com *T. viride* (TR2) e *T. harzianum* (T25) cultivados em três substratos. ESAL, Lavras - MG, 1992.

SUBSTRATO	stand final (%)
Algaroba	72,34a
Quirera	50,56b
Arroz	49,59b

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tuckey a 5%.

4.3.3. Índice de Velocidade de Emergência.

Pode-se observar pela Figura 5, que os tratamentos 1 (algaroba x *T. viride*), 3 (algaroba x *T. harzianum*) e 8 (solo fumigado) diferiram significativamente em relação ao tratamento 6 (arroz x *T. harzianum*) e principalmente a testemunha, onde o índice velocidade de emergência foi praticamente o dobro. O tratamento 4 (arroz x *T. viride*) também diferiu significativamente em relação a testemunha e não diferiu significativamente em relação aos demais tratamentos. Já os tratamentos 2, 5 e 6, embora não tenham diferido significativamente da testemunha, todos melhoraram o índice de emergência de plântulas de aroeira, como verificado também em trabalhos com soja (HOMECHIN, 1987),

TRATAMENTOS

1. Algaroba x *T. viride*
2. Quirera x *T. viride*
3. Algaroba x *T. harzianum*
4. Arroz x *T. viride*
5. Quirera x *T. harzianum*
6. Arroz x *T. harzianum*
7. Testemunha
8. Solo fumigado

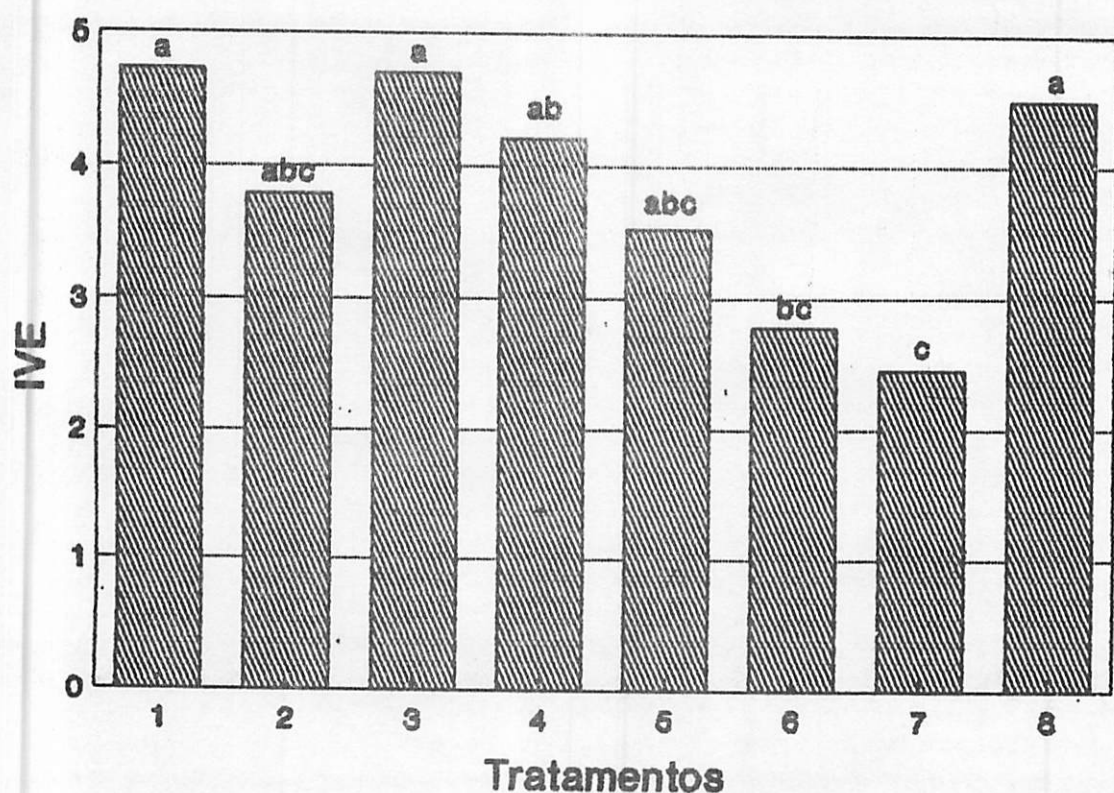


Figura 5. Média do Índice de Velocidade de Emergência (IVE) aos 14 dias, pela incorporação ao solo de substratos colonizados com *T. viride* (TR2) e *T. harzianum* (T25). ESAL, Lavras-MG, 1992.

berinjela (MARTINS, 1988) e com soja e feijão (ILLIPRONT JUNIOR, 1991).

No tabela 4, observa-se que houve diferença significativa do substrato algaroba em relação aos outros dois (quirera e arroz), mostrando mais uma vez que a composição química do substrato pode influenciar na colonização e desenvolvimento de fungos antagonistas antes e depois da incorporação ao solo. Deste modo o substrato pode melhorar as condições biológicas do solo (PAPAVIZAS, 1985 e LINK, 1992).

Em relação aos fungos antagonistas não houve diferença significativa entre eles, para este parâmetro.

Tabela 4. Valores médios do Índice de Velocidade de Emergência (IVE) aos 14 dias, em solo incorporado com *T. viride* (TR2) e *T. harzianum* (T25) cultivados em três substratos. ESAL, Lavras - MG. 1992.

SUBSTRATOS	IVE
ALGAROBA	4,71 a
QUIRERA	3,65 b
ARROZ	3,49 b

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tuckey a 5%.

5. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos e nas condições em que se desenvolveu o presente estudo, concluiu-se que:

1. Observou-se a redução da taxa de incidência de fungos e elevou o percentual de germinação das sementes de aroeira após tratamento biológico com *T. viride* (TR2) e *T. harzianum* (T25).

2. *T. viride* (TR2) foi similar ao *T. harzianum* (T25) quanto a redução da incidência de fungos nas sementes e da germinação das sementes.

3. O desempenho de *T. viride* (TR2) e *T. harzianum* (T25) foi melhor quando estes fungos foram cultivados no substrato algaroba do que em quirera de milho e arroz.

4. A incorporação de *T. viride* (TR2) e/ou *T. harzianum* (T25) ao solo, ou a sua fumigação com brometo de metila, propiciaram as plântulas de aroeira do serto índice de velocidade de emergência equivalente.

6. RESUMO

EFEITO BIOLÓGICO DE *Trichoderma viride* Pers. ex S.F. Gray e *T. harzianum* Rifai NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE AROEIRA DO SERTÃO [*Astronium urundeuva* (Fr. All.) Engl.] E NA INCORPORAÇÃO AO SOLO.

Autor: Gilvan José Campelo dos Santos

Orientador: Hilário Antônio de Castro

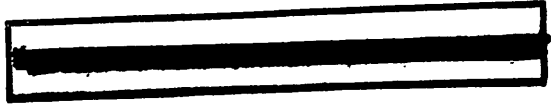
Estudou-se, sob condições controladas, aspectos relacionados ao controle biológico dos fungos associados as sementes de aroeira do sertão [*Astronium urundeuva* (Fr. All.) Engl.], por intermédio da avaliação do efeito antagônico de *Trichoderma viride* (TR2) e *T. harzianum* (T25), através do tratamento de sementes e da incorporação ao solo.

A sanidade das sementes de aroeira foi avaliada pelo método de incubação em papel de filtro. Para o preparo das suspensões de conídios os isolados antagonistas foram cultivados em BDA e

posteriormente multiplicados nos substratos algaroba, quirera de milho e arroz, sendo que cada 100g de substrato receberam 10ml da suspensão de esporos dos antagonistas.

No ensaio do tratamento biológico das sementes de aroeira, na base de 2ml de esporos/10g de sementes, foram avaliados a incidência de fungos associados às sementes e a germinação ao sétimo dia. Caixas plásticas (42 x 28 x 10 cm) foram preenchidas com 8 kg da mistura latossolo + areia (1:1), que receberam 100g de substrato colonizado com os antagonistas TR2 ou T25. Após 48h de incubação em câmara de crescimento vegetal, foram semeadas 50 sementes/caixa, em sulco de 2cm de profundidade e novamente foram incubadas. Os parâmetros avaliados foram o stand inicial (aos 7 dias), stand final (aos 14 dias) e o índice de velocidade de emergência (aos 14 dias).

Observou-se que o tratamento biológico das sementes eliminou todos os fungos, com exceção de *Aspergillus*. Mesmo assim a incidência reduziu de 69% para 6,75% e elevou o percentual de germinação das sementes. Houve melhor desempenho dos antagonistas TR2 e T25 cultivados no substrato algaroba. O emprego de solo fumigado ou uso do TR2 ou T25 incorporado ao solo não fumigado, propiciaram efeito equivalente quanto ao índice de velocidade de emergência das plântulas de aroeira.



07. SUMMARY

BIOLOGICAL EFFECT OF *Trichoderma viride* Pers. ex S.F. Gray AND *T. harzianum* Rifai IN THE TREATMENT OF THE "AROEIRA DO SERTÃO" SEEDS [*Astronum urundeuva* (Fr.All.) Engl.] INCLUDING SOIL INCORPORATION.

Author: Gilvan José Campelo dos Santos

Adviser: Hilário Antônio de Castro

Aspects of biological control of fungi associated with "aroeira do sertão" (*Astronum urundeuva*) seeds were evaluated by the inoculation of *Trichoderma viride* (TR2) and *T. harzianum* (T25) direct on seeds or by soil incorporation.

The seed inicial infestation by fungi was evaluated by the incubation method on filter paper. To prepare the conidium suspension the antagonistic isolates were cultured in PDA and later on in special medium made of algarobo, corn meal or rice. Each 100g of the special medium received 10ml of spore

suspension of the antagonistic fungus.

On the first essay arceira seeds were inoculated on the rate of 2ml of antagonistic fungus spores/10g of seeds. The association of others fungi on the seeds and seed germination at seven days, after planting were avaluated.

Plastic boxes of 42 x 28 x 10cm, length, width and height respectively were filled with 8Kg of mixture of Latossol soil plus sand on the proportion of 1:1, and received 100g of colonized special medium by TR2 or T25. After 48h of incubation in growth chamber, 50 seeds/box were sown in ditch of 2cm depth and incubated again.

The parameters avaluated were the stands at 7 and 14 days and emergence velocity at 14 days.

The biological seed treatment by the fungi TR2 e T25 eliminated all fungi except *Aspergillus spp.* Even so, the incidence of *Aspergillus* was reduced from 69% to 6.75% due to the treatment imposed. Better results were obtained by using TR2 e T25 on algarobo medium. Fumigated soil or the use of TR2 or T25 incorporated into non-fumigated soil gave similar results regarded to seedlings emergence.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

01. ALENXANDER, M. **Microbial Ecology**. New York. Jonh Wiley & Sons, 1977. 358p.
02. ALLEN, M.C. & HAENSELER, C.M. Antagonistication of *Trichoderma* on *Rhizoctonia* and other soil fungi. **Phytopatology**, St. Paul, 25:244-52, 1935.
03. ANDERSON, E.J. Indirect effects of agricultural chemicals in soil. Long-term effects of soil fungicides. Annu. Conf. Control Soil Fungi, 10, San Francisco, 1962. **Proceedings...** San Francisco, 1964. p.17.
04. ARTIGUES, M. & DAVET, P. Research on criteria for selection of clones of *Trichoderma* active against sclerotial fungi. In: INSTITUT NACIONAL DE RECHECHE AGRONOMIQUE. Paris, Ecole National Superieure d' Agronomie, 1982. p. 181-92

05. AYERS, W.A. & ADAMS, P.B. Micoparasitism and its application to biological control of plant diseases. In: PAPAIVIZAS, G. L., ed. *Biological Control in Crop Production*. New Jersey, Osnum & Co., 1981. p.91-703.
06. BACKMAN, P.A. & RODRIGUEZ-KABANA, R. A system for the growth and delivery of biological control agents to the soil. *Phytopathology*, St. Paul, 65:819-21, 1975.
07. BAKER, K.F. & COOK, R.J. *Biological control of plant pathogens*. San Francisco, W.H. Freeman, 1974. 433p.
08. BASTOS, C.N. Efeito de *Trichoderma viride* na esporulação de *Crinipellis pernicioso*, causador da vassoura-de-bruxa do Cacaueiro. In: SIMPOSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 2, Brasília-DF, 1990. Resumos..., Brasília, 1990. p.138.
09. BATISTA, J.L. Níveis de infestação e prejuízos ocasionados por *Mimosastes mimosae* (Abr., 1781) (Coleoptera: Bruchidae) em vagens de Algaroba (*Prosopis juliflora* (Swatz)) (Leguminosae: mimosoideae). Lavras, ESAL, 1992. 52p. (Tese MS).
10. BELL, D.H.; WELLS, H.D. & MARKHAM, C.R. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*, St. Paul, 72:379-82, 1982.

11. BLAKEMAN, J.P. & FOKKEMA, N.J. Potencial for biological control of plant diseases on the phylloplane. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, 20:167-92, 1982.
12. BLUM, L.E.B. & LIN, M.T. Potencial de *Trichoderma* e *Pseudomonas* fluorescentes para o controle de tombamento de mudas de eucalipto causado por *Cylindrocladium* spp. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, 16:71-4, 1991.
13. BOOSALIS, M.G. Hiperparasitism. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, 2:363-76, 1964.
14. _____ & MANKAU, R. Parasitism and predation of soil microorganisms. In: BAKER, K.F., ed. **Ecology of Soil-Borne Plant Pathogens**, Berkeley, Univers. California Press, p. 374-89, 1970.
15. BROWN, M.E. Seed and root bacterization. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, 12:181-97, 1974.
16. CHANG, I.P. & KOMMEDAHL, T. Biological control of seedling blight of corn by coating kernels with antagonistic microorganisms. **Phytopathology**, St. Paul, 58:1395-401, 1968.

17. CHANG, Y.C.; BAKER, R.; KLEIFELD, R. & CHET I. Increased growth of plants in presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. *Plant Disease*, Beltsville, 70:145-8, 1986.
18. CHET, I. & BAKER, R. Induction of suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. *Phytopathology*, St. Paul, 70:994-8, 1980.
19. CHRISTENSEN, C.M. & KAUFMANN, H.H. *Grain storage: the role of fungi in quality loss*. Minneapolis, University of Minnesota, 1969. 153p.
20. COOK, R.J. Biological control of plant pathogens: theory to application. *Phytopathology*, St. Paul, 75(1):25-9, 1985.
21. _____ & BAKER, K.F. *The nature and practice of biological control of plant pathogens*. St. Paul, The American Phytopathological Society, 1983. 539p.
22. DANIELSON, R.M. & DAVEY, C.B. Non-nutritional factors affecting growth of *Trichoderma* in culture soil. *Soil Biology Biochemistry*, Elmsford, 5:495-504, 1973.
23. DAVET, P. ; ARTIGUES, M. & MARTIN, C. Production in conditions non aseptiques d'inoculum de *Trichoderma harzianum* Rifai, pour des essais de lutte biologique. *Agronomie*, Paris, 1:933-36, 1981.

24. DHINGRA, O.D.; MUCHOVEJ, J.J. & CRUZ FILHO, J. **Tratamento de sementes (controle de patógenos)**. Viçosa, Imprensa Universitária, 1980. 121p.
25. ELAD, Y.; CHET, I.; BOYLE, P. & HENIS, Y. Parasitism of *Trichoderma spp*, on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*-Scanning electron microscopy and fluorescence microscopy, *Phytopathology*, St. Paul, 73:85-8, 1983.
26. _____ ; _____ & HENIS, Y. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. *Canadian Journal of Microbiology*, Ottawa, 28:719-25, 1982.
27. _____ ; CHET, I. & KATAN, J. *Trichoderma harzianum*. A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, St Paul, 70:119-21, 1980.
28. _____ ; HADAR, Y.; HADAR, E.; CHET, I. & HENIS, Y. Biological control of *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* in carnation. *Plant Disease*, Beltsville, 65:675-7, 1981.

29. FELICIANO, A.L.P. Estudos da germinação de sementes e desenvolvimento de muda acompanhado de descrições morfológicas de dez espécies arbóreas ocorrentes no semi-árido nordestino. Viçosa, UFV, 1989. 114p. (Tese MS).
30. FIGUEIREDO, M.B. Estudo sobre a aplicação do método de Castellani para conservação de fungos patogênicos de plantas. *O Biológico*, São Paulo, 33:9-1, 1967.
31. GRAY, D. Fluid drilling of vegetable seeds. *Horticultural Review*, Wesport, 3:1-27, 1981.
32. HADAR, T.; HARMAN, G.E. & TAYLOR, A.G. Evaluation of *Trichoderma koningii* and *T. harzianum* from New York soils for biological control of seed root caused by *Pythium spp.* *Phytopathology*, St. Paul, 74:106-10, 1984.
33. HADAR, Y.; CHET, I. & HENIS, Y. Biological control of *Rhizoctonia solani* damping-off with wheat-bran culture of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, St. Paul, 69:64-8, 1979.
34. HALLOIN, J.M. Treatment of cotton seeds. In: JEFFS, K.A., ed. *Seed treatment*, 2. ed. Surrey, British Crop Protection Council, 1986. p.201-15.

35. HARMAN, G. E.; CHET, I. & BAKER, R. Factors affecting *Trichoderma hamatum* applied to seeds as a biocontrol agent. *Phytopathology*, St. Paul, 71:569-72, 1981.
36. _____ ; _____ & BAKER, R. *Trichoderma hamatum* effects on seed and seedling disease induced in radish and pea by *Pythium spp* or *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, St. Paul, 70:1167-72, 1980.
37. HENNIS, Y. Biological control-ecological principles of Biological control of soilborne plant pathogens: *Trichoderma* model. In: KLUG, M.J. & REDDY, C.A. ed. *Microbial Ecology*. New York, Academic Press, 1984. p.322-430.
38. _____ ; ELAD, Y.; CHET, J.; HADAR, Y. & HADAR, E. Control of soilborne plant pathogenic fungi in carnation strawberry and tomato by *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, St. Paul, 69:1031, 1979.
39. HOMECHIN, M. Inibição "in vitro" do crescimento micelial de diferentes isolados de *Helminthosporium sativum* P K e Berk por *Trichoderma harzianum* Rifai. In: REUNIAO SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, Piracicaba-SP, 1986. *Anais...* São Paulo, 1986. p.7.

40. HOMECHIN, M. Potencial e emprego de isolados brasileiros de *Trichoderma harzanium*, Rifai, para controle de patógenos de soja. [*Glycine max* (L.) Merrill]. Piracicaba, ESALQ, 1987. 183p. (Tese de Doutorado).
41. HUBBARD, P.J.; HADAR, Y. & HARMAN, G.E. Suppression of biological control agent *Trichoderma hamatum* on seeds by soil borne *Pseudomonas* spp. *Phytopathology*, St. Paul, 72:1009, 1982.
42. ILLIPRONTI JUNIOR, R.A. Efeitos antagônicos de fungos procedentes da região do Alto Paranaíba - MG, em relação a *Sclerotinia sclerotiorum* (LIB.) De Bary, em soja (*Glycine max* (L.) Merrill) e feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Lavras, ESAL, 1991. 70p. (Tese MS).
43. JORDAN, V.W. & TARR, H.S. Inoculum suppression of *Verticillium dahliae*. *Annual of Applied Biological*. Cambridge, 89:139-41, 1978.
44. KAISER, W.J. Biological control of seed rot and pre-emergence damping off of chickpea with *Penicillium oxalicum*. *Plant Disease*, Beltsville, 68:806-11, 1984.

45. KELLEY, W.D. Evaluation of *Trichoderma harzianum* impregnated clay granules as biocontrol for *Phytophthora ciannamoni* causing damping-off pine seedling. *Phytopathology*, St. Paul, 66:1023-7, 1976.
46. KELMAN, A. & COOK, R.J. Plant pathology in the People's Republic of China. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, 15:409-29, 1977.
47. KOMMEDAHL, T. & WINDELS, C.E. Evaluation of biological seed treatment for controlling root diseases of pea. *Phytopathology*, St. Paul, 68:1087-95, 1978.
48. _____ ; _____ ; SABRINI, G. & WILEY, H.B. Variability in performance of biological and fungicidal seed treatment in corn peas, and soybeans. *Protection Ecology*, Amsterdam, 3:55-61, 1981.
49. LARANJEIRA, D. & MENEZES, M. Controle biológico de *Rhizoctonia solani* por *Trichoderma spp* em Algodão (*Gossypium hirsutum* L.M. *latifolium* Hutch). In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 4, Campinas, 1991. *Anais...* São Paulo, 1991. p.9.

50. LIFSHITZ, R.; WINDHAM, M.T. & BAKER, R. Mecanism of control biological of pre-emergence damping-off pea seed treatment with *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, St. Paul. 76:720-5 1986.
51. LIU, S.Y. & VAUGHAN, E.K. Control of *Pythium* infection in table beet seedlings by antagonist microorganism. *Phytopathology*, St. Paul, 55:986-9, 1965.
52. LYNCK, J. Pesquisa inglesa com agentes biológicos. *Jornal Agroceres*, São Paulo, 212:2, maio/jun 1992.
53. MACHADO, J.W.B.; ALENCAR, F.O.C.C. & RODRIGUES, M.G.R. *Arvores de Brasília*, Brasília: GDF. Secretaria de Obras e Serviços Públicos, Depto. de Parques e Jardins, 1992. 100p.
54. MARCOS FILHO, J.; CICERO, J.M. & TOLEDO, F.F. Manual de análise de sementes, 3 ed. Piracicaba, ESALQ/USP, 1983. 112p.
55. MARCOS, J.J.; JOHNSTON, S.A.; DUNN, M.T. & PAPAVIDAS, B.C. Biological control of *Verticillium* wilt of eggplant in the field. *Plant Disease*, Beltsville, 66:1166-8, 1982.
56. MARTINS, M.P. Potencial antagônico de espécies de *Trichoderma* contra *Verticillium dahliae* Kleb em berinjela (*Solanum melongena* L.) Piracicaba, ESALQ, 1988. 156 P. (tese MS).

57. MEINHARDT, F. Biological control of plant pathogenic fungi. *Progress in Botany*, Berlin, 46:241-7, 1984.
58. MENEZES, M. Avaliação de espécies de *Trichoderma* no tratamento de feijão e do solo, visando o controle de *Macrophomina phaseolina*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 25 Gramado-RS, 1992. *Resumos...* Brasília. SRF, 1992. p.159.
59. _____ . Problema e progresso no biocontrole de doenças de plantas com *Trichoderma spp.* In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 21, Salvador, 1988. *Resumos....* Brasília. SBF, 1988. p.90.
60. MIALI, L.M. The filamentous fungi. In: SMITH, E.J. & BUREY, D.R. eds. *Industrial Mycology*. London. Edward Arnold Press, 1975. p.104-21
61. MICHEREFF, S.J.; MARIANO, R.L.R.; PANDOVAN, I. & MENEZES, M. Aspectos ultraestruturais das interações entre *Trichoderma spp* e *Colletotrichum graminicola* no filoplano de plantas de sorgo. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE PLANTAS, 4, Campinas, 1991. *Anais...* Campinas, 1991. p.5.

62. MICHEREFF, S.J. & MENEZES, M. Influência de metabólitos não voláteis produzidos por *Trichoderma spp* no antagonismo a *Colletotricum graminicola* "in vitro". In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 4, Campinas-SP, 1991, *Anais...* Campinas, 1991, p.5.
63. MIHUTA-GRIMM, L. & ROWE, R.C. *Trichoderma spp* as biocontrol agents of *Rhizoctonia* damping-off radish in organic soil and comparasion of four delivery systems. *Phytopathology*, St. Paul, 76:306-12, 1986.
64. NEERGAARD, P. *Seed pathology*. London. Macmillan Press. 1977. V.1, 839p.
65. PAPAIVIZAS, G.C. Survival of *Trichoderma harzianum* in soil and pea and bean rhizospheres. *Phytopathology*, St. Paul, 72: 121-5, 1982.
66. PAPAIVIZAS, G.C. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, 23:23-54, 1985.

67. PORFIRIO-SILVA, Z. & HOMECHIN, M. Microbiolização de sementes de tomateiro (*L. esculentum*) tipo "rasteiro" com *Trichoderma spp* e sua influência sobre o tombamento de plântulas por *Rhizoctonia solani* Khun. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 25, Gramado-RS, 1992. **Resumos...** Brasília, SBF, 1992. p.159.
68. RIBEIRO, A.S. **Controle integrado das doenças do arroz irrigado: relatório do Projeto nº 039-85001/1.** Brasília, EMBRAPA - CPATB/CNPDA, 1987.
69. RIFAI, M.A. A revision of the genus *Trichoderma*. **Mycological Papers**, Indonésia, 116:1-56, 1969.
70. RIZZINI, C.T. **Arvores e madeiras úteis do Brasil**, manual de dendrologia brasileira. São Paulo, EDUSP, 1981. 294p.
71. SANTOS, G.J.C. Viabilidade da produção de *Trichoderma spp*, em farinha do fruto da "algarobeira" (*Prosopis juliflora* (SW) DC). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 22, Recife, 1989. **Resumos...** Brasília, SBF, 1989, p.150.
72. SANTOS, G.J.C. & PEREIRA, M.S.V. Utilização da Algaroba como meio de cultura e fonte de enriquecimento para o cultivo de fungos fitopatogênicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 19, Brasília, 1986. **Resumos...** Brasília, SBF, 1986. p.342

73. SCHROTH, M.N. & HANCOCK, J.G. Selected topics in biological control. *Annual Review Microbiology*, Palo Alto, 35:453-76, 1981.
74. SHOKES, F.M.; LYDIA, S.D. & JORDAN, W.R. Effect of water potential on the growth and survival of *Macrophomina phaseolina* *Phytopathology*, St. Paul, 67:239-41, 1977.
75. SILVA, A.M.A. Valores energéticos e nutricionais de Algaroba (*Prosopis juliflora* (SW) DC) na alimentação de suínos. Viçosa, UFV, 1986. 40p. (Tese MS)
76. SIVAN, A.; ELAD, Y. & CHET, I. Biological control effect of new isolated de *Trichoderma harzianum* on *Pythium aphanidermatum*. *Phytopathology*, St. Paul, 74:498-501, 1984.
77. SILVEIRA, N.S.S.; MICHEREFF, S.J. & MENEZES, M. Seleção de isolados de *Trichoderma viride* com relação ao potencial de antibiose a fitopatógenos habitantes do solo. In: REUNIAO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLOGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 4, Campinas-SP, 1991. *Anais...* Campinas, 1991. p.4.
78. STESSSEL, G.J.; LEBEN, C. & KEIT, G.W. Screening tests, designed to discover antibiotic suitable for plant disease control. *Mycologia*, New York, 45:135-324, 1953.

79. SY, A.A.; ALBERTINI, L.; ZOHOURI, P. & NORNG, K. Lutte biologique contre *Pyricularia oryzae* Cav. parasite du riz par application de microorganismes antagonistes: premiers résultats "in vitro". In: COLLOQUE DE LA SOCIETE FRANCAISE DE PHYTOPATHOLOGIE, 24, France, 1983. Les antagonismes microbiens. França, Societe Française de Phytopathologie, 1983a. p. 137-44.
80. _____ ; NORNG, K.; ALBERTINI, L. & BARRAULT, G. [Research on biological control of *Pyricularia oryzae* Cav III. Effect of temperature on the capacity of antagonistic microorganisms to inhibit mycelial growth of the parasite in vitro]. Recherches sur la lutte biologique contre *Pyricularia oryzae* Cav. III. Influence de la temperature sur l'aptitude de germes antagonistes à inhiber in vitro la croissance mycelienne du parasite. *Cryptogamie Mycologie*, Paris, 4:245-9, 1983b.
81. SYCHEV, P. A. & SHAPOSHNIK, Y.U.A. Antagonistic effects *Trichoderma viride* Fr. in relation to some pathogens of *Cucumis sativum* L. *Mikologiya i Fitopatologia*. Moscou, 16:154-9, 1982.
82. THIRUMALACHAR, M.Y. & OBRIEN, M.J. Suppression of charcoal root in potato with bacterial antagonistic. *Plant Disease Reporter*, Beltsville, 61(7):543-6. 1977.

83. VIRGENS, D.A. das; CARDOSO, J.E. & CHRISCHNER, L. Controle biológico da podridão radicular de *Rhizoctonia* (*Rhizoctonia solani*) do feijoeiro e da podridão cinzenta (*Macrophomina phaseolina*) do feijoeiro e do caupi. In: SIMPOSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 2, Brasília, 1990. Resumos... Brasília, 1990, p.139.
84. WAKSMAN, S.A. & HORNING, E.S. Distribution of antagonistic fungi in nature and their antibiotic action. *Mycologia*, New York, 35:47-65, 1943.
85. WEINDLING, R. Studies on lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. *Phytopathology*, St. Paul, 24:1153-79, 1934.
86. WELLS, H.D.; BELL, D.K. & JAWORSKI, C.A. Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biological control for *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology*, St. Paul. 62:442-7, 1972.
87. WIJETUNGA, C.; STACK, R.W. & BAKER, R. Induction of suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in an unmodified loamy soil. *Phytopathology*, St. Paul. 74:862-3. 1984.

88. WOOD, R.K.S. & TVEIT, M. Control of plant diseases by use of antagonistic organisms. *The Botanical Review*, Bronx, 21:441-99, 1955.