

## PROMOÇÃO DE ENRAIZAMENTO DE MICROESTACAS DE UM CLONE DE *Eucalyptus* sp. POR *Trichoderma* spp.<sup>1</sup>

Fabiano de Oliveira Fortes<sup>2</sup>, Antônio Carlos Ferreira da Silva<sup>3</sup>, Marcus André Kurtz Almança<sup>2</sup> e Solange Bosio Tedesco<sup>3</sup>

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

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

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

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

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

---

<sup>1</sup> Recebido em 26.07.2006 e aceito para publicação em 13.11.2006.

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

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

## 1. INTRODUÇÃO

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

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

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

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

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

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

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

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

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

Os isolados de *Trichoderma* sp. foram obtidos a partir de amostras de 500 g de solo, retiradas de uma profundidade de até 10 cm, em área de ocorrência de plantas de *Eucalyptus* sp. no campus da Universidade Federal de Santa Maria, em Santa Maria, RS, sendo utilizados o procedimento de diluição em série de partículas de solo (WOLLUM, 1982) e o método de iscas (GHINI e KIMATI, 1989; SANFUENTES e FERREIRA, 1997). Também foram utilizadas como colônias de *Trichoderma* spp. colonizando naturalmente micélios de *Cylindrocladium* spp. em meio BDA (batata, dextrose, ágar). No método de iscas, utilizaram-se grãos de trigo, sendo 10 grãos para cada trouxa feita com gaze hidrófila (13 fios por cm<sup>2</sup>; 10,0 x 10,0 cm) enterrada a 10 cm de profundidade em 500 g de solo umedecido com 10 mL de água destilada e esterilizada, coberta com papel-alumínio e mantida a 25 °C, na ausência de luz. Os grãos de trigo foram retirados das trouxas após

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

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

## 2.2. Experimento *in vitro*

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

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

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

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

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

## 2.4. Teste de enraizamento *in vivo*

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

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

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

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

## 2.5. Análise estatística

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

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1. Isolamento de *Trichoderma* spp.

Tanto o procedimento de diluição em série como o método de iscas, ambos a partir de amostras de solo em área de ocorrência de plantas de eucalipto, possibilitaram o isolamento de colônias de *Trichoderma* spp. Foi verificada, pelo método da diluição, a concentração média de  $2.10^6$  esporos.g<sup>-1</sup> de solo nas

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

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

### 3.2. Experimento *in vitro*

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

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

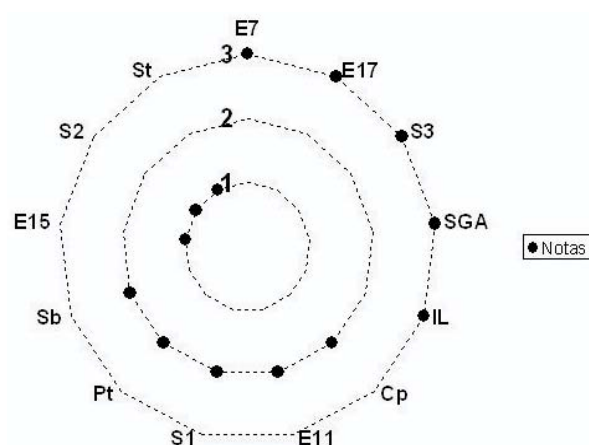
Os métodos *in vitro*, além de serem práticos, servem como uma seleção preliminar para avaliar a capacidade antagonista e também indicam o comportamento do microrganismo, com relação a sua capacidade de adaptação, crescimento e reprodução *in vitro*. Existem algumas restrições com a realização apenas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

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

### 3.3. Experimento *ex vitro*

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na horizontal ou minúsculas na vertical diferem entre si, a 5%, pelo teste de Tukey. <sup>1</sup>Averages followed by different letters, upper case in horizontal or lower case in the vertical axis, differ among themselves at the level 5% by the Tukey's test.

#### 4. CONCLUSÃO

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

#### 5. AGRADECIMENTO

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

## 6. REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C. Fungos do gênero *Cylindrocladium* como patógenos florestais, no Brasil **Fitopatologia Brasileira**, v.11, p.275-277, 1986.
- ALFENAS, A. C. et al. Mofocinza, causado por *Botrytis cinerea* (Persoon ex Fries) em estacas e microestacas de *Eucalyptus* sp., resistência a benomil e erradicação de inóculo do patógeno com água quente. **Revista Árvore**, v.4, n.23, p.497-500, 1999.
- ALTOMARE, C. et al. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, n.7, p.2926-2933, 1999.
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 4. ed. Minnesota: Burgess Publishing Company, 1998. 218p.
- BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, v.72, n.4, p.379-382, 1982.
- BLAKEMAN, J. P. Behavior of conidia on aerial plant surfaces. In: COLEY-SMITH, J. R.; VERHOEFF, K.; JARVIS, W. R. (Ed.). **The biology of Botrytis**. London: Academic Press, 1980. p.115-151.
- CHANG, Y. C. et al. Increased growth of plants in presence of biological control agent *Trichoderma harzianum*. **Plant Disease**, v.70, p.145-148, 1986.
- DUBOS, B. Fungal antagonism in aerial agrobiocenoses. In: CHET, I. (Ed.) **Innovative approaches to plant disease control**. New York: John Wiley & Sons, 1987. p.107-135.
- ELAD, Y.; KÖHL, J.; FOKKEMA, J. N. Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic yeasts. **Phytopathology**, v.84, n.10, p.1193-1200, 1994.
- ETHUR, L.Z.; CEMBRANEL, C. Z.; SILVA, A. C. F. Seleção de *Trichoderma* spp. visando o controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, *in vitro*. **Ciência Rural**, v.31, p.885-887, 2001.
- ETHUR, L. Z. et al. Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* em pepineiro cultivado em estufa. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, n.2, p.127-133, 2005.
- FERREIRA, F. A. **Principais doenças do eucalipto no estado de Minas Gerais**. Viçosa, MG: EPAMIG, 1985.12 p. (Boletim Técnico, 23).
- FERREIRA, F. A. Enfermidades do eucalipto. **Informe Agropecuário**, v.12, n.141, p.59-70, 1986.
- GHINI, R.; KIMATI, H. **Método de isca para obtenção de isolados de *Trichoderma* antagonistas a *Botrytis cinerea***. Jaguariúna: Embrapa-CNPDA, 1989. 13p. (Boletim de Pesquisa, 3).
- GRIGOLETTI JR., A.; SANTOS, A. F.; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Revista Floresta**, v.30, p.155-165, 2000.
- HARMAN, G. E. Myth and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v.84, p.377-393, 2000.
- KLEIFELD, O.; CHET, I. *Trichoderma*: plant interaction and its effects on increased growth response. **Plant Soil**, v.144, n.2, p.267-272, 1992.
- MELO, I. S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. In: LUZ, W. C. (Ed.) **Revisão anual de patologia de plantas**. Porto Alegre: 1996. v.4. p.261-296.
- MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S. e AZEVEDO, J. L. (Ed.) **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa, 1998. p.17-66.
- NEL, B. et al. The potential of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* and other biological control organisms for suppressing fusarium wilt of banana. **Plant Pathology**, v.55, n.2, p.217-223, 2006.

- PAPAVIZAS, G. C. Survival of *Trichoderma harzianum* in soil and in pea bean rhizospheres. **Phytopathology**, v.72, p.1212, 1982.
- RESENDE, M. L. et al. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, n.4, p.793-798, 2004.
- SANFUENTES, E. A.; FERREIRA, F. A. Seleção de fungos para o biocontrole de *Botrytis cinerea* em viveiros suspensos de eucalipto. **Revista Árvore**, v.21, n.1, p.147-153, 1997.
- SEGURA, C. B. Manchas foliares por el hongo *Cylindrocladium scoparium* Morg. en *Eucalyptus* spp. en Turrialba, Costa Rica. **Turrialba**, v.20, p.365-366, 1970.
- SILVA, A. C. F. **Uso de radiação gama para a obtenção de mutantes de *Trichoderma harzianum* Rifai. e *T. viride* Pers.Fr. com capacidade melhorada no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary.** 1997. 143f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.
- SIVAN, A.; HARMAN, G. E. Improved rhizosphere competence in a protoplast fusion progeny of *Trichoderma harzianum*. **Journal of General Microbiology**, v.137, p.23-29, 1991.
- SNEH, B.; ICHIELEVICH-AUSTER, M. Induced resistance of cucumber seedlings caused by some non-pathogenic Rhizoctonia (np-R) isolates. **Phytoparasitica**, v.26, n.1, p.27-38, 1998.
- SOUZA, M. G.; FERREIRA, F. A. Suscetibilidade de folhas mortas, senescentes e normais e de porções basais e superiores de hastes de mudas de *Eucalyptus grandis* a *Botrytis cinerea*. **Fitopatologia Brasileira**, v.15, p.128, 1990.
- SOUZA, M. G. **Etiologia e controle do tombamento de mudas de eucalipto, causado por *Botrytis cinerea*, no estádio de fechamento de canteiros.** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1991. 53p.
- WOLLUM, A. G. Cultural methods for soil microorganisms. In: PAGE, A. L.; MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. (Ed.). **Methods of soil analysis.** Madison: Soil Science Society of America, 1982. p.781-802.
- XAVIER, A.; COMÉRIO, J. Microestaquia: uma maximização da micropropagação de *Eucalyptus*. **Revista Árvore**, v.20, n.1, p.9-16, 1996.
- ZAZZERINI, A.; TOSI, L. Antagonistic activity of fungi isolated from sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Pathology**, v.34, p.414-421, 1985.