



Revista Árvore

ISSN: 0100-6762

r.arvore@ufv.br

Universidade Federal de Viçosa

Brasil

de Oliveira Fortes, Fabiano; Ferreira da Silva, Antônio Carlos; Kurtz Almança, Marcus André; Bosio Tedesco, Solange

Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de eucalyptus SP. Por trichoderma spp.

Revista Árvore, vol. 31, núm. 2, março-abril, 2007, pp. 221-228

Universidade Federal de Viçosa

Viçosa, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48831204>

- ▶ Como citar este artigo
- ▶ Número completo
- ▶ Mais artigos
- ▶ Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

PROMOÇÃO DE ENRAIZAMENTO DE MICROESTACAS DE UM CLONE DE *Eucalyptus* sp. POR *Trichoderma* spp.¹

Fabiano de Oliveira Fortes², Antônio Carlos Ferreira da Silva³, Marcus André Kurtz Almança² e Solange Bosio Tedesco³

RESUMO – Este trabalho teve como objetivo o emprego de isolados antagonistas de fungos visando à promoção do enraizamento de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. Utilizaram-se no teste de promoção de enraizamento de microestacas um isolado não-patogênico de *Cylindrocladium* spp. e mais três isolados antagonistas de *Trichoderma* spp. (E15, S2 e St), os quais apresentaram as melhores notas de antagonismo em teste *in vitro*, pelo método de confrontação direta contra isolado patogênico de *Cylindrocladium* spp., sendo inoculados no substrato de desenvolvimento das microestacas sob condições de estufa. Observou-se aumento de sobrevivência das microestacas na presença dos isolados de *Trichoderma* spp. e *Cylindrocladium* spp., em comparação com a testemunha, em ambiente naturalmente infestado por *Botrytis cinerea*. O tratamento com os isolados ST, E15 e S2 de *Trichoderma* spp. e Cyl de *Cylindrocladium* spp. aumentou a sobrevivência de microestacas de *Eucalyptus* sp. O isolado E15 promoveu o enraizamento de microestacas, apresentando aumento significativo na porcentagem de enraizamento (62,25%) em relação ao tratamento-testemunha (28,77%).

Palavras-chave: Propagação, eucalipto, antagonismo, *Botrytis cinerea* e *Cylindrocladium* spp.

ROOT INDUCTION FROM MICROCUTTING OF AN Eucalyptus sp. CLONE BY Trichoderma spp.

ABSTRACT – The purpose of this research was to apply antagonistic isolates of fungi to induce microcutting rooting of an *Eucalyptus* sp. clone. One non-pathogenic isolate of *Cylindrocladium* spp. and three antagonistic isolates of *Trichoderma* spp (E15, S2 and St) were used for the microcutting rooting experiment. The latter gave better results in the antagonistic in vitro test using the method of direct confrontation against the pathogenic isolate of *Cylindrocladium* spp., being inoculated in the microcutting rooting substrate, in greenhouse conditions. Increase of microcutting survival was observed in the presence of isolates of *Trichoderma* spp. and *Cylindrocladium* spp. when compared with control in an environment naturally infested with *Botrytis cinerea*. The treatments with the isolates ST, E15 and S2 of *Trichoderma* spp. and Cyl of *Cylindrocladium* spp. increased the survival of *Eucalyptus* sp. microcuttings. The E15 isolate promoted a significant increase in the rooting percentage (62.25%) compared to the control treatment (28.77%).

Keywords: Propagation, eucalyptus, antagonism, *Botrytis cinerea* and *Cylindrocladium* spp.

¹ Recebido em 26.07.2006 e aceito para publicação em 13.11.2006.

² Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97105-900 Santa Maria, RS.

³ Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97105-900 Santa Maria, RS. E-mail:<acfsilva@smaill.ufsm.br>.

1. INTRODUÇÃO

Consideráveis ganhos nos índices de enraizamento de estacas e redução no tempo para formação de mudas de *Eucalyptus* sp. têm sido conseguidos com o desenvolvimento da técnica da microestaqueia (XAVIER e COMÉRIO, 1996). No entanto, o enraizamento *ex-vitro* é uma das etapas mais críticas desse processo, pois a planta está sob condições ótimas *in vitro*, com temperatura e nutrientes necessários para a sua sobrevivência, e passa para condições adversas *ex-vitro*, podendo ocorrer o enfraquecimento de suas raízes, seja por ataque de fitopatógenos, seja por falta de adaptação da plântula.

Trichoderma spp. é um fungo, agente de biocontrole, que promove o enraizamento das estacas, pois libera substâncias que são assimiladas pelas raízes das plantas (MELO, 1998). As espécies de *Trichoderma* estão entre os microrganismos mais comumente estudados como agentes de biocontrole que apresentam, também, atividade como promotores de crescimento (ALTOMARE et al., 1999). Harman (2000) realizou experimento, mostrando o maior crescimento de raízes de soja e milho tratadas com *T. harzianum* T-22. Outros trabalhos também mostram também a capacidade de *Trichoderma* spp. em promover o crescimento de raízes em diferentes culturas (CHANG et al., 1986; SIVAN e HARMAN, 1991; KLEIFELD e CHET, 1992). Utilização do controle biológico na área florestal é possível, principalmente em viveiros, onde as condições ambientais podem ser controladas (GRIGOLETTI JR. et al., 2000).

A capacidade de isolados de fungos não patogênicos ou hipovirulentos de proteger plântulas de uma grande lista de plantas hospedeiras contra a infecção de fitopatógenos também tem sido relatada com significativo grau de proteção e tendo importância no desenvolvimento de novas práticas para a agricultura (SNEH e ICHIELEVICH-AUSTER, 1998; NEL et al., 2006).

Botrytis cinerea e *Cylindrocladium* spp. Têm-se mostrado, em viveiros florestais do Sul do país, como os principais patógenos relacionados com a podridão de raízes e tombamento de plântulas em espécies de eucalipto. O prejuízo causado por esses patógenos depende da intensidade do ataque, a qual está associada às condições do ambiente (FERREIRA, 1985; SOUZA, 1991).

O controle da doença causada por *Cylindrocladium* spp. e *Botrytis cinerea* é feito por meio de técnicas de manejo e aplicação de fungicidas (FERREIRA, 1985). Todavia, o uso de microrganismos antagônicos incorporados ao substrato destinado à produção de mudas pode se constituir numa alternativa de controle da doença. A utilização de técnicas visando ao controle biológico de doenças de plantas pode ser uma forma de redução do uso e dos problemas que surgem com a utilização de fungicidas (SEGURA, 1970; ALFENAS, 1986).

Tomando como base esse contexto, o presente trabalho teve por objetivo utilizar isolados antagonistas de *Trichoderma* spp. e um isolado não-patogênico de *Cylindrocladium* spp., para promover o enraizamento *in vivo* de microestacas de um clone de eucalipto, em ambiente naturalmente infestado pelo fitopatógeno *Botrytis cinerea*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos *in vitro* foram realizados no Laboratório de Interação Planta-Microrganismos do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS; e em viveiro do Horto Florestal Barba Negra, localizado no Município de Barra do Ribeiro, RS, 30° 18' 0" de latitude sul, 51° 17' 60" de longitude oeste e a 0 m de altitude.

2.1. Isolados de *Trichoderma* spp. e *Cylindrocladium* spp.

Os isolados de *Trichoderma* sp. foram obtidos a partir de amostras de 500 g de solo, retiradas de uma profundidade de até 10 cm, em área de ocorrência de plantas de *Eucalyptus* sp. no campus da Universidade Federal de Santa Maria, em Santa Maria, RS, sendo utilizados o procedimento de diluição em série de partículas de solo (WOLLUM, 1982) e o método de iscas (GHINI e KIMATI, 1989; SANFUENTES e FERREIRA, 1997). Também foram utilizadas como colônias de *Trichoderma* spp. colonizando naturalmente micélios de *Cylindrocladium* spp. em meio BDA (batata, dextrose, ágar). No método de iscas, utilizaram-se grãos de trigo, sendo 10 grãos para cada trouxa feita com gaze hidrófila (13 fios por cm²; 10,0 x 10,0 cm) enterrada a 10 cm de profundidade em 500 g de solo umedecido com 10 mL de água destilada e esterilizada, coberta com papel-alumínio e mantida a 25 °C, na ausência de luz. Os grãos de trigo foram retirados das trouxas após

30 dias e preparados segundo Ethur et al. (2005). Os fungos encontrados nos grãos, no procedimento de diluição em série e provenientes da colonização de micélio de *Cylindrocladium* spp., foram transferidos para meio seletivo de *Trichoderma* modificado (SILVA, 1997) e incubados por sete dias a 25 °C, com fotoperíodo de 12 h. A identificação, em nível de gênero, foi feita através de microscópio estereoscópico e óptico, com base na bibliografia especializada (BARNETT e HUNTER, 1998).

Foram utilizados dois isolados de *Cylindrocladium* spp., sendo um isolado não-patogênico da micoteca do Laboratório de Intereração Planta-Microrganismos, UFSM, e um isolado patogênico obtido pelo método direto (FERREIRA, 1986), mediante cultura em BDA do fitopatógeno obtido a partir de plantas com sintomas. As folhas e hastes foram examinadas ao estereoscópio e, a partir das lesões, as estruturas fúngicas foram removidas com o auxílio de estilete, e imersas em hipoclorito de sódio 10%, posteriormente em água destilada e esterilizada, e transferidas para placa de Petri com BDA. As culturas foram incubadas a 25 °C. A identificação de *Cylindrocladium* spp. foi feita através de estudos morfológicos das hifas e propágulos em microscópio óptico, baseando-se em Barnett e Hunter (1998).

2.2. Experimento *in vitro*

Para o experimento *in vitro* foram selecionados os isolados de *Trichoderma* spp. que apresentaram colônias com maior diâmetro de micélio após cinco dias de crescimento em meio BDA a 25 °C na ausência de luz, sendo quatro isolados (E1, E7, E11 e E15) a partir do método de diluição e seis isolados (Cp, IL, Pt, SGA, Sb e St) pelo método de iscas e três isolados (S1, S2 e S3) a partir da colonização de micélios de *Cylindrocladium* spp. Discos de meio BDA contendo esporos e micélio dos isolados obtidos foram transferidos para placas de Petri contendo meio BDA e incubados em câmara climatizada a 25 °C, com fotoperíodo de 12 h por sete dias e, após mantidos sob refrigeração a 4 °C, em meio BDA, até seu uso.

Com o objetivo de selecionar isolados para serem utilizados no teste de promoção de enraizamento de microestacas de *Eucalyptus grandis*., foram utilizados os 13 isolados de *Trichoderma* spp. (E1, E7, E11, E15, Cp, IL, Pt, SGA, Sb, St, S1, S2 e S3) em teste de

confrontação direta (BELL et al., 1982; SILVA, 1997; ETHUR et al., 2005) onde discos de meio BDA contendo micélios e esporos do isolado patogênico de *Cylindrocladium* spp. foram transferidos para placas de Petri contendo meio seletivo para *Trichoderma*. Após oito dias, discos de BDA contendo micélios e esporos dos isolados de *Trichoderma* spp. foram transferidos em posição oposta ao patógeno. A incubação deu-se a 25 °C, com fotoperíodo de 12 h por 21 dias a partir da inoculação do patógeno. A avaliação foi baseada no critério de Bell et al. (1982), em que é utilizada uma escala de notas variando de 1 a 5. O valor 1 é atribuído quando o antagonista invade completamente o fitopatógeno e coloniza todo o substrato; 2, quando o antagonista invade pelo menos 2/3 da superfície do meio; 3, quando metade da superfície do meio é colonizada pelo antagonista e a outra metade pelo patógeno; 4, o patógeno coloniza no mínimo 2/3 da superfície do meio, que parece se opor ao antagonista; e, finalmente, o valor 5, quando o patógeno invade completamente o antagonista e ocupa toda a superfície do meio.

2.3. Preparo do inóculo dos isolados para teste *in vivo*

No preparo do inóculo dos isolados de *Trichoderma* spp. e *Cylindrocladium* spp. Não-patogênico, 10 discos de BDA contendo esporos e micélio dos isolados foram transferidos assepticamente para sacos plásticos de polipropileno de 500 mL, contendo 300 g de arroz com casca e 40 mL de água destilada, previamente autoclavados a 121 °C por 2 h. Os substratos nos sacos plásticos, contendo inóculos do isolado não-patogênico de *Cylindrocladium* spp. e os isolados de *Trichoderma* spp., foram incubados em câmara climatizada a 25 °C, com fotoperíodo de 12 h, por 21 e 25 dias, respectivamente. A concentração de unidades formadoras de micélio dos inóculos dos isolados de *Trichoderma* spp. e *Cylindrocladium* spp. (10^8 u.f.c/g e 10^6 u.f.c/g, respectivamente) foram determinadas no momento da inoculação do substrato através da diluição de inóculo colonizado em água destilada, transferência da suspensão diluída de 10^2 esporos/mL em meio BDA e contagem do número de colônias (PAPAVIZAS, 1982; SILVA, 1997).

2.4. Teste de enraizamento *in vivo*

Para avaliação da promoção do enraizamento de microestacas de *Eucalyptus* por três isolados de *Trichoderma* spp., selecionados a partir do teste de

confrontação direta, e um isolado de *Cylindrocladium* sp., foi realizado um experimento, utilizando-se instalações de estufa plástica e estacas com aproximadamente 5 cm de comprimento, provenientes de brotações coletadas em plantas rejuvenescidas por micropropagação de um clone de *Eucalyptus* sp. do Horto Florestal Barba Negra. Para cada tratamento foram utilizados 150 tubetes cônicos de 50 cm³ de capacidade, previamente esterilizados, conforme o método descrito por Alfenas et al. (1999), contendo uma microestaca cada um. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com cinco tratamentos e três repetições: tratamento 1, testemunha (sem nenhum isolado inoculado); tratamento 2, com isolado ST; tratamento 3, com isolado E15; tratamento 4, com isolado S2; e tratamento 5, com isolado Cyl de *Cylindrocladium* spp. Não-patogênico.

O substrato utilizado nos tubetes foi vermicomposto (50%) e solo vegetal (50%). A esse substrato foi misturado 1 g de grãos de arroz colonizados com os respectivos isolados com o substrato para cada tratamento e efetuado o plantio das microestacas, sendo estas mantidas em estufa naturalmente infestada por *Botrytis cinerea* por 28 dias sob irrigação em temperatura ambiente (com variação de 18 a 28 °C).

Após 30 dias, as microestacas foram avaliadas como: (1) mortas (microestacas totalmente secas), (2) vivas com raízes e com sintomas (BARNETT e HUNTER, 1998) de doença causada por *Botrytis cinerea* (morte de ponteiro, manchas foliares e lesões nos ramos) com raízes (CS) e (3) com raízes e sem sintomas de *Botrytis cinerea* (SS), 30 dias após a inoculação.

2.5. Análise estatística

Foi realizada análise de variância dos experimentos, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para análise dos resultados, os dados foram transformados em arcoseno da raiz quadrada (x/100).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Isolamento de *Trichoderma* spp.

Tanto o procedimento de diluição em série como o método de iscas, ambos a partir de amostras de solo em área de ocorrência de plantas de eucalipto, possibilitaram o isolamento de colônias de *Trichoderma* spp. Foi verificada, pelo método da diluição, a concentração média de 2.10⁶ esporos.g⁻¹ de solo nas

amostras para os isolados, concordando com estudos de colonização do solo por *Trichoderma* (PAPAVIZAS, 1982; SILVA, 1997). A partir desse procedimento foram selecionados quatro isolados (E1, E7, E11 e E15) de *Trichoderma* spp. que apresentaram colônias com maior diâmetro de micélio *in vitro*. Pelo método de iscas foi possível isolar seis colônias de *Trichoderma* spp., a partir de grãos de trigo, com crescimento e esporulação em meio BDA (SGA; St; Pt; Cp; Sb; IL). Foram obtidos também três isolados de *Trichoderma* spp. (S1, S2, S3) parasitando naturalmente as hifas do patógeno *Cylindrocladium* spp. em meio de cultura BDA. Resultados de trabalhos de seleção de antagonistas *in vitro* têm demonstrado que, embora diferentes gêneros de isolados fúngicos tenham sido encontrados no procedimento de isolamento, os melhores isolados são do gênero *Trichoderma* (ZAZZERINI e TOSI, 1985; ETHUR et al., 2005)

Mediante a avaliação do crescimento dos 13 isolados de *Trichoderma* spp. em meio BDA, observou-se que todos colonizaram completamente o meio BDA em até 96 h nas condições estabelecidas. No entanto, os isolados patogênicos e não-patogênicos de *Cylindrocladium* spp. se desenvolveram mais lentamente, colonizando completamente o meio em 12 dias. Esses dados de crescimento foram importantes para definir a época de transferência dos isolados de *Trichoderma* e do *Cylindrocladium* spp. para o meio BDA em placas de Petri, no teste de confrontação *in vitro*.

3.2. Experimento *in vitro*

Utilizando diferentes procedimentos, foram observados três isolados com boa capacidade antagonista *in vitro*, E15 (diluição de partículas de solo), St (método de iscas) e S2 (isolamento a partir de hifas do fitopatógeno). Esses isolados apontaram os melhores resultados no teste de confrontação direta, em que todos obtiveram nota 1, isto é, desenvolveram completamente sobre o patógeno e colonizaram todo o meio de cultura BDA. No entanto, os isolados E7, E17, S3, SGA e IL mostraram o menor desempenho no teste em confrontação com o fitopatógeno, pois colonizaram apenas 50% do meio de cultura, obtendo nota 3. Os isolados Cp, E11, S1, Pt e Sb mostraram resultados intermediários (nota 2) *in vitro*; colonizaram pelo menos 2/3 da superfície do meio (Figura 1). No confronto direto do agente de biocontrole com o fitopatógeno podem ocorrer ações antagônicas, como

antibiose, hiperparasitismo e competição (ETHUR et al., 2005), sendo essas características favoráveis que visam à seleção de isolados de *Trichoderma* spp. com provável capacidade de antagonismo *ex vitro* com fitopatógenos e promoção de enraizamento das microestacas de *Eucalyptus* sp.

Os métodos *in vitro*, além de serem práticos, servem como uma seleção preliminar para avaliar a capacidade antagonista e também indicam o comportamento do microrganismo, com relação a sua capacidade de adaptação, crescimento e reprodução *in vitro*. Existem algumas restrições com à realização apenas desses testes para a seleção, pois, na maioria das vezes, os resultados positivos obtidos *in vitro*, ou em condições controladas, não coincidem ou, às vezes, são opostos àqueles obtidos *ex vitro* (GRIGOLETTI JR. et al., 2000).

A variabilidade observada neste trabalho entre os isolados de *Trichoderma* spp. em relação ao antagonismo a *Cylindrocladium* spp. *in vitro* confirma os resultados de antagonismo *in vitro* obtidos para outros fitopatógenos (SILVA, 1997; ETHUR et al., 2001; 2005).

3.3. Experimento *ex vitro*

Devido, provavelmente, às condições ambientais propícias da estufa, principalmente temperatura e umidade, observou-se a ocorrência natural de sintomas do fitopatógeno *Botrytis cinerea*, sendo possível, além de estudar o fator enraizamento, observar a ocorrência da doença nas microestacas de *Eucalyptus* sp. Esse patógeno apresentou-se bastante agressivo e com disseminação homogênea entre as microestacas do experimento. Uma vez introduzido nos viveiros, *Botrytis cinerea* pode sobreviver em substrato orgânico, folhas mortas caídas na superfície dos recipientes e também em tecidos de mudas de eucalipto, como componentes do filoplano (SOUZA e FERREIRA, 1990; SOUZA, 1991; SANFuentes e FERREIRA, 1997).

A testemunha, sem inoculação dos isolados, apresentou a menor porcentagem de sobrevivência de microestacas mortas (52,44 %), 30 dias após a inoculação; já os tratamentos com os isolados de *Trichoderma* e *Cylindrocladium* apresentaram sobrevivência bem maior em relação à testemunha, embora não tenham diferido estatisticamente entre si (Tabela 1).

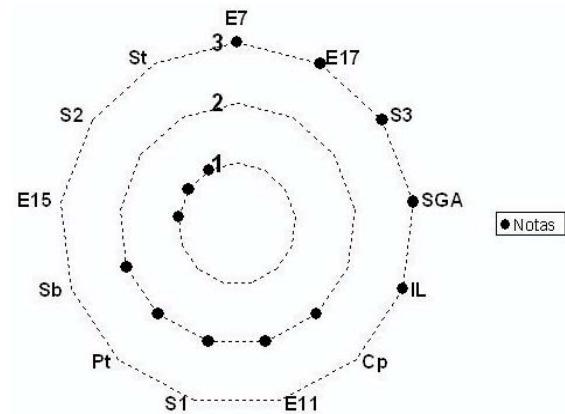


Figura 1 – Notas de confrontação direta, segundo o critério de Bell et al. (1982), entre *Cylindrocladium* spp. e isolados de *Trichoderma* spp.

Figure 1 – Direct confrontation assays carried out according to criteria proposed by Bell et al. (1982), between *Trichoderma* spp. isolates and *Cylindrocladium* spp.

Tabela 1 – Porcentagem de sobrevivência de microestacas de *Eucalyptus* sp. na presença dos isolados ST, E15 e S2 de *Trichoderma* spp. e de Cyl de *Cylindrocladium* spp., em ambiente naturalmente infestado por *Botrytis cinerea*

Table 1 – Microcutting survival percentage of *Eucalyptus* sp. in the presence of ST, E15 and S2 isolates of *Trichoderma* spp. and of Cyl of *Cylindrocladium* spp. in an environment naturally infested with *Botrytis cinerea*

Tratamentos	Sobrevivência de microestacas (%) ¹
Testemunha	52,44 b
ST	87,74 a
E15	91,63 a
S2	93,83 a
Cyl	97,79 a

¹Médias seguidas por letras distintas diferem entre si, a 5%, pelo teste de Tukey.

¹Averages followed by different letters differ among themselves at the level 5% by the Tukey's test.

O tratamento com o isolado Cyl de *Cylindrocladium* spp. apresentou alta porcentagem de sobrevivência (97,79%) com bom desempenho no controle de *Botrytis cinerea* (Tabela 1). O isolado Cyl, mantido em laboratório por repicagens sucessivas *in vitro*, mostrou-se hipovirulento ou não-patogênico *ex vitro*, mas apresentou capacidade de biocontrole, provavelmente por instalar naturalmente mecanismos de resistência da planta

hospedeira e, ou, de competição por nutrientes (BLAKEMAN, 1980; DUBUS, 1987; ELAD et al., 1994). Embora o tratamento com o isolado Cyl não tenha mostrado diferença significativa em relação à porcentagem de enraizamento, não foram observadas microestacas enraizadas com sintomas de *Botrytis cinerea* (Tabela 2).

O tratamento-testemunha não apresentou diferença em relação à porcentagem de microestacas enraizadas com e sem sintomas da doença. No entanto, foi observada nos tratamentos com os isolados ST, E15 e S2 de *Trichoderma* spp. e Cyl de *Cylindrocladium* spp. uma porcentagem significativamente maior de plantas sem sintomas (Tabela 2).

O isolado E15 de *Trichoderma* spp. foi o único tratamento que diferiu da testemunha apresentando média significativamente maior (62,25 %) de porcentagem de microestacas enraizadas (62,25 %) (Tabela 2), confirmando que o biocontrole é eficaz no caso da utilização de isolados antagonistas selecionados de *Trichoderma* spp., visando à promoção do enraizamento e ao biocontrole de fitopatógenos. Esses resultados confirmam os de Sivan e Harman (1991), Kleifeld e Chet (1992), Melo (1998) e Altomare et al. (1999), que afirmaram, em seus estudos, que *Trichoderma* spp. promove o crescimento de raízes em diferentes culturas. Sabe-se que a promoção de crescimento de plantas por fungos pode envolver produção de hormônios vegetais, produção de vitaminas ou conversão de materiais a uma forma útil para a planta, absorção e translocação de minerais e controle de patógenos (MELO, 1996). Respostas à aplicação de *Trichoderma* spp. podem também ser caracterizadas por aumentos significativos na porcentagem de germinação, na área foliar e no peso seco das plantas (KLEIFELD e CHET, 1992). Resende et al. (2004) observaram que o emprego de *Trichoderma harzianum* em plantas de milho resultou em maior acúmulo de matéria seca nas raízes.

O mecanismo pelo qual os agentes de biocontrole protetores de espécies florestais atuam e pouco conhecido. Produtos químicos sintéticos têm sido usados na agricultura para proteção contra patógenos. Entretanto, seus efeitos nocivos têm estimulado a redução de seu uso e a adoção de métodos naturais menos agressivos. Os principais efeitos indesejáveis do uso de agroquímicos são a poluição ambiental, a intoxicação do homem e animais e o surgimento de resistência dos

patógenos a esses produtos. O controle biológico vem ao encontro dessa demanda, pois se baseia em métodos ambientalmente corretos e que podem fazer parte de um controle integrado de doenças. A utilização do controle biológico na área florestal é possível, principalmente em viveiros, onde as condições ambientais podem ser controladas. No campo, a sua utilização é adequada para o controle de patógenos radiculares e também pode ser empregado na preservação de madeiras, evitando a ação de agentes manchadores (GRIGOLETTI JR. et al., 2000).

Tabela 2 – Porcentagem de enraizamento de microestacas de *Eucalyptus* sp. com sintomas (CS) e sem sintomas (SS), na presença dos isolados ST, E15 e S2 de *Trichoderma* spp. e de Cyl de *Cylindrocladium* spp., em ambiente naturalmente infestado por *Botrytis cinerea*

Table 2 – Microcutting rooting percentage of *Eucalyptus* sp. with symptoms (CS) and without symptoms (SS) in the presence of ST, E15 and S2 isolates of *Trichoderma* spp. and of Cyl of *Cylindrocladium* spp. in environment naturally infested with *Botrytis cinerea*

Tratamentos	Porcentagem de enraizamento de microestacas ¹	
	CS	SS
Testemunha	2,80 a A	28,77 a A
ST	3,74 a A	42,76 ab B
E15	1,31 a A	62,25 b B
S2	3,63 a A	55,81 ab B
Cyl	0,00 a A	58,18 ab B

¹Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na horizontal ou minúsculas na vertical diferem entre si, a 5%, pelo teste de Tukey.

¹Averages followed by different letters, upper case in horizontal or lower case in the vertical axis, differ among themselves at the level 5% by the Tukey's test.

4. CONCLUSÃO

O tratamento com os isolados ST, E15 e S2 de *Trichoderma* spp. e Cyl de *Cylindrocladium* spp. aumentou a sobrevivência de microestacas de *Eucalyptus* sp nas condições deste experimento. O tratamento com isolado de *Trichoderma* spp. E15 também promoveu o aumento da porcentagem de enraizamento das microestacas.

5. AGRADECIMENTO

À Tecnoplanta Ltda., em Barra do Ribeiro, RS, pela disponibilização do espaço e material vegetal; e à FAPERGS, pelo suporte financeiro.

6. REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C. Fungos do gênero *Cylindrocladium* como patógenos florestais, no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.11, p.275-277, 1986.
- ALFENAS, A. C. et al. Mofo-cinzento, causado por *Botrytis cinerea* (Persoon ex Fries) em estacas e microestacas de *Eucalyptus* sp., resistência a benomil e erradicação de inóculo do patógeno com água quente. **Revista Árvore**, v.4, n.23, p.497-500, 1999.
- ALTOMARE, C. et al. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, n.7, p.2926-2933, 1999.
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 4. ed. Minnesota: Burgess Publishing Company, 1998. 218p.
- BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, v.72, n.4, p.379-382, 1982.
- BLAKEMAN, J. P. Behavior of conidia on aerial plant surfaces. In: COLEY-SMITH, J. R.; VERHOEFF, K.; JARVIS, W. R. (Ed.). **The biology of Botrytis**. London: Academic Press, 1980. p.115-151.
- CHANG, Y. C. et al. Increased growth of plants in presence of biological control agent *Trichoderma harzianum*. **Plant Disease**, v.70, p.145-148, 1986.
- DUBOS, B. Fungal antagonism in aerial agrobiocenoses. In: CHET, I. (Ed.) **Innovative approaches to plant disease control**. New York: John Wiley & Sons, 1987. p.107-135.
- ELAD, Y.; KÖHL, J.; FOKKEMA, J. N. Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic yeasts. **Phytopathology**, v.84, n.10, p.1193-1200, 1994.
- ETHUR, L.Z.; CEMBRANEL, C. Z.; SILVA, A. C. F. Seleção de *Trichoderma* spp. visando o controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, *in vitro*. **Ciência Rural**, v.31, p.885-887, 2001.
- ETHUR, L. Z. et al. Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* em pepineiro cultivado em estufa. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, n.2, p.127-133, 2005.
- FERREIRA, F. A. **Principais doenças do eucalipto no estado de Minas Gerais**. Viçosa, MG: EPAMIG, 1985. 12 p. (Boletim Técnico, 23).
- FERREIRA, F. A. Enfermidades do eucalipto. **Informe Agropecuário**, v.12, n.141, p.59-70, 1986.
- GHINI, R.; KIMATI, H. **Método de isca para obtenção de isolados de Trichoderma antagônicos a Botrytis cinerea**. Jaguariúna: Embrapa-CNPDA, 1989. 13p. (Boletim de Pesquisa, 3).
- GRIGOLETTI JR., A.; SANTOS, A. F.; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Revista Floresta**, v.30, p.155-165, 2000.
- HARMAN, G. E. Myth and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v.84, p.377-393, 2000.
- KLEIFELD, O.; CHET, I. *Trichoderma*: plant interaction and its effects on increased growth response. **Plant Soil**, v.144, n.2, p.267-272, 1992.
- MELO, I. S. *Trichoderma e Gliocladium* como bioprotetores de plantas. In: LUZ, W. C. (Ed.) **Revisão anual de patologia de plantas**. Porto Alegre: 1996. v.4. p.261-296.
- MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S. e AZEVEDO, J. L. (Ed.) **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa, 1998. p.17-66.
- NEL, B. et al. The potential of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* and other biological control organisms for suppressing fusarium wilt of banana. **Plant Pathology**, v.55, n.2, p.217-223, 2006.

PAPAVIZAS, G. C. Survival of *Trichoderma harzianum* in soil and in pea bean rhizospheres. **Phytopathology**, v.72, p.1212, 1982.

RESENDE, M. L. et al. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, n.4, p.793-798, 2004.

SANFUENTES, E. A.; FERREIRA, F. A. Seleção de fungos para o biocontrole de *Botrytis cinerea* em viveiros suspensos de eucalipto. **Revista Árvore**, v.21, n.1, p.147-153, 1997.

SEGURA, C. B. Manchas foliares por el hongo *Cylindrocladium scoparium* Morg. en *Eucalyptus* spp. en Turrialba, Costa Rica. **Turrialba**, v.20, p.365-366, 1970.

SILVA, A. C. F. **Uso de radiação gama para a obtenção de mutantes de *Trichoderma harzianum* Rifai. e *T. viride* Pers.Fr. com capacidade melhorada no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary.** 1997. 143f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

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

SNEH, B.; ICHIELEVICH-AUSTER, M. Induced resistance of cucumber seedlings caused by some non-pathogenic *Rhizoctonia* (np-R) isolates. **Phytoparasitica**, v.26, n.1, p.27-38, 1998.

SOUZA, M. G.; FERREIRA, F. A. Suscetibilidade de folhas mortas, senescentes e normais e de porções basais e superiores de hastes de mudas de *Eucalyptus grandis* a *Botrytis cinerea*. **Fitopatologia Brasileira**, v.15, p.128, 1990.

SOUZA, M. G. **Etiologia e controle do tombamento de mudas de eucalipto, causado por *Botrytis cinerea*, no estádio de fechamento de canteiros.** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1991. 53p.

WOLLUM, A. G. Cultural methods for soil microorganisms. In: PAGE, A. L.; MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: Soil Science Society of America, 1982. p.781-802.

XAVIER, A.; COMÉRIO, J. Microestaqueia: uma maximização da micropropagação de *Eucalyptus*. **Revista Árvore**, v.20, n.1, p.9-16, 1996.

ZAZZERINI, A.; TOSI, L. Antagonistic activity of fungi isolated from sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Pathology**, v.34, p.414-421, 1985.