

POTENCIAL DE *TRICHODERMA* SPP. COMO AGENTE DE CONTROLE BIOLÓGICO DA ANTRACNOSE EM MARACUJAZEIRO-AMARELO

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

Documentos 233

POTENCIAL DE *TRICHODERMA* SPP. COMO AGENTE DE CONTROLE BIOLÓGICO DA ANTRACNOSE EM MARACUJAZEIRO-AMARELO

Irene Martins
Sueli C. M. Mello
José Ricardo Peixoto
José Eustáquio Menêzes

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Brasília, DF
2007

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Serviço de Atendimento ao Cidadão

Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final)

Brasília, DF CEP 70770-900 – Caixa Postal 02372 PABX: (61) 448-4600 Fax: (61) 340-3624

www.cenargen.embrapa.br

e.mail: sac@cenargen.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: *Sergio Mauro Folle*

Secretário-Executivo: *Maria da Graça Simões Pires Negrão*

Membros:

Arthur da Silva Mariante

Maria Iara Pereira Machado

Maria de Fátima Batista

Maurício Machain Franco

Regina Maria Dechechi Carneiro

Sueli Correa Marques de Mello

Vera Tavares de Campos Carneiro

Supervisor editorial: *Maria da Graça S. P. Negrão*

Normalização Bibliográfica: *Maria Iara Pereira Machado*

Edição eletrônica: *Daniele Alves de Loiola*

1ª edição

1ª impressão (2007):

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

P 861 Potencial de *Trichoderma* spp. como agente de controle biológico da antracnose em maracujazeiro-amarelo / Irene Martins ... [et al.]. -- Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007.
17 p. -- (Documentos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 0102 - 0110; 233).

1. *Trichoderma* - controle biológico. 2. Antracnose. 3. Maracujazeiro-amarelo. I. Martins, Irene. II. Série.

632.96 - CDD 21.

Autores

Thales Lima Rocha

Pesquisador, PhD.

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Aline Melro Murad

Bióloga

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Laila Salmen Espindola

Pesquisadora, PhD.

Universidade de Brasília

Alexandre Augusto P. Firmino

Doutorando

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Osmundo Brilhante de O. Neto

Pesquisador associado

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Marise Ventura Coutinho

Pesquisadora, MSc.

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Maria Cristina Mattar da Silva

Pesquisadora, PhD

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Maria de Fátima Grossi de Sá

Pesquisadora, PhD.

POTENCIAL DE *TRICHODERMA* SPP. COMO AGENTE DE CONTROLE BIOLÓGICO DA ANTRACNOSE EM MARACUJAZEIRO-AMARELO

Irene Martins
Sueli C. M. Mello
José Ricardo Peixoto
José Eustáquio Menêzes

RESUMO

Foi estudado o potencial antagônico de 10 isolados de *Trichoderma* spp. contra o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose do maracujazeiro, sob condições de casa de vegetação. Estes vieram de uma seleção prévia em laboratório. Os isolados (CEN 162, CEN 201, CEN 400, CEN 143, CEN 151, CEN 208, CEN 280, CEN 142 e CEN 219) e o isolado CEN 279, utilizado no controle da vassoura de bruxa, foram testados in vivo, em mudas de maracujazeiro-amarelo, cultivar Yellow Master FB 100. Neste experimento utilizou-se o esquema fatorial 10x4x3+3, composto de dez tratamentos, quatro períodos de inoculação, três épocas de avaliação e três testemunhas. Os isolados de *Trichoderma* foram aplicados da seguinte forma: P1: *Trichoderma* inoculado 24 horas antes do patógeno, P2: *Trichoderma* inoculado 24 horas depois, P3: *Trichoderma* inoculado simultaneamente com o patógeno, P4: *Trichoderma* inoculado sete dias depois. Como testemunha, acrescentaram-se os tratamentos P5: só *Trichoderma*, P6: só *Colletotrichum* e P7: só água destilada. A inoculação nos períodos P1, P2, P3, P4, P6 e P7 foi realizada através de perfurações prévias. As três avaliações foram realizadas após 12 dias da inoculação e, as demais, a intervalos de 12 dias. Analisou-se o efeito dos isolados de *Trichoderma* sob a matéria fresca e seca da parte aérea e das raízes. Observou-se efeito significativo na avaliação de severidade (nota) e porcentagem de desfolha, nas interações tratamento x período x época, tratamento x período e período x época. O período que se mostrou mais favorável para aplicação de *Trichoderma* no controle da antracnose foi o simultaneamente. Em termos da massa fresca e seca de parte aérea a aplicação de *Trichoderma* apresentou efeito significativo.

Termos para indexação: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, controle biológico.

ABSTRACT

THE POTENTIAL OF *TRICHODERMA* SPP. AS BIOLOGICAL CONTROL AGENT OF ANTHRACNOSE ON YELLOW PASSION FRUIT

The antagonistic potential of 10 isolates of *Trichoderma* spp. was studied against the fungus, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Saccardo, the causal agent of anthracnose of passionfruit, in the greenhouse. . The evaluation of antagonism *in vitro* was first made by means of confrontation cultures and tests of toxic metabolites where all the isolates inhibited the growth of the pathogen. The best isolates were then chosen (CEN 162, CEN 201, CEN 400, CEN 143, CEN 151, CEN 208, CEN 280, CEN 142 and CEN 219), together with isolate CEN 279, used in the control of Witch's Broom disease, to be tested *in vivo*, using sour passionfruit plants cultivar Yellow Master FB 100. This experiment was done using a randomized block design, with ten treatments, four inoculation of periods, three sampling time, and three tests. Four different treatments were tested: P1: inoculated with *Trichoderma* 24 hours before the pathogen, P2: inoculated with *Trichoderma* 24 hours after the pathogen, P3: *Trichoderma* inoculated simultaneously with the pathogen, P4: inoculated with *Trichoderma* seven days later; as control treatments, were included P5: *Trichoderma* only; P6: only *Colletotrichum* and P7: distilled water only. The inoculation of periods P1, P2, P3, P4, P6 and P7 was carried out in previously made perforations. Three evaluations were made at 12-day intervals. The effect of the isolates of *Trichoderma* on fresh and dry weights of the aerial plant parts and the roots were measured. A significant effect on the severity and incidence of symptoms was observed in the interactions strain x period x sampling time, strain x period and period x sampling time. The most favorable period for application of *Trichoderma* in the control of anthracnose was found to be simultaneous application (P3). In terms of fresh and dry weights of aerial plant parts, the application of *Trichoderma* also had a significant effect.

Index terms: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*, biological control.

INTRODUÇÃO

O maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.), cultivado em todo o País, vem sendo atacado por doenças que depreciam a qualidade do fruto, reduzem a produtividade e a longevidade da cultura. As doenças são causadas por fungos – antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.), verrugose (*Cladosporium herbarum*) e septoriose (*Septoria passiflorae*), por bactéria e por vírus (Junqueira et al., 2003, Nascimento, 2003).

O aumento nos custos do controle químico, a perda de eficiência de alguns desses produtos e os problemas ambientais advindos desta prática, indicam a necessidade da busca de alternativas para o controle de fitopatógenos, entre as quais, a utilização de agentes biológicos se coloca em destaque (Michereff, 2005). A utilização dos fungos antagonistas para o controle de doenças de plantas, tem despertado interesse nos últimos anos devido, principalmente, às perspectivas crescentes da possibilidade de eficiência de controle aliado à diminuição do impacto ambiental causados pelos agrotóxicos. Dentre os fungos antagonistas, os mais estudados são os do gênero *Trichoderma* (Melo, 1991).

Resultados do sucesso no uso de espécies de *Trichoderma* como agente de biocontrole, sobretudo para patógenos de solo e do sistema radicular, como *Rhizoctonia solani* Kuhn. (Sanfuentes et al., 2002), *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary (Ethur et al., 2005), e na proteção de ferimentos provocados por poda em plantas, tratamento de sementes e na pós-colheita (Barbosa, 1998).

O trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar os isolados de *Trichoderma* spp., quanto ao potencial para o controle biológico de *C. gloeosporioides*, agente causal da antracnose do maracujazeiro-amarelo, em casa de vegetação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado com os isolados de *Trichoderma*, previamente, selecionados em laboratório, e pertencentes à Coleção de Fungos para Controle Biológico de Fitopatógenos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

A condução do experimento foi em casa de vegetação, na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília. O clima da região é do tipo AW, caracterizado por chuvas concentradas no verão, de outubro a abril e invernos secos, de maio a setembro (Medeiros, 2005). A temperatura na casa de vegetação variou de 15 a 30°C e a umidade relativa do ar de 60 a 100% no período de outubro a novembro de 2005.

O experimento foi disposto em blocos casualizados, com quatro repetições, sendo a repetição constituída por quatro sacos de polietileno com duas plantas por saco. Os melhores isolados de *Trichoderma* (CEN 162, CEN 201, CEN 400, CEN 143, CEN 151, CEN 208, CEN 280, CEN 142 e CEN 219) e o isolado CEN 279, usado no controle da vassoura de bruxa, compuseram os tratamentos, com quatro períodos de inoculação, três épocas de avaliação e três testemunhas (uma inoculada só com o patógeno, outra só com *Trichoderma* e uma com água estéril), em arranjo fatorial 10x4x3+3.

Foi utilizada a progênie Yellow Master FB 100, susceptível a antracnose e a septoriose, plantada comercialmente. A semeadura de quatro sementes foi feita em sacos de polietileno com capacidade para 1,5 kg, contendo solo adubado (10 kg de superfosfato simples e 1,5 kg de cálcio em 1.000 litros de solo) e esterilizado. O desbaste foi realizado quando as mudas estavam com três pares de folhas, deixando-se as

duas plantas mais vigorosas. Foi realizada irrigação diária, molhando-se toda planta com utilização de mangueiras. Não foram aplicados produtos químicos, tampouco foi feita adubação nitrogenada.

Preparo do inóculo do antagonista e do patógeno

Discos de micélio-ágar do fungo antagonista, cultivado em meio BDA, foram transferidos para frascos contendo arroz parboilizado umedecido em água destilada (60% p/v), previamente esterilizado a 120°C, por 20 minutos. O cultivo ocorreu em sala de crescimento a 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Para a extração de conídios de *Trichoderma*, utilizou-se água destilada estéril. Procedeu-se à contagem do número de conídios presentes na suspensão, sendo a concentração ajustada para 5×10^7 conídios/mL.

O inóculo do patógeno foi produzido em meio líquido BD, por sete dias, sob agitação. Para a extração dos conídios, o material fúngico foi centrifugado a 10.000 rpm, por 10 minutos. O pellet foi dissolvido em água destilada e a suspensão foi filtrada em duas camadas de gaze. Contou-se o número de conídios, ajustando-se a concentração para 5×10^6 conídios/mL.

A viabilidade dos conídios foi determinada antes da inoculação, utilizando-se lâminas de microscópio como suporte para blocos de meio BDA, os quais foram inoculados com 100 µL da suspensão fúngica espalhada com alça de Drigalsk. Após a inoculação, o material foi incubado em câmara de crescimento BOD, a 25°C, com fotoperíodo de 12 horas. Contaram-se 100 conídios de cada amostra, às 16 e 24 horas de incubação, observando-se que após 24 horas, houve de 80-100% de germinação.

Inoculação

Quando as plantas apresentavam de seis a nove folhas, 76 dias após o semeio, foram escolhidas três folhas localizadas na região central da planta, as quais foram perfuradas com o auxílio de uma escova de cerdas de aço fino. Em seguida, foram inoculadas nos seguintes períodos: 1. *Trichoderma* inoculado 24 horas antes do *Colletotrichum*, 2. *Trichoderma* inoculado 24 horas após inoculação do *Colletotrichum*, 3. *Trichoderma* e *Colletotrichum* inoculados simultaneamente, 4. *Trichoderma* inoculados 7 dias após inoculação do *Colletotrichum*, 5. Inoculado só com *Trichoderma* (testemunha), 6. Inoculado só com *Colletotrichum* (testemunha), 7. Só água estéril (testemunha). As aplicações dos inóculos foram realizadas a partir das 16 horas, através de aspersão das suspensões de esporos sobre as plantas de modo a atingir as faces abaxial e adaxial das folhas. No caso das testemunhas inoculadas só com *Trichoderma*, as folhas não foram perfuradas. As plantas inoculadas foram mantidas em casa de vegetação, onde permaneceram até o término do experimento. Após 12 horas da inoculação, foi ligado o sistema de nebulização.

Avaliações

Foram realizadas três avaliações, a primeira aos 12 dias após a inoculação e, as demais, a intervalos de 12 dias, atribuindo-se notas de 1 a 6 (Figura 1).

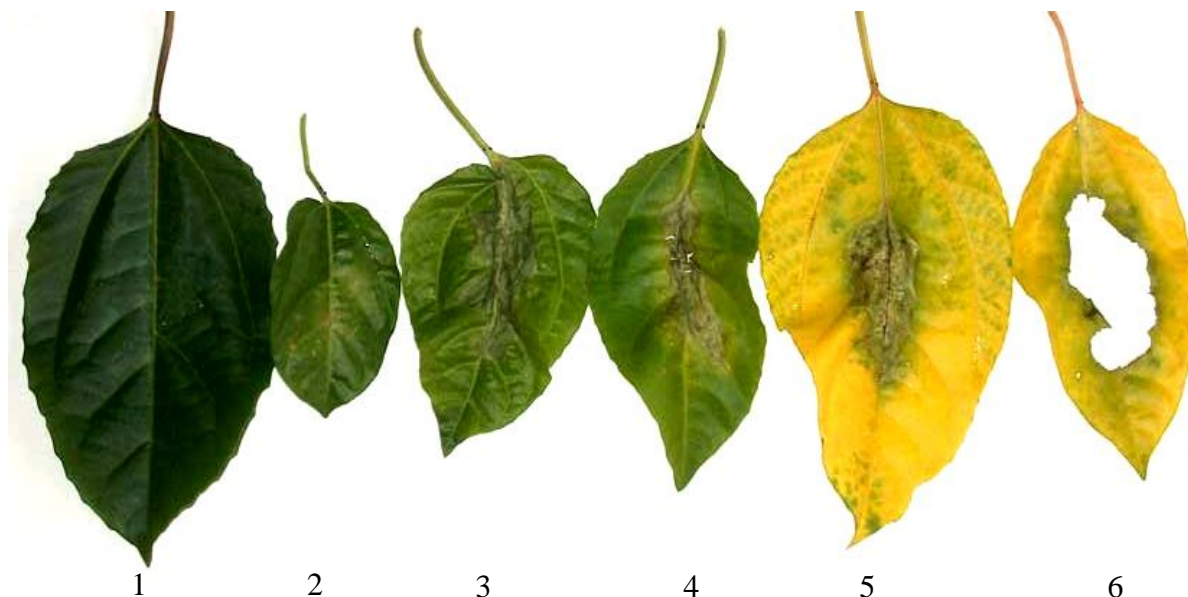


Figura 1. Escala diagramática para avaliação do antagonismo de *Trichoderma* sobre o *C. gloeosporioides* patógeno do maracujazeiro-azedo em casa de vegetação. 1. Ausência de sintomas, 2. Lesões necróticas sem coalescência nos pontos inoculados, e leve clorose dos tecidos adjacentes, 3. Lesões necróticas coalescentes, sem clorose, 4. Lesões necróticas coalescentes, clorose contornando a área necrosada, 5. Lesões necróticas coalescentes, com clorose em todo o limbo foliar, 6. Rompimento da área foliar necrosada.

Com base na leitura de severidade (nota) da doença em cada folha, calcularam-se as médias por repetição. Avaliou-se, ainda, o número de folhas caídas, determinando-se a porcentagem de desfolha. Após as avaliações de severidade e de porcentagem de desfolha, as plantas foram processadas para determinação da massa fresca e seca da parte aérea e, também, das raízes. Feito o corte da parte aérea das mudas rente ao solo, foram pesadas e acondicionadas em sacos de papel. O peso seco foi determinado em estufa, a 70°C, após 36 horas. Para a extração das raízes, após lavagem e liberação do excesso de água, foram pesadas, e colocadas a secar, determinando-se o peso seco.

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o teste F, ao nível de 5% de probabilidade. As médias foram comparadas entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o software SAS®.

Resultados e Discussão

Os isolados de *Trichoderma* apresentaram diferenças significativas para os parâmetros severidade da doença e porcentagem de desfolha.

Não houve efeito significativo de tratamentos x épocas de avaliação para os parâmetros avaliados, indicando que as épocas não influenciaram o efeito dos tratamentos, pois com o passar do tempo a severidade não evoluiu, não permitindo, assim, a evolução da doença.

Houve efeito significativo na interação tratamentos x períodos x épocas de avaliação.

Na avaliação da severidade e da porcentagem de desfolha, obtidos aos 12 dias após a inoculação do patógeno, verificou-se que quando se aplicou o *Trichoderma* 24 horas antes do *Colletotrichum*, os isolados CEN 162, CEN 201, CEN 400, CEN 151, CEN 280, CEN 279, CEN 142 e CEN 219 tiveram efeito significativo no controle do *Colletotrichum* em relação à testemunha (só *Colletotrichum*), diminuindo a incidência dos danos causados por esse patógeno. Matsuura & Menezes (1999) constataram um maior número de plantas de fumo sobreviventes quando *Trichoderma* spp. foi inoculado 24 horas antes de *Pythium aphanidermatum*, em solos esterilizada e natural. Com a aplicação do *Trichoderma* 24 horas depois do *Colletotrichum*, os isolados CEN 151, CEN 208, CEN 280, CEN 279 e CEN 142 controlaram o *Colletotrichum*. Quando se aplicou *Trichoderma* simultaneamente com o *Colletotrichum*, todos os isolados tiveram efeito significativo no controle do patógeno, ocorrendo redução nos danos causados por esse fungo. Quando o *Trichoderma* foi aplicado sete dias depois do *Colletotrichum*, apenas o isolado CEN 219 apresentou efeito significativo no controle do *Colletotrichum*. No entanto, os isolados CEN 208 e CEN 142, quando o *Trichoderma* foi aplicado 24 horas depois e simultaneamente com o *Colletotrichum*, respectivamente, não apresentaram efeito significativo na porcentagem de desfolha.

Analisando os períodos de aplicação dos isolados de *Trichoderma* nesta primeira fase de avaliação, verificou-se que, quando foram aplicados simultaneamente ao *Colletotrichum*, todos tiveram efeitos significativos no controle da antracnose, ao contrário do período de aplicação sete dias depois, onde, somente o isolado CEN 219 causou redução da doença. Resultados semelhantes foram obtidos por Michereff et al. (1993), quando inocularam isolados de *Trichoderma* em cinco períodos diferentes em folha de sorgo sobre *C. graminicola*. Estes autores observaram que o *Trichoderma* controlou melhor a antracnose quando aplicado dois dias antes e simultaneamente, do que quando aplicado cinco dias depois. A avaliação única foi realizada 12 dias após a inoculação.

Aos 24 dias depois da inoculação do patógeno, quanto a severidade e a porcentagem de desfolha, verificou-se que quando o *Trichoderma* foi aplicado 24 horas antes do *Colletotrichum*, os isolados CEN 162, CEN 201, CEN 400 e CEN 142, tiveram efeitos significativos no controle do *Colletotrichum*, causando redução nos danos causados por esse fungo. Quando se aplicou o *Trichoderma* 24 horas depois do *Colletotrichum*, os isolados CEN 201, CEN 143, CEN 151, CEN 208, CEN 280, CEN 279, CEN 142 e CEN 219 apresentaram efeitos significativos, diminuindo a ação do *Colletotrichum*, conseqüentemente, obtendo redução nos danos. Na aplicação do *Trichoderma* simultaneamente com o *Colletotrichum*, todos os isolados tiveram efeitos significativos, na redução do ataque desse patógeno. Quando o *Trichoderma* foi aplicado sete dias depois do *Colletotrichum*, os isolados CEN 162, CEN 400, CEN 143, CEN 151, CEN 208, CEN 280, CEN 142 e CEN 219 apresentaram efeito significativo no controle do *Colletotrichum*. No entanto, os isolados CEN 162; CEN 219; CEN 208 e CEN 280 foram significativos, apenas, para porcentagem de desfolha, quando o *Trichoderma* foi aplicado 24 horas antes, simultaneamente e sete dias depois do *Colletotrichum*, respectivamente. Já o isolado CEN 201 foi significativo, apenas, para severidade com a aplicação do *Trichoderma* 24 horas depois do *Colletotrichum*.

Notou-se que, quando os isolados de *Trichoderma* foram aplicados simultaneamente ao *Colletotrichum*, não houve diferença entre os mesmos em relação à redução da severidade da doença 24 dias após a aplicação.

Porém, quando aplicados sete dias depois, a quantidade de isolados que tiveram efeitos significativos na redução da antracnose aumentou consideravelmente. Talvez a explicação seja em função da diferença nos dias de inoculação, já que na segunda avaliação, os isolados de *Trichoderma* tinham 17 dias de inoculados, enquanto que, na primeira avaliação, só tinham cinco dias de inoculados e o *Colletotrichum* tinha 12 dias. Esse período pode ter sido insuficiente para os antagonistas agirem sobre o patógeno na primeira avaliação. Na terceira avaliação, aos 36 dias após a inoculação dos patógenos, apenas quando o *Trichoderma* foi aplicado 24 horas depois do *Colletotrichum*, os isolados CEN 143, CEN 280 e CEN 279 foram significativos no controle do *Colletotrichum*, diminuindo a severidade e a porcentagem de desfolha. Resultados semelhantes foram obtidos com os isolados CEN 162, CEN 143, CEN 151 e CEN 279, com a aplicação do *Trichoderma* simultaneamente ao *Colletotrichum*. Já, os isolados CEN 142; CEN 208 e CEN 142; CEN 400, CEN 280 e CEN 142; CEN 162, CEN 142 e CEN 219 apresentaram efeitos significativos no controle do *Colletotrichum* somente na redução da porcentagem de desfolha quando se aplicou o *Trichoderma* 24 horas antes, 24 horas depois, simultaneamente e sete dias depois do *Colletotrichum*, respectivamente.

Houve efeito significativo na interação tratamentos x períodos de inoculação, tanto na avaliação da severidade, quanto na porcentagem de desfolha (Figura 3).

Os isolados CEN 162, CEN 201, CEN 400, CEN 280 e CEN 142 proporcionaram as menores severidade e porcentagem de desfolha, quando inoculados 24 horas antes do patógeno em relação à testemunha (*Colletotrichum*).

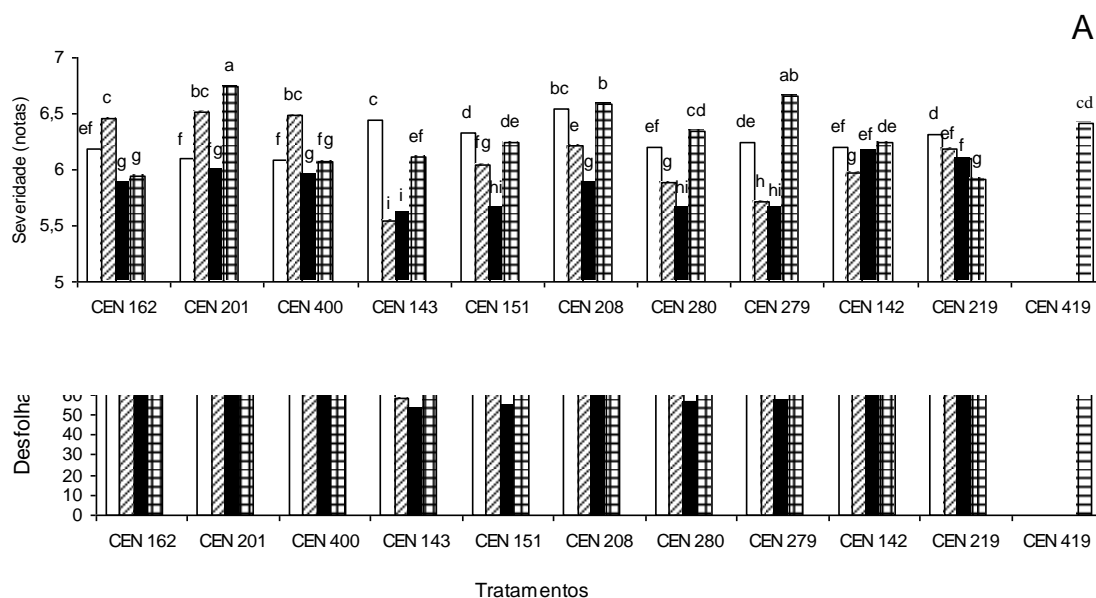


Figura 3. Interação tratamentos x períodos de inoculação na avaliação da severidade (A) e porcentagem de desfolha (B): □ P1: período 1 (*Trichoderma* inoculado 24 horas antes), ▨ P2: período 2 (*Trichoderma* inoculado 24 horas depois), ■ P3: período 3 (*Trichoderma* inoculado simultaneamente), ▩ P4: período 4 (*Trichoderma* inoculado 7 dias depois), ▤ P5: testemunha (só *Colletotrichum*). Barras referidas de mesma letra não diferem entre si estatisticamente.

Quando aplicados 24 horas depois do *Colletotrichum*, os isolados CEN 143, CEN 151, CEN 208, CEN 280, CEN 279, CEN 142 e CEN 219 obtiveram a menor severidade. Tais isolados, juntamente com o isolado CEN 400, proporcionaram a menor porcentagem de desfolha. Na aplicação simultânea, todos os isolados proporcionaram menor severidade e porcentagem de desfolha, sendo significativamente menor que a testemunha (só *Colletotrichum*), ou seja, os isolados foram eficientes no controle do *Colletotrichum* independentemente da época de avaliação. Quando se aplicou *Trichoderma* sete dias depois do *Colletotrichum*, os isolados CEN 162, CEN 400, CEN 143, CEN 208 e CEN 219 proporcionaram menores severidade e porcentagem de desfolha, sendo significativamente menor em relação à testemunha. O melhor resultado apresentado pelos isolados de *Trichoderma*, quando aplicados simultaneamente (período 3), se deve ao fato da germinação dos dois fungos ocorrer em períodos próximos, sendo que os conídios de *Trichoderma* germinam mais rápido. De acordo com Rocha et al. (1998), ao emitir o tubo germinativo para a formação do apressório o patógeno torna-se mais vulnerável ao antagonismo por organismos presentes no filoplano, isso ocorre porque o tubo germinativo não possui os mecanismos de proteção presentes no apressório, esta característica do fitopatógeno pode ter favorecido o antagonismo do *Trichoderma*. Outra hipótese, é que pode ter havido ativação de mecanismos de resistência induzida na planta. Rocha (1997), avaliando o biocontrole de isolados de *Trichoderma* sobre *C. gloeosporioides* em plantas de maracujazeiro, sob condições de casa de vegetação, em cinco períodos diferentes, verificou que, quando o *Trichoderma* foi inoculado 24 horas antes do patógeno, a média de diâmetro de necrose foi menor que a média alcançada pelo fitopatógeno inoculado exclusivamente ou simultaneamente com o antagonista. Deve-se levar em consideração, que as diferenças existentes nos dois resultados podem ser explicadas em função da variabilidade do material usado (patógeno, antagonista e hospedeiro) interagindo com o meio ambiente. Houve efeito significativo na interação períodos de inoculação x épocas na avaliação da severidade e da porcentagem de desfolha (Figura 4).

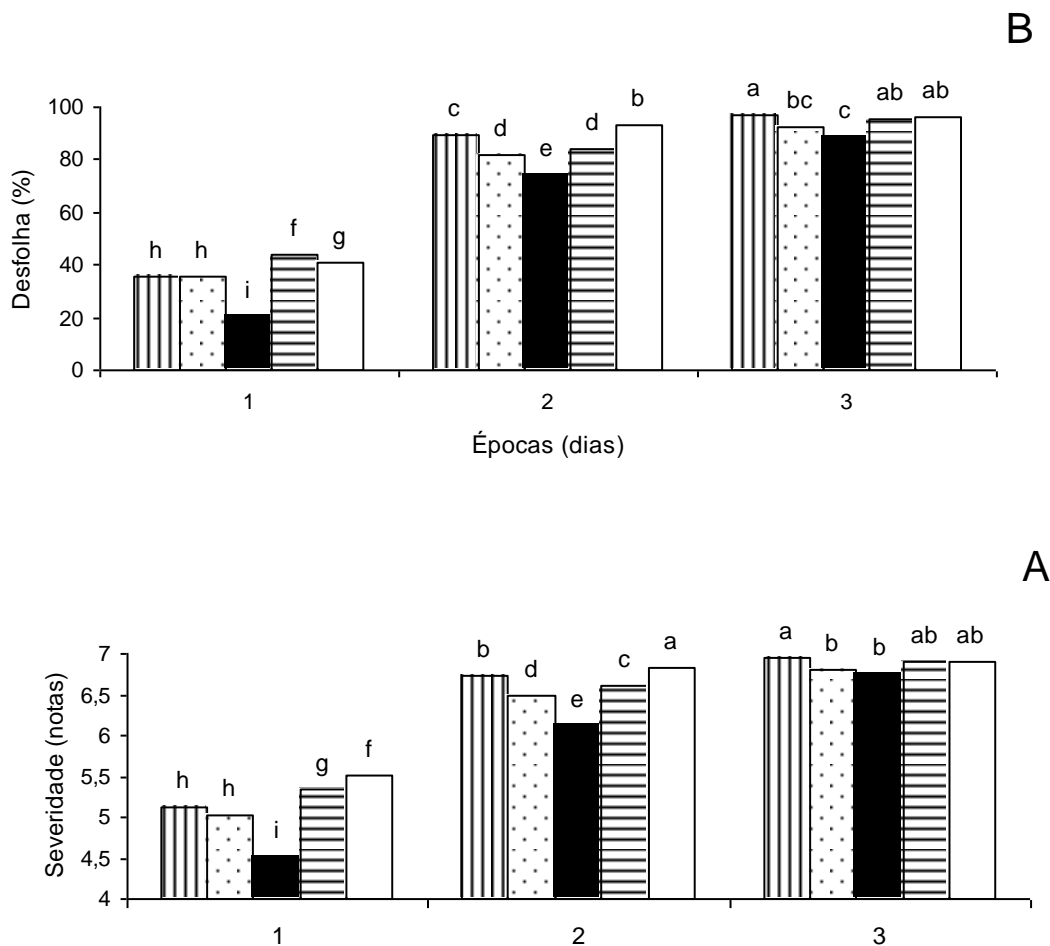


Figura 4. Interação períodos de inoculação x épocas, na avaliação da severidade (A), e de aplicação de isolados x épocas, na avaliação de porcentagem de desfolha (B): P1: período 1 (*Trichoderma* inoculado 24 horas antes), P2: período 2 (*Trichoderma* inoculado 24 horas depois), P3: período 3 (*Trichoderma* inoculado simultaneamente), P4: período 4 (*Trichoderma* inoculado 7 dias depois), P5: testemunha (só *Colletotrichum*). Barras referidas de mesma letra não diferem entre si estatisticamente.

Em todos os períodos de aplicação de *Trichoderma* (24 horas antes, 24 horas depois, simultaneamente e sete dias depois do *Colletotrichum*), houve efeito significativo dos isolados, diminuindo a severidade analisada aos 12 dias depois da inoculação, no controle do *Colletotrichum*. Entretanto, na avaliação da porcentagem de desfolha, a aplicação de *Trichoderma* sete dias depois do *Colletotrichum*, não apresentou diferença significativa em relação à testemunha, diferentemente dos demais períodos avaliados.

Houve efeito significativo em todos os períodos de aplicação dos isolados de *Trichoderma* na redução da porcentagem de desfolha, 24 dias após a inoculação, no controle do *Colletotrichum*. Já para a avaliação de severidade, apenas a aplicação de *Trichoderma* 24 horas antes do *Colletotrichum*, não apresentou diferença significativa em relação a testemunha.

A aplicação simultânea dos isolados de *Trichoderma* com o *Colletotrichum* proporcionou efeitos significativos, reduzindo a porcentagem de desfolha provocada pelo *Colletotrichum* 36 dias após a inoculação. Em relação aos outros períodos avaliados, não houve efeito significativo.

Segundo Michereff et al. (1993), a sobrevivência de *Trichoderma* no filopiano diminui com o passar dos dias após a aplicação. Talvez isso possa explicar a diminuição no controle dos isolados de *Trichoderma* nas últimas avaliações. Para se confirmar seria necessário fazer mais aplicações do antagonista para se alcançar níveis desejados de controle do patógeno.

Avaliação da ação de isolados *Trichoderma* spp. na massa fresca e seca da parte aérea e raízes de progênie de maracujazeiro-amarelo

Os isolados de *Trichoderma* apresentaram diferenças significativas na massa média fresca da parte aérea. Os períodos de inoculação dos isolados de *Trichoderma* (24 horas antes, 24 horas depois, simultaneamente, sete dias depois) apresentaram efeitos significativos em todos os parâmetros analisados.

Houve efeito significativo na interação tratamentos x períodos de aplicação dos isolados na avaliação da massa média fresca da parte aérea em relação às testemunhas (só *Trichoderma* e só água destilada); e, para a massa média seca da parte aérea em relação à testemunha (só água destilada) (Figura 5).

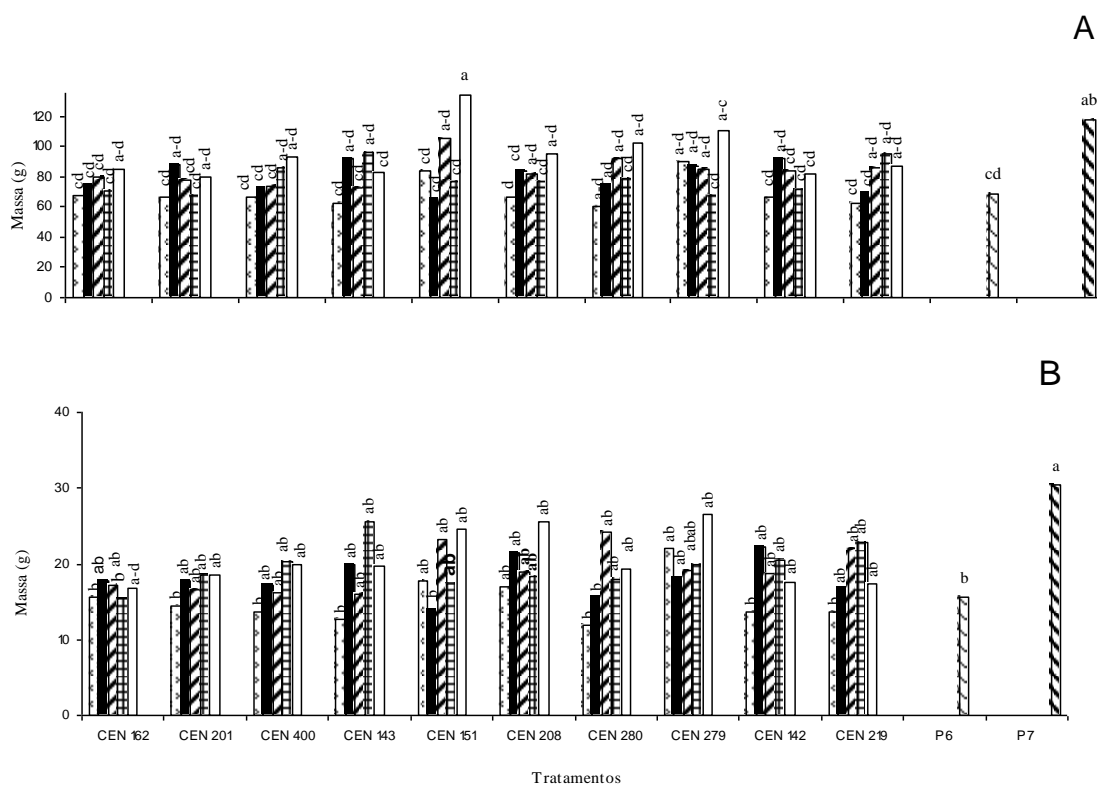


Figura 5. MMFPA (massa média fresca (A) e MMSPA massa média seca (B) da parte aérea): □ P1: período 1 (*Trichoderma* inoculado 24 horas antes), ■ P2; período 2 (*Trichoderma* inoculado 24 horas depois), ▨ P3: período 3 (*Trichoderma* inoculado simultaneamente), ▩ P4: período 4 (*Trichoderma* inoculado 7 dias depois),

□ P5: testemunha (só *Trichoderma*), ☒ P6: testemunha (só *Colletotrichum*), ☑ P7: testemunha (só água destilada). Barras referidas de mesma letra não diferem entre si estatisticamente.

Nenhum dos períodos apresentou diferença estatística no teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade em relação à testemunha (só *Colletotrichum*), porém em valores absolutos houve diferença.

Todos os isolados de *Trichoderma*, quando foram aplicados simultaneamente com *Colletotrichum*, comparados ao *Trichoderma* inoculado isoladamente, não apresentaram diferença significativa da massa média fresca da parte aérea.

Todos os isolados de *Trichoderma* não foram estatisticamente significativos em relação à testemunha (só *Colletotrichum*), nos períodos analisados, a não ser em valores biológicos; à exceção dos isolados CEN 151 e CEN 279; CEN 151; CEN 201 e CEN 279 com o *Trichoderma* aplicado 24 horas antes, 24 horas depois e sete dias depois do *Colletotrichum*, respectivamente.

Os isolados CEN 201, CEN 142 e CEN 143 foram superiores em valores biológicos aos demais, em relação à testemunha (só *Trichoderma*), quando foram aplicados 24 horas depois do patógeno. O mesmo ocorrendo com os isolados CEN 143 e CEN 219 quando aplicados sete dias depois do patógeno.

Dos 10 isolados de *Trichoderma* testados na parte aérea de mudas de maracujazeiro, os isolados CEN 162, CEN 400, CEN 151, CEN 208, CEN 280 e CEN 279, quando inoculados isoladamente, apresentaram valores numéricos superiores aos demais, embora não houvesse variação significativa. O isolado CEN 151 apresentou superioridade numérica, também, em relação à testemunha só água destilada. Esses resultados sugerem que o isolado CEN 151 apresenta tendência para agir como agente promotor de crescimento.

Esses resultados comprovam que a presença do patógeno *C. gloeosporioides* em folha de mudas de maracujazeiro mediante ferimentos, causam perda de massa vegetal em consequência do alto índice de desfolha. Porém, em relação à raiz, não houve interferência no seu desenvolvimento, uma vez que não houve diferença significativa entre os períodos onde foi inoculado o patógeno com os períodos onde foi inoculado só *Trichoderma* e somente água, mostrando que o fungo não atingiu o sistema radicular da planta.

Weiler et al. (2003), estudaram a ação de isolados de *Trichoderma* sp. na massa seca de raízes e parte aérea de plântulas de fumo em quatro tratamentos diferentes, e verificaram que os isolados T2 e T4 apresentaram a capacidade de promover crescimento de plântulas de fumo. Neste trabalho, os isolados de *Trichoderma* foram aplicados na parte aérea de mudas de maracujazeiro, enquanto, Weiler et al. (2003), aplicaram os antagonistas no solo onde foi feito semeio das sementes de fumo.

Conclusões

1. A aplicação simultânea *Trichoderma* é recomendada para o controle do *C. gloeosporioides* em mudas de maracujazeiro-amarelo.
2. O isolado CEN 143, quando aplicado 24 horas depois do *Colletotrichum* e simultaneamente, e os isolados CEN 151, CEN 280 e CEN 279, quando aplicados simultaneamente ao patógeno, proporcionam os menores valores de severidade da antracnose em mudas de maracujazeiro.
3. O isolado CEN 151 apresenta tendência para agir como agente promotor de crescimento.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, M. A. G. *Cladosporium herbarum*, agente da verrugose do maracujazeiro (*Passiflora edulis*, Sims.): Interações com *Trichoderma* spp. e estudo comparativo da atividade enzimática do fitopatógeno e antagonista. 1998. 87 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- 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.
- DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*, I Production of non-volatile antibiotics. *Transactions British Mycological Society*, v. 57, p. 25-39, 1971a.
- DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*, III Hyphal interactions. *Transactions British Mycological Society*, v. 57, p. 363-369, 1971b.
- ETHUR, L. Z.; BLUME, E.; MARLOVE, M.; SILVA, A. C. F.; STEFANELO, R. D.; ROCHA, E. K. Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* em pepineiro cultivado em estufa. *Fitopatologia Brasileira*, v. 30, p. 127-133, 2005.
- JUNQUEIRA, N.T.V., ANJOS, J.R.N., SILVA, A.P.O., CHAVES, R.C., GOMES, A.C. Reação às doenças e produtividade de onze cultivares de maracujá-azedo cultivadas sem agrotóxicos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 38, p. 1005-1010, 2003.
- MATSUURA, A. B. J.; MENEZES, M. Efeito de *Trichoderma* spp. no controle de *Pythium aphanidermatum* em fumo (*Nicotiana tabacum*). *Summa Phytopathologica*, v. 25, p. 161-164, 1999.
- MEDEIROS, S. A. F. **Desempenho agrônomo e caracterização físico-química de genótipos de maracujá-roxo e maracujá-amarelo no Distrito Federal**. 2005. 95 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Brasília, Brasília.
- MELO, I. S. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Brasília, DF: Embrapa – CNPMA, 1991. 388 p.
- MICHEREFF, S. J.; MENEZES, M.; MARIANO, R. L. R. Potencial de *Trichoderma* spp. para o controle da antracnose do sorgo. *Fitopatologia Brasileira*, v. 18, p. 392-398, 1993.
- MICHEREFF, S. J. Controle biológico de doenças de plantas.**
<<http://www.ufrpe.br/6789/fitopatologia/17.pdf>>. Aces so em: 26 agos. 2005.
- MORETTO, K. C K.; GIMENES-FERNANDES, N.; SANTOS, J. M. Influence of *Trichoderma* spp. on *Colletotrichum acutatum* mycelial growth and morphology and on infection of Tahiti lime detached flowers. *Summa Phytopathologica*, v. 27, p. 357-364, 2001.

NASCIMENTO, A.C. Produtividade, incidência e severidade de doenças em nove genótipos de maracujazeiro-azedo sob três níveis de adubação potássica no Distrito Federal. UnB. 2003. p. (Dissertação de Mestrado).

ROCHA, J. R. S. **Controle biológico de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente da antracnose do maracujazeiro (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*), com espécies de *Trichoderma***. 1997. 147 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

SANFUENTES, E. A.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A.; SILVEIRA, S. F.; PENCHEL, R.; SARTORIO, R. C. Supressão da atividade saprofítica de *Rhizoctnia* spp. em solos de jardim clonal de *Eucalyptus*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p. 461-467, 2002.

WEILER, C. A.; MATSUMURA, A. T. S.; ALMANÇA, M. A. K. Ação de isolados de *Trichoderma* sp. no peso seco de raízes e parte aérea de plântula de fumo. In: REUNIÃO DE CONTROLE BIOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS, 8., 2003. Ilhéus. **Anais...** Ilhéus, BA, 2003. p. 106-107.