



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CONTROLE DA PODRIDÃO POR *Sclerotium rolsii* EM ALHO (*Allium sativum* L.) E CEBOLA (*Allium cepa* L.) POR *Trichoderma*

THIAGO GOMES DE SOUSA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

BRASÍLIA/DF

MARÇO/2012



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CONTROLE DA PODRIDÃO POR *Sclerotium rolfsii* EM ALHO (*Allium sativum* L.) E CEBOLA (*Allium cepa* L.) POR *Trichoderma*

THIAGO GOMES DE SOUSA

ORIENTADOR: LUIZ EDUARDO BASSAY BLUM

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

PUBLICAÇÃO: 43/ 2012

BRASÍLIA/DF
MARÇO/2012 (12)



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CONTROLE DA PODRIDÃO POR *Sclerotium rolsii* EM ALHO (*Allium sativum* L.) E CEBOLA (*Allium cepa* L.) POR *Trichoderma*

THIAGO GOMES DE SOUSA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM AGRONOMIA.

APROVADA POR:

LUIZ EDUARDO BASSAY BLUM, Doutorado/Universidade de Brasília/ CPF: 333965071-34/luizblum@unb.br

MARIA LUCRÉCIA GEROSA RAMOS, Doutorado/Universidade de Brasília/CPF: 002094438-12/lucrecia@unb.br

SUELI CORRÊA MARQUES DE MELLO, Doutorado/Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN)/ CPF: 144403851-68/smello@cenargen.embrapa.br

BRASÍLIA/DF, 21 de MARÇO de 2012.

FICHA CATALOGRÁFICA

S725c

Sousa, Thiago Gomes.

Controle da Podridão por *Sclerotium rolfsii* em Alho (*Allium sativum* L.) e Cebola (*Allium cepa* L.) por *Trichoderma* / Thiago Gomes de Sousa – 2012.

68 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2012.

Orientação: Prof. Dr. Luiz Eduardo Bassay Blum, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária.

1. *Allium sativum*. 2. *Allium cepa* 3. *Sclerotium rolfsii*. 3. Controle biológico. 4. *Trichoderma*. I. Blum, Luiz Eduardo Bassay. II. Universidade de Brasília. III. Título.

CDU 635.25/.26:632

Ficha catalográfica elaborada por Yaciara Mendes Duarte – CRB1 2622

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

SOUSA, T. G. **Controle da Podridão por *Sclerotium rolfsii* em Alho (*Allium sativum* L.) e Cebola (*Allium cepa* L.) por *Trichoderma***. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2012, 68 p. Dissertação de Mestrado.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Thiago Gomes de Sousa

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Controle da Podridão por *Sclerotium rolfsii* em Alho (*Allium sativum* L.) e Cebola (*Allium cepa* L.) por *Trichoderma*.

GRAU: Mestrado

ANO: 2012

É concedida à Universidade de Brasília de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado para única e exclusivamente propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada à fonte.

Nome: Thiago Gomes de Sousa

CPF: 003.675.791-89

Endereço. Rua 8 norte lote 4 bloco C apart.201 – Águas Claras/DF

Tel. 96490773

email: tgsousa@agronomo.eng.br

Agradecimentos

“Bem aventurado o homem que acha sabedoria, e o homem que adquire conhecimento.”

Pv 3:13

Agradeço ao Deus todo poderoso que me deu a oportunidade de realizar este trabalho e a força para concluí-lo, por coloca as pessoas certas em meu caminho desde os primeiro suspiro da minha vida.

Agradeço aos meus pais, Benjamim Carvalho de Sousa e Maria do Carmo Gomes da Costa Sousa, pela dedicação à minha educação e pelo incentivo a alcançar a vitória, pela colaboração no desenvolvimento dos experimentos os quais não seriam sido concluídos sem a sua força de trabalho.

À minha noiva, Larissa, por me apoiar e acreditar em meus sonhos, e pelo seu amor que me faz crescer a cada dia de minha vida.

Aos meus irmãos: Késia, Hudson e Kássia, pelo companheirismo e pela amizade que me ajudaram a vencer as tormentas e precipícios da minha jornada.

Ao meu cunhado e irmão, Junior, pelo apoio nas horas mais difíceis durante a condução dos experimentos de campo.

A todos meus familiares e amigos que não foram citados por terem feito parte dessa vitória.

Ao Professor Luiz Eduador Bassay Blum, pela orientação e por todos os ensinamentos passados.

À Professora Maria Lucrécia Generosa Ramos pelo apoio financeiro e psicológico.

À Fundação Universidade de Brasília e a CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

À Associação Nacional dos Produtores de Alho (ANAPA) pelo fornecimento das sementes de alho.

Às empresas Itaforte, Technes e Turfal pela doação dos produtos testados.

Thiago Gomes de Sousa

SUMÁRIO

RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	2
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 ALHO (<i>Allium sativum</i> L.)	4
2.1.1 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA	4
2.1.2 ASPECTOS TAXONÔMICOS	6
2.1.3 ASPECTOS BOTÂNICOS	6
2.2 CEBOLA(<i>Allium cepa</i>)	7
2.1.1 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA	7
2.1.2 ASPECTOS TAXONÔMICOS	9
2.1.2 ASPECTOS BOTÂNICOS	9
2.3 <i>Sclerotium rolfsii</i>	10
2.3.1 ASPECTOS GERAIS	10
2.3.1 SINTOMAS	11
2.4 CONTROLE	11
2.4.1 CONTROLE QUÍMICO	12
2.4.2 CONTROLE CULTURAL	12
2.4.3 CONTROLE FÍSICO	13
2.4.4 CONTROLE BIOLÓGICO	13
2.4.4.1 <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	15
2.4.4.2 <i>Trichoderma asperellum</i> Samuels, Lieckf & Nirenberg	16
2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
3 USO DE <i>Trichoderma harzianum</i> COMERCIAL E CONDICIONADOR ORGÂNICO DE SOLO PARA CONTROLE DA PODRIDÃO POR <i>Sclerotium rolfsii</i> EM ALHO CULTIVAR ITO	22
3.1 RESUMO	22
3.2 INTRODUÇÃO	22
3.3 MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.3.1 OBTENÇÃO E CULTIVO DOS ISOLADOS DO PATÓGENO	23
3.3.2 ANÁLISE DE SOLO	24
3.3.3 TESTE DEGERMINAÇÃO DE ESCLERÓCIOS	24
3.3.4 TESTE <i>in vivo</i> (BIOENSAIO COM PLANTAS DE ALHO)	26
3.3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	28
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
3.5 CONCLUSÕES	33
3.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
4 TRICHODERMAS COMERCIAIS PARA CONTROLE DA PODRIDÃO POR <i>Sclerotium rolfsii</i> EM CEBOLA VAR. BAIA PERIFORME	36
4.1 RESUMO	36
4.2 INTRODUÇÃO	36
4.3 MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.3.1 OBTENÇÃO E CULTIVO DOS ISOLADOS DO PATÓGENO	37
4.3.2 DESCRIÇÃO E ANÁLISE DE SOLO DO LOCAL DOS EXPERIMENTOS	38
4.3.3 PLANTIO, TRATOS CULTURAIS, INOCULAÇÃO E TRATAMENTOS	38
4.3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.5 CONCLUSÕES	46
4.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
5 CONCLUSÃO	49
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
ANEXOS	57

LISTA DE FIGURAS

2.1 Foto de esclerócios germinados. Visualização em lupa de mão (Ampliação = 10X).....	17
2.2 Murcha de plantas de cebola (Optima F1) atacadas por <i>Sclerotium rolfsii</i> . Presença de micélio cottonoso e começo da formação de esclerócios	17
3.1 Podridão em bulbilhos de alho causada pelo <i>Sclerotium rolfsii</i>	24
3.2 Micélio do <i>Sclerotium rolfsii</i> á esquerda e <i>Trichoderma harzianum</i> à direita. Visualização em microscópio estereoscópico (Ampliação = 400 X)	25
3.3 Esclerócio e micélio do <i>Sclerotium rolfsii</i> sendo colonizado pelo <i>Trichoderma harzianum</i> no 7º dia após inoculação. Visualização em microscópio estereoscópico (Ampliação = 400 X).....	26
3.4 (A) Testemunha somente solo. (B) Condicionador de solo + <i>T. harzianum</i> . (C) Condicionador de solo. (D) Testemunha com patógeno. (E) <i>Trichoderma harzianum</i> . (F) Procimidona. Avaliação no 15º dia após inoculação	26
3.5 (A) Câmara úmida. (B) Visão geral do experimento II. (C) Esclerócios formando colar na base da planta próximo ao solo	27
4.1 Preparo do solo e sistema de irrigação.	40
4.2 Parcelas utilizadas	40
4.3 Visão geral da área experimental total, experimento I (à esquerda) e experimento II (à direita)	41
4.4 Cura da cebola	41
4.5 Podridão da cebola com a presença do micélio e esclerócios de <i>Sclerotium rolfsii</i> ..	42

LISTA DE TABELAS

2.1 Aquisição alimentar domiciliar per capita anual, por classes de rendimento monetário e não-monetário mensal familiar, segundo os produtos - Região Centro-Oeste período 2002-2003.	5
2.2 Produção Agrícola do Alho no Brasil. 2000-2009.....	5
2.3 Comparativo entre as Safras 2009 e 2010 de Alho.....	6
2.4 Produção Agrícola da Cebola no Brasil. 2000-2009.....	8
2.5 Comparativo entre as Safras 2009 e 2010 de Cebola.	9
2.6 Comparativo entre áreas plantadas com batata-inglesa, tomate e cebola entre as Safras 2000 e 2009.	9
3.1 Percentagem de germinação (G) e percentual de parasitismo (P) dos esclerócios no 15º dia após aplicação de tratamentos. Brasília/DF, 2010.....	29
3.2 Percentual de alho (cv. Ito) com <i>Sclerotium rolfsii</i> ao final do ciclo. Brasília/DF, 2010.....	30
3.3 Massa seca de raiz (MSR), ganho em percentagem de massa seca de raiz em relação à testemunha com patógeno (GR), ganho em percentagem da massa seca da parte aérea em relação à testemunha com patógeno (GPA) e massa seca da parte aérea (MSPA) e número de esclerócios capturados (EC) do solo ao final do ciclo alho cultivar Ito. Brasília/ DF, 2010.....	31
3.4 Correlação de Pearson entre o número de esclerócios capturados (NE), massa seca de raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA) e plantas infectadas (PI). Brasília/ DF, 2010.....	33
4.1 Percentagem de plantas com a presença do patógeno (Incidência) ao final do ciclo da cultura da cebola var. Baia Periforme. Brasília/DF, 2010.....	45
4.2 Produtividade por hectare (P) e ganho de produtividade em relação à testemunha com patógeno. Brasília/ DF, 2010.....	45

RESUMO

A podridão por esclerócio (*Sclerotium rolfsii*) está entre as doenças mais importantes do alho (*Allium sativum*) e da cebola (*A. cepa*). Em países de clima frio há relatos de perdas entre 10% a 65%, enquanto em países de clima tropical estas perdas podem atingir 100%. O patógeno tem uma ampla gama de hospedeiros, sendo capaz de infectar mais de 500 espécies vegetais. O fungo se propaga por estruturas de resistência, esclerócios, que podem sobreviver por vários anos no solo, além de serem facilmente levadas pela água e movimentação de pessoas e equipamentos. Alguns métodos de controle têm sido relatados contra a doença, por exemplo: o químico por meio de fungicidas (tebuconazole, thiram, procimidone), o físico com solarização (cobertura do solo com lonas e coletores solares), o cultural por meio da adição de matéria orgânica que promove o aumento da população dos microorganismos benéficos e o biológico com a inoculação de organismos antagônicos aos patógenos. Há necessidade de melhoria do manejo da doença, devido à dificuldade de controle do patógeno e o interesse ambiental de diminuição a cada dia da utilização de produtos químicos. Assim, o objetivo principal neste estudo foi avaliar produtos comerciais à base de *Trichoderma* no controle da podridão do alho e cebola. Primeiramente, foi avaliada a eficiência de *T. harzianum* comercial em relação a fungicidas (procimidona e tiofanato metílico) por teste *de germinação de esclerócios* (solo em caixas plásticas) em laboratório e por teste *in vivo* com plantas de alho em casa de vegetação. Em uma segunda parte do estudo foi avaliado a eficiência de *T. harzianum* e *T. asperellum* em campo experimental de cebola inoculado artificialmente com *S. rolfsii*. Em todos os trabalhos os produtos à base de *Trichoderma* foram superiores aos fungicidas. Nos testes *in vivo* com plantas de alho observou-se (a) um menor número de plantas infectadas, (b) aumento de massa seca de raiz e parte aérea em relação à testemunha com patógeno, e; (c) menor número de esclerócios capturados nos tratamentos com *T. harzianum*. Nos campos experimentais de cebola o tratamento *Sclerotium rolfsii* + *T. harzianum* apresentou a menor incidência, diferindo significativamente da testemunha com patógeno. No tratamento somente com *T. harzianum* houve o maior ganho de produtividade em relação à testemunha somente com patógeno. O tratamento com *T. asperellum* também reduziu a incidência da doença e induziu ganho em produtividade da cebola.

Palavras-chave: *Allium sativum*, *Allium cepa*, *Sclerotium rolfsii*, *Trichoderma*, Controle biológico.

ABSTRACT

The *Sclerotium* rot (*Sclerotium rolfsii*) is one of the most important diseases of garlic (*Allium sativum*) and onion (*A. cepa*). In cold climate countries losses between 10% to 65%, while in tropical countries, these losses can reach 100%. The pathogen has an extensive host range and is capable of infecting more than 500 species of plants. The fungus is spread by resistance structures, sclerotia, which can survive in soil for years, and are easily moved by wind, water and movement of people and equipment. Some methods of control have been reported against the disease, for example: the chemical by fungicides (tebuconazole, thiram, procymidone), the physical with solarization (soil covered with tarpaulins and solar panels), the culture by the addition of organic matter promoted the increase of the population of beneficial microorganisms and inoculation with biological organisms antagonistic to pathogens. There is need for improved management of the disease, due to the difficulty of controlling the pathogen and environmental interest of reduction day by day use of chemicals, thus the main objective of this study was to evaluate commercial products based on *Trichoderma*. First, we evaluated the efficacy of *T. harzianum* in relation to commercial fungicides (procymidone and thiophanate methyl) per test germination of sclerotia (soil in plastic boxes) in the laboratory and tested *in vivo* with garlic plants in the greenhouse. In a second part of the study was evaluated the efficacy of *T. harzianum* and *T. asperellum* onion trial field artificially inoculated with *S. rolfsii*. In all studies based products of *Trichoderma* were higher than fungicides. *In vivo* tests with garlic plants was observed (a) a lower number of infected plants, (b) increase in dry weight of roots and shoots compared to control with the pathogen, and (c) captured fewer sclerotia in treatments with *T. harzianum*. In onion trials field of treatment *Sclerotium rolfsii* + *T. harzianum* had the lowest incidence, differing significantly from the control with the pathogen. In the treatment only with *T. harzianum* was the largest productivity gain compared to control only with the pathogen. Treatment with *T. asperellum* also reduced the incidence of the disease and led to higher productivity of the onion.

Key word: *Allium sativum*, *Allium cepa*, *Sclerotium rolfsii*, *Trichoderma*, biological control

1 INTRODUÇÃO

O alho (*Allium sativum* L.) e a cebola (*A. cepa* L.) são plantas pertencentes à família Alliaceae, que além de estarem situados entre as espécies vegetais mais importantes para alimentação humana, possuem propriedades nutraceuticas, cuja substância atua como antibactericida ou protetora contra doenças degenerativas como câncer ou doenças cardíacas (MARIOT et al., 2007; APOLINÁRIO et al., 2008).

Ambas as culturas são de elevada importância para a economia mundial, e como as demais espécies vegetais, são afetadas pela presença de doenças e pragas. Entre as doenças, as podridões dos bulbos estão entre as mais importantes, pois provocam perdas econômicas na produção destas plantas em todo o mundo. Na Europa, as perdas podem atingir até 10%, enquanto na América do Norte há relatos de 65% de perdas. Já em regiões tropicais, as perdas podem ser ainda maiores, com possibilidade de chegarem a 100% (PUNJA, 1985; EARNSHAW et al., 2000).

A podridão por esclerócio é causada pelo fungo *S. rolfii*, tal espécie é a mais importante do seu gênero, *Sclerotium*. Apresenta hifas septadas, finas, brancas e intensamente ramificadas, formando um micélio abundante, cotonoso e solto. O micélio dá origem aos esclerócios, inicialmente pequenos e de cor branca que, durante seu desenvolvimento, escurecem, e apresentam-se esféricos ou de forma irregular. *S. rolfii* sobrevive em restos de cultura, sendo que os esclerócios podem permanecer viáveis no solo por um período superior a cinco anos. Tais esclerócios são estruturas resistentes que atuam na sobrevivência do fungo no solo na ausência da hospedeira, e também como inóculo inicial da doença. O fungo produz micélio e esclerócios em resposta à presença de compostos radiculares da hospedeira. O micélio infectivo do fungo penetra na epiderme das raízes, invadindo inter e intracelularmente o parênquima radicular causando extensiva degradação dos tecidos, conseqüente murcha e morte da planta. O patógeno produz ácido oxálico fitotóxico e enzimas pectolíticas que se difundem destruindo os tecidos da epiderme e permitindo a sua passagem para o bulbo (PANDEY et al. , 2007; GRANADOS & WANG, 2008).

A disseminação, na área de plantio, ocorre principalmente pela água de chuva ou de irrigação. Quando a planta é colocada junto a restos de cultura colonizados, hifas passam a se desenvolver sobre a região do colo da planta e, a partir daí, penetram diretamente a superfície do hospedeiro através da ação de toxinas e de enzimas que promovem a morte das células. A podridão causada por *S. rolfii* afeta mais de 500 espécies de plantas em cerca de 100 famílias (PUNJA, 1985; BULLUCK & RISTAINO, 2002).

Vários métodos de controle têm sido relatados para estas doenças, dentre os quais destacam-se: os fungicidas (Captan, procimidone e thiram), fumigação do solo com brometo de metila, solarização e estímulo da germinação dos escleródios pelo uso de restos culturais de cebola, e, uso de agentes de biocontrole, dentre os quais destacam-se os fungos *Trichoderma* e *Gliocladium*. O controle biológico visa diminuir a densidade do inóculo mediante o uso de antagonistas que destruam os esclerócios, ou evitem sua formação. Assim os objetivos dos agentes de biocontrole no ciclo da doença incluem: a erradicação dos esclerócios presentes no solo antes do plantio, a supressão ou degradação dos esclerócios sobre as plantas infectadas e a proteção do sistema radicular em crescimento (BLUM, 2006).

Também no biocontrole, o uso de *Pseudomonas* fluorescentes (*P. putida* e *P. fluorescens*) tem sido relatado para diferentes patógenos, incluindo fungos produtores de esclerócios como *Rhizoctonia solani* (Podridão de raízes), *S. rolfsii* (Podridão de hastes) e *Sclerotinia sclerotiorum* (Mofa branco – podridão de esclerotinia) (BLUM & RODRIGUEZ-KÁBANA, 2004, 2006a E 2006b). Em vista do exposto o objetivo desse trabalho é verificar a eficiência do controle da podridão por *Sclerotium* em alho e cebola por meio do uso produtos comerciais à base de *Trichoderma*.

1.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APOLINÁRIO, A. C.; MONTEIRO, M. M. O.; PACHÚ, C. O. ; DANTAS, I. C. 2008. *Allium sativum* L. como agente terapêutico para diversas patologias: uma Revisão. **Revista de Biologia e Farmácia**, v.2, n.1.
- BULLUCK, L. R.; RISTAINO, J. B. 2002. Effect of synthetic and organic soil fertility amendments on southern blight, soil microbial communities, and yield of processing tomatoes. **Phytopathology**, v. 92, p.181-189.
- BLUM, L. E. B. Controle biológico de fitopatógenos. 2006. In: BLUM et al. **Fitopatologia: o estudo das doenças de plantas**. Brasília: Ed. Otimismo, p. 196-205.
- BLUM, L.E.B.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, 2004. R. Effect of organic amendments on sclerotial germination, mycelial growth, and *Sclerotium rolfsii* induced diseases. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 66-74.
- BLUM, L.E.B.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. 2006a. Dried powders of velvetbean and pine bark added to soil reduce *Rhizoctonia solani*-induced disease on soybean. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 261-269.
- BLUM, L.E.B.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. 2006b. Powders of kudzu, velvetbean, and pine bark added to soil increase microbial population and reduce Southern blight of soybean. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 551-556.

- EARNSHAW, D.M., MCDONALD, M.R., BOLAND, G.J. 2000. Interactions among isolates and mycelial compatibility groups of *Sclerotium cepivorum* and cultivars of onion (*Allium cepa*). **Can. J. Plant Pathol.** , v. 22, p. 387-391.
- GRANADOS, M.M.; WANG, A. 2008. Efecto de Biocontroladores Aislados en Fincas Productoras de Cebolla Sobre la Pudrición Blanca (*Sclerotium cepivorum*). **Agronomía Costarricense**, v. 32, n. 1, p. 9-17.
- MARIOT, M. P.; HEIDEN, G.; CASTRO, L. A. S. 2007. In: BARBIERI, R. L. 2007. **Cebola: ciência, arte e história**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 117-122.
- PUNJA, Z. K. 1985. The biology, ecology, and control of *Sclerotium rolfii*. **Annual Rev. Phytopathology**, v. 23, p. 97-127.
- PANDEY, M. K.; SARMA, B. K. ; SINGH, D. P. ; SINGH, U. P. 2007. Biochemical Investigations of Sclerotial Exudates of *Sclerotium rolfii* and their Antifungal Activity. **J Phytopathology**, v.155, p. 84-89.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ALHO (*Allium sativum*)

2.1.1 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

O alho (*Allium sativum* L.) é uma das espécies cultivadas mais antigas. No Brasil, é uma das hortaliças mais consumida juntamente com a batata (*Solanum tuberosum* spp. *tuberosum*), cebola (*Allium cepa*), tomate (*Lycopersicon esculentum*) e cenoura (*Daucus carota*). Rico em amido e substâncias aromáticas, o bulbo é composto por bulbilhos, os quais são a parte mais utilizável devido seus valores nutricionais, medicinais e condimentares (FILGUEIRA, 2008). Os efeitos farmacológicos do alho são comprovados cientificamente e, deste forma, a espécie consta na relação de plantas medicinais regulamentadas pela Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) RDC n° 17, de 24 de fevereiro de 2000. Segundo APOLINÁRIO et al., (2008), a produção de fitofármacos poderia ser incentivada como alternativa viável para tratamento de patologias como a hipertensão arterial e certas infecções, além de auxiliar no tratamento em pessoas imunodeprimidas.

Na pesquisa do IBGE (Tabela 2.1) sobre a aquisição de alimento domiciliar per capita (2002/2003) foi possível constatar uma alta porcentagem na variação do consumo de alho em relação às outras hortaliças mais consumidas nas diferentes classes sociais, chegando a uma variação de 70,9% entre a classe de até R\$ 400 de rendimento em relação à classe de mais de R\$ 3.000, enquanto a batata, cebola e tomate apresentam uma variação de aproximadamente 37%, e a cenoura apenas de 30,1% (IBGE, 2003).

Nos anos de 2008 e 2009, a população brasileira consumiu cerca de 21,5 milhões de caixas (10 kg por caixa) de alho in natura, e 22,3 milhões de caixas, respectivamente, chegando a um consumo per capita de 1,1kg/ ano (LUCINI, 2008 e 2009).

Durante os anos de 2000 a 2003 houve no Brasil um aumento significativo da área plantada, produção e rendimento médio da cultura do alho, chegando em 2003 a uma produtividade média brasileira de oito toneladas por hectare (Tabela 2.2). Entre os anos de 2003 e 2005, a produção brasileira sofreu uma redução contínua, passando de 123 toneladas para 87,8 toneladas, apresentando um decréscimo de 28,7%, justificada pela falta de políticas em relação às importações (RESENDE & PEREIRA, 2009). Contudo, nos anos compreendidos entre 2000 e 2009, houve um aumento circunstancial na produtividade média. Nas safras de 2006 e 2007 houve um aumento da área plantada e produção, porém com uma

segunda redução gradual entre 2007 e 2009. A produção brasileira em 2009 foi de 85,3 toneladas (IBGE, 2010).

Na safra 2010 (Tabela 2.3), a área plantada com alho no Brasil ficou em torno de 10.543 hectares, com uma estimativa de produção de 105.115 toneladas e rendimento médio de 9.970 quilogramas por hectare. Portanto, houve uma variação de 12,1% na área plantada em relação à safra de 2009, levando a uma estimativa de aumento de produção de 23% e de aumento no rendimento médio de 10%, aproximadamente (IBGE, 2010).

Tabela 2.1. Aquisição alimentar domiciliar per capita anual, por classes de rendimento monetário e não-monetário mensal familiar, segundo os produtos - Região Centro-Oeste - período 2002-2003.

Produtos	Aquisição alimentar domiciliar per capital (Kg)					
	Classe de Rendimento Familiar Monetário e Não-Monetário					
	Mensal Familiar (R\$)					
	Até 400	400 a 600	600 a 1.000	1.000 a 1.600	1.600 a 3.000	mais de 3.000
Batata	1,647	2,43	2,805	3,124	3,738	4,387
Cebola	1,39	2,095	2,304	2,764	3,236	3,702
Tomate	2,54	3,517	3,87	5,039	6,135	6,702
Alho	0,314	0,317	0,388	0,359	0,421	0,443
Cenoura	0,866	1,095	1,314	1,912	2,118	2,877

Fonte: IBGE, Tabelas de Resultados. Aquisição Alimentar domiciliar per capita. Pesquisa de Orçamento Familiar 2002-2003.

Tabela 2.2. Produção Agrícola do Alho no Brasil. 2000-2009.

Safra Alho	Área Plantada (ha)	Área colhida (ha)	Produção (t)	Rendimento Médio (kg/ha)
2000	13.269	13.269	84.141	6.341
2001	14.353	14.301	101.925	7.127
2002	15.760	15.715	114.436	7.282
2003	15.099	15.099	123.099	8.153
2004	10.517	10.517	85.597	8.139
2005	10.362	10.362	86.199	8.319
2006	10.490	10.486	87.779	8.371
2007	11.258	11.258	99.002	8.794
2008	10.228	10.228	91.714	8.967
2009	9.502	9.402	85.323	9.075

Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 2010.

Tabela 2.3. Comparativo entre as Safras 2009 e 2010 de Alho.

	Safra 2009	Safra 2010	Varição (%)
Área Plantada (ha)	9.402	10.543	12,1
Produção (t)	85.323	105.115	23,2
Rendimento Médio (kg/ha)	9.075	9.970	9,9

Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 2010.

2.1.2 ASPECTOS TAXONÔMICOS

Durante muito tempo a classificação da família a qual o alho pertencia foi motivo de discordância entre taxonomistas. Era considerado da família das Amaryllidaceae por botânicos americanos e da família das Liliaceae pelos europeus. Atualmente, devido à grande quantidade de espécies presentes no gênero *Allium*, a espécie está colocada na família Alliaceae (SILVA & SILVA, 2009).

2.1.3 ASPECTOS BOTÂNICOS

Apesar de ser uma planta bianual, exigindo baixas temperaturas para o florescimento, comporta-se com uma cultura anual, tendo somente a fase vegetativa no ciclo biológico, exigindo dias longos para bulbificação e dias curtos para o florescimento. Por este motivo o fotoperíodo é um fator limitante para a bulbificação, que ocorre quando satisfeita a exigência (FILGUEIRA, 2008).

Por ser originária da Ásia, de regiões de clima extremamente frios, tem como fator limitante de produção o calor, sendo que temperaturas entre 20° e 30°C podem prejudicar a formação de bulbo, e, acima de 30°C, desfavorece a formação de bulbo com aspecto comercial. A temperatura média mensal ideal para um bom desenvolvimento da cultura situa-se entre 13° e 24°C, de modo que temperatura abaixo de 15°C estimula a formação de bulbo (SOBRINHO et al. 1993).

No Brasil, as cultivares de alho são classificadas de acordo com a duração do ciclo e exigência do fotoperíodo e temperatura. O grupo de cultivares precoces representados pelas cultivares Branco Mineiro, Cateto Roxo e Juréia, possui um ciclo de até quatro meses, do plantio dos bulbilhos (dentes) até a maturação dos bulbos. Com menor exigência a fotoperíodo e a frio, apresenta bulbos com grande número de bulbilhos (20 a 25, 26 a 30, 20 a 25, respectivamente); possui coloração externa branca ou arroxeadas, menor conservação pós-

colheita, e baixo valor comercial (SOBRINHO et al., 1993; FILGUEIRA, 2008; SILVA & SILVA, 2009).

As cultivares de ciclo mediano apresentam um pouco mais de exigência em fotoperíodo e frio, limitando assim as regiões para sua produção. Esse grupo apresenta um ciclo igual ou um pouco superior a cinco meses. Seus bulbos contem um menor número de bulbilhos sendo em média de 8 a 12 (SOBRINHO et al., 1993) e, portanto, mais graúdos. As cultivares Lavínia, Amarante, Gigante roxo, Gravatá e Gigante Curitibano são alguns exemplos deste grupo. Com uma coloração externa mais arroxeadada e boa conservação pós-colheita este grupo alcança melhor cotação comercial. (FILGUEIRA, 2008; SILVA & SILVA, 2009).

As cultivares tardias, também chamadas de nobres são as aquelas que possuem ciclos iguais ou superiores a seis meses. Elas apresentam alta exigência em fotoperíodo, com no mínimo 13 horas, em condições frias. Com bulbilhos mais graúdos e em pequenas quantidades, em média de 7 a 10 bulbilhos por bulbo (SOBRINHO et al., 1993), coloração externa esbranquiçada, ótima conservação pós-colheita, por isso atingem a mais alta cotação comercial entre os grupos de cultivares. Neste grupo tem-se com exemplo as cultivares Ito, Chonan, Quitéria, Roxo Pérola de Caçador, Jonas, San Valentin e Contestado (MOTA et al., 2006; FILGUEIRA, 2008), para serem plantas nas regiões Sudeste, Centro-Oeste, Norte (em microrregiões) e Nordeste, aplica-se a técnica da vernalização, armazenamento do alho-semente em câmara com temperatura entre 3° a 5°C durante períodos que variam entre 40 e 60 dias, com umidade relativa entre 70 a 80%, alterando as exigências agroclimáticas e provocando uma redução no ciclo da cultura, e possibilitando assim o plantio de cultivares nobres nestas regiões tropicais. Esta técnica de vernalização deve ser aplicada em pré-plantio, sendo os bulbos retirados das câmaras próximo do plantio, pois permanência por um grande período fora da câmara pode levar à desvernalização, e afetar a bulbificação (MÂCEDO et al., 2009).

2.2 CEBOLA (*Allium cepa*)

2.2.1 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

A cebola (*Allium cepa*) é um condimento cosmopolita bastante utilizado na culinária brasileira, e uma das mais antigas hortaliças cultivadas. Seu centro de origem é a região asiática, onde hoje estão os países Irã e Paquistão (FILGUEIRA, 2008).

No Brasil, a cebola começou a ser cultivada no estado de Santa Catarina por volta de 1930. Foi levada em seguida para São Paulo e, por volta de 1940, passou a ser cultivada extensivamente no Nordeste brasileiro, na região do Vale do São Francisco (BABIERI & MEDEIROS, 2007).

Durante os anos de 2000 a 2003 houve no Brasil um aumento significativo da área plantada com a cultura da cebola (Tabela 2.4), a produção e rendimento médio durante estes anos também tiveram um crescimento, porém sofrendo uma grande baixa apenas no ano de 2001, devido a problemas climáticos. No ano de 2004, a produtividade média brasileira atingiu a casa histórica das 19 toneladas por hectare. Entre os anos de 2004 a 2009, a produção brasileira sofreu um incremento contínuo, mesmo com a diminuição da área plantada em 2009. Durante os anos de 2000 a 2009 verificou-se um aumento circunstancial na produtividade média, com pequenas variações negativas nos anos de 2001, 2005 e 2008 (IBGE, 2010).

Na safra 2010, a área plantada com cebola no Brasil ficou em torno de 67.999 hectares (Tabela 2.5), com uma estimativa de produção de 1.499.507 toneladas, e um rendimento médio de 22.052 quilogramas por hectare, de modo que houve uma variação de 6,3% na área plantada em relação à safra de 2009, levando a uma estimativa de aumento de produção de 6,1% e com uma pequena diminuição do rendimento médio de -0,2% (IBGE, 2010).

No Brasil, a cebola está situada entre as três olerícolas mais cultivadas no Brasil, alternando-se na terceira posição (Tabela 2.6), em relação ao total de área cultivada, com o tomate, entre os anos de 2000 a 2009 (IBGE, 2010).

Tabela 2.4. Produção Agrícola da Cebola no Brasil. 2000-2009.

Safra Cebola	Área Plantada (ha)	Área colhida (ha)	Produção (t)	Rendimento Médio (kg/ha)
2000	66.515	66.505	1.156.332	17.387
2001	64.423	63.931	1.050.360	16.430
2002	69.024	68.869	1.222.124	17.746
2003	69.414	68.790	1.229.848	17.878
2004	58.361	58.361	1.157.562	19.835
2005	58.499	58.388	1.137.684	19.485
2006	63.364	63.314	1.345.905	21.258
2007	63.682	63.622	1.360.301	21.381
2008	65.164	65.164	1.367.066	20.979
2009	64.167	63.964	1.412.938	22.090

Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 2010.

Tabela 2.5. Comparativo entre as Safras 2009 e 2010 de Cebola.

	Safra 2009	Safra 2010	Variação (%)
Área Plantada (ha)	63.964	67.999	6,3
Produção (t)	1.412.938	1.499.507	6,1
Rendimento Médio (kg/ha)	22.090	22.052	-0,2

Fonte: Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 2010.

Tabela 2.6. Comparativo entre áreas plantadas com batata-inglesa, tomate e cebola entre as Safras 2000 e 2009.

Safra	Área Plantada (ha)		
	Batata-inglesa	Tomate	Cebola
2000	152.242	56.866	66.515
2001	154.186	57.663	64.423
2002	161.139	62.647	69.024
2003	151.982	63.611	69.414
2004	142.781	60.365	58.361
2005	142.623	60.639	58.499
2006	140.843	59.027	63.364
2007	147.800	58.575	63.682
2008	144.919	61.025	65.164
2009	141.176	66.023	64.167

Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 2010.

2.2.2 ASPECTOS TAXONÔMICOS

A cebola pertence à divisão Magneliophyta, classe Liliopsida, ordem Liliales, família Alliaceae, gênero *Allium* e espécie *Allium cepa* L (WASUM et al., 2007).

2.2.3 ASPECTOS BOTÂNICOS

É uma planta bianual que apresenta um ciclo biológico composto por duas etapas, uma vegetativa e outra reprodutiva. Na etapa vegetativa ocorre o desenvolvimento e amadurecimento dos bulbos. Como o fotoperíodo é um fator limitante na bulbificação e por ser uma espécie de dia longos, o processo só ocorre quando o fotoperíodo é maior que o valor crítico exigido pela cultivar. Satisfeita a exigência fotoperiódica ocorre a bulbificação normal.

As condições ideais para a cultura são temperaturas amenas ou frias durante o crescimento vegetativo e ligeiramente mais elevadas na bulbificação. (FILGUEIRA, 2008).

No Brasil, as cultivares de cebola são classificadas de acordo com a duração do ciclo e da exigência do fotoperíodo. As cultivares precoces são caracterizadas por apresentarem um ciclo curto, 4 a 5 meses, e por serem menos exigentes em fotoperíodo (10 a 11 horas de luz) para ocorrer desenvolvimento normal dos bulbos. As cultivares de ciclo mediano apresentam um ciclo de 5 a 6 meses de duração e exigência de 11 a 13 horas de luz, apresentando uma maior restrição de adaptação geográfica. As cultivares tardias tem o cultivo restrito a região sul do Brasil, pois apresentam uma maior exigência em fotoperíodo e um ciclo entre 6 a 8 meses (FILGUEIRA, 2008).

2.3 *Sclerotium rolfsii* Sacc.

2.3.1 ASPECTOS GERAIS

S. rolfsii é patogênico a mais 500 espécies de plantas, dicotiledôneas e monocotiledôneas, abrangendo 100 famílias suscetíveis. (PUNJA; RAHE, 1992; FARR et al. 2006; FERREIRA; BOLEY, 2006).

O fungo pode apresentar fase imperfeita (assexuada) e a fase perfeita (sexuada). Na fase perfeita pouco comum nos campos de produção, pertence ao e filo Basidiomycotes, ordem Aphyllophorales, gênero *Athelia rolfsii* e espécie *A. rolfsii* (AGRIOS, 2005).

As hifas do *S. rolfsii* são septadas, finas, brancas e ramificadas. Aglomerações de hifas são observadas 24 a 48 horas após a infecção e dão origem às estruturas de resistência chamadas de esclerócios (Figura 2.1). Estes variam de uma coloração de marrom-escuro a preto, e tamanho de 0,5 a 2 mm de diâmetro (PUNJA, 1985; SMITH et al. 1986), normalmente, podendo chegar em alguns caso entre 8 a 10 mm de diâmetro (MULLEN, 2001).

A disseminação do patógeno pode ser ocasionada por movimentação de água, transporte de solos infectados, ferramentas contaminadas, transplante de mudas infectadas, frutas e legumes infectados e sementes contaminadas com esclerócios (AGRIOS, 2005).

A faixa de pH ótima para germinação dos esclerócios situa-se entre 2,0 e 5,0. A partir de 5,0, o aumento do pH promove o decréscimo da taxa de germinação, quando o pH chega

a 8,0, a taxa de germinação torna-se 0 (PUNJA; GROGAN, 1983; FERREIRA; BOLEY, 2006).

O patógeno é encontrado com mais frequência em regiões de clima tropical e subtropical, onde na faixa de temperatura entre 25° a 35°C ocorre o máximo crescimento micelial. O micélio do patógeno não sobrevive à temperatura de 0°C, porém sua estrutura de resistência pode sobreviver a baixas temperaturas (PUNJA; RAHE, 1992; XU et al. 2008). A alta umidade do solo é ideal para germinação dos patógeno, porém alguns estudos observaram a germinação na faixa entre 25-35% (FERREIRA; BOLEY, 2006), contudo Beute & Rodríguez-Kabana (1981) observaram a morte do micélio de *S. rolfsii* morreu rapidamente com a elevada umidade de solo e temperatura na faixa de 15 a 35°C.

2.3.2 SINTOMAS

S. rolfsii pode infectar o tecido vegetal pelo ataque direto com a penetração do apressório, porém mesmo antes de ocorrer a penetração no hospedeiro, o fungo secreta ácido oxálico, enzimas pectinolíticas e celulolíticas, que matam e desintegram os tecidos vegetais. O ácido oxálico precipita o cálcio da lamela média, formado cristais de oxalato de cálcio, deixando o resto do tecido mais suscetível à degradação das enzimas (SMITH et al. 1986; AGRIOS, 2005).

Os primeiros sintomas (Figura 2.2) são amarelecimento, progredindo para a murcha das folhas. Em seguida o fungo produz um abundante micélio cotonoso nos tecidos infectados e no solo. A partir do micélio são produzidos esclerócios de coloração branca que evoluem para uma coloração marrom-escura a preta (PUNJA; RAHE, 1992; FERREIRA; BOLEY, 2006).

2.4 CONTROLE

As doenças radiculares são consideradas de difícil controle, pois os milhões de anos de coevolução entre parasita e hospedeiro tornaram os fitopatógenos muito adaptados ao habitat solo (MICHEREFF & BARROS, 2001).

2.4.1 CONTROLE QUÍMICO

A agricultura mundial encontra-se no patamar de hoje em grande parte pelo descobrimento e utilização dos produtos químicos. Inúmeras espécies de plantas produzidas no Brasil como soja, tomate, citros, alho, cebola, entres outras, apresentam uma alta produtividade e qualidade graças à utilização de fungicidas químicos (ZAMBOLIM & ZAMBOLIM, 2008).

Há relatos de resultados positivos no controle da germinação e crescimento do *S. rolfsii* (FRANKE et al., 1998), porém já existe na literatura relatos de isolados do fungo resistentes a fungicidas (PÉREZ-MORENO et al., 2009).

O uso indiscriminado de produtos químicos na agricultura vem ocasionando uma série de problemas ambientais, como a contaminação do solo, das águas, dos alimentos e dos animais, a intoxicação de pessoas envolvidas com o processo produtivo, o desequilíbrio biológico e a resistência de patógenos (BETTIOL & GHINI, 2001).

2.4.2 CONTROLE CULTURAL

O controle cultural é uma forma de manejo que visa manipular as condições de pré-plantio e desenvolvimento do hospedeiro em relação ao patógeno, com o intuito de induzir a supressividade do solo, a supressão do aumento do inóculo ou a destruição do inóculo existente, o escape das culturas ao ataque do patógeno e a regulação do crescimento da planta de forma que ela tenha menor suscetibilidade (MICHEREFF et al., 2001). Dentre as forma de controle cultural mais utilizadas está à rotação de culturas que, entretanto, não é eficiente no controle de *S. rolfsii*, pois o patógeno é capaz de infectar uma quantidade grande de hospedeiros (PUNJA, 1985).

Dentre as formas de controle cultura estão a rotação de cultura, o revolvimento do solo, manejo da irrigação, ajuste do pH, a incorporação de matéria orgânica, ajuste da densidade de plantio, destruição de restos culturais, entre outros (MICHEREFF et al., 2001). Blum e Rodríguez-Kabana (2006) conseguiram reduzir incidência da murcha por *Sclerotium rolfsii* em planta de soja com a adição de pó-seco de mucuna e casca de pinus, pois adição de matéria orgânica promoveu o aumento da população dos microorganismos benéficos como *Pseudomonas putida* e *T. koningii*. O plantio direto é um das formas de controle cultural que se apresentou eficiente no manejo do mofo-branco em feijão causado pela *Sclerotinia sclerotiorum*, tendo como resultado uma quantidade de esclerócios quatro vezes menor no

resíduo da trilhadeira do plantio direto em relação ao plantio convencional (NAPOLEÃO et al., 2005).

2.4.3 CONTROLE FÍSICO

A agricultura contemporânea visa reduzir os impactos negativos gerados pelo processo produtivo ao meio ambiente, com isso estudos a respeito de métodos alternativos de controle de doenças estão sendo aprimorados cada vez mais na tentativa de reduzir a aplicação de fungicidas. O conceito inicial de controle visava à erradicação das populações do patógeno, contudo sem pensar nas conseqüências aos outros componentes bióticos ou abióticos não alvos, ocasionando certo desequilíbrio (GHINI & BETTIOL, 2005).

Um exemplo deste tipo de método de controle é a solarização que utiliza a energia solar e um plástico transparente para aquecer o solo e promover a desinfestação do mesmo (GHINI & BETTIOL, 2005). MIHAL & ALCORN (1984) apresentaram resultados parcialmente positivos com relação ao controle de *Macrophomina phaseolina* e *S. rolfsii*, pois o *S. rolfsii* não foi completamente erradicado a 30 cm de profundidade. Já Martins et al. (2003) conseguiram erradicar 100% dos esclerócios de *S. rolfsii* por meio da solarização com coletores solares que em dias ensolarados chegaram a temperaturas de 80°C.

A integração do método de solarização com outros métodos tem gerado resultados mais eficientes, como os descritos por Ambrósio et al. (2008): com a incorporação de 3 kg.m⁻² de mandioca seguido de solarização com a cobertura do solo com um filme de plástico observou-se o controle de *Fusarium oxysporum* f sp. *lycopersici* raça 2, *M. phaseolina*, *Rhizoctonia solani* e *S. rolfsii* em apenas 7 dias de tratamentos.

2.4.4 CONTROLE BIOLÓGICO

A crescente preocupação da comunidade internacional com os impactos ambientais e com a contaminação de alimentos pelo uso intensivo de agroquímicos na agricultura tem levado a mudanças nas formas de controle de doenças, e umas das alternativas que se encontram em expansão é a utilização de agentes de controle biológico (MORANDI & BETTIOL, 2009).

O controle biológico é, segundo Blum (2006), a utilização de uma ou mais microorganismos antagonistas com a finalidade de reduzir a quantidade e a viabilidade do

inóculo de um organismo patogênico ou da atividade determinante da doença provocada por um do fitopatógeno.

Vários fungos e bactérias foram testados, sendo que alguns tiveram o sucesso comprovado e outros apresentaram potencial para utilização como agente de controle biológico. O fungo do gênero *Trichoderma* é um dos mais importantes agentes utilizados no controle de doenças radiculares de plantas (MARIANO et al., 2005).

Trichoderma pode ser facilmente isolado de solo, madeira em decomposição e outros tipos de matéria orgânica. Ele apresenta crescimento rápido em meio de cultura e forma colônias que podem ter diferentes tipos de coloração e uma grande quantidade de esporos (conídios). Várias espécies produzem estruturas de resistência conhecidas com clamidósporos. Seu potencial como agente de controle biológico foi descoberto no ano 1930, desde então o controle alternativo de várias doenças de plantas vêm sendo estudado (HOWELL, 2003). Os aspectos mais interessantes da utilização do *Trichoderma* com agente de controle de doenças de plantas é o fato de ele ser avirulento e associativo com as plantas, além de apresentar vários mecanismos de atuação no controle dos patógenos, entre as quais: o micoparasitismo, a produção de antibióticos, a competição por nutrientes e espaço na rizosfera e a indução de resistência das plantas (SAMUELS, 2006).

Várias espécies do gênero *Trichoderma* despertam interesse econômico, principalmente, por causa da sua capacidade de produzir enzimas líticas como as quitinases, glucanases e proteases, as quais estão diretamente ligadas ao processo de micoparasitismo (HARMAN et al., 1989).

A maioria das espécies de *Trichoderma* está presente no solo ou na matéria orgânica em decomposição, e já foram encontrados nas diversas latitudes. Algumas dessas possuem distribuição ampla, enquanto outras, distribuição geográfica limitada. Espécies como o *T. polysporum* e *T. minutisporum* foram encontrados em terras de clima frio. *T. stromaticum* só foi encontrado em plantas de cacau (*Theobroma cacao*) ou associado ao patógeno *Crinipellis perniciosus* causador da doença conhecida como vassoura-de-bruxa, e é considerado muito eficiente no controle da doença. Algumas espécies, como o *T. harzianum* e *T. asperellum*, são cosmopolitas (SAMUELS, 2006).

Estudos realizados por Louzada et al (2009) demonstraram a elevada taxa de parasitismo de várias espécies de *Trichoderma* a *S. sclerotiorum* e *F. solani*. O uso de *Trichoderma* tem sido relatado no controle de *R. solani*, *S. rolfsii* (HARMAN et al., 1989).

2.4.4.1 *Trichoderma harzianum* Rifai

O gênero *Trichoderma* na forma teleomórfica pertence ao reino Fungi, divisão Ascomycota, subdivisão Pezizomycotina, Classe Sordariomycetes, ordem Hypocreales, família Hypocreaceae, gênero *Hypocrea* (UNIPROT, 2011).

O *T. harzianum* foi incorretamente identificado como causado do mofo verde em campos de produção de cogumelos comerciais. Essa espécie tem como habitat o solo, e já foi encontrado colonizando endofiticamente tecidos lenhosos de cacau. Dentre as culturas, das quais já foram obtidos isolados de *T. harzianum* destacam-se: amendoim (*Arachis hypogaea*), milho (*Zea mays*), cacau (*Theobroma cacao*), pêssego (*Prunus persica*), pinus (*Pinus* sp.), eucapito (*Eucaliptus globulus*, *E. nitens*, *E. tereticornis*) (SAMUELS et al., 2011).

A temperatura ideal para desenvolvimento de *T. harzianum* em meio de cultura batata-dextrose - ágar (BDA) é de 30°C. Após 72h com temperatura controlada de 25°C em meio de cultura BDA o raio a colônia de *T. harzianum* varia entre 51 a 57 mm, quando a temperatura é elevada e 35°C o raio da colônia varia entre 34,5 a 41,3 mm. Após 96h na escuridão em meio BDA a 30°C é observado o desenvolvimento dos conídios no centro da placa de Petri e em ondulações anelares concêntricas em direções, sem formação de pústulas, às vezes as pústulas são formadas em culturas mais antigas (SAMUELS et al., 2011)..

Com conidióforos ramificados, e com ramos secundários mais próximos da ponta com tendência de formação de um ângulo de 90° em relação ao eixo principal de onde se derivaram, os ramos mais distantes da ponta tendem a formar uma angulação menor do que 90°. As fiálides apresentam de 6,5 a 6,7 µm de comprimento, de 2,5 a 3,5 µm de largura no ponto mais largo, de 1,6 a 2,5 µm na base. Com forma de balão, alargada no meio e com um pescoço estreito ligeiramente constricto na base. Formando um ângulo de 90° em relação à hifa de onde se originou, as fiálides são disposta de 2 a 4 em forma de vértices, as vezes solitária. Os conídios são verdes, de textura lisa, e formato subgloboso para ovalóide, com medidas de 2,7 a 3,5 µm por 2,5 a 3,0 µm. Os clamidósporos apresentam formas globosas a subglobosas, com a presença terminal ou entre as hifas, e medidas entre 6,0 a 9,7 µm, contudo não são observados na maioria das culturas (SAMUELS et al., 2011).

2.4.4.2 *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckf & Nirenberg

O desenvolvimento de *T. asperellum* em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) após 72h de incubação a 30°C varia de 54 a 64 mm, a 35°C entre 27 a 42 mm, porém a 40°C não há desenvolvimento da colônia. As colônias cultivadas em BDA, após 72h de escuridão a 30°C desenvolvem anéis concêntricos com densa massa de conídios. O *T. asperellum* não difunde pigmentos através do ágar em qualquer temperatura, e não há presença de odores (SAMUELS, 2011).

Os conidióforos têm um aspecto simétrico terminando com uma ou mais fiálides. Os ramos primários ocorrem abaixo da ponta e forma um ângulo de quase 90° com o eixo principal. As fiálides geralmente são produzidas nos ramos primários, secundários e terciários, sendo que raramente seu desenvolvimento ocorre de forma direta ao longo do ramo principal. Normalmente, em forma de vértice de 2 a 4 fiálides, as quais medem de 6,5 a 11,5 µm de comprimento, de 2,7 a 4,2 µm no meio, e de 1,8 a 2,8 µm na largura da base. Os conídios são verdes escuros, de formato globoso, subgloboso ou levemente ovoidal com medidas que variam de 3,5 a 4,5 µm por 3,0 a 4,0 µm. Os clamidósporos apresentam formato subgloboso para ovoidal, e podem se desenvolver na parte terminal da hifa, imerso nela ou raramente intercalado (SAMUELS, 2011).

Nos estudos de Lucon et al. (2009), o *T. asperellum* controlou o tombamento de plantas de pepino causado por *R. solani*, tendo como resultado um total de 100% de plantas sobreviventes, diferentemente de outras espécies de *Trichoderma* utilizadas. Além da capacidade de biocontrolador, *T. asperellum* foi descrito por Cotxarrera et al. (2002) com promotor de crescimento de plantas de tomate e por Segarra et al. (2009) com protetor contra o efeito tóxico do Fe (III) também em tomate. Em ambos os trabalhos, *T. asperellum* promoveu o controle da murcha por *F. oxysporum* f sp. *lycopersici*.



Figura 2.1. Foto de esclerócios germinados. Visualização em lupa de mão (Ampliação = 10 X).



Figura 2.2. Murcha de plantas de cebola (Optima F1) atacadas por *S. rolfsii*. Presença do micélio cotonoso e início da formação dos esclerócios.

2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. 2005. **Plant pathology**. 5^a. Ed. Elsevier Academic Press, p.393-600.

AMBRÓSIO, M. M. Q.; BUENO, C. J.; PADOVANI, C. R.; SOUZA, N. L. 2008. Controle de fitopatógenos do solo com materiais vegetais associados à solarização. **Summa Phytopathologica**, v. 34, n.4, p. 354-358.

- APOLINÁRIO, A. C.; MONTEIRO, M. M. O.; PACHÚ, C. O. ; DANTAS, I. C. 2008. *Allium sativum* L. como agente terapêutico para diversas patologias: uma Revisão. **Revista de Biologia e Farmácia**, v.2, n.1.
- BARBIERI, R. L.; MEDEIROS A. R. M. 2007. In: BARBIERI, R. L. 2007. **Cebola: ciência, arte e história**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p.14-16.
- BEUTE, M. K.; RODRIGUEZ-KABANA, R. 1981. Effect of soil moisture, temperature, and field environment on survival of *Sclerotium rolfsii* in Alabama and North Carolina. **Phytopathology**, v. 71, p. 1293-1296.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativas in: MICHEREFF, S. J.; BARROS, R. 2001. **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, p.1-11.
- BLUM, L. E. B. Controle biológico de fitopatógenos. 2006. In: BLUM et al. **Fitopatologia: o estudo das doenças de plantas**. Brasília: Ed. Otimismo, p. 196-205.
- BLUM, L.E.B.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, 2004. R. Effect of organic amendments on sclerotial germination, mycelial growth, and *Sclerotium rolfsii* induced diseases. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 66-74.
- COTXARRERA, L.; TRILLAS-GAY, M. I; STEINBERG, C.; ALABOUVETTE, C. 2002. Use of sewage sludge compost and *Trichoderma asperellum* isolates to suppress *Fusarium* wilt of tomato. **Soil & Biochemistry**, v. 34, p. 467-476.
- FARR, D. F., ROSSMAN, A.Y., PALM, M. E., AND MCCRAY, E. B. (n.d.) 2006. Fungal Databases. Systematic Botany & Mycology Laboratory, ARS, USDA. <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>.
- FERREIRA, A. S.; BOLEY, R. A. *Sclerotium rolfsii*. Crop Knowledge Master, 2006. Disponível em <http://hbs.bishopmuseum.org/botany/taro/key/HawaiianKalo/Media/Html/adobe/dryrot.pdf>. Acesso em: 4 abr. 2010.
- FILGUEIRA, F. A. R. 2008. **Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV, ed. 3, p. 255-270.
- FRANKE, M. D., BRENNEMAN, T. B., STEVENSON, K. L., AND PADGETT, G. B. 1998. Sensitivity of isolates of *Sclerotium rolfsii* from peanut in Georgia to selected fungicides. **Plant Disease**, v. 82, p. 578-583.
- GHINI, R.; BETTIOL, W. Controle físico de doenças radiculares. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE D. E. G. T.; MENEZES, M. 2005. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. UFRPE. p. 323-344.
- HARMAN, G. E.; TAYLOR, A. G.; STASZ, T. E. 1989. Combining effective strains of *Trichoderma harzianum* and soil matrix priming to improve biological seed treatments. **Plant Disease**, v. 73, p. 631-637.

- HOWELL, C. R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, v. 87, n. 1, p. 6-10.
- IBGE. 2003. Tabelas de Resultados. Aquisição Alimentar domiciliar per capita. **Pesquisa de Orçamento Familiar 2002-2003**. Coordenação de Índices de Preços.
- IBGE. 2010. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de Janeiro, v.23, n.10, p.1-6, out.
- LOUZADA, G. A. S.; CARVALHO, D.D.C.; MELLO, S.C.M.; JÚNIOR, M.L.; MARTINS, I.; BRAÚNA, L. M. Potencial antagonico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes agrossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biota Neotropica** 9(3): <http://www.biotaneotropica.org.br/v9n3/en/abstract?inventory+bn02509032009>.
- LUCINI, M. A. 2008. **Importações do alho no Brasil em 2008**. Disponível em <http://www.anapa.com.br/principal/images/stories/documentos/importacoes-de-alho-no-brasil-2008.pdf>. Acesso em 2 dezembro de 2010.
- LUCINI, M. A. 2009. **Importações do alho nobre no Brasil em 2009**. Disponível em <http://www.anapa.com.br/principal/images/stories/importacoes/dez2009.pdf>. Acesso em 2 dezembro de 2010.
- LUCON, C. M. M.; KOIKE, C. M.; ISHIKAWA, A. I.; PATRÍCIO, F. R.; HARAKAVA, R. 2009. Bioprospecção de isolados de *Trichoderma* spp. para o controle de *Rhizoctonia solani* na produção de mudas de pepino. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 44. n. 3, p. 225-232.
- MACÊDO, F. S.; SILVA, E. C.; SILVA, R. J. In: SOUZA, R. J.; MACÊDO, F. S. 2009. **Cultura do alho: Tecnologia de Produção**. Lavras: UFLA p. 31-38.
- MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; GOMES, A. M. A. Controle biológico de doenças radiculares. in: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. 2005. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária. p. 303-320.
- MARTINS, M. V. V.; SILVEIRA, S. F.; CARVALHO, A. J. C.; SOUZA, E. F. 2003. Erradicação de esclerócios de *Sclerotium rolfisii* em substratos tratados em coletores solares, em campos dos Goytacazes – RJ. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 421-424.
- MICHEREFF, S. J.; PERUCH, L. A. M.; ANDRADE, D. E. G. T. Manejo sustentável de doenças radiculares em solos tropicais. in: MICHEREFF, S. J.; BARROS, R. 2001. **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária. p. 38-39.
- MIHAIL, J. D.; ALCORN, S. M. 1984. Effects of soil solarization on *Macrophomina phaseolina* and *Sclerotium rolfisii*. **Plant Disease**, v.68, p. 156-159.

- MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. in: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. 2009. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. p. 7.
- MOTA, J.H; YURI, J. E.; RESENDE, G.M.; SOUZA, R. J. 2006. Similaridade genética de cultivares de alho pela comparação de caracteres morfológicos, físico-químicos, produtivos e moleculares. **Horticultura Brasileira**, v. 24, p. 156-160.
- MULLEN, J. **Southern blight, Southern stem blight, White mold**. 2001. Disponível em <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/Basidiomycetes/Pages/SouthernBlight.aspx>>. Acesso em 31 ago. 2010.
- NAPOLEÃO, R.; CAFÉ-FILHO, A. C.; NASSER, L. C. B.; LOPES, C. A.; SILVA, H. R. 2005. Intensidade do mofo-branco do feijoeiro em plantio convencional e direto sob diferentes lâminas d'água. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 374-379.
- PANDEY, M. K.; SARMA, B. K. ; SINGH, D. P. ; SINGH, U. P. 2007. Biochemical Investigations of Sclerotial Exudates of *Sclerotium rolfsii* and their Antifungal Activity. **J Phytopathology**, v. 155, p. 84-89.
- PÉREZ-MORENO, L.; VILLALPANDO-MENDIOLA, J.J.; CASTAÑEDA-CABRERA, C.;RAMIREZ-MALAGÓN, R. 2009. Sensibilidad *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* Saccardo, a los fungicidas comúnmente usados parasu combate. **Revista Mexicana de Fitopatologia**, v. 27, n.1, p.11-17.
- PUNJA, Z. K. 1985. The biology, ecology, and control of *Sclerotium rolfsii*. **Annual Rev. Phytopathology**, v. 23, p. 97-127.
- PUNJA, Z. K; GROGAN, R. G. Germination and infection by basidiospores of *Ahelia rolfsii*. **Plant Disease**, v. 67, p. 875-878.
- PUNJA, Z. K.; RAHE, J. E. 1992. *Sclerotium rolfsii*. In: SINGLETON LL, MIHAIL JD, RUSH CM (Eds.) **Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi**. APS Press. p. 166-170.
- RESENDE, G. M.; PEREIRA, A. J. 2009. .in: SOUZA, R. J.; MACÊDO, F. S. **Cultura do alho: Tecnologia de Produção**. Cap. 1, p. 13-18.
- SAMUELS, G. J. 2006. *Trichoderma*: systematics, the sexual state and ecology. **Phytopathology**, v. 96, p. 195-206.
- SAMUELS, G. J.; CHAVERRI, P.; FARR, D. F.; MCCRAY, E.B. Trichoderma Online, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. Disponível em <http://nt.ars-grin.gov/taxadescriptions/keys/FrameListAllTaxa.cfm?gen=Trichoderma> Acesso em 20 de dezembro 2011.
- SEGARRA, G.; CASANOVA, E.; AVILÉS, M.; TRILLAS, I. 2010. *Trichoderma asperellum* strain T34 controls *Fusarium* wilt disease in tomato plants in soilless culture through competition for iron. **Microbial Ecology**, v. 59, p. 141 - 149.
- SILVA, E. C.; SILVA, R. J. 2009. in: SOUZA, R. J.; MACÊDO, F. S. 2009. **Cultura do alho: Tecnologia de Produção**. Cap. 2, p. 21-28.

SMITH, V. L.; PUNJA, Z. K.; JENKINS, S. F. 1986. A histological study of infection of host tissue by *Sclerotium rolfsii*. **Phytopathology**, v. 76, p.755-759.

SOBRINHO, J. A. M.; LOPES C. A.; REIFSCHNEIDER, F. J. B.; CHARCHAR, J. M.; CRISÓSTOMO, L. A.; CARRIJO, O. A.; BARBOSA, S. A **Cultura do Alho**. EMBRAPA. Coleção Plantar, p. 9-32.

WASUM, R. A.; BORDIN, J.; SINIGAGLIA, C. 2007. in: BARBIERI, R. L. 2007. **Cebola: ciência, arte e história**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, Cap. 2, p. 23.

XU, Z.; GLEASON, M. L.; MUELLER, D. S.; ESKER, P. D.; BRADLEY, C. A.; BUCK, J. W.; BENSON, D. M.; DIXON, P. M.; MONTEIRO, J. E. B. A. 2008. Overwintering of *Sclerotium rolfsii* and *S. rolfsii* var. *delphinii* in different latitudes of the United States. **Plant Disease**, v. 92, p. 719-724.

ZAMBOLIM, L.; ZAMBOLIM, E. M. in: ZAMBOLIM, L.; CONCEIÇÃO, M. Z.; SANTIAGO, T. 2008. **O que engenheiros agrônomos devem saber para orientar o uso de produtos fitossanitários**. 3. Ed. Viçosa: UFV/DFP, Cap. 7.

Disponível em <http://www.uniprot.org/taxonomy/173940> Acesso em 20 de dezembro 2011.

3 USO DE *Trichoderma harzianum* COMERCIAL E CONDICIONADOR ORGÂNICO DE SOLO PARA CONTROLE DA PODRIDÃO POR *Sclerotium rolfsii* EM ALHO CULTIVAR ITO

3.1 RESUMO

O *Sclerotium rolfsii* é um patógeno agressivo de várias culturas, entre elas a do alho (*Allium sativum*). Uma das formas alternativas de controle da doença é o uso de agentes biológicos. Neste estudo, foi avaliada a eficiência de *Trichoderma harzianum* comercial em relação a fungicidas (procimidona e tiofanato metílico) por meio de teste de germinação de esclerócios (solo em caixas plásticas) em laboratório e teste *in vivo* em casa de vegetação. Os testes foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado e em blocos ao acaso, no laboratório e em casa de vegetação, respectivamente. Para avaliar o efeito na germinação dos esclerócios foram aplicados: *T. harzianum*, condicionador de solo + *T. harzianum*, condicionador de solo, procimidona e testemunha (água esterilizada). Nos experimentos *in vivo* foram aplicados seguintes tratamentos: *T. harzianum*, condicionador de solo + *T. harzianum*, condicionador de solo, procimidona, tiofanato metílico e testemunha (água esterilizada), e os foram avaliados: plantas infectadas, massa seca de raízes, massa seca da parte aérea, número de esclerócios capturados (kg de solo). *Trichoderma harzianum* e condicionante de solo + *T. harzianum* reduziram significativamente o percentual de germinação. Nos testes *in vivo* obtiveram-se os seguintes resultados: (a) menor número de plantas infectadas, (b) aumento de massa seca de raiz e parte aérea em relação à testemunha com patógeno, e; (c) menor número de esclerócios capturados nos tratamentos com *T. harzianum*. Os tratamentos com fungicidas e somente com condicionador de solo não reduziram significativamente o número de plantas infectadas e esclerócios capturados.

3.2 INTRODUÇÃO

O alho (*Allium sativum* L.) é uma das mais antigas espécies cultivadas. No Brasil, é uma das hortaliças mais consumida juntamente com a batata (*Solanum tuberosum* spp. *tuberosum*), cebola (*Allium cepa*), tomate (*Lycopersicon esculentum*) e cenoura (*Daucus carota*). Rico em amido e substâncias aromáticas, o bulbo é composto por bulbilhos os quais são a parte mais utilizável, devido seus valores nutricionais, medicinais e condimentares (FILGUEIRA, 2008).

Nos anos de 2008 e 2009, a população brasileira consumiu cerca de 21,5 milhões de caixas (10 kg por caixa) de alho in natura, e 22,3 milhões de caixas, respectivamente. O consumo per capita foi de 1,1kg/ ano (LUCINI, 2008, 2009).

Sclerotium rolfsii é um patógeno causador de podridão em cerca de 500 espécies de plantas, dicotiledôneas e monocotiledôneas, agrupadas em 100 famílias suscetíveis. Há relatos de 30% (MONTES-BELMONT et al., 2003) até 70% (MULLEN, 2001) de perdas, nas mais diversas espécies, provocadas pelo patógeno. O patógeno é encontrado com mais frequência em regiões de clima tropical e subtropical. Os primeiros sintomas são amarelecimento progredindo para a murcha das folhas, em seguida o fungo produz um abundante micélio cottonoso nos tecidos infectados e no solo. Neste micélio são produzidos esclerócios de coloração branca que evoluem para uma coloração marrom-escura a preta (PUNJA; RAHE, 1992; FERREIRA; BOLEY, 2006).

O controle do patógeno é de difícil realização, não sendo eficiente por meio de uma única prática cultural ou química, como uso de fungicidas ou a rotação de cultural com plantas hospedeiras ou resistentes (SAHNI et al., 2008). Desta forma, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito de produtos a base de *Trichoderma harzianum* comercial e fungicidas no controle da podridão causada por *Sclerotium rolfsii* em plantas de alho.

3.3 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Micologia do Departamento de Fitopatologia da Universidade de Brasília (experimento “de germinação de esclerócios”, gerbox) e em casa de vegetação na Estação Experimental da Universidade de Brasília (experimento “in vivo”).

3.3.1 OBTENÇÃO E CULTIVO DOS ISOLADOS DO PATÓGENO

Cada isolado foi usado nos experimentos *in vitro* e *in vivo*.

Os isolados de *S. rolfsii* (UB 193 e UB 686) foram obtidos da coleção de micologia da Universidade de Brasília. Antes realização dos experimentos, os esclerócios foram inoculados em bulbilhos de alho (Figura 3.1) e colocados em câmaras úmidas, gerbox (caixas plásticas) com papel toalha umedecido no fundo e com lâminas de vidro para evitar o contato dos bulbilhos com o papel toalha umedecido (12h de luz, $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$). Os esclerócios produzidos foram recuperados e colocados em placas de Petri com meio batata-dextrose-ágar (BDA).

Logo após as placas foram colocados em câmara de incubação (luz por 12h a $24 \pm 1^\circ\text{C}$) onde permaneceram por 15 dias. Posteriormente, os esclerócios produzidos foram coletados e armazenados em placas de Petri até o uso. Os produtos usados à base de *Trichoderma* foram os seguintes: *Trichoderma harzianum* (Trichodermil SC[®], 2.10^9 esporos.ml⁻¹, suspensão concentrada, Itaforte[®], Itapetinhiga - SP) e condicionante de solo adicionado de *T. harzianum* (Ribumin T5[®], concentração estimada de 2.10^5 esporos.g⁻¹, Technes[®], Cabreúva - SP).



Figura 3.1. Podridão em bulbilhos de alho causada pelo *Sclerotium rolfsii*.

3.3.2 ANÁLISE DE SOLO

O solo utilizado nos experimentos foi um latossolo vermelho com as seguintes características químicas e físicas: pH = 5,2 , P = 0,5 mg.dm⁻³, K = 0,13 cmolc.dm⁻³, Ca = 0,6 cmolc.dm⁻³, Mg = 0,1 cmolc.dm⁻³, Al = 0,0 cmolc.dm⁻³, V = 20% , matéria orgânica = 17,7 g.kg⁻¹, areia = 250 g.kg⁻¹, silte = 200 g.kg⁻¹, e argila = 550 g.kg⁻¹. Para os experimentos de germinação de esclerócios e *in vivo* o solo foi esterilizado por 1 hora, a 1 atm, a 121°C antes de ser utilizado.

3.3.3 TESTE DE GERMINAÇÃO DE ESCLERÓCIOS

Os experimentos foram conduzidos em caixas plásticas (gerbox) sob luz de 12h a 26°C (25° - 27°C). Em cada gerbox colocaram-se 200g de solo, que foi umidecido com 75ml de

água destilada esterilizada. Sobre a superfície do solo em cada caixa foram colocados 25 esclerócios. Sobre cada esclerócio foram aplicados os seguintes tratamentos: 1) 100µl *T. harzianum* (Trichodermil SC[®], 10⁶ conídios.ml⁻¹), 2) 100µl de procimidona (Sumilex[®], 150g.100l⁻¹ de água), 3) 10 mg de condicionador de solo (Ribumin[®], 1000kg.ha⁻¹), 4) 10 mg de condicionador de solo + *T. harzianum* (Ribumin T5[®], 1000kg.ha⁻¹), 5) na testemunha foi adicionada apenas 100µl água esterilizada.

O número de esclerócios germinados e não germinados foi avaliado diariamente, pela visualização da presença de micélio de *S. rolfsii* ou de *Trichoderma* (Figura 3.2 e Figura 3.4). Nos tratamentos que continham agentes biológicos de controle foi considerado não germinado, pois o esclerócio estava totalmente coberto (Figura 3.3) pelo biocontrolador (CLARKSON et al., 2002). Os experimentos (UB193 e UB 686) foram montados em um delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições.

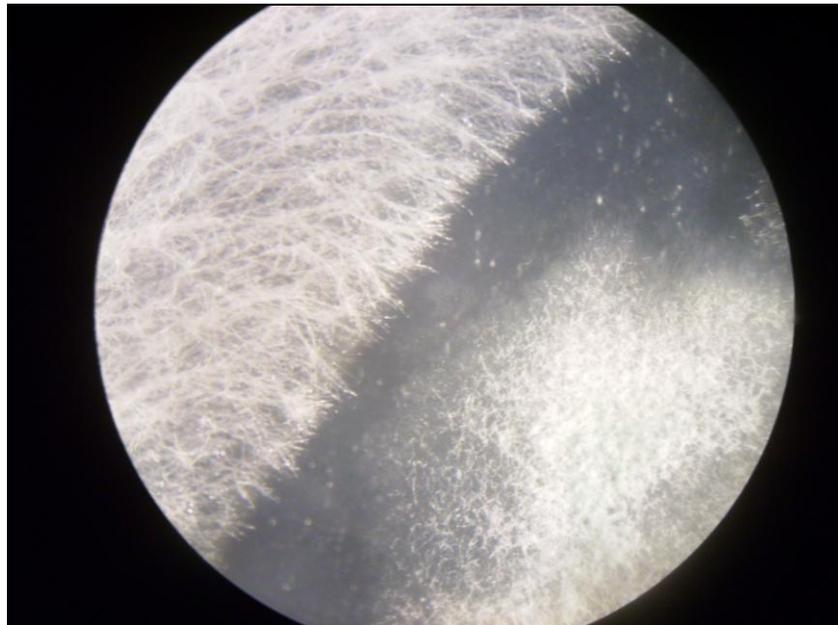


Figura 3.2. Micélio do *Sclerotium rolfsii* à esquerda e *Trichoderma harzianum* à direita. Visualização em microscópio estereoscópico (Ampliação = 400 X).

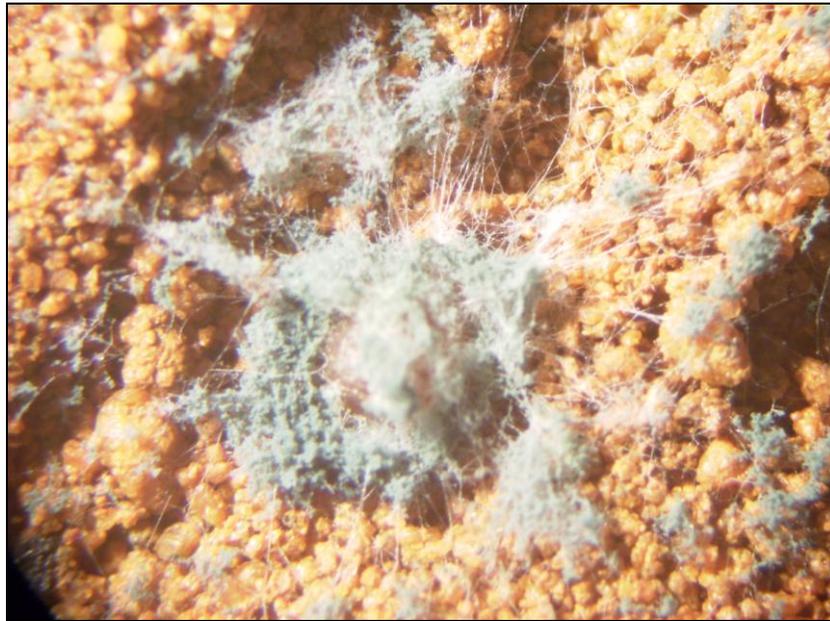


Figura 3.3. Esclerócio e micélio do *Sclerotium rolfii* sendo colonizado pelo *Trichoderma harzianum* no 7º dia após inoculação. Visualização em microscópio estereoscópico (Ampliação = 400 X).

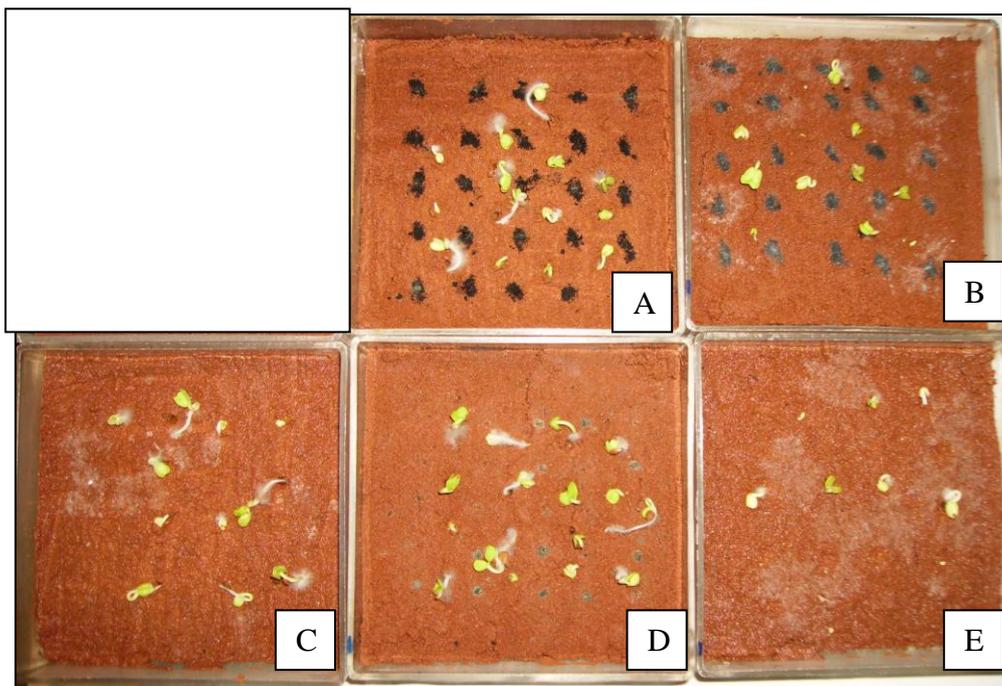


Figura 3.4. (A) Condicionador de solo + *T. harzianum*. (B) Condicionador de solo. (C) Testemunha com patógeno. (D) *Trichoderma harzianum*. (E) Procimidona. Avaliação no 15º dia após inoculação.

3.3.4 TESTE *in vivo* (BIOENSAIO COM PLANTAS DE ALHO)

Foram plantados dois bulbilhos por repetição em cada experimento (UB193 e UB686), 15 dias após o plantio foram depositados dois esclerócios por planta e sobre eles foram

aplicados os tratamentos: 1) 100µl de água, 2) 100µl de procimidona (Sumilex[®], 150 g.100l⁻¹), 3) 100µl de tiofanato metílico (Support[®], 100ml.100l⁻¹), 4) 100µl de *T. harzianum* (Trichodermil SC[®], 2.10⁶ conídios.ml⁻¹), 5) 10mg de condicionador de solo (Ribumin[®], 1000 kg.ha⁻¹), 6) 10 mg de condicionador de Solo + *T. harzianum* (Ribumin T5[®], 1000 kg.ha⁻¹). Após a aplicação os vasos foram cobertos com sacos plásticos por 24h (Figura 3.5), segunda a metodologia modificada de Blum et al. (2003).



Figura 3.5. (A) Câmara úmida. (B) Visão geral do experimento II. (C) Esclerócios formando colar na base da planta próximo ao solo.

Utilizaram-se vasos plásticos pretos, dentro de cada um foi colocado 1,7 kg de solo esterilizado e fertilizado de acordo com a análise de solo e recomendações da EMBRAPA (SOBRINHO et al., 1993) para a cultura, sendo o solo adubado com a equivalência a 500 kg.ha⁻¹ de superfosfato simples, 102 kg.ha⁻¹ de cloreto de potássio, 15 kg.ha⁻¹ de bórax, 50 kg.ha⁻¹ de sulfato de zinco, 200 kg.ha⁻¹ de sulfato de magnésio e 198 kg.ha⁻¹ de uréia dividida em 2 aplicações, sendo metade no plantio e metade aos 45 dias após plantio. E a calagem foi feita com equivalência a 2,237 t.ha⁻¹ e o pH foi corrigido para 6,5.

As plantas, após 176 dias (isolado de UB193) e 182 dias (isolado 686), foram cortadas a 1 cm do solo, as partes aéreas foram retiradas e os vasos foram virados em uma vasilha com 5 litros de água, o solo foi revolvido manualmente por 1 min e os esclerócios foram coletados com um peneira (0,6 mm) , a operação foi repetida 3 vezes para cada vaso, segundo a metodologia modificada de Rodríguez-Kabana et al. (1974). As raízes foram retiradas e lavadas na torneira, em seguida foi acondicionada em sacos de papel, a parte aérea foi acondicionada do mesmo modo. Todos os sacos foram colocados em estufa com ventilação forçada a 65°C para posterior determinação do peso de matéria seca; as raízes foram retiradas após 48h, as partes aéreas após 72h e todos foram pesados, segundo metodologia Tosi et al. (1999).

3.3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$) e após comprovação da significância as médias foram comparadas pelo teste de Fisher ($P \leq 0,05$). Para a análise da porcentagem de esclerócios germinados os dados originais foram transformados em $\sqrt{(X/100)}$. Para a análise do número de esclerócios capturas os dados foram transformados em $\sqrt{(Y)}$. Foi utilizado o software (SigmaStat 3.5) para processamento das análises estatísticas.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento somente com *T. harzianum* apresentou a maior redução no percentual de germinação dos esclerócios, com um alto percentual de parasitismo (93,6% no isolado UB686 e 51,6% no isolado UB193), 15 dias após o tratamento (Tabela 3.1). Os tratamentos com *T. harzianum* diferiram significativamente da testemunha (esclerócios tratados apenas com água). O condicionador de solo+*T. harzianum* apresentou uma menor formação de novos esclerócios (dados não apresentados), já os tratamentos com procimidona e somente com o condicionador de solo estimularam o crescimento de forma radial das hifas.

Tabela 3.1. Percentagem de germinação (G) e percentual de parasitismo (P) dos esclerócios no 15º dia após aplicação de tratamentos. Brasília/DF, 2010.

Tratamento	UB 686*		UB 193	
	G (%)	P (%)	G (%)	P (%)
<i>T. harzianum</i>	6,4** a***	93,6	38,4 a	51,6
Condicionador de solo+ <i>T.harzianum</i>	36 b	64	80,8 b	19,2
Procimidona	68,8 c	31,2	98,4 c	1,6
Condicionador de solo	100 d	0,0	100 c	0,0
<i>Sclerotium rolfsii</i>	100 d	0,0	100 c	0,0
CV (%)	7,0		6,8	
IV(%)	3,1		3,0	
DMS	0,1		0,1	

*Teste I – inoculação em 6/4/2010 com *S. rolfsii* UB686; Teste II – inoculação em 23/4/2010 com *S. rolfsii* UB193. **Porcentagem de germinação.***Letras representando os valores significativamente diferentes em coluna, dados originais foram transformados para $\sqrt{(\%germinação/100)}$, analisados pelo Teste de Fisher (P=0,05).

Madi et al. (1997) relatam que o alto percentual de parasitismo teve uma relação com a degradação da melanina e a redução da produção de novos esclerócios, tendo com consequência a redução da doença. Henis et al. (1983) afirmaram que para definir a eficiência dos biocontroladores, o parasitismo deveria ser considerado o mecanismo mais importante de controle. O condicionador de solo de solo, quando aplicado de forma separada, estimulou a germinação dos esclerócios, porém o mesmo aplicado com *T. harzianum* reduziu a germinação dos esclerócios no 15º dia após o tratamento (teste de germinação de esclerócios), e reduziu o número de plantas infectadas e o número de esclerócios, teste *in vivo* (Tabela 3.2). Segundo relatos de Bettiol et al. (1997) substratos enriquecidos com turfa apresentaram uma maior severidade da doença e percentagem de tombamento causada por *Pythium ultimum* em pepino.

Os testes em vasos (“*in vivo*”) confirmam os resultados obtidos nos experimentos de germinação de esclerócios, onde houve um controle mais eficaz do patógeno nos tratamentos com *T. harzianum* e um maior desenvolvimento do *S. rolfsii* nos tratamentos com fungicidas e condicionador de solo.

Os resultados apresentados na Tabela 3.2 mostram um menor número de plantas infectadas no tratamento com condicionador de solo + *T. harzianum*. Os tratamentos com *T. harzianum* apresentaram uma maior redução no número de plantas infectadas, em valores absolutos, não diferiram entre si, porém diferiram significativamente da testemunha com patógeno.

Tabela 3.2. Percentual de alho (cv. Ito) com *Sclerotium rolfii* ao final do ciclo. Brasília/DF, 2010.

Tratamento	UB 193*	UB 686
Testemunha (sem patógeno)	0a**	0a
Condicionador de solo + <i>T. harzianum</i> (Ribumin T5)	40 b	20 a
<i>T. harzianum</i> (Trichodermil SC)	70 bc	30 a
Tiofanato metílico (Support)	70 bc	60 bc
Procimidona (Sumilex)	80 c	60 bc
Condicionador de solo (Ribumin)	80 c	80 c
<i>Sclerotium rolfii</i>	90 c	60 bc
CV (%)	33,2	32,7
IV(%)	14,8	14,6
DMS	0,6	0,8

*Isolados de *Sclerotium rolfii* utilizados. **Letras que indicam a diferença de significância estatística na coluna. Número de plantas infectadas, dados originais analisados pelo Teste Fischer (P=0,05).

Wells et al. (1972) relataram em plantas de amendoim e tomate o controle do *S. rolfii* pelo *T. harzianum* chega a um percentual de 100% de plantas saudáveis mesmo na presença do patógeno. Em condições de solo adequadas (pH, textura e umidade) e inexistência de fatores bióticos desfavoráveis, os biocontroladores têm a capacidade de crescer e se multiplicar na rizosfera, controlando o fitopatógeno, antes mesmo deste penetrar no hospedeiro (MENEZES et al., 2004).

Assim como nos testes de germinação de esclerócios os tratamentos com *Trichoderma harzianum* apresentaram os melhores resultados, promovendo aumento significativo do ganho de massa seca de raiz e parte aérea, e a diminuição do número de esclerócios capturados por quilo de solo, quando comparados com a testemunha com patógeno (Tabela 3.3). Os

tratamentos com fungicidas e o somente com condicionador de solo não diferiram da testemunha com patógeno em todas as variáveis avaliadas.

Tabela 3.3. Massa seca de raiz (MSR), Ganho em percentagem de massa seca de raiz em relação à testemunha com patógeno (GR), ganho em percentagem da massa seca da parte aérea em relação á testemunha com patógeno (GPA) e massa seca da parte aérea (MSPA) e número de esclerócios capturados (EC) do solo ao final do ciclo alho cultivar Ito. Brasília/DF, 2010.

Tratamento/ Isolado UB 193¹	MSR (g)	GR (%)	MSPA (g)	GPA (%)	EC
Testemunha (sem patógeno)	4,6 abc	16,9 ab	7,3 ns	10,0 ns	0,0 a
<i>T. harzianum</i>	5,5 a ²	37,3 a	7,6 ns	15,0 ns	46,8 ³ c ⁴
Condicionador de solo+ <i>T. harzianum</i>	5,0 ab	26,4 a	7,5 ns	13,1 ns	16,8 b
Procimidona	3,8 d	-10,3 b	6,6 ns	-0,8 ns	50,5 c
Tiofanato metílico	4,3 bc	9,7 ab	6,8 ns	3,3 ns	55,9 c
Condicionador de solo	4,4 bc	9,8 ab	6,9 ns	3,1 ns	47,7 c
<i>Sclerotium rolfsii</i>	4,1bcd	-	6,6 ns	-	65,1 c
CV(%)	13,3		11,4		15,8
IV(%)	6,0		5,1		7,1
DMS	0,9		-		1,6
Tratamento/ Isolado UB 686¹					
Testemunha (sem patógeno)	4,4 a	63,9 a	6,7 a	70,1 a	0,0 a
<i>T. harzianum</i>	4,1 ab	54,5 ab	6,6 ab	66,9 ab	21,3 b
Condicionador de solo+ <i>T.harzianum</i>	4,1 ab	53,7 ab	6,3 abc	56,5 abc	14,1 ab
Procimidona	3,3 bc	25,2 bc	5,5 bcd	36,7 bcd	94,3 cd
Tiofanato metílico	3,3 bc	19,3 c	5,3 cd	33,9 cd	55,2 c
Condicionador de solo	3,0 c	9,1 c	4,8 de	21,2 d	123,5 d
<i>Sclerotium rolfsii</i>	2,8 c	-	4,1 e	-	49,3 c
CV(%)	15,4		13,3		26,2
IV(%)	7,0		5,9		11,7
DMS	0,8		1,2		2,7

¹Isolados de *Sclerotium rolfsii* utilizados. ²Letras representando os valores significativamente diferentes em coluna, analisados pelo Teste de Fisher (P=0,05). Teste I, isolado UB 193, colhido

no 176º dia. Teste II, isolado UB 686, colhido no 182º dia. ^{ns} Diferença não significativas. ³Número de esclerócios capturados por 1,0 kg de solo. ⁴Letras representando os valores significativamente diferentes em coluna, dados originais foram transformados para a raiz quadrada número de esclerócios por quilo de solo e analisados pelo Teste de Fisher (P=0,05).

Conforme mostrado nas tabelas 3.2 e 3.3 o tratamento com condicionador de solo + *T. harzianum* proporcionou uma redução no percentual de plantas infectadas e no número de esclerócios capturas por quilo de solo em relação à testemunha somente com patógeno. O tratamento somente com *Trichoderma* apresentou resultado semelhante aos citados acima, no segundo experimento (isolado UB 686).

Pelos dados obtidos neste estudo, fica evidente a significativa redução da podridão por *S. rolfsii* em alho com o uso de *T. harzianum* e condicionador de solo adicionado de *T. harzianum*. Uma das possíveis razões para a redução da doença seria um aumento do parasitismo nos esclerócios (HENIS et al., 1983; MADI et al., 1997).

O número de esclerócios teve forte correlação positiva, para os dois isolados de *S. rolfsii* ($r = 0,817$; $P=0,001$ e $r = 0,823$; $P=0,001$) com o número de plantas infectadas (Tabela 3.4) ao final do ciclo da cultura de alho, ou seja, quanto maior o número de esclerócios, maior o número de plantas infectadas no final do ciclo da cultura de alho. Já a massa de raízes e o peso da parte aérea tiveram uma correlação negativa tanto com o número de esclerócios com o número de plantas infectadas.

No presente estudo, o condicionador de solo adicionado de *T. harzianum* apresentou uma redução do número de planta infectada e no número de esclerócios capturados por quilo de solo nos dois isolados estudados UB 193 e UB 686, demonstrando que a inoculação do *Trichoderma* em um substrato que favoreça seu crescimento e desenvolvimento auxilia no aumento da eficiência do controle. Semelhantemente, todavia usando farelo de trigo como veículo para *Trichoderma*, Elad et al. (1980) obtiveram uma redução 20% do número de plantas de tomate infectadas por *S. rolfsii*, além de uma maior eficiência de controle aplicando o *T. harzianum* inoculado em farelo ao invés da aplicação suspensão de conídios. Segundo Kleifeld e Chet (1992) a turfa é um reservatório alimentar para o *Trichoderma*, justificando assim a vantagem da turfa inoculada com *Trichoderma* sobre a suspensão de conídios. Em outros trabalhos, como o de Maplestone et al. (1991), turfa inoculada *T. harzianum* resultou em uma menor percentagem de plantas de alface tombadas e folhas apodrecidas em relação a testemunha somente com *R. solani*.

Contrariamente, Paula Júnior et al. (2009) obtiveram um melhor resultado no tratamento da *S. sclerotiorum* com procimidona do que com *T. harzianum*, onde as

aplicações em campo do fungicida aumentou a produção em 32% e o *Trichoderma* não aumentou a produção e nem reduziu a quantidade de doença. No presente trabalho, o tratamento com procimidona não se diferenciou estatisticamente da testemunha com o patógeno para a maioria das variáveis analisadas, demonstrando que o fungicida na concentração utilizada não é capaz de promover o controle da podridão causada por *S. rolfsii*.

Todavia, Pérez-Moreno et al. (2009) relataram que os fungicidas procimidona, iprodione e thiabendazole não inibiram o crescimento de *S. rolfsii* e não reduziram a produção de esclerócios de alguns isolados, possivelmente devido a utilização indiscriminada destes fungicidas pelos produtores das regiões onde foram coletados os isolados.

Tabela 3.4. Correlação de Pearson entre o número de esclerócios capturados (NE), massa seca de raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA) e plantas infectadas (PI). Brasília/ DF, 2010.

UB193	NE	MSR (g)	MSPA (g)	PI
NE ^a	-	-0,276 ^{ns}	-0,260 ^{ns}	0,817 ^{***}
MSR (g)			0,690 ^{***}	-0,308 ^{ns}
MSPA (g)				-0,233 ^{ns}
<hr/>				
UB686				
NE		-0,484 ^{**}	-0,400 [*]	0,823 ^{***}
MSR (g)			0,633 ^{***}	-0,458 ^{**}
MSPA (g)				-0,288 ^{ns}

^aRaiz quadrada do número de esclerócios capturados. *significativo a 5%, **significativo a 1%; ***significativo a 0,1%; ns = não significativo.

3.5 CONCLUSÕES

Os tratamentos à base de *T. harzianum* foram mais eficientes no controle da podridão do alho causada *S. rolfsii*. O condicionador de solo na forma isolado favoreceu a germinação e produção de novos esclerócios do patógeno, porém, desfavoreceu quando combinado a *T. harzianum*. Os fungicidas, tiofanato metílico e procimidona não controlaram o patógeno.

3.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APOLINÁRIO, A. C.; MONTEIRO, M. M. O.; PACHÚ, C. O. ; DANTAS, I. C. 2008. *Allium sativum* L. como agente terapêutico para diversas patologias: uma Revisão. **Revista de Biologia e Farmácia**, v.2, n.1.
- BETTIOL, W.; MIGHELI, Q.; GARIBALDI, A. 1997. Controle, com material orgânico, do tombamento do pepino causado por *Pythium ultimum* trow. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n.1, p. 57-61.
- BLUM, L. E. B.; AMARANTE, C. V. T.; ARIOLI, C. J.; GUIMARÃES, L. S.; DEZANET, A.; HACK NETO, P.; SCHEIDT, F. R. 2003. Reação de genótipos de *Phaseolus vulgaris* à podridão do colo e ao oídio. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 96-100.
- CLARKSON, J. P.; MEAD, P. A.; WHIPPS, J. M. 2002. Selection of fungal biological control agents of *Sclerotium cepivorum* for control of white rot by sclerotial degradation in a UK soil. **Plant Pathology**, v. 51, p. 735-745.
- SOBRINHO, J. A. M.; LOPES, C. A.; REIFSCHNEIDER, F. J. B.; CHARCHAR, J. M.; CRISÓSTOMO, L. A.; CARRIJO, O. A.; BARBOSA, S. 1993. **A cultura do alho**. 1. ed. Brasília: EMBRAPA.
- ELAD, Y.; CHET, I.; KATAN, J. 1980. *Trichoderma harzianum*: a biocontrole agent effective against *Sclerotium rolfii* and *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, v. 70, p. 119-121.
- KLEIFELD, O; CHET I. 1992. *Trichoderma harzianum* - interation with plants and effest on growth response. **Plant and Soil**, v. 144, n. 2, p. 267-272.
- FERREIRA, A. S.; BOLEY, R. A. *Sclerotium rolfii*. Crop Knowledge Master, 2006. Disponível em <http://hbs.bishopmuseum.org/botany/taro/key/HawaiianKalo/Media/Html/adobe/dryrot.pdf>. Acesso em: 4 abr. 2010.
- FILGUEIRA, F. A. R. 2008. **Manual de Olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3. ed. Viçosa: UFV, p. 255-270.
- HENIS, Y.; ADAMS, P. B.; LEWIS, J. A.; PAPAVIDAS, G. C. 1983. Penetration of sclerotia of *Sclerotium rolfii* by *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 73, n. 7, p. 1043-1046.
- LUCINI, M. A. **Importações do alho no Brasil em 2008**. 2008. Disponível em <http://www.anapa.com.br/principal/images/stories/documentos/importacoes-de-alho-no-brasil-2008.pdf> Acesso em 2 dez. 2010.
- LUCINI, M. A. **Importações do alho nobre no Brasil em 2009**. 2009. Disponível em <http://www.anapa.com.br/principal/images/stories/importacoes/dez2009.pdf>. Acesso em 2 dez. 2010.
- PAULA JÚNIOR, T. J.; VIEIRA, R. F.; ROCHA, P. R. R.; BERNARDES, A.; COSTA, E. L.; CARNEIRO, J.E.S.; VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, L. 2009. Intensidade do mofo branco em feijão em função de densidade de plantas, frequência de irrigação, cobertura

- vegetal do solo, *Trichoderma* spp. E fungicidas. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 1, p. 44-48.
- PÉREZ-MORENO, L.; VILLALPANDO-MENDIOLA, J. J.; CASTAÑEDA-CABRERA, C.; RAMIREZ-MALAGÓN, R. 2009. Sensibilidad *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* Saccardo, a los fungicidas comúnmente usados para su combate. **Revista Mexicana de Fitopatología**, v. 27, n.1, p.11-17.
- PUNJA, Z. K.; RAHE, J. E. *Sclerotium*. In: SINGLETON, L. L.; MIHAIL, J. D.; RUSH, C.M. 1992. **Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi**. St. Paul: Minnesota, APS Press, p.166-170.
- MADI, L.; KATAN, T.; KATAN, J.; HENIS Y. 1997. Biological control of *Sclerotium rolfsii* and *Verticillium dahliae* by *Talaromyces flavus* is mediated by different mechanisms. **Phytopathology**, v. 87, p. 1054-1060.
- MAPLESTONE, P. A.; WHIPPS, J. M.; LYNCH J. M. 1991. Effect of peat-bran inoculum of *Trichoderma* species on biological control of *Rhizoctonia solani* in lettuce. **Plant and Soil**, v. 136, p. 257-263.
- MENEZES, M.; MACHADO, A. L. M.; SILVEIRA, M. C. V.; SILVA, R. L. X.. 2004. Biocontrole de *Macrophomina phaseolina* com espécies de *Trichoderma* aplicadas no tratamento de sementes de feijão e no solo. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 1, p. 133-140.
- MONTES-BELMONT, R.; NAVA-JUÁREZ, R. A.; FLORES-MOCTEZUMA, H. E. 2003. Hongos y nematodos em raíces y bulbos de cebolla (*Allium cepa* L.) en El Estado de Morelos, México. **Revistas Mexicana de Fitopatología**, v. 21, n. 3, p. 300-304.
- MULLEN, J. **Southern blight, Southern stem blight, White mold**. 2001. Disponível em <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/Basidiomycetes/Pages/SouthernBlight.aspx>>. Acesso em 31 ago. 2010.
- RODRIGUEZ-KABANA, R.; BACKMAN, P. A.; ELIZABETH, A. W. 1974. Determination of sclerotial populations of *Sclerotium rolfsii* in soil by a rapid floatation-sieving technique. **Phytopathology**, v. 64, p. 610-615.
- SAHNI, S.; SARMA, B. K.; SINGH, K. P. 2008. Management of *Sclerotium rolfsii* with integration of non-conventional chemicals, vermicompost and *Pseudomonas syringae*. **World J. Microbiol. Biotechnol.**, v. 24, p. 517-522.
- TOSI, P.; MATTOS, W. R. S.; TOSI, H.; JOBIM, C. C.; LAVEZZO, W. Avaliação do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) cultivar Taiwan A-148, ensilado com diferentes técnicas de redução de umidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, n. 5, p. 947-954, 1999.
- WELLS, H.; BELL, D. K.; JAWORSKI, C. A. 1972. Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biocontrole for *Sclerotium rolfsii*. **Phytopathology**, v. 62, p. 442-447.

4 USO DE *Trichoderma* COMERCIAL NO CONTROLE DA PODRIDÃO POR *Sclerotium rolfii* EM CEBOLA VAR. BAIA PERIFORME

4.1 RESUMO

A cebola (*Allium cepa*) está situada entre as três olerícolas mais cultivadas no Brasil. A podridão por *Sclerotium* em cebola é causada pelo fungo *Sclerotium rolfii*, patógeno de solo de difícil controle. Devido o uso indiscriminado de produtos químicos há relatos de isolados resistentes a fungicidas químicos. Na tentativa de verificar a eficiência do controle dos produtos comerciais à base de *Trichoderma*, foram realizados experimentos de campo em delineamento de blocos ao acaso. As plantas de cebola foram inoculadas artificialmente com o patógeno. Os tratamentos aplicados foram: *T. harzianum*, *T. asperellum*, Procimidona e testemunha (água esterelizada). Foram avaliadas a incidência de plantas infectadas na colheita, a produtividade por hectare e o ganho de produtividade em relação à testemunha somente com patógeno. O tratamento *S. rolfii* + *T. harzianum* apresentou uma incidência de 23,6% (Experimento I) e 9,3% (Experimento II), diferindo significativamente da testemunha com patógeno. No tratamento somente com *T. harzianum* houve um ganho de produtividade de 47,7% (Experimento I) e 39,8% (Experimento II) em relação à testemunha somente com patógeno.

4.2 INTRODUÇÃO

No Brasil, a cebola (*Allium cepa*) está situada entre as três olerícolas mais cultivadas, alternando-se na terceira posição em relação ao total de área cultivada com o tomate entre os anos de 2000 a 2009. Na safra 2010, a área plantada no Brasil com cebola foi de 67.999 hectares, com uma estimativa de produção de 1.499.507 toneladas, e um rendimento médio de 22.052 quilogramas por hectare (IBGE, 2010).

Dentre as doenças de solo que atingem a cebola, está a podridão por *Sclerotium rolfii*, um agressivo patógeno que pode causar além das podridões, tombamento e murcha em mais 500 espécies de plantas. Na cebola há relatos de perda entre 100% e 30%, onde a perda total da produção ocorreu devido ao abandono da área que se encontrava com uma incidência de 100% (MONTES-BELMONT *et al.*, 2003). O patógeno é encontrado com mais frequência em regiões de clima tropical e subtropical, contudo sua estrutura de resistência (esclerócio) pode sobreviver a temperaturas -10°C. Os primeiros sintomas são o amarelecimento

progredindo para a murcha das folhas. Normalmente, *S. rolfsii* ataca as plantas na região próxima ao solo e, após a penetração dos tecidos, produz uma massa de micélio cotonoso nos tecidos infectados e no solo. Neste micélio são produzidos esclerócios de coloração branca que evoluem para uma coloração marrom-escura a preta, tais estruturas de resistência podem sobreviver por vários anos no solo (PUNJA & RAHE, 1992; FERREIRA & BOLEY, 2006).

Vários métodos de controle têm sido relatados para fungos de solo que produzem esclerócios, dentre os quais destacam-se fungicidas como thiram (BOZARTH & TWEEDY; 1971), tebuconazole, iprodione, tiofanato metílico (FRANKE et al., 1998; BRADLEY et al. 2006), solarização do solo (MIHAIL & ALCORN, 1984; CHELLEMI et al., 1997; ESHEL et al., 2000), estímulo da germinação dos escleródios pelo uso de restos culturais (DAVIS et al., 2007), e o uso de agentes de biocontrole, dentre os quais destacam-se os fungos *Trichoderma* (HARMAN et al., 2004; METCALF et al., 2004) e *Gliocladium* (PAPAVIZAS & COLLINS, 1990). O controle biológico visa diminuir a densidade do inóculo mediante o uso de antagonistas que destruam os esclerócios, ou evitem sua formação. Assim os objetivos dos agentes de biocontrole no ciclo da doença incluem: a erradicação dos esclerócios presentes no solo antes do plantio, a supressão ou degradação dos esclerócios sobre as plantas infectadas e a proteção do sistema radicular em crescimento (BLUM & RODRÍGUEZ-KÁBANA, 2006).

Desta forma, além do interesse ambiental de diminuição a cada dia da utilização de produtos químicos, há a necessidade de melhoria do manejo da doença. Com isso o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de produtos comerciais à base de *Trichoderma harzianum* e *T. asperellum* no controle da podridão causada por *Sclerotium rolfsii* em plantas de cebola.

4.3 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, em campo, durante os meses de maio a outubro de 2010 e de junho a dezembro de 2010.

4.3.1 OBTENÇÃO E CULTIVO DOS ISOLADOS DO PATÓGENO

Os isolados de *Sclerotium rolfsii* (UB193 e UB686) foram obtidos da coleção de micologia da Universidade de Brasília, e ambos foram isolados de plantas de feijão.

Antes da utilização no experimento, os esclerócios foram inoculados em bulbilhos de alho e colocados em câmaras úmidas, gerbox (caixas plásticas) com papel toalha umedecido

no fundo e com lâminas de vidro para evitar o contato dos bulbilhos com o papel toalha umedecido. As caixas foram colocadas sobre as bancadas do laboratório. Os esclerócios produzidos foram recuperados e colocados em placas de Petri com meio BDA (batata, dextrose e ágar). Logo após as placas foram colocados em câmara de incubação programada com fotoperíodo de 12h e temperatura de $24 \pm 2^\circ\text{C}$, 15 dias após os esclerócios produzidos foram coletados e armazenados em placas de Petri. Os produtos usados à base de *Trichoderma* foram os seguintes: *Trichoderma harzianum* (Trichodermil SC®, 2×10^9 esporos.ml⁻¹, suspensão concentrada, Itaforte, Itapetinhiga - SP) e *Trichoderma asperellum* (TrichoderMax EC, $1,5 \times 10^9$ esporos.ml⁻¹, suspensão concentrada, Turfal, Quatro Barras – PR).

4.3.2 ANÁLISE DE SOLO DO LOCAL DOS EXPERIMENTOS

A aérea utilizada encontrava-se em pousio de cultivo de feijão e com solo classificado como latossolo vermelho distrófico (EMBRAPA, 1999) com as seguintes características químicas e físicas, na profundidade de 0-20cm: pH= 5,8; P= 1,7 mg.dm⁻³; K= 0,19 cmolc.dm⁻³; Ca= 2,5 cmolc.dm⁻³; Mg = 0,7 cmolc.dm⁻³; Al= 0,1 cmolc.dm⁻³ = mE.100mL⁻¹; V= 39%; matéria orgânica = 46,8 g/kg; areia= 400g/kg; silte= 250 g/kg; e argila= 350 g/kg; e para profundidade de 20-40cm: pH= 5,6; P= 0,5 mg.dm⁻³; K= 0,16 cmolc.dm⁻³; Ca= 1,0 cmolc.dm⁻³; Mg = 0,4 cmolc.dm⁻³; Al= 0,2 cmolc.dm⁻³; V= 26%; matéria orgânica = 36,8 g.kg⁻¹; areia= 275 g.kg⁻¹; silte= 225 g.kg⁻¹; e argila= 500 g.kg⁻¹. A temperatura do solo coletado a 5cm de profundidade foi durante os experimentos, em média 23°C (máxima de 35,9°C e mínima 10°C) e a do ambiente foi em média de 25°C (máxima de 43,8°C e mínima de 2,5°C).

4.3.3 PLANTIO, TRATOS CULTURAIS, INOCULAÇÃO E TRATAMENTOS

Primeiramente, foi realizada a aração do solo (arado de disco), seguido pela correção do solo com a distribuição de calcário (1,974 ton.ha⁻¹), e uma gradagem para incorporação do calcário. A adubação (Figura 4.1) foi realizada de acordo com os dados da análise de solo e a recomendação da EMBRAPA (A cultura da cebola): 45 Kg N.ha⁻¹, 180 Kg de P₂O₅.ha⁻¹ e 180 Kg de KCl.ha⁻¹. A variedade utilizada foi a Baía Periforme que foi semeada de forma direta no solo no dia 28 de maio de 2010 (Experimento I) e 29 de junho de 2010 (Experimento II), com espaçamento de 0,1 por 0,3 m, três linhas por parcela. A irrigação (Figura 4.2) foi

aplicada a cada dois dias com uma lâmina de água de 10 mm. O manejo das ervas daninha foi realizado por meio de arranquio a cada 15 dias.

Foram inoculados três esclerócios por planta e, 24 horas após, as parcelas do experimento foram tratadas com Procimidona (Sumilex, 1,5 kg.ha⁻¹), *Trichoderma harzianum* (Trichodermil SC, 2x10⁶ conídios.ml⁻¹), *Trichoderma asperellum* (Trichodermax, 2x10⁶ conídios.ml⁻¹) e água esterelizada. As pulverizações foram realizadas com bomba costal (marca jacto modelo versatili do tipo pistão com tanque de 20 L e bico leque (marca jacto, modelo API – 110-02 malha 50 (cor amarela), pressão 30 lbf/pol², vazão 0,7 L.mim⁻¹).

O delineamento foi em blocos ao acaso com 5 repetições (Figura 4.3), os tratamentos foram: *Sclerotium rolfii* + água esterelizada (testemunha com patógeno), *S. rolfii* + Procimidona (Sumilex[®]), *S. rolfii* + *T. harzianum* (Trichodermil SC[®]), *S. rolfii* + *T. asperellum* (Trichodermax[®]), *T. harzianum* (Trichodermil SC[®]), *T. asperellum* (Trichodermax[®]) e Testemunha (plantas sem patógeno).

A colheita foi realizada quando mais de 70% das plantas encontravam-se tombadas, aos 156 dias no experimento I e aos 175 dias no experimento II. As plantas colhidas foram submetida ao processo de cura (Figura 4.4) de acordo com a metodologia descrita por Costa et al. (2000).

4.3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$) e após comprovação da significância as médias foram comparadas pelo teste de Fisher ($P \leq 0,05$). Para a análise da percentagem incidência do patógeno (Figura 4.5) e percentagem de ganho de massa em relação à testemunha com patógeno, os dados originais foram transformados em $\sqrt{(X/100)}$. Foi utilizado o software (SigmaStat 3.5) para processamento das análises.



Figura 4.1. Preparo do solo e sistema de irrigação.



Figura 4.2. Parcelas utilizadas.



Figura 4.3. Visão geral da área experimental total, experimento I (à esquerda) e experimento II (à direita).



Figura 4.4. Cura da cebola.



Figura 4.5. Podridão da cebola com a presença do micélio e esclerócios de *Sclerotium rolfsii*.

4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento com *Trichoderma harzianum* em solo com *Sclerotium rolfisii* apresentou uma menor incidência do patógeno (23,3% no isolado UB193 e 9,3% no isolado UB686) observada no momento da colheita cebola (Tabela 4.1). Os tratamentos à base de *Trichoderma* diferiram significativamente da testemunha com patógeno, enquanto que o tratamento com Procimidona não diferiu foi semelhante a testemunha com patógeno.

No presente estudo os produtos comerciais testados à base de *Trichoderma* foram mais eficientes no controle da podridão da cebola por *S. rolfisii* do que o produto químico. Segundo Harman (2000) os agentes de controle biológico podem ser mais eficientes que os produtos químicos para a proteção das raízes e crescimento das plantas, proporcionando em uma aplicação no início da cultura proteção em longo prazo. O *T. harzianum* é um inimigo natural de fungo patogênicos como a *R. solani* e *S. rolfisii*, e seu uso foi relatado com sucesso no controle destes fitopatógenos em campos de produção de cravo (ELAD et al., 1981).

Os tratamentos à base de *Trichoderma* apresentaram maior produtividade por hectare e percentagem de ganho de produtividade em relação à testemunha com patógeno (Tabela 4.2). Destacando-se o tratamento somente com *Trichoderma harzianum* o qual promoveu um aumento de 47,7% e 39,6% do ganho de produtividade em relação à testemunha somente com patógeno, não diferindo estatisticamente da testemunha sem patógeno e dos demais tratamentos com *Trichoderma*, porém sendo quantitativamente superior até mesmo a testemunha sem patógeno.

Os tratamentos com *T. harzianum* além de promover a diminuição da incidência de plantas infectadas, proporcionou um ganho de produtividade em relação à testemunha com *S. rolfisii*. Além disso, o tratamento somente com *Trichoderma harzianum* proporcionou uma produtividade superior a testemunha sem patógeno nos dois experimentos. Tal resultado foi semelhante ao de Ishimura et al. (2008a) que com cebola da cultivar Alfa tropical observaram um ganho de 32% em relação a testemunha nos tratamento com 0,6 g de *T. harzianum* por m². O *Trichoderma harzianum* vem sendo citado em vários trabalhos da literatura como promotor de crescimento e ganho em produtividade. Segundo tais autores a utilização de *T. harzianum* na dose de 2,8 kg.ha⁻¹ promoveu um aumento de 57,6 % na produção de tomateiro (Ishimura et al., 2008b).

Ousley et al. (1994) relataram um aumento de massa fresca e seca em plantas de alface, quando inocularam *T. harzianum* a 1% do substrato, para eles o ganho ocorreu devido

a um possível mecanismo análogo ao das micorrizas, em que o *Trichoderma* aumenta a eficiência de transferência de nutrientes de compostos para as raízes. Altomare et al. (1999) observaram *in vitro* a capacidade do *T. harzianum* de solubilizar minerais insolúveis e poucos solúveis (fosfato de rocha, dióxido de manganês, zinco metálico, etc) para as plantas, tal fato pode ser a justificativa para a maior produtividade quando se utiliza o *T. harzianum* nas plantas de cebola.

Harthmann et al. (2009) observaram a promoção de crescimento, aumento do rendimento de bulbos e aumento na produtividade da cebola cultivar Bola Precoce com a utilização de rizobactérias, *Pseudomonas* spp. e *Bacillus cereus*, que assim com o *Trichoderma* são capazes de se multiplicar e colonizar rapidamente o sistema radicular, evitando a invasão de patógenos pela produção de metabólitos secundários que inibem o crescimento de outros microorganismos deletérios (Chao et al., 1986).

No presente estudo, *T. asperellum* diminuiu a incidência de plantas com podridão causada pelos do isolados de *S. rolfisii* de forma significativa. Na literatura foram relatados alguns resultados com a utilização de *T. asperellum* no controle de patógeno de solo, como no controle de tombamento de mudas de pepino pela *Rhizoctonia solani* (Lucon et al. 2009), um alto grau de micoparasitismo dos isolados de *T. asperellum* em teste *in vitro* com isolados de *Sclerotinia* spp. e *Rhizoctonia* spp. (Hoyos-Carvajal et al, 2008), e controlar a murcha por *Fusarium* em plantas de tomate (Cotxarrera et al. 2002), que segundo Segarra et al. (2010) se deu por meio da competição pelo microelemento Fe, além disso o *T. asperellum* promoveu a proteção contra os efeitos tóxicos do excesso de Fe (III), demonstrando a ampla funcionalidade de uso agrícola deste espécie de *Trichoderma*.

Diferentemente de McLean & Stewart (2000) que obtiveram elevado nível de controle da podridão branca causada pelo *Sclerotium cepivorum* tratando as sementes de cebola com procimidona, o tratamento com procimidona em nosso trabalho foi estaticamente semelhante à testemunha com patógeno com os dois isolados de patógeno utilizados (UB193 e UB 686) em todas as variáveis avaliadas (incidência de plantas doentes, produtividade por hectare e o ganho de produtividade em relação à testemunha com patógeno). Em contra partida, Pérez-Moreno et al. (2002) descobriram em teste *in vitro* alguns isolados de *Sclerotium cepivorum* tolerantes à procimidona e iprodione. Além de relatar alguns isolados de *S. rolfisii*, os quais não tinham o crescimento e a produção de esclerócios inibidos com a utilização de procimidona, iprodione e thiabendazole, provavelmente esta tolerância tenha sido causada

pelo uso indiscriminado destes fungicidas nas regiões onde foram coletados os isolados (Pérez-Moreno et al., 2009).

Tabela 4.1. Percentagem de plantas com a presença do patógeno (Incidência) ao final do ciclo da cultura da cebola var. Baia Periforme (Brasília, DF, 2010).

Tratamento	Incidência (%)	
	UB 193 ¹	UB 686
<i>T. harzianum</i>	0,02a ³	0,0 a
Testemunha	0,0 a	0,0 a
<i>T. asperellum</i>	0,0 a	0,0 a
<i>T. harzianum</i> + <i>S. rolfsii</i>	23,3 b	9,3 b
<i>T. asperellum</i> + <i>S. rolfsii</i>	35,0 bc	11,1 b
Procimidona + <i>S. rolfsii</i>	42,3 cd	25,6 c
<i>Sclerotium rolfsii</i>	49,9 d	26,9 c
	CV(%)	29,0
	IV(%)	13,0
	DMS	0,17

¹Isolados de *Sclerotium rolfsii* utilizados. ²Porcentagem de incidência observada. Experimento Cebola I, isolado 193, plantado dia 28 de maio de 2010, colhido dia 30 de outubro de 2010 (156 dias de ciclo). Experimento Cebola II, isolado UB686, plantado dia 29 de junho de 2010, colhido dia 20 de dezembro de 2010 (175 dias de ciclo). ³Letras representando os valores significativamente diferentes na coluna, dados transformados para o $\arcsen\sqrt{(\text{Incidência } \%/100)}$, analisados pelo teste de Fisher (P=0,05).

Tabela 4.2. Produtividade por hectare (P) e ganho de produtividade em relação à testemunha com patógeno (G) (Brasília, DF, 2010).

Tratamento	UB 193 ¹		UB 686	
	P (kg.ha ⁻¹) ^a	G (%)	P (kg.ha ⁻¹)	G (%)
<i>T. harzianum</i>	58548 a ²	47,7 ³ a ⁴	30647 a	39,6 a
Testemunha	57818 a	45,3 a	30234 a	37,4 ab
<i>T. asperellum</i>	52397 ab	31,8 ab	29222 ab	33,3 ab
<i>T. harzianum</i> + <i>S. rolfsii</i>	57522 a	45,0 a	28198 ab	29,4 abc
<i>T. asperellum</i> + <i>S. rolfsii</i>	52766 ab	32,6 ab	26030 bc	18,4 bc
Procimidona + <i>S. rolfsii</i>	47986 bc	21,0 b	25404 bc	16 c
<i>Sclerotium rolfsii</i>	39780 c	0 c	22094 c	0 d
	CV(%)	8,9	9,7	64,4
	IV(%)	4,0	4,3	28,8
	DMS	7320	4119	0,24

¹Isolados de *Sclerotium rolfsii* utilizados. ²Letras representados os valores significativamente diferentes em colunas, e analisados pelo teste de Fisher (P=0,05). ³Porcentagem de ganho de produtividade em relação à testemunha. ⁴Letras representando os valores significativamente diferentes em coluna, dados transformados para o $\arcsen\sqrt{(\text{Ganho } \%/100)}$, analisados pelo

teste de Fisher (P=0,05). ^aProdutividade por hectare. Valores obtidos por meio da conversão da massa por planta para 300 mil plantas por hectare.

4.5 CONCLUSÕES

O tratamento químico com procimidona na concentração utilizada não promoveu o controle eficiente do *S. rolfsii* causador de podridão em cebola.

O tratamento a base de *Trichoderma* foi à forma mais eficiente no controle da podridão causada por *S. rolfsii*.

4.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTOMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJÖRKAMAN, T.; HARMAN, G. C. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n.7, p. 2926-2933.
- BRADLEY, C. A.; LAMEY, H. A.; ENDRES, G. J.; HENSON, R. A.; HANSON, B. K.; MCKAY, K. R.; HALVORSON, M.; LEGARE, D. G.; PORTER, P. M. 2006. Efficacy of fungicides for control of *Sclerotinia* stem rot of canola. **Plant Disease**, v. 90, p. 1129-1134.
- BLUM, L. E. B.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. 2006. Dried powders of kudzu, velvetbean, and pine bark added to soil increase microbial population and reduce Southern blight of soybean. **Fitopatologia Brasileira**, v.31, p. 551-556.
- COSTA, N. D.; QUEIROZ, M. A.; ARAÚJO, J. C. SANTOS, C. A. F. 2002. **A cultura da cebola**. 1ed. Brasília: EMBRAPA.
- COSTA, N. D.; RESENDE, G. M.; DIAS, R. C. S. 2000. Avaliação de cultivares de cebola em Petrolina-Pe. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 1, p. 57-60.
- COTXARRERA, L.; TRILLAS-GAY, M. I; STEINBERG, C.; ALABOUVETTE, C. 2002. Use of sewage sludge compost and *Trichoderma asperellum* isolates to suppress *Fusarium* wilt of tomato. **Soil & Biochemistry**, v.34, p. 467-476.
- CHAO, W. L., NELSON, E. B.; HARMAN, G. E.; HOCH, H. C. 1986. Colonization of the rhizosphere by biological control agents applied to seeds. **Phytopathology**, v. 76, p. 60-65.
- CHELLEMI, D. O.; OLSON, S. M.; MITCHELL, D. J.; SECKER, I.; MCSORLEY, R. 1997. Adaptation of soil solarization to the integrated management of soilborne pests of tomato under humid conditions. **Phytopathology**, v. 87, p. 250-258.
- DAVIS, R. M.; HAO, J. J.; ROMBERG, M. K.; NUNEZ, J. J.; SMITH, R. F. 2007. Efficacy of germination stimulants of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* for management of white rot of garlic. **Plant Disease**, v. 91, p. 204-208.
- ELAD, Y.; HADAR, E.; CHET, I.; HENIS, Y. 1981. Biological control of *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* in carnation. **Plant Disease**, v. 65, p. 675-677.

- EMBRAPA. 1999. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, DF: Embrapa Produção de Informações; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, p. 412.
- ESHEL, D.; GAMLIEL, A.; GRINSTEIN, A.; DI PRIMO, P.; KATAN J. 2000. Combined soil treatments and sequence of application in improving the control of soilborne pathogens. **Phytopathology**, v. 90, p. 751-757.
- FERREIRA, A. S.; BOLEY, R. A. 2006. *Sclerotium rolfsii*. **Crop Knowledge Master**.
- FRANKE, M. D.; BRENNEMAN, T. B.; STEVENSON, K. L.; PADGETT, G. B. 1998. Sensitivity of isolates of *Sclerotium rolfsii* from peanut in Georgia to selected fungicides. **Plant Disease** 82: 578-583.
- HARMAN, G. E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol. **Plant Disease**, v.84, n.4, p.378-393.
- HARMAN, G. E.; PETZOLDT, R.; COMIS, A.; CHEN, J. 2004. Interactions between *Trichoderma harzianum* strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. **Phytopathology**, v. 94, p.147-153.
- HOYOS-CARVAJAL, L.; DUQUE, G.; ORDUZ, S. 2008. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. sobre aislamientos de *Sclerotinia* spp. y *Rhizoctonia* spp. **Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas**, V. 2, n. 1, p. 76-86.
- IBGE. 2010. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de Janeiro, v. 23, n. 10, p. 1-6.
- ISHIMURA, I.; TIVELLI, S. W.; ALVES, H. S. 2008 a. Avaliação da cebola Alfa Tropical em sistema orgânico de produção para as condições de verão de São Roque, SP. **Horticultura Brasileira** 26: S5527-S5530.
- ISHIMURA, I.; TIVELLI, S. W.; ALVES, H. S. 2008 b. Avaliação do tomateiro em sistema orgânico de produção para as condições de São Roque, SP. **Horticultura brasileira**, v. 26, p. S5519-S5523.
- LUCON, C. M. M.; KOIKE, C. M.; ISHIKAWA, A. I.; PATRÍCIO, F. R.; HARAKAVA, R. 2009. Bioprospecção de isolados de *Trichoderma* spp. para o controle de *Rhizoctonia solani* na produção de mudas de pepino. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.44. n.3, p.225-232.
- MCLEAN, K. L.; STEWART, A. 2000. Application strategies for control of onion white rot by fungal antagonists, **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 28, p. 115-122.
- METCALF, D. A.; DENNIS J. J. C.; WILSON, C. R. 2004. Effect of inoculum density of *Sclerotium cepivorum* on the ability of *Trichoderma koningii* to suppress white rot of onion. **Plant Disease**, v. 88, p. 287-291.
- MIHAIL, J. D.; ALCORN, S. M. 1984. Effects of soil solarization on *Macrophomina phaseolina* and *Sclerotium rolfsii*. **Plant Disease**, v.68, p. 156-159.

- MONTES-BELMONT, R.; NAVA-JUÁREZ, R. A.; FLORES-MOCTEZUMA, H. E. 2003. Hongos y nematodos en raíces y bulbos de cebolla (*Allium cepa* L.) en El Estado de Morelos, México. **Revistas Mexicana de Fitopatología**, v. 21, n. 3, p. 300–304.
- OUSLEY, M. A.; LYNCH, J. M.; WHIPPS, J. M. 1994. Potencial of *Trichoderma* spp. as consistent plant growth stimulators. **Biology and Fertility of Soil**, v.17, p.85-90.
- PAPAVIZAS, G. C.; COLLINS, D. J. 1990. Influence of *Gliocladium virens* on germination and infectivity of sclerotia of *Sclerotium rolfsii*. **Phytopathology**, v.80, p. 627-630.
- PÉREZ-MORENO, L.; OLALDE-PORTUGAL, V.; SÁNCHEZ-PALEN, J. R. 2002. *In vitro* sensitivity of *Sclerotium cepivorum* isolates to fungicides. **Revista Internacional de Botanica Experimenta - φTON**, p.129-135.
- PÉREZ-MORENO, L.; VILLALPANDO-MENDIOLA, J. J.; CASTAÑEDA-CABRERA, C.; RAMIREZ-MALAGÓN, R. 2009. Sensibilidad *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* Saccardo, a los fungicidas comúnmente usados parasu combate. **Revista Mexicana de Fitopatología**, v. 27, n.1, p. 11-17.
- PUNJA, Z. K. RAHE, J. E. 1993. Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi. *Sclerotium*. **The American Phytopathology Society**, St. Paul, Minnesota, p. 166-170.
- SEGARRA, G.; CASANOVA, E.; AVILÉS, M.; TRILLAS, I. 2010. *Trichoderma asperellum* strain T34 controls *Fusarium* wilt disease in tomato plants in soilless culture through competition for iron. **Microbial Ecology**, v.59, p. 141-149.

5 CONCLUSÃO

1. Os tratamentos à base de *Trichoderma* foram mais eficientes no controle da podridão do alho e cebola causada por *Sclerotium rolfsii*;

2. O condicionador de solo na forma isolada favoreceu a germinação e a produção de novos esclerócios, porém, desfavoreceu quando combinados ao *Trichoderma harzianum*;

3. Os tratamentos químicos com tiofanato metílico e procimidona na concentração utilizada não promoveram o controle eficiente do *S. rolfsii*;

4. Os tratamentos com *T. harzianum* e *T. asperellum* reduziram a incidência da doença e induziram ao ganho em produtividade da cebola;

5. Evidencio-se a necessidade de continuação das pesquisas com produtos a base de *Trichoderma* como agente de controle da podridão por *Sclerotium* de alho e cebola.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMBRÓSIO, M. M. Q.; BUENO, C. J.; PADOVANI, C. R.; SOUZA, N. L. 2008. Controle de fitopatógenos do solo com materiais vegetais associados à solarização. **Summa Phytopathologica**, v. 34, n.4, p. 354-358.
- APOLINÁRIO, A. C.; MONTEIRO, M. M. O.; PACHÚ, C. O. ; DANTAS, I. C. 2008. *Allium sativum* L. como agente terapêutico para diversas patologias: uma Revisão. **Revista de Biologia e Farmácia**, v.2, n.1.
- ALTOMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJÖRKAMAN, T.; HARMAN, G. C. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n.7, p. 2926-2933.
- BARBIERI, R. L.; MEDEIROS A. R. M. 2007. In: BARBIERI, R. L. 2007. **Cebola: ciência, arte e história**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p.14-16.
- BEUTE, M. K.; RODRÍGUEZ-KABANA, R. 1981. Effect of soil moisture, temperature, and field environment on survival of *Sclerotium rolfsii* in Alabama and North Carolina. **Phytopathology**, v.71, p. 1293-1296.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativas in: MICHEREFF, S. J.; BARROS, R. 2001. **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, p.1-11.
- BETTIOL, W.; MIGHELI, Q.; GARIBALDI, A. 1997. Controle, com material orgânico, do tombamento do pepino causado por *Pythium ultimum* trow. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n.1, p. 57-61.
- BLUM, L. E. B. Controle biológico de fitopatógenos. 2006. In: BLUM et al. **Fitopatologia: o estudo das doenças de plantas**. Brasília: Ed. Otimismo, p. 196-205.
- BLUM, L. E. B.; AMARANTE, C. V. T.; ARIOLI, C. J.; GUIMARÃES, L. S.; DEZANET, A.; HACK NETO, P.; SCHEIDT, F. R. 2003. Reação de genótipos de *Phaseolus vulgaris* à podridão do colo e ao oídio. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 96-100.
- BLUM, L.E.B.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, 2004. R. Effect of organic amendments on sclerotial germination, mycelial growth, and *Sclerotium rolfsii* induced diseases. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 66-74.
- BLUM, L.E.B.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. 2006a. Dried powders of velvetbean and pine bark added to soil reduce *Rhizoctonia solani*-induced disease on soybean. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 261-269.
- BLUM, L.E.B.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. 2006b. Powders of kudzu, velvetbean, and pine bark added to soil increase microbial population and reduce Southern blight of soybean. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 551-556.
- BRADLEY, C. A.; LAMEY, H. A.; ENDRES, G. J.; HENSON, R. A.; HANSON, B. K.; MCKAY, K. R.; HALVORSON, M.; LEGARE, D. G.; PORTER, P. M. 2006. Efficacy of fungicides for control of *Sclerotinia* stem rot of canola. **Plant Disease**, v. 90, p. 1129-1134.

- BULLUCK, L. R.; RISTAINO, J. B. 2002. Effect of synthetic and organic soil fertility amendments on southern blight, soil microbial communities, and yield of processing tomatoes. **Phytopathology**, v. 92, p. 181-189.
- COSTA, N. D.; QUEIROZ, M. A.; ARAÚJO, J. C. SANTOS, C. A. F. 2002. **A cultura da cebola**. 1ed. Brasília: EMBRAPA.
- COSTA, N. D.; RESENDE, G. M.; DIAS, R. C. S. 2000. Avaliação de cultivares de cebola em Petrolina-Pe. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 1, p. 57-60.
- COTXARRERA, L.; TRILLAS-GAY, M. I; STEINBERG, C.; ALABOUVETTE, C. 2002. Use of sewage sludge compost and *Trichoderma asperellum* isolates to suppress *Fusarium* wilt of tomato. **Soil & Biochemistry**, v. 34, p. 467-476.
- CHAO, W. L., NELSON, E. B.; HARMAN, G. E.; HOCH, H. C. 1986. Colonization of the rhizosphere by biological control agents applied to seeds. **Phytopathology**, v. 76, p. 60-65.
- CHELLEMI, D. O.; OLSON, S. M.; MITCHELL, D. J.; SECKER, I.; MCSORLEY, R. 1997. Adaptation of soil solarization to the integrated management of soilborne pests of tomato under humid conditions. **Phytopathology**, v. 87, p. 250-258.
- CLARKSON, J. P.; MEAD, P. A.; WHIPPS, J. M. 2002. Selection of fungal biological control agents of *Sclerotium cepivorum* for control of white rot by sclerotial degradation in a UK soil. **Plant Pathology**, v. 51, p. 735-745.
- DAVIS, R. M.; HAO, J. J.; ROMBERG, M. K.; NUNEZ, J. J.; SMITH, R. F. 2007. Efficacy of germination stimulants of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* for management of white rot of garlic. **Plant Disease**, v. 91, p. 204-208.
- ELAD, Y.; CHET, I.; KATAN, J. 1980. *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfii* and *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, v. 70, p. 119-121.
- ELAD, Y.; HADAR, E.; CHET, I.; HENIS, Y. 1981. Biological control of *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* in carnation. **Plant Disease**, v. 65, p. 675-677.
- EMBRAPA. 1999. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, DF: Embrapa Produção de Informações; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, p. 412.
- ESHEL, D.; GAMLIEL, A.; GRINSTEIN, A.; DI PRIMO, P.; KATAN J. 2000. Combined soil treatments and sequence of application in improving the control of soilborne pathogens. **Phytopathology**, v. 90, p. 751-757.
- EARNSHAW, D.M., MCDONALD, M.R., BOLAND, G.J. 2000. Interactions among isolates and mycelial compatibility groups of *Sclerotium cepivorum* and cultivars of onion (*Allium cepa*). **Can. J. Plant Pathol.**, v. 22, p. 387-391.
- FARR, D. F., ROSSMAN, A.Y., PALM, M. E., AND MCCRAY, E. B. (n.d.) 2006. Fungal Databases. Systematic Botany & Mycology Laboratory, ARS, USDA. <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>.

- FERREIRA, A. S.; BOLEY, R. A. 2006. *Sclerotium rolfsii*. **Crop Knowledge Master**.
- FILGUEIRA, F. A. R. 2008. **Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV, ed. 3, p. 255-270.
- FRANKE, M. D., BRENNEMAN, T. B., STEVENSON, K. L., AND PADGETT, G. B. 1998. Sensitivity of isolates of *Sclerotium rolfsii* from peanut in Georgia to selected fungicides. **Plant Disease**, v. 82, p. 578-583.
- GHINI, R.; BETTIOL, W. Controle físico de doenças radiculares. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE D. E. G. T.; MENEZES, M. 2005. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. UFRPE. p. 323-344.
- GRANADOS, M.M.; WANG, A. 2008. Efecto de Biocontroladores Aislados en Fincas Productoras de Cebolla Sobre la Pudrición Blanca (*Sclerotium cepivorum*). **Agronomía Costarricense**, v. 32, n. 1, p. 9-17.
- HARMAN, G. E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol. **Plant Disease**, v.84, n.4, p.378-393.
- HARMAN, G. E.; PETZOLDT, R.; COMIS, A.; CHEN, J. 2004. Interactions between *Trichoderma harzianum* strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. **Phytopathology**, v. 94, p.147-153.
- HARMAN, G. E.; TAYLOR, A. G.; STASZ, T. E. 1989. Combining effective strains of *Trichoderma harzianum* and soil matrix priming to improve biological seed treatments. **Plant Disease**, v.73, p. 631-637.
- HENIS, Y.; ADAMS, P. B.; LEWIS, J. A.; PAPAVIDAS, G. C. 1983. Penetration of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 73, n. 7, p. 1043-1046.
- HOYOS-CARVAJAL, L.; DUQUE, G.; ORDUZ, S. 2008. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. sobre aislamientos de *Sclerotinia* spp. y *Rhizoctonia* spp. **Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas**, v. 2, n. 1, p. 76-86.
- HOWELL, C. R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, v. 87, n. 1, p. 6-10.
- IBGE. 2003. Tabelas de Resultados. Aquisição Alimentar domiciliar per capita. **Pesquisa de Orçamento Familiar 2002-2003**. Coordenação de Índices de Preços.
- IBGE. 2010. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de Janeiro, v.23, n.10, p.1-6, out.
- ISHIMURA, I.; TIVELLI, S. W; ALVES, H. S. 2008 a. Avaliação da cebola Alfa Tropical em sistema orgânico de produção para as condições de verão de São Roque, SP. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. S5527-S5530.

- ISHIMURA, I.; TIVELLI, S. W.; ALVES, H. S. 2008 b. Avaliação do tomateiro em sistema orgânico de produção para as condições de São Roque, SP. **Horticultura brasileira**, v. 26, p. S5519-S5523.
- KLEIFELD, O; CHET I. 1992. *Trichoderma harzianum* - interaction with plants and effect on growth response. **Plant and Soil**, v. 144, n. 2, p. 267-272.
- LOUZADA, G. A. S.; CARVALHO, D.D.C.; MELLO, S.C.M.; JÚNIOR, M.L.; MARTINS, I.; BRAÚNA, L. M. Potencial antagônico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes agrossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biota Neotropica** 9(3): <http://www.biotaneotropica.org.br/v9n3/en/abstract?inventory+bn02509032009>.
- LUCINI, M. A. 2008. **Importações do alho no Brasil em 2008**. Disponível em <http://www.anapa.com.br/principal/images/stories/documentos/importacoes-de-alho-no-brasil-2008.pdf>. Acesso em 2 dezembro de 2010.
- LUCINI, M. A. 2009. **Importações do alho nobre no Brasil em 2009**. Disponível em <http://www.anapa.com.br/principal/images/stories/importacoes/dez2009.pdf>. Acesso em 2 dezembro de 2010.
- LUCON, C. M. M.; KOIKE, C. M.; ISHIKAWA, A. I.; PATRÍCIO, F. R.; HARAKAVA, R. 2009. Bioprospecção de isolados de *Trichoderma* spp. para o controle de *Rhizoctonia solani* na produção de mudas de pepino. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 44. n. 3, p. 225-232.
- MACÊDO, F. S.; SILVA, E. C.; SILVA, R. J. In: SOUZA, R. J.; MACÊDO, F. S. 2009. **Cultura do alho: Tecnologia de Produção**. Lavras: UFLA p. 31-38.
- MADI, L.; KATAN, T.; KATAN, J.; HENIS Y. 1997. Biological control of *Sclerotium rolfsii* and *Verticillium dahliae* by *Talaromyces flavus* is mediated by different mechanisms. **Phytopathology**, v. 87, p. 1054-1060.
- MAPLESTONE, P. A.; WHIPPS, J. M.; LYNCH J. M. 1991. Effect of peat-bran inoculum of *Trichoderma* species on biological control of *Rhizoctonia solani* in lettuce. **Plant and Soil**, v. 136, p. 257-263.
- MARIOT, M. P.; HEIDEN, G.; CASTRO, L. A. S. 2007. In: BARBIERI, R. L. 2007. **Cebola: ciência, arte e história**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 117-122.
- MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; GOMES, A. M. A. Controle biológico de doenças radiculares. in: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. 2005. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária. p. 303-320.
- MARTINS, M. V. V.; SILVEIRA, S. F.; CARVALHO, A. J. C.; SOUZA, E. F. 2003. Erradicação de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* em substratos tratados em coletores solares, em campos dos Goytacazes – RJ. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 421-424.

- MCLEAN, K. L.; STEWART, A. 2000. Application strategies for control of onion white rot by fungal antagonists, **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 28, p. 115-122.
- MENEZES, M.; MACHADO, A. L. M.; SILVEIRA, M. C. V.; SILVA, R. L. X.. 2004. Biocontrole de *Macrophomina phaseolina* com espécies de *Trichoderma* aplicadas no tratamento de sementes de feijão e no solo. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 1, p. 133-140.
- METCALF, D. A.; DENNIS J. J. C.; WILSON, C. R. 2004. Effect of inoculum density of *Sclerotium cepivorum* on the ability of *Trichoderma koningii* to suppress white rot of onion. **Plant Disease**, v. 88, p. 287-291.
- MICHEREFF, S. J.; PERUCH, L. A. M.; ANDRADE, D. E. G. T. Manejo sustentável de doenças radiculares em solos tropicais. in: MICHEREFF, S. J.; BARROS, R. 2001. **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária. p. 38-39.
- MIHAIL, J. D.; ALCORN, S. M. 1984. Effects of soil solarization on *Macrophomina phaseolina* and *Sclerotium rolfii*. **Plant Disease**, v.68, p. 156-159.
- MONTES-BELMONT, R.; NAVA-JUÁREZ, R. A.; FLORES-MOCTEZUMA, H. E. 2003. Hongos y nematodos em raíces y bulbos de cebolla (*Allium cepa* L.) en El Estado de Morelos, México. **Revistas Mexicana de Fitopatología**, v. 21, n. 3, p. 300–304.
- MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. in: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. 2009. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. p. 7.
- MOTA, J.H; YURI, J. E.; RESENDE, G.M.; SOUZA, R. J. 2006. Similaridade genética de cultivares de alho pela comparação de caracteres morfológicos, físico-químicos, produtivos e moleculares. **Horticultura Brasileira**, v. 24, p. 156-160.
- MULLEN, J. **Southern blight, Southern stem blight, White mold**. 2001. Disponível em <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/Basidiomycetes/Pages/SouthernBlight.aspx>>. Acesso em 31 ago. 2010.
- NAPOLEÃO, R.; CAFÉ-FILHO, A. C.; NASSER, L. C. B.; LOPES, C. A.; SILVA, H. R. 2005. Intensidade do mofo-branco do feijoeiro em plantio convencional e direto sob diferentes lâminas d'água. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 374-379.
- OUSLEY, M. A.; LYNCH, J. M; WHIPPS, J. M. 1994. Potencial of *Trichoderma* spp. as consistent plant growth stimulators. **Biology and Fertility of Soil**, v.17, p.85-90.
- PAPAVIZAS, G. C.; COLLINS, D. J. 1990. Influence of *Gliocladium virens* on germination and infectivity of sclerotia of *Sclerotium rolfii*. **Phytopathology**, v.80, p. 627-630.
- PANDEY, M. K.; SARMA, B. K. ; SINGH, D. P. ; SINGH, U. P. 2007. Biochemical Investigations of Sclerotial Exudates of *Sclerotium rolfii* and their Antifungal Activity. **J Phytopathology**, v. 155, p. 84-89.

- PAULA JÚNIOR, T. J.; VIEIRA, R. F.; ROCHA, P. R. R.; BERNARDES, A.; COSTA, E. L.; CARNEIRO, J.E.S.; VALE, F.X.R; ZAMBOLIM, L. 2009. Intensidade do mofo branco em feijão em função de densidade de plantas, frequência de irrigação, cobertura vegetal do solo, *Trichoderma* spp. E fungicidas. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 1, p. 44-48.
- PÉREZ-MORENO, L.; OLALDE-PORTUGAL, V.; SÁNCHEZ-PALEN, J. R. 2002. *In vitro* sensitivity of *Sclerotium cepivorum* isolates to fungicides. **Revista Internacional de Botanica Experimenta - φTON**, p.129-135.
- PÉREZ-MORENO, L.; VILLALPANDO-MENDIOLA, J. J.; CASTAÑEDA-CABRERA, C.;RAMIREZ-MALAGÓN, R. 2009. Sensibilidad *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* Saccardo, a los fungicidas comúnmente usados parasu combate. **Revista Mexicana de Fitopatología**, v. 27, n.1, p.11-17.
- PUNJA, Z. K. 1985. The biology, ecology, and control of *Sclerotium rolfsii*. **Annual Rev. Phytopathol.**, v. 23, p. 97-127.
- PUNJA, Z. K.; RAHE, J. E. 1992. *Sclerotium rolfsii*. In: SINGLETON LL, MIHAIL JD, RUSH CM (Eds.) **Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi**. APS Press. p. 166-170.
- RESENDE, G. M.; PEREIRA, A. J. 2009. .in: SOUZA, R. J.; MACÊDO, F. S. **Cultura do alho: Tecnologia de Produção**. Cap. 1, p. 13-18.
- RODRIGUEZ-KABANA, R.; BACKMAN, P. A.; ELIZABETH, A. W. 1974. Determination of sclerotial populations of *Sclerotium rolfsii* in soil by a rapid floatation-sieving technique. **Phytopathology**, v. 64, p. 610-615.
- SAHNI, S.; SARMA, B. K.; SINGH, K. P. 2008. Management of *Sclerotium rolfsii* with integrationof non-conventional chemicals, vermicompost and *Pseudomonas syringae*. **World J. Microbiol. Biotechnol.**, v. 24, p. 517-522.
- SAMUELS, G. J. 2006. *Trichoderma*: systematics, the sexual state and ecology. **Phytopathology**, v.96, p. 195-206.
- SAMUELS, G. J.; LIECKFELDT, E.; NIRENBERG H. I. 1999. *Trichoderma asperellum*, a new species with warted conidia and redescription of *T. viride*. **Sydowia** 51: 71-88. Disponível em <http://www.uniprot.org/taxonomy/101201> Acesso em 20 de dezembro 2011.
- SAMUELS, G. J.; CHAVERRI, P.; FARR, D. F.; MCCRAY, E.B. Trichoderma Online, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. Disponível em <http://nt.ars-grin.gov/taxadescriptions/keys/FrameListAllTaxa.cfm?gen=Trichoderma> Acesso em 20 de dezembro 2011.
- SEGARRA, G.; CASANOVA, E.; AVILÉS, M.; TRILLAS, I. 2010. *Trichoderma asperellum* strain T34 controls *Fusarium* wilt disease in tomato plants in soilless culture through competition for iron. **Microbial Ecology**, v.59, p. 141-149.

- SILVA, E. C.; SILVA, R. J. 2009. in: SOUZA, R. J.; MACÊDO, F. S. 2009. **Cultura do alho: Tecnologia de Produção**. Cap. 2, p. 21-28.
- SMITH, V. L.; PUNJA, Z. K.; JENKINS, S. F. 1986. A histological study of infection of host tissue by *Sclerotium rolfsii*. **Phytopathology**, v.76, p. 755-759.
- SOBRINHO, J. A. M.; LOPES, C. A.; REIFSCHNEIDER, F. J. B.; CHARCHAR, J. M.; CRISÓSTOMO, L. A.; CARRIJO, O. A.; BARBOSA, S. 1993. **A cultura do alho**. 1. ed. Brasília: EMBRAPA.
- TOSI, P.; MATTOS, W. R. S.; TOSI, H.; JOBIM, C. C.; LAVEZZO, W. Avaliação do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) cultivar Taiwan A-148, ensilado com diferentes técnicas de redução de umidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, n. 5, p. 947-954, 1999.
- WASUM, R. A.; BORDIN, J.; SINIGAGLIA, C. 2007. in: BARBIERI, R. L. 2007. **Cebola: ciência, arte e história**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, Cap. 2, p. 23.
- WELLS, H.; BELL, D. K.; JAWORSKI, C. A. 1972. Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biocontrol for *Sclerotium rolfsii*. **Phytopathology**, v. 62, p. 442-447.
- XU, Z.; GLEASON, M. L.; MUELLER, D. S.; ESKER, P. D.; BRADLEY, C. A.; BUCK, J. W.; BENSON, D. M.; DIXON, P. M.; MONTEIRO, J. E. B. A. 2008. Overwintering of *Sclerotium rolfsii* and *S. rolfsii* var. *delphinii* in different latitudes of the United States. **Plant Disease**, v. 92, p. 719-724.
- ZAMBOLIM, L.; ZAMBOLIM, E. M. in: ZAMBOLIM, L.; CONCEIÇÃO, M. Z.; SANTIAGO, T. 2008. **O que engenheiros agrônomos devem saber para orientar o uso de produtos fitossanitários**. 3. Ed. Viçosa: UFV/DFP, Cap. 7.
- Disponível em <http://www.uniprot.org/taxonomy/173940> Acesso em 20 de dezembro 2011.

ANEXOS

		Pág.
Anexo I	Submissão de artigo	58

ANEXO I: Submissão de artigo

BIO SCIENCE JOURNAL

[CAPA](#) [SOBRE](#) [PÁGINA DO USUÁRIO](#) [PESQUISA](#) [ATUAL](#) [ANTERIORES](#) [NOTÍCIAS](#) [SUBMISSÕES](#) [QUALIS/CPES](#)
[SCOPUS](#) [ISI](#) [JCR](#) [CAB](#) [AGRI](#)

Capa > Usuário > Autor > Submissões Ativas

SUBMISSÕES ATIVAS

ATIVO	ARQUIVO					
ID	MM-DD ENVIADO	SEÇÃO	AUTORES	TÍTULO		SITUAÇÃO
13932	11-10	AGR	Sousa, Blum	USO DE TRICHODERMA HARZIANUM COMERCIAL E CONDICIONADOR...		EM AVALIAÇÃO

1 a 1 de 1 itens

INICIAR NOVA SUBMISSÃO

CLIQUE AQUI para iniciar os cinco passos do processo de submissão.

Bioscience Journal
ISSN 1981-3163 - Versão Online
ISSN 1516-3725 - Versão Impressa
Universidade Federal de Uberlândia
Av. Para, 1720
Bloco 2U - Sala 24
Campus Umuarama
B. Umuarama
38400-902 - Uberlândia, MG, Brasil
Fone: +55-34-3218-2546
biosciencej@ufu.br