

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

***TRICHODERMA* SP. NO CONTROLE DE DOENÇAS E NA PROMOÇÃO DO  
CRESCIMENTO DE PLANTAS DE ARROZ**

**Marcus André Kurtz Almança  
Engenheiro Agrônomo – UFSM**

Dissertação apresentada como um dos  
requisitos à obtenção do Grau de  
Mestre em Fitotecnia  
Área de Concentração Fitossanidade

**Porto Alegre, RS, Brasil  
Fevereiro de 2005**

## **FOLHA DE HOMOLOGAÇÃO**

## AGRADECIMENTOS

À professora Dr<sup>a</sup>. Aida Terezinha Santos Matsumura, pela orientação, sobretudo, pelo incentivo e amizade fundamentais durante todo o Curso, além das sugestões que contribuíram no aperfeiçoamento e na concretização dessa Dissertação.

Ao Dr. João Leodato Nunes Maciel, pela co-orientação, amizade, apoio e estímulo para a realização do trabalho.

A todos os professores do Departamento de Fitossanidade da UFRGS pelos excelentes ensinamentos e conhecimentos que certamente auxiliaram durante a realização do Mestrado.

Aos amigos Marcio Lauschner e Fabiano de Bona, e a Tia Clara pela convivência durante o período do mestrado, proporcionando momentos de alegria e de discussão e, pelo ‘matezito’ de tardezinha.

Ao amigo e colega Celson Alexandre Weiler pelo companheirismo e assistência na condução deste trabalho.

Às colegas de laboratório Juliana Pandolfo, Jussara Medeiros e Márcia da Silva, pela amizade e colaboração na execução deste trabalho.

Aos demais colegas do Departamento de Fitossanidade pela boa convivência e auxílio durante o desenvolvimento deste trabalho, além dos momentos agradáveis e de diversão proporcionados por todos.

Aos meus pais, José Moacir Trindade Almança e Celeni Kurtz Almança, e irmãos, Leonardo e Karin, pelo apoio e incentivo indispensáveis e por acreditarem na concretização deste momento, apesar da distância e saudade.

À minha noiva Josana de Abreu Rodrigues, por todo amor, apoio, compreensão, auxílio e pelos momentos de alegria passados juntos.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela oportunidade de realização do Curso de Mestrado.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro.

Ao IRGA pela colaboração através de seu pessoal, em especial aos amigos Ezequiel Pereira e Catiane dos Santos, pela convivência e fundamental ajuda no desenvolvimento dos experimentos.

À Cooperativa Mista de Nova Palma (CAMNPAL), em especial ao Engenheiro Agrônomo José Mário Tagliapietra, ao Sr. Claudemir José Piccin e ao Técnico Agrícola Tassiano Pelegrin pelo apoio recebido para realização desse trabalho.

# **TRICHODERMA SP. NO CONTROLE DE DOENÇAS E NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE PLANTAS DE ARROZ<sup>1</sup>**

Autor: Marcus André Kurtz Almança  
Orientadora: Aida Terezinha Santos Matsumura  
Co-Orientador: João Leodato Nunes Maciel

## **RESUMO**

Algumas doenças têm se tornado importantes na cultura do arroz, como por exemplo, a queima das bainhas e o enrolamento. Portanto, medidas de controle vêm sendo buscadas para evitar as perdas de produção por esse fator. O controle biológico, como o uso de bioformulados à base de *Trichoderma* sp., é uma alternativa que tem sido cada vez mais utilizada na agricultura brasileira. Além disso, esse antagonista tem mostrado capacidade de promover o crescimento de plantas. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a ação de bioformulados à base de *Trichoderma* sp. sobre *Rhizoctonia solani* e sobre o complexo enrolamento do arroz, e no crescimento de plantas de arroz, sob diferentes doses e formas de aplicação. Os resultados mostraram que os isolados de *Trichoderma* sp. inibiram o crescimento *in vitro* de *Rhizoctonia solani*. No experimento de campo observou-se que os isolados 8 e 11 proporcionaram um maior estande de plantas, diferenciando da testemunha. No caso do enrolamento, em casa de vegetação, verificou-se que o isolado 10 e o MIX, diferenciaram da testemunha em relação ao peso seco de plantas, altura de plantas e incidência de doença, exceto para o MIX na característica peso seco. No campo observou-se que o isolado 10 propiciou um maior rendimento de grãos, diferenciando da testemunha, entretanto, não foi verificada redução na incidência da doença. Assim sendo, sugere-se que a utilização de *Trichoderma* sp. em possibilita um maior estande de plantas e um aumento do rendimento de grãos, em lavouras de arroz com ocorrência de queima das bainhas e enrolamento, respectivamente. Além disso, apresenta potencial para o controle do complexo enrolamento do arroz *Polymyxa graminis*-RSNV.

<sup>1</sup> Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (81p.) Fevereiro, 2005.

# **TRICHODERMA SP. IN DISEASES CONTROL AND GROWTH PROMOTION OF RICE PLANTS <sup>1</sup>**

Author: Marcus André Kurtz Almança  
Adviser: Aida Terezinha Santos Matsumura  
Co-Adviser: João Leodato Nunes Maciel

## **ABSTRACT**

Some diseases have acquired more importance to the cultivation of rice, and the sheath blight and crinkling is an example. Consequently, control measures have been searched to avoid yield losses due to this factor. Biological control, such as the use of bioformulates based on *Trichoderma* sp., is an alternative that have been increasingly adopted in the Brazilian agriculture. Furthermore, this antagonist has showed the ability to promote plant growth. Therefore, the aim of this study was to evaluate the activity of *Trichoderma* sp. based bioformulates on *Rhizoctonia solani* and the rice crinkling complex, and on rice plants growth, under different doses and application forms. The results showed that *Trichoderma* sp. isolates have inhibited *in vitro* growth of *R. solani*. On field trials, isolates 8 and 11 provided a higher plant stand, differing from the testimony treatment. In the case of crinkling, under greenhouse conditions, it was observed that isolate 10 and the MIX differentiated from the testimony on variables plant dry weight, plant high, and disease incidence, excepted for dry weight for the MIX treatment. In the field, it was observed that isolate 10 provided higher yield, differing from the testimony, but it was not observed reduction on disease incidence. Thus, it is suggested that the use of *Trichoderma* sp. can provide higher plant stand and yield in rice cultivations presenting, respectively, sheath blight and crinkling. Besides, it presents potential for the control of the complex rice crinkling-*Polymyxa graminis*-RSNV.

<sup>1</sup> Master of Science Dissertation in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (81p.) February, 2005.

## SUMÁRIO

	Página
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	
2.1. A cultura do arroz – <i>Oryza sativa</i> L.....	4
2.2. As rizoctonioses do arroz.....	6
2.2.1. A queima das bainhas.....	6
2.2.2. A mancha das bainhas.....	11
2.3. O enrolamento do arroz.....	13
2.3.1. O agente causal ( <i>Rice stripe necrosis virus</i> ).....	15
2.3.2. O vetor ( <i>Polymyxa graminis</i> ).....	15
2.4. O fungo <i>Trichoderma</i> sp.....	18
<b>CAPITULO II</b>	
<b>3. USO DE <i>Trichoderma</i> sp. NO CONTROLE DE <i>Rhizoctonia solani</i> E NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS DE ARROZ</b>	
3.1. Introdução.....	28
3.2. Material e Métodos.....	31
3.2.1. Obtenção de isolados de <i>Trichoderma</i> sp.....	31
3.2.2. Obtenção de isolados de <i>Rhizoctonia solani</i> .....	32
3.2.3. Seleção <i>in vitro</i> de isolados de <i>Trichoderma</i> sp.....	33
3.2.4. Produção massal de <i>Trichoderma</i> sp. em arroz.....	34
3.2.5. Experimento em nível de campo.....	34
3.3. Resultados e Discussão.....	39
3.3.1. Avaliação <i>in vitro</i> de isolados de <i>Trichoderma</i> sp.....	39
3.3.2. Experimento em nível de campo.....	41
3.4. Conclusões.....	51

### CAPITULO III

<b>4. POTENCIAL DO USO DE <i>Trichoderma</i> sp. NO CONTROLE DE <i>Polymyxa graminis</i>, VETOR DE <i>Rice stripe necrosis virus</i> (RSNV) E NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS DE ARROZ</b>	
4.1. Introdução.....	52
4.2. Material e Métodos.....	55
4.2.1. Obtenção de isolados de <i>Trichoderma</i> sp.....	55
4.2.2. Produção massal de <i>Trichoderma</i> sp. em arroz.....	56
4.2.3. Experimento em casa de vegetação.....	56
4.2.4. Experimento em nível de campo.....	58
4.3. Resultados e Discussão.....	62
4.3.1. Experimento em casa de vegetação.....	62
4.3.2. Experimento em nível de campo.....	65
4.4. Conclusões.....	71
<b>5. CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>72</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>73</b>
<b>7. APÊNDICES.....</b>	<b>80</b>

## RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1. Víruses de cereais transmitidas por <i>Polymyxa graminis</i> .....	19
2. Descrição dos tratamentos para o experimento em nível campo, com a cultivar de arroz IRGA 417. Dona Francisca, RS, UFRSG/IRGA. 2003.....	35
3. Épocas de avaliação e/ou coleta de plantas de arroz do experimento em nível de campo. Dona Francisca, RS, UFRSG/IRGA. 2003.....	37
4. Redução do diâmetro da colônia de <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>in vitro</i> , por isolados de <i>Trichoderma</i> sp. Porto Alegre, RS, UFRSG/IRGA. 2003.....	40
5. Graus de liberdade (GL) e quadrado médio em relação à altura de plantas (AP), ao estande de plantas (EP), ao peso seco (PS10), a primeira (AVAL1) e a segunda avaliação de incidência de queima das bainhas (AVAL2), e ao rendimento de grãos de arroz (REND) para as causas de variação, médias, coeficiente de variação (CV%), diferença mínima significativa a 5% pelo teste de Tukey (DMS Tukey 5%) e pelo teste de Dunnett (DMS Dunnett 5%) da cultivar IRGA 417 avaliada com aplicação de 12 tratamentos (três isolados de <i>Trichoderma</i> sp., duas formas de aplicação e duas doses) e testemunha. Dona Francisca, RS, UFRGS/IRGA. 2004.....	43
6. Médias de altura de plantas de arroz para as diferentes formas de aplicação dos isolados de <i>Trichoderma</i> sp. Dona Francisca, RS, UFRGS/IRGA. 2004.....	44
7. Médias de peso seco na comparação dos diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> sp. para cada forma de aplicação. Dona Francisca, RS, UFRGS/IRGA. 2004.....	43
8. Médias <sup>(1)</sup> da altura de planta (AP), estande de plantas (EP), peso seco (PS10), primeira (AVAL1) e segunda avaliação de incidência de <i>Rhizoctonia solani</i> (AVAL2), e rendimento de grãos (REND) da cultivar de arroz IRGA 417 avaliada com aplicação de 12 tratamentos (três isolados de <i>Trichoderma</i> sp., duas formas de aplicação e duas doses) e testemunha. Dona Francisca, RS, UFRGS/IRGA. 2004.....	49

9. Coeficientes de correlação de Pearson entre as características altura de planta (AP), estande de plantas (EP), peso seco (PS10), primeira (AVAL1) e segunda avaliação de incidência de <i>Rhizoctonia solani</i> (AVAL2), e rendimento de grãos (REND) da cultivar de arroz IRGA 417 avaliada com aplicação de 12 tratamentos (três isolados de <i>Trichoderma</i> sp., duas formas de aplicação e duas doses) e testemunha. Dona Francisca, RS, UFRGS/IRGA. 2004.....	50
10. Descrição dos tratamentos para o experimento em casa de vegetação, com a cultivar de arroz IRGA 417. Porto Alegre, RS, UFRGS/IRGA. 2004.....	57
11. Descrição dos tratamentos para o experimento em nível de campo, com a cultivar de arroz IRGA 417. Agudo, RS, UFRGS/IRGA, 2003.....	59
12. Épocas de avaliação e/ou coleta de plantas no experimento de campo, da cultivar de arroz IRGA 417. Agudo, RS, UFRGS/IRGA. 2003.....	61
13. Altura, peso seco e número de plantas de arroz, da cultivar IRGA 417, com virose no experimento em casa de vegetação. Porto Alegre, RS, UFRGS/IRGA. 2004.....	63
14. Graus de liberdade (GL) e quadrado médio em relação à altura de plantas (AP), ao estande de plantas (EP), ao peso seco (PS10), à incidência de enrolamento (INCE) e ao rendimento de grãos (REND) para as causas de variação, médias, coeficiente de variação (CV%), diferença mínima significativa a 5% pelo teste de Tukey (DMS Tukey 5%) e pelo teste de Dunnett (DMS Dunnett 5%) da cultivar de arroz IRGA 417 avaliada com aplicação de 12 tratamentos (três isolados de <i>Trichoderma</i> sp., duas formas de aplicação e duas doses) e testemunha. Agudo, RS, UFRGS/IRGA. 2004.....	66
15. Médias de altura, estande e incidência de enrolamento de plantas de arroz da cultivar IRGA 417, na combinação das diferentes formas de aplicação com os isolados de <i>Trichoderma</i> sp. Agudo, RS, UFRGS/IRGA. 2004.....	67
16. Médias <sup>(1)</sup> da altura (AP), estande (EP), peso seco (PS10), incidência de enrolamento (INCE) e rendimento de grãos (REND) da cultivar de arroz IRGA 417 avaliada com aplicação de 12 tratamentos (três isolados de <i>Trichoderma</i> sp., duas formas de aplicação e duas doses) e testemunha. Agudo, RS, UFRGS/IRGA. 2004.....	69
17. Coeficientes de correlação de Pearson entre as características altura (AP), estande (EP), peso seco (PS10), incidência de enrolamento (INCE) e rendimento de grãos (REND) da cultivar de arroz IRGA 417 avaliada com aplicação de 12 tratamentos (três isolados de <i>Trichoderma</i> sp., duas formas de aplicação e duas doses) e testemunha. Agudo, RS, UFRGS/IRGA. 2004.....	70

## RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1. Cultura axênica de <i>Trichoderma</i> sp., isolada de solo de lavoura de arroz irrigado, em meio de cultura BDA. Porto Alegre, RS, UFRGS/IRGA. 2003.....	32
2. Cultura axênica de <i>Rhizoctonia solani</i> , isolada de bainhas de arroz, em meio de cultura agar-água. Porto Alegre, RS, UFRGS/IRGA. 2003.....	33
3. Vista geral do experimento, área com histórico de queima das bainhas. Dona Francisca, RS, UFRGS/IRGA. 2004.....	36
4. Visualização das taipas separando individualmente as parcelas, na área de realização do experimento de campo. Dona Francisca, RS, UFRGS/IRGA. 2004.....	36
5. Antagonismo de <i>Trichoderma</i> sp., cultura de coloração verde, sobre <i>R. solani</i> , micélio claro no centro da placa. Porto Alegre, RS, UFRGS/IRGA. 2003.....	40
6. Vista geral do experimento em casa de vegetação. Porto Alegre, RS, UFRGS/IRGA. 2004.....	57
7. Vista geral da área do experimento, com histórico de enrolamento do arroz. Agudo, RS, UFRGS/IRGA. 2004.....	59
8. Vista das parcelas separadas individualmente por taipas, na área de realização do experimento de campo. Agudo, RS, UFRGS/IRGA. 2004....	60
9. Plantas de arroz cultivadas (A) em solo e plantas contaminados com <i>Polymyxa graminis</i> -RSNV, (B) em solo e plantas contaminados com <i>Polymyxa graminis</i> -RSNV e tratadas com o isolado 10 de <i>Trichoderma</i> sp. e (C) em solo não contaminado. Porto Alegre, RS, UFRGS/IRGA. 2004.....	63

## RELAÇÃO DE APÊNDICES

	Página
1. Análise química das amostras de solo das áreas com histórico de queima das bainhas e enrolamento do arroz. Dona Francisca e Agudo, RS, UFRGS/IRGA. 2003.....	81

## 1. INTRODUÇÃO

As doenças, de maneira geral, são atualmente uma das principais responsáveis por causar danos na maioria das espécies cultivadas comercialmente em todo o mundo, muitas vezes, acarretando perda total da lavoura. Dentre os patógenos, os fungos e os vírus são dois grupos de agentes causais de doenças de grande importância. Dentre os fungos, aqueles que sobrevivem no solo são de extrema importância, por apresentarem estruturas de resistência que dificultam o seu controle.

Na cultura do arroz, apesar de grande extensão de área e nível técnico com que a lavoura é conduzida, como a utilização de sementes qualificadas, diversos sistemas de plantio e/ou semeadura, insumos, assistência técnica, vários fatores tem contribuído para uma instabilidade dos níveis de produtividade. Estes podem ter origem biológica, física e de condução da cultura.

Até a safra de 2001/02, quando foi detectada pela primeira vez no Estado a ocorrência do enrolamento do arroz, causado por *Rice stripe necrosis virus* (RSNV), não havia problemas com viroses na cultura do arroz no Brasil. Apesar da ocorrência localizada na Depressão Central do RS, os danos causados são importantes.

Com o incremento de novas tecnologias de produção de arroz, como a utilização de maiores quantidades de fertilizantes nas lavouras, a busca de cultivares mais produtivas e a troca de cultivares de porte alto pelas de porte semi-anão, criaram-

se condições mais favoráveis à ocorrência de doenças, como por exemplo, queima das bainhas (*Rhizoctonia solani*), mancha das bainhas (*Rhizoctonia oryzae*) e a mancha agregada das bainhas (*Rhizoctonia oryzae-sativae*), entre outras.

O aumento da ocorrência dessas doenças, tratadas até então como secundárias e o enrolamento como uma nova doença, levou à busca e à pesquisa de alternativas de controle.

O controle de doenças, atualmente, está sendo direcionado para medidas que causem o menor impacto possível, tanto do ponto de vista do meio ambiente, quanto à saúde humana. Assim, o manejo integrado de doenças, e não a utilização de medidas isoladas, mostra-se como a forma melhor vista e, dentro desta proposta o controle biológico encaixa-se perfeitamente. O controle biológico visa uma convivência com os patógenos, mantendo estes em níveis abaixo do dano econômico, além da não a erradicação desses.

Dentre os antagonistas pesquisados e utilizados para o controle de patógenos presentes no solo, o fungo *Trichoderma* sp. tem sido um dos mais estudados, principalmente devido às suas características de antagonismo e por ser um fungo natural do solo. No entanto, para a introdução de antagonistas, é conveniente que esses agentes de biocontrole, além das características de antagonismos, sejam inócuos ao ser humano, não apresentem impacto negativo no ambiente, apresentem estruturas de reprodução de fácil propagação e quando formulados apresentem uma vida útil longa, com boa viabilidade. É importante salientar que *Trichoderma* sp. apresenta essas características. No entanto, formulações a partir desse microrganismo, bem como seu uso efetivo em nível de campo, ainda são pouco usadas. Além disso, resultados científicos sobre formas de aplicação e doses desse biocontrolador são escassos na literatura.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ação de bioformulados à base de *Trichoderma* sp. sobre *Rhizoctonia solani* e *Polymyxa graminis*, vetor de *Rice stripe necrosis virus*, e no crescimento de plantas de arroz, sob diferentes doses e formas de aplicação.

## CAPÍTULO I

### 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1. A cultura do arroz – *Oryza sativa* L.

O arroz (*Oryza sativa* L.) é uma gramínea anual originária da Ásia. Atualmente é cultivada em todos os continentes do mundo, com exceção da Antártida, desde 53°N até 40°S a partir da linha do Equador. Em regiões tropicais, a semeadura é realizada até 2.400 m acima do nível do mar. Devido às condições de irrigação, requeridas pela maioria das lavouras, estas tendem a concentrar-se em regiões de terras baixas ou várzeas, próximas a fontes hídricas, como por exemplo, rios e lagos (Grist, 1965; Chandler, 1984).

Em nível mundial, o arroz destaca-se como sendo de grande importância, pois é considerado um dos cereais mais consumidos pela população. Aproximadamente metade da população mundial tem o arroz como alimento básico, sendo mais relevante em países em desenvolvimento e nos países asiáticos. O consumo mundial de arroz foi em torno de 340 milhões de toneladas no ano de 2001, representando cerca de 56 kg *per capita*/ano. No Brasil, no mesmo ano, ficou em torno de 7,4 milhões de toneladas, com um consumo *per capita* de 43 kg/ano (Chandler, 1984; FAO, 2003).

Este consumo de arroz requer uma alta produção, tornando essa cultura uma das mais plantadas e produzidas do mundo. No ano de 2002, o volume mundial de produção foi de, aproximadamente, 500 milhões de toneladas. O Brasil participou com cerca de 2% da produção, o que representa de 10 a 11 milhões de toneladas, colhidos em 3 milhões de hectares. Na América do Sul, a produção brasileira representa cerca de 52% do total, tornando o país o maior produtor nessa região. No Brasil, a produção concentra-se nos estados da região sul, principalmente, Rio Grande do Sul (RS) e Santa Catarina (SC). O RS foi considerado o maior produtor de todos os estados, com uma produção de, aproximadamente, 5 milhões de toneladas de arroz em uma área colhida de 900.000 ha, no ano de 2002 (FAO, 2003; IBGE, 2003; IRGA, 2003b). O arroz é cultivado, no sul do Brasil (RS e SC), através de seis tipos básicos de sistemas, que se diferenciam quanto à forma de preparo do solo, de sementeira e manejo da água. Devido a essas diferenças, são denominados convencional, plantio direto, pré-germinado, mix (variação do sistema pré-germinado), transplante de mudas e cultivo mínimo. No RS, 42% da área são cultivados com sistema convencional, 38% com cultivo mínimo, 12% com pré-germinado e mix, e 8% com plantio direto. A época de sementeira mais adequada é de início de agosto até início de janeiro, variando conforme a região dos estados de SC e RS (IRGA, 2003a). As condições climáticas mais adequadas para o desenvolvimento da cultura são temperaturas variando de 24°C a 30°C e alta radiação solar, além da disponibilidade hídrica proporcionada pela irrigação (IRGA, 2003a).

A cultura pode ser dividida em três fases distintas: fase vegetativa, fase reprodutiva e fase de maturação. A fase vegetativa é compreendida desde a germinação até a diferenciação do primórdio floral e dura de 60 a 75 dias, sendo bastante variável. A fase reprodutiva é delimitada pela diferenciação do primórdio floral e pelo

florescimento/fertilização das flores, com tempo variável de 21 a 35 dias. A última fase, de maturação prolonga-se do florescimento à maturação fisiológica/completa e dura de 30 a 60 dias, dependendo das condições climáticas. Essa última pode ser dividida em grão leitoso, grão pastoso e grão em massa dura (IRGA, 2003a; Potafos, 2003).

## **2.2. As rizoctonioses do arroz**

O gênero *Rhizoctonia* corresponde a fase assexual dos fungos dos gêneros *Thanatephorus* sp. e *Waitea* sp., os quais pertencem ao filo Basidiomycota (Agris, 1997), e três espécies desse gênero são causadoras de doenças na cultura do arroz. São elas: *Rhizoctonia solani* Kühn, causadora da chamada queima das bainhas (Cedeño et al., 1997); *Rhizoctonia oryzae* Ryker & Gooch, agente causal da chamada mancha das bainhas (Ryker & Gooch, 1938); e *Rhizoctonia oryzae-sativae* Sawada, causadora da denominada mancha agregada das bainhas (Cedeño et al., 1997). Nesse trabalho serão abordadas somente as duas primeiras, pois a última, até o momento, só foi relatada em Taiwan, Japão, China, Vietnam, Tailândia, Venezuela, Uruguai, Austrália, Índia e E.U.A. (Ou, 1972; Gunnell & Webster, 1984; Cedeño et al. citado por Rodriguez et al., 2001; Avila et al., 2003; Lanoiselet et al., 2003).

### **2.2.1. A queima das bainhas**

A queima das bainhas foi descrita inicialmente em 1910, no Japão, estando agora disseminada por todas as regiões produtoras de arroz, no mundo, principalmente naquelas onde se trata de arroz irrigado (Bedendo, 1997), tanto em climas temperados como tropicais (Webster & Gunnell, 1992).

Nas Américas essa doença foi relatada, pela primeira vez, em Lousiana (E.U.A.), em 1933, com sintomas idênticos aos ocorridos nos países orientais (Ryker & Gooch, 1938).

Em âmbito mundial, a queima das bainhas está entre as doenças mais importantes da cultura do arroz, na qual a mais importante é a brusone. Em condições favoráveis, como por exemplo, uso de cultivares mais suscetíveis e locais onde o patógeno está bem distribuído, os danos podem variar de 5% a 50% (Webster & Gunnell, 1992; Rodriguez et al., 1999). A sucessão com soja, favorece o desenvolvimento desta doença (Ribeiro & Sperandio, 1998).

Os sintomas, em forma de manchas nas plantas, geralmente aparecem nos estádios de perfilhamento e florescimento, período de maior suscetibilidade da cultura, (Misra et al., 1994; Ribeiro & Sperandio, 1998) até a maturação dos grãos (Fedearroz, 2000), dificilmente ocorrendo em plantas jovens. Inicialmente, os sintomas são observados em colmos e bainhas, próximo ao nível da lâmina de água. Sob condições mais favoráveis, como baixa luminosidade, temperaturas em torno de 30°C e alta umidade relativa do ar (perto de 95%), há uma rápida expansão do fungo em direção às partes superiores da planta, podendo afetar as lâminas foliares, o caule e as panículas, além de plantas vizinhas (Webster & Gunnell, 1992; Rodriguez et al., 1999). As manchas nas bainhas são ovaladas, elípticas ou arredondadas, apresentando coloração marrom-acinzentada, por vezes verde-acinzentada, com bordos marrons, de extremidade bem definida. Posteriormente, as manchas apresentam uma coloração verde pálida, acinzentada ou branca no centro, com pouca definição da borda. O tamanho, inicialmente, é de aproximadamente 1 cm de comprimento, com posterior aumento das

lesões, alcançando 2 a 3 cm de comprimento e 1cm de largura (Webster & Gunnell, 1992; Bedendo, 1997).

Os sintomas nas folhas são semelhantes, porém com pouca definição dos bordos das manchas. A doença pode causar seca parcial ou total das folhas, além de provocar acamamento das plantas (Bedendo, 1997). Quando o ataque da doença é mais severo, atingindo a folha bandeira, pode haver pouco enchimento dos grãos, principalmente os da fração inferior da panícula (Webster & Gunnell, 1992; Misra et al., 1994), fazendo com que haja uma diminuição do peso dos grãos e um aumento da quantidade de grãos estéreis (Fedearroz, 2000).

Em torno de 6 dias após o aparecimento dos primeiros sintomas ocorre a formação de escleródios na superfície ou próximo ao tecido infectado e estes são facilmente destacados do tecido após sua maturação (Webster & Gunnell, 1992).

O agente causal da doença queima das bainhas no arroz, é o fungo *Rhizoctonia solani* Kühn, um habitante do solo de grande importância fitopatogênica (Cubeta & Vilgalis, 1997). A fase sexual, ou teleomórfica, é *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk (Sneh et al., 1991). Na espécie *R. solani* há formação de grupos de anastomose, que é o agrupamento de isolados capazes de realizar a troca de núcleos entre si (Camargo, 1995). Os isolados que infectam a cultura do arroz pertencem ao grupo AG-1 e, dentro desse grupo, classificados como grupo intraespecífico IA (Webster & Gunnell, 1992).

O micélio jovem é claro, tornando-se marrom com o desenvolvimento do fungo, apresentando ramificações que formam um ângulo em torno de 45° ou de 90° com as hifas do micélio principal. No ponto de ramificação, há uma constrição da hifa, além da formação de um septo próximo desta. Com o envelhecimento, o micélio

apresenta coloração marrom-amarelado embora, geralmente, o micélio que fica dentro do tecido hospedeiro permaneça claro. As hifas geralmente apresentam um diâmetro de 8 a 12  $\mu\text{m}$ , com células multinucleadas e presença de poros nos septos (Adams, 1988; Sneh et al., 1991; Webster & Gunnell, 1992).

No micélio de *R. solani* há produção de três tipos de hifas especializadas: hifas de desenvolvimento rápido, hifas lobuladas e células monilióides. As hifas de crescimento rápido são aquelas que crescem na superfície e no interior do hospedeiro. Quando o fungo vai penetrar na planta, estas hifas aumentam de tamanho, tornando-se hifas lobuladas, ou apressórios, também podendo ser formada uma massa destas hifas, formando-se as chamadas “almofadas”. Outro tipo são as células monilióides, simples e ramificadas, que formam uma cadeia, com relação comprimento/largura de 1:1 a 3:1, podendo ser de coloração hialina ou marrom e de diferentes formas. Existe uma constrição onde está localizado o septo, entre as células monilióides. Esta cadeia de células é formada em vários padrões, principalmente na superfície do hospedeiro, mas também dentro do tecido. Estas células podem ser poucas, formando massas de micélio semi-compactas ou formando escleródios. Os escleródios são geralmente compostos por massas compactas de células monilióides e estão na superfície do hospedeiro, podendo também ser formados dentro do tecido. A forma destes geralmente é globosa, podendo ser de forma irregular, com coloração branca no início do desenvolvimento, tornando-se de coloração marrom-escura no final. O tamanho dos escleródios é, geralmente, superior a 6  $\mu\text{m}$  (Sneh et al., 1991; Webster & Gunnell, 1992).

O ciclo de vida do fungo pode ser dividida em: infecção/penetração, colonização, reprodução e sobrevivência. A infecção tem início no momento em que escleródios ou micélio, carregados pela água de irrigação, encontram-se com a planta,

na linha da água, e germinam. A penetração ocorre através de estômatos, pela cutícula ou diretamente pela raiz, pela formação de almofadas de infecção ou apressórios para penetração no tecido. Na fase de colonização há um desenvolvimento rápido do patógeno tanto no interior como na superfície do tecido da planta, onde nas manchas típicas formadas, podem ser observados micélio e escleródios (Bedendo, 1995; Bedendo, 1997; Fedearroz, 2000), esses caracterizando a fase de reprodução. A sobrevivência do fungo dá-se basicamente pelo micélio, em plantas doentes e restos de culturas, e por escleródios no solo (Bedendo, 1997), já que não há formação de esporos assexuais (Adams, 1988). Os restos culturais contribuem para o aumento do inóculo e a permanência do patógeno (Sneh et al., 1991).

A disseminação pode ocorrer pela água, de irrigação ou da chuva, práticas culturais, como aração e gradagem, e pelo transporte e utilização de sementes contaminadas (Bedendo, 1995).

Rodriguez et al. (1999) citam que esse fungo possui alta capacidade de sobrevivência e adaptação a diversos ambientes, dificultando o controle. Anderson (1982) comenta que *R. solani* AG1-IA é capaz de sobreviver em ambientes alagados. No entanto, Mew & Rosales citado por Ulacio et al. (1998), mencionam que enterrar os escleródios desses organismos, faz com que eles percam a viabilidade.

Temperaturas em torno de 28°C, variando de 25 a 35°C, ocorrência de alta umidade, em torno de 96 a 97%, o emprego de adubações e densidade de plantas incorretas, contribuem para a ocorrência da doença, ficando evidente a importância do microclima formado na cultura. Altos níveis de nitrogênio e fósforo favorecem um maior desenvolvimento vegetativo, propiciando uma maior severidade da doença,

enquanto o potássio tem levado a uma redução da severidade (Misra et al., 1994; Bedendo, 1997; Ribeiro & Sperandio, 1998).

### **2.2.2. A mancha das bainhas**

Essa doença foi identificada e descrita pela primeira vez, por Ryker & Gooch (1938), nos Estados Unidos. Também é encontrada no Japão, Taiwan, Vietnã, Camboja, Filipinas, Brasil e África. Apresenta uma importância menor quando comparada com a queima das bainhas (Webster & Gunnell, 1992). No Brasil, em especial no Rio Grande do Sul, essa doença tornou-se mais importante com a introdução das cultivares americanas, sendo que atualmente as cultivares utilizadas são todas suscetíveis (Ribeiro & Sperandio, 1998).

Os sintomas, semelhantes aos da queima das bainhas, em forma de lesões ou manchas, aparecem na parte mediana das bainhas, geralmente na altura da água de irrigação (Ryker & Gooch, 1938). As manchas podem ainda aparecer nas folhas, porém não no caule. Em algumas situações quando os sintomas são mais severos, o fungo pode atingir a parte superior da planta, as panículas, causando sua queda. As lesões são ovais, com dimensões em torno de 0,5-2,0 cm de comprimento, podendo alcançar 10 cm ou mais, por 0,5-1,0 cm de largura. A coloração é verde-amarronzada, acinzentada, creme ou branca no centro, margeada por uma faixa de coloração escura ou marrom-avermelhada. Geralmente as lesões não se unem (Ryker & Gooch, 1938; Webster & Gunnell, 1992; Balardin, 2003). Assim como na queima das bainhas, essa doença ocorre com mais intensidade da fase de perfilhamento até a fase de floração, período de maior suscetibilidade das plantas de arroz (Ribeiro & Sperandio, 1998).

A doença é causada pelo fungo *Rhizoctonia oryzae* (Ryker & Gooch, 1938). A fase sexual, ou teleomórfica, é denominada *Waitea circinata* Warcup & Talbot

(Webster & Gunnell, 1992). Esse fungo também realiza anastomose, porém, ao contrário de *R. solani*, apresenta somente um grupo, denominado de WAG-Z (Oniki et al. citado por Paulitz et al., 2003).

O fungo é caracterizado por apresentar micélio hialino, branco ou salmão, multinucleado. O micélio principal tem 6 a 10 µm de largura, ramifica com ângulo agudo com pequena constrição no ponto de ramificação, com um septo próximo a constrição. A hifa principal também apresenta um septo próximo da ramificação. Pequenas células, muito ramificadas, surgem a partir da hifa principal. Essas, em poucos dias, desenvolvem hifas em forma de “barril”. Estas hifas se aproximam, realizam anastomose, e formam uma massa esclerodial, falsos escleródios ou escleródios. Geralmente esses escleródios não apresentam forma definida, são de diferentes tamanhos, com coloração salmão a laranja, e posicionados geralmente ao longo da hifa principal. No tecido da planta há formação de micélio superficial e interno. Em meio batata-dextrose-ágar (BDA), há uma considerável formação de micélio aéreo, com os escleródios sendo formados ao longo da hifa principal, dando um aspecto de “pata de vaca” (Ryker & Gooch, 1938; Sneh et al., 1991; Webster & Gunnell, 1992).

*R. oryzae* é mencionado como um patógeno de menor agressividade ao arroz, quando comparado ao fungo *R. solani* (Ou, 1972).

A espécie apresenta ciclo de vida bastante semelhante a *R. solani*. A partir da germinação dos escleródios, que flutuam na água de irrigação, pode haver a infecção e penetração na planta. Geralmente estas ocorrem da metade para a parte superior, mais precisamente nas bainhas próximas à base da folha, diferentemente de *R. solani*. A fase sexual também é capaz de causar lesões nos tecidos, porém é de pouca importância. A

sobrevivência do fungo é através dos escleródios que permanecem no solo ou em restos culturais. Muitas vezes, com o ataque intenso, o patógeno permanece nas sementes, sendo disseminado através dessas (Ribeiro & Sperandio, 1998).

Dentre os fatores climáticos que mais afetam o desenvolvimento da doença, a temperatura é o mais importante. Temperaturas entre 10 e 35°C são favoráveis ao aparecimento da doença, sendo o valor ótimo de 32°C (Ribeiro & Sperandio, 1998).

### **2.3. O enrolamento do arroz**

O enrolamento do arroz, causado pelo vírus *Rice Stripe Necrosis Virus* (RSNV), é também conhecido como “entorchamiento”, e foi primeiramente descrito na Costa do Marfim, África, na metade dos anos 70 (Louvel & Bidaux, 1977). Entretanto, o primeiro relato na América do Sul é do ano de 1969 (Restrepo citado por Morales et al., 1995), na Colômbia, quando foram verificadas plantas com sintomas semelhantes àqueles descritos por Louvel & Bidaux (1977). Segundo Morales et al. (1995) até o ano de 1991, quando foram verificados os mesmos sintomas, acrescido da ocorrência de plantas com listras necróticas e cloróticas nas folhas, o enrolamento do arroz não mostrou importância nas regiões orizícolas da Colômbia. Após o ano de 1991, o patógeno disseminou-se nas principais regiões produtoras de arroz na Colômbia. Segundo os mesmos autores, duas vias importantes de disseminação do vetor e, conseqüentemente do patógeno, são o transporte de solo e de água contaminados, aderidos em implementos agrícolas e sementes, para onde não há ocorrência da doença. No Brasil, a primeira ocorrência dessa doença foi verificada na safra 2001/02, na Depressão Central do Rio Grande do Sul, no município de Dona Francisca (Maciel et al., 2002).

Segundo Pardo & Muñoz (1994), as perdas causadas pelo enrolamento do arroz podem chegar até 20% da produção.

Os sintomas característicos do enrolamento do arroz é a presença de listras cloróticas nas folhas, retorcimento de folhas e de panículas (em forma de zig-zag), plantas com aspecto de roseta e plântulas mortas (Louvel & Bidaux, 1977; Morales et al., 1999).

Para o manejo desta virose, as estratégias buscadas têm sido a obtenção de cultivares resistentes, adequação das doses de adubação de base e de cobertura, uso de agentes de biocontrole e adequação da época de semeadura (Morales, 2001). Calvert & Sedano (2001) e Correa et al. (2002), testando diversos genótipos observaram a ocorrência de genes de resistência, com incidência da doença menor que 1%, na espécie silvestre *Oryza glaberrima*. Já, em cultivares comerciais os autores verificaram menores níveis de resistência, com incidência entre 16 e 30%.

Outro fator importante no manejo do enrolamento do arroz é a influência da temperatura na capacidade de penetração do vetor nas raízes do hospedeiro, o que em nível de campo pode ser alterado pelas diferentes épocas de semeadura. Legréve et al. (1998), usando isolados de *Polymyxa graminis*, *P. betae* e *Polymyxa* sp., verificaram que a habilidade dos vetores em causar infecção é influenciada pela faixa de temperatura a qual são submetidos. Assim, os isolados de *P. graminis* obtidos de área de clima temperado evidenciaram uma maior infecção na faixa de 15 a 22°C, entretanto, em isolados obtidos na Índia a maior infecção ocorreu entre 27 e 30°C.

O controle químico das viroses transmitidas por organismos que vivem no solo não é eficiente ou não é aceitável, por motivos de custo econômico e ecológico (Kaniuka et al., 2003).

### **2.3.1. O agente causal (*Rice stripe necrosis virus*)**

*Rice stripe necrosis virus* é classificado atualmente como um *Benyvirus* (Kaniuka et al., 2003) e é transmitido pelo protozoário *Polymyxa graminis*. Morales et al. (1995) observaram, quando feito o isolamento do vírus a partir de plantas com sintoma de enrolamento, um comportamento bimodal quanto ao comprimento da partícula viral, ocorrendo as medidas de 260 e 360 nm, porém a faixa de comprimentos variava de 140 a 400 nm. Essas medidas são semelhantes às descritas por Fauquet & Thounevel citado por Morales et al. (1999), onde ocorriam comprimentos de 270 e 380 nm. Morales et al. (1995) observaram ainda que as partículas do vírus apresentavam 20 nm de diâmetro aproximadamente.

### **2.3.2. O vetor (*Polymyxa graminis*)**

*Polymyxa graminis* Ledingham é um parasita obrigatório de raízes de plantas. Anteriormente, esse organismo era classificado como um fungo, entretanto análises de pequenas subunidades de seqüências de rDNA mostraram que esta classificação estava equivocada (Kaniuka et al., 2003). Atualmente é classificado no Reino Protozoa, no Filo Plasmodiophoromycota, na Ordem Plasmodiophorales e na Família Plasmodiophoraceae (Agrios, 1997; Kaniuka et al., 2003).

*P. graminis* tem mostrado capacidade de penetrar em uma diversidade de hospedeiros, entretanto, normalmente este vetor infecta espécies de gramíneas. Alguns isolados são capazes de infectar espécies monocotiledôneas e dicotiledôneas (Legréve et al., 1998; Rush, 2003). Alguns isolados obtidos da Índia, Paquistão e Senegal têm apresentado uma gama maior de hospedeiros, além de maior agressividade na penetração no hospedeiro (Legréve et al., 1998).

Legréve et al. citado por Kaniuka et al. (2003), analisando a seqüência de rDNA ITS obtiveram uma separação das espécies de *Polymyxa*, as quais foram distinguidas em cinco grupos, propondo-se então cinco *formae speciales*, que são *P. graminis* f. sp. *temperata*, *P. graminis* f. sp. *tépida*, *P. graminis* f. sp. *tropicalis*, *P. graminis* f. sp. *subtropicalis* e *P. graminis* f. sp. *colombiana*. Uma característica verificada nos isolados de *P. graminis*, é a grande diversidade na seqüência ITS, na especificidade de hospedeiro e na temperatura requerida (Rush, 2003).

Além do vírus RSNV, *P. graminis* é vetor de diversas outras viroses de importância econômica em cereais como trigo, aveia, cevada, sorgo, triticales e arroz (Tabela 1).

As seguintes características distinguem os plasmodioforomicetos: I - divisão nuclear do tipo cruciforme; II - zoósporos com dois flagelos, em forma de chicote, com tamanhos desiguais; III - plasmódio multinucleado (protoplasto); IV - parasitismo intracelular obrigatório; e V - esporos de resistência (cisto) (Rush, 2003; Kaniuka et al., 2003).

O ciclo de vida de *P. graminis* é característico dos plasmodioforomicetos, consistindo de duas fases: primária ou esporangial, que resulta na produção de zoóporos e secundária ou esporogênica, que resulta na produção de cistosoros. Cada fase é iniciada por zoósporos biflagelados, que se movimentam até a superfície das raízes e pelos radiculares, onde encistam e penetram nas células através de um apressório. O conteúdo do zoósporo (protoplasto) é injetado através do apressório, parede celular do hospedeiro e membrana plasmática nas células radiculares da planta. Na célula do hospedeiro, o protoplasto do zoósporo primário divide-se, através de mitoses (tipo cruciforme) e meioses, formando um plasmódio multinucleado com parede celular

distinta do hospedeiro. Posteriormente, este plasmódio forma um zoosporângio com diversos septos, que produz os chamados zoósporos secundários separados entre si. Os zoósporos maduros são liberados fora da raiz ou introduzidos em células adjacentes através de tubos especializados, iniciando uma nova fase esporangial ou uma esporogênica (Morales, 2001; Kaniuka et al., 2003; Rush, 2003). Em estádios iniciais de infecção no hospedeiro, as fases esporangial e esporogênica são semelhantes quanto ao seu aspecto anatômico, porém em estádios mais avançados a fase esporogênica freqüentemente ocupa todo espaço da célula do hospedeiro, além de ser separada do citoplasma por uma fina membrana (Littlefield citado por Kaniuka et al., 2003). Os cistosoros imaturos formam uma estrutura compacta de formato angular, tornando-se arredondados com parede celular com muitas camadas, quando maduros (Kaniuka et al., 2003).

Segundo Littlefield citado por Kaniuka et al. (2003), os fatores que determinam a ocorrência da fase esporangial ou da fase esporogênica são desconhecidos, havendo uma sobreposição das duas fases. Entretanto, segundo Morales (2001), a fase esporogênica ocorre em condições adversas. Os cistosoros podem sobreviver por vários anos sem a presença do hospedeiro e em condições ambientais favoráveis (Morales, 2001; Kaniuka et al., 2003).

Como e quando *P. graminis* adquire as partículas virais e como estas entram no citoplasma do hospedeiro, ainda é desconhecido. Entretanto, isto possivelmente ocorra quando os zoósporos penetram na célula do hospedeiro e injetam o seu protoplasma e/ou através da fina membrana que separa o plasmódio do citoplasma do hospedeiro no estádio esporogênico. Após um zoosporângio ter adquirido o vírus, este será transmitido através dos zoósporos e dos cistosoros produzidos pelo zoosporângio (Kaniuka et al.,

2003). As condições específicas para os cistosoros começarem a germinar não são ainda conhecidas. Entretanto, de modo geral, na presença do hospedeiro suscetível e o solo com umidade próxima da saturação os cistosoros germinam liberando os zoósporos primários (Rush, 2003).

De maneira geral, *P. graminis* sobrevive em solos com grande diversidade de pH, textura e estrutura. Adams & Ward citado por Rush (2003), mostram que a faixa de pH de 4,0 a 8,0 tem mínimo efeito na habilidade do vetor transmitir RSNV. Assim como a germinação dos cistosoros, a infecção das raízes pelo vetor também é favorecida por condições de alta umidade (Rush, 2003).

Para ocorrência de epidemia, em determinada região, de uma virose transmitida por *P. graminis* é importante considerar a suscetibilidade do hospedeiro, a eficiência do vetor em transmitir o vírus e capacidade do vetor em reproduzir-se no hospedeiro (Rush, 2003).

#### **2.4. O fungo *Trichoderma* sp.**

O fungo *Trichoderma* corresponde a fase anamórfica do gênero *Hypocrea* sp., que pertence ao filo Ascomycota (Agrios, 1997). Dos fungos com potencial de antagonismo, esse gênero é um dos mais pesquisados e estudados. Atualmente são conhecidas 11 espécies, *Trichoderma harzianum*, *T. hamatum*, *T. viride*, *T. aureoviride*, *T. konigii*, *T. pseudokonigii*, *T. longibrachiatum*, *T. polysporum*, *T. glaucum*, denominadas por Rifai e, *T. citrinoviride* e *T. atroviride*, denominadas por Bisset (Melo, 1991). Dentre essas espécies, *T. harzianum* tem sido a espécie mais estudada, entretanto as espécies *T. konigii*, *T. viride*, *T. hamatum* e *T. pseudokonigii* também têm sido estudadas (Melo, 1998).

Tabela 1. Viroses de cereais transmitidas por *Polymyxa graminis*.

Vírus	Gênero	Hospedeiros	Ocorrência
<i>Rice stripe necrosis virus</i>	<i>Benyvirus</i>	Arroz	África, América Central e do Sul
<i>Barley mild mosaic virus</i>	<i>Bymovirus</i>	Cevada	Europa, Japão, China e Coreia
<i>Barley yellow mosaic virus</i>	<i>Bymovirus</i>	Cevada	Europa, Japão, China e Coreia
<i>Oat mosaic virus</i>	<i>Bymovirus</i>	Aveia	Europa e E.U.A.
<i>Rice necrosis mosaic virus</i>	<i>Bymovirus</i>	Arroz	Japão e Índia
<i>Wheat spindle streak mosaic virus</i>	<i>Bymovirus</i>	Trigo, centeio e triticales	América do Norte e Europa
<i>Wheat yellow mosaic virus</i>	<i>Bymovirus</i>	Trigo	Japão e China
<i>Chinese wheat mosaic virus</i>	<i>Furovirus</i>	Trigo	China
<i>Oat golden stripe virus</i>	<i>Furovirus</i>	Aveia	Europa e E.U.A.
<i>Soil-borne cereal mosaic virus</i>	<i>Furovirus</i>	Trigo, centeio e triticales	Europa
<i>Soil-borne wheat mosaic virus</i>	<i>Furovirus</i>	Trigo, cevada, centeio e triticales	América do Norte
<i>Sorghum chlorotic spot virus</i>	<i>Furovirus</i>	Sorgo	E.U.A.
<i>Peanut clump virus</i>	<i>Pecluvirus</i>	Amendoim e sorgo	Índia e África

Fonte: modificado de Kaniuka et al., 2003.

As características morfológicas deste fungo são micélio, inicialmente, de coloração branca e de crescimento rápido. Com o desenvolvimento, torna-se cotonoso e compacto com tufos verde escuro. A coloração da colônia é devida, geralmente, à coloração e a quantidade de conídios. Os conídios são unicelulares, de forma subglobosa, ovóide, elipsóide ou elíptica-cilíndrica, com textura lisa ou rugosa e coloração hialina para verde-amarelado até verde-escuro, sendo a última mais comum. Sua posição é, em forma de esfera, no ápice das fiálides. As fiálides têm forma de cantil com o centro dilatado e ápice afilado, solitários ou em grupos, hialinos, formando um ângulo com os conidióforos. Os conidióforos são muito ramificados, solitários ou em tufos compactos, geralmente de formato cônico ou piramidal. Normalmente mostram-se eretos, formando um ângulo reto com a hifa vegetativa. As áreas conidiais apresentam-se em forma de faixas concêntricas de coloração verde (Melo, 1991).

As espécies de *Trichoderma* geralmente são encontradas como componentes da microflora em quase todos os tipos de solos, especialmente os orgânicos, incluindo a camada de húmus das florestas, solos agrícolas e pomares, ou podendo viver saprofiticamente ou parasitando outros fungos (Roiger et al., 1991).

Devido à essa característica de ser parasita de outros fungos, *Trichoderma* tornou-se bastante pesquisado, em trabalhos de laboratório, casa de vegetação e campo, mostrando-se bastante eficiente com biocontrolador de patógenos em diferentes situações. As características de antagonismo devem-se, principalmente, por ser um micoparasita de estruturas de resistência dos patógenos, como por exemplo, escleródios, microescleródios, esporos e clamidósporos, que em geral são difíceis de serem destruídos. Esse antagonista tem mostrado melhor resposta a patógenos habitantes do solo e menos especializados como, *Pythium*, *Rosellinia*, *Rhizoctonia* e *Sclerotium*, pois

como também é um habitante do solo suas características de antagonismo são melhor expressadas nesse ambiente. Entretanto, esse biocontrolador também está sendo pesquisado para controle de patógenos que atacam os vegetais após a colheita e patógenos do filoplano (Melo, 1991; Melo, 1996).

Estudos indicam que a forma de ação do fungo como agente de controle biológico está baseada na competição por nutrientes, produção de metabólitos antifúngicos, enzimas hidrolíticas da parede celular, quitinases, proteases e glucanases, bem como micoparasitismo (Papavizas, 1985; Melo, 1991).

As várias espécies de *Trichoderma* têm a capacidade de produção de uma grande quantidade de enzimas líticas, como por exemplo, celulases, hemicelulases, glucanases, tanto extra quanto intracelularmente, conferindo-lhes uma excelente capacidade de degradação de celulose e, conseqüentemente, a degradação de paredes celulares de fungos, tornando-o um potencial competidor. O nível de enzimas produzidas é variável conforme o isolado e espécie de *Trichoderma*. Em solos com grande presença de compostos à base de celulose há um favorecimento ao aumento da densidade populacional de *Trichoderma* (Melo, 1991; Melo, 1996; Melo, 1998).

Quanto a produção de metabólitos antibióticos por *Trichoderma*, trabalhos realizados testando esses antibióticos contra patógenos, mostraram que houve inibição do crescimento dos mesmos. Estes antibióticos podem ser voláteis e não voláteis (Melo, 1991).

No micoparasitismo, o hospedeiro, no caso o patógeno, pode ser mantido vivo, micoparásita biotrófico, ou ser morto, micoparásita necrotrófico. Esta interação pode ser dividida em 4 fases: localização, reconhecimento, contato e penetração. A localização provavelmente deve-se aos estímulos químicos liberados pelo patógeno, que

são detectados pelo antagonista. A partir disso, há um reconhecimento do patógeno pelo antagonista, seguido pelo contato através do enrolamento da hifa do antagonista em torno da hifa do patógeno. Posteriormente ocorre a penetração, pela formação de apressórios e pela ação de enzimas que degradam a parede celular (Melo, 1996).

Diversos trabalhos mostram a interação e o controle de patógenos habitantes de solo por *Trichoderma* sp. A ação de isolados de *Trichoderma* sp. foi verificada em áreas com plantio de rabanete, onde nos 3 primeiros anos de cultivo houve um aumento da doença causada por *Rhizoctonia solani*, com posterior declínio (Henis et al., 1978). Posteriormente Chet & Baker (1980) mostraram que o declínio deveu-se a um aumento da densidade de *T. harzianum*.

Em trabalho realizado por Hadar et al. (1979) foi verificado ataque direto de *T. harzianum* sobre micélio de *R. solani*, levando a um controle eficiente do tombamento de plântulas de feijão, tomate e berinjela. Melo & Faull (2000) estudando o antagonismo *in vitro* de isolados de *Trichoderma* sp. contra *R. solani*, observaram que todos os isolados inibiram o crescimento do patógeno em até 100%, quando esse foi tratado com conídios do antagonista. Nos testes com metabólitos antifúngicos, os isolados de *T. konigii* mostraram eficiência bastante superior aos isolados de *T. harzianum*, enquanto no teste de parasitismo de escleródios, *T. harzianum* inibiu a germinação em 72% e *T. konigii* em 42%. Testes realizados a campo, com plantas de arroz em solo alagado, por Rodriguez et al. (1999) com *T. harzianum*, mostraram redução de 20% na incidência de *R. solani*, quando comparado à testemunha. Lanoiselet et al. (2003) mostraram, em testes *in vitro*, que dois isolados de *T. harzianum* reduziram o crescimento de *R. oryzae* em mais de 99%.

Harman et al. (1980), buscando o controle de *R. solani* e *Pythium* sp. em plantas de ervilha e rabanete, utilizaram *T. hamatum* em tratamento de sementes, e obtiveram excelente controle, observando também um aumento de aproximadamente 100 vezes dos propágulos deste biocontrolador nos solos com sementes tratadas. Elad et al. (1980) utilizaram um preparado de *T. harzianum*, em sementes de trigo, para o controle de *R. solani* em algodoeiro, e obtiveram redução de 50% da doença.

Imolehin et al. (1980) comprovou a capacidade de *Trichoderma* sp. em colonizar escleródios de *Sclerotinia minor* em tecidos de plantas de alface. Rodriguez & Arcia (1993) verificaram o efeito de diferentes concentrações de conídios de *Trichoderma* sp. no crescimento micelial de *Sclerotium rolfsii*, mostrando que quanto maior a concentração de conídios maior a inibição do crescimento micelial, obtendo-se valores de até 73% de inibição.

Além de *Trichoderma* sp., Ribeiro et al. (1993) testaram *Gliocladium* sp., *Bacillus subtilis* e *Nigrospora* sp. para controle *R. solani*, na cultura do arroz irrigado. Em um dos experimentos foi verificada uma redução nos sintomas de queima das bainhas, pelos três biocontroladores. Em outro experimento realizado foi observada redução na severidade dessa doença, por *Gliocladium* sp. e *Bacillus subtilis*. Ribeiro & Menezes (1995), avaliando o efeito dos mesmos biocontroladores citados anteriormente, no controle de *R. solani* em arroz, verificaram diferenças significativas na produtividade, comparando os tratamentos com a testemunha.

Alguns fatores do ambiente podem afetar a ação antagonística de *Trichoderma* sp. sobre os patógenos, dentre eles a disponibilidade de água (umidade) e de nutrientes, o pH, a temperatura e textura do solo. A importância da umidade do solo na atividade antagônica do *Trichoderma* sp. é variável, conforme a espécie em questão.

De modo geral, em condições de solo bastante seco e extremamente úmido, esta atividade é reduzida, tendo como condições mais adequadas solos ligeiramente úmidos a úmidos (Liu & Baker, 1980; Melo, 1996). Eastburn & Butler (1991) observaram que a atividade saprofítica de *Trichoderma* sp. foi melhor com o aumento da umidade, com condições ótimas entre 18% a 24% de umidade, exceto em condições de solo saturado de água.

Os níveis de pH também influenciam o parasitismo de *Trichoderma* sp. Em geral este fungo é favorecido por valores mais baixos, ou seja, pH ácido (Chet & Baker, 1980; Papavizas, 1985). Chet & Baker (1981), verificaram incremento da supressividade à doenças do solo com pH de 5,1 quanto comparado com pH perto de 8,0, conseqüência de um favorecimento do desenvolvimento de *Trichoderma* sp., além de outros fungos.

A temperatura é outro fator que influencia bastante a atividade de *Trichoderma* sp., no entanto a diferenças entre as espécies. Há trabalhos que mostram a presença de *T. pseudokonigii*, de *T. harzianum* e de *T. viride* em ambientes com faixas de temperatura de 10 a 25°C (Johnson et al., 1987). Harman et al. (1980), verificaram que *Trichoderma* sp. foi eficiente contra *R. solani* entre as temperaturas de 17°C e 30°C.

A disponibilidade de nutrientes no solo pode, de maneira geral, afetar o estabelecimento e o antagonismo de *Trichoderma* sp. Hubbard et al. (1983), retificaram que *T. hamatum*, apresentou dificuldades em se desenvolver em solo com baixo teor de ferro, sendo devido à ação da bactéria *Pseudomonas* sp., que produz substâncias quelantes, indisponibilizando esse nutriente aos microrganismos. Isto evidencia o cuidado que se deve ter com os antagonistas de interesse.

A rizosfera ou zona próxima das raízes das plantas no solo é uma área com atividades biológicas bastante ativas, com efeitos diretos importantes sobre as plantas como, por exemplo, sobre a nutrição das mesmas (Salgado et al., 1999). Na rizosfera encontram-se diversos microrganismos que podem promover o crescimento vegetal, e proteger o sistema radicular da infecção por patógenos, estando incluído nesse grupo o fungo *Trichoderma* sp. Assim, o fungo *Trichoderma* sp., além de apresentar potencial como biocontrolador de patógenos, pode ter a capacidade de promover o crescimento vegetal e mostrar competência rizosférica, quando próximo das raízes das plantas.

A promoção de crescimento pode ser induzida por fungos e bactérias através da produção de hormônios vegetais e de vitaminas, da conversão de materiais a uma forma útil para a planta, da absorção e translocação de minerais e do controle de patógenos (Melo, 1996).

A aplicação de *Trichoderma* sp. tem levado a aumentos significativos na porcentagem e na precocidade de germinação, no peso seco e na altura de plantas (Melo, 1996).

Windham et al. (1986), em estudo com plantas de tomate e fumo, verificaram um aumento significativo do número de plantas emergidas, peso seco de raiz (213% e 275%, respectivamente) e peso seco da parte aérea (259% e 318%, respectivamente). Kleifeld & Chet (1992) verificaram um aumento na germinação de pimentão, além do incremento em área foliar. Chang et al. (1986), verificaram acréscimo significativo no número de flores, no peso seco e tamanho das plantas de crisântemo, tratadas com *T. harzianum*. Também observaram diferenças significativas no peso seco de pimentão, pepino e tomate tratados com *T. harzianum*, quando comparados à testemunha. Outro estudo verificou um acréscimo significativo da massa

verde nas plantas de tomate tratadas com *T. harzianum*, mas não em plantas de batata (Salgado et al., 1999). Matsumura et al. (2003), testando diferentes isolados de *Trichoderma* sp. em sementeiras de fumo, verificaram que todos se mostraram superiores à testemunha quanto à altura de planta. No entanto, somente para um dos isolados essa diferença foi significativa, caracterizando o efeito de promoção de crescimento.

A promoção de crescimento pode também ser devida à solubilização de nutrientes necessários às plantas. Altomare et al. (1999) mostraram que um isolado de *Trichoderma harzianum* teve habilidade para solubilizar nutrientes a partir de compostos como rochas de fosfato, óxido de manganês, óxido de ferro e zinco metálico. Alguns autores citam que essa solubilização seria devida à liberação de ácidos orgânicos e conseqüente acidificação do meio, porém Altomare et al. (1999) não verificaram um aumento da presença desses ácidos nos testes realizados.

Apesar dos vários trabalhos estudando a utilização de *Trichoderma* sp. no controle de doenças e na promoção de crescimento de plantas, pouco conhecimento tem-se sobre quantidades e formas de aplicação de bioformulados desse antagonista, para utilização em nível de campo. Na produção de mudas de fumo pelo sistema *floating*, na região sul do Brasil a utilização de *Trichoderma* sp. formulado em arroz, com doses de 100 g para 100 kg de substrato é uma prática de rotina. Este antagonista está sendo usado para o controle de *Pythium* sp., *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani*, agentes causais de tombamento de mudas. Na cultura da videira há utilização comercial *Trichoderma* sp. formulado em sorgo para o controle de podridão das raízes, na quantidade de 4 g de bioformulado por cova (Bettiol, 2003). Rodriguez et al. (1999), testando a utilização de *Trichoderma* sp. na cultura do arroz, utilizaram doses de 5 e 10

kg.ha<sup>-1</sup> aplicadas 70 dias após a emergência das plantas, obtendo redução na incidência de queima das bainhas.

Produtores de arroz, feijão, soja, milho e algodão de Barreiras (BA), estão utilizando *Trichoderma* sp. formulado em grãos de milho, com resultados satisfatórios para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*. As doses utilizadas por estes produtores varia de 20 a 30 kg.ha<sup>-1</sup>, aplicadas no tratamento de sementes e via água de irrigação do pivô central (Bettiol, 2003).

Conhecimentos obtidos em nível de campo através do contato com produtores do RS, possibilitam inferir que há utilização de bioformulados comerciais em lavouras, nas doses de 1 e 2 kg.ha<sup>-1</sup>, aplicados no tratamento de sementes e na mistura com adubo, como uma prática cultural . Entretanto, resultados que mostrem o quanto estão sendo eficientes esses bioformulados, nas quantidades utilizadas, ainda são desconhecidos.

## CAPÍTULO II

### 3. USO DE *Trichoderma* sp. NO CONTROLE DA QUEIMA DAS BAINHAS (*Rhizoctonia solani*) E NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO EM PLANTAS DE ARROZ (*Oryza sativa*)

#### 3.1. INTRODUÇÃO

O incremento de novas tecnologias de produção na cultura do arroz, como a utilização de maiores quantidades de fertilizantes nas lavouras, a busca de cultivares mais produtivas e a troca de cultivares de porte alto pelas de porte semi-anão, criou condições mais favoráveis à ocorrência de doenças, como por exemplo queima das bainhas, mancha das bainhas e a mancha agregada das bainhas, entre outras (Gunnell & Webster, 1984; Bedendo, 1997; Rodriguez et al., 2001).

A doença queima das bainhas, causada por *Rhizoctonia solani* Kühn (teleomorfo = *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk), foi descrita inicialmente em 1910, no Japão, estando agora disseminada por todas as regiões produtoras de arroz, no mundo, principalmente naquelas onde se cultiva arroz irrigado (Sneh et al., 1991; Webster & Gunnell, 1992; Bedendo, 1997). Em âmbito mundial, a queima das bainhas está entre as doenças mais importantes da cultura do arroz. Em condições favoráveis,

como por exemplo, uso de cultivares mais suscetíveis, emprego de adubações e densidade de semeadura inadequadas e locais onde o patógeno está bem distribuído, os danos podem variar de 5% a 50% (Webster & Gunnell, 1992; Bedendo, 1997; Rodriguez et al., 1999). Em situações em que o ataque da doença é mais severo, atingindo a folha bandeira, pode haver pouco enchimento dos grãos, principalmente os da fração inferior da panícula (Webster & Gunnell, 1992; Misra et al., 1994), fazendo com que haja uma diminuição do peso dos grãos e um aumento da quantidade de grãos estéreis (Fedearroz, 2000).

Conforme Rodriguez et al. (1999) esse fungo possui alta capacidade de sobrevivência e adaptação a diversos ambientes, o que dificulta o seu controle. Anderson (1982) comenta que *R. solani* é capaz de sobreviver em ambientes alagados. Em lavouras comerciais, onde utiliza-se a sucessão de culturas arroz-soja, verifica-se um aumento da ocorrência de queimas das bainhas (Ribeiro & Sperandio, 1998), devido a ocorrência de mela em soja, causada também por *R. solani* (Souza et al., 2004).

Medidas para o controle da doença estão sendo utilizadas, como a utilização adequada da adubação, principalmente nitrogenada, e da densidade de semeadura e a drenagem da área afetada na entressafra, quando possível. Resistência genética de cultivares contra esta doença ainda não existe em níveis satisfatórios (Dode & Ribeiro, 1995) e a utilização de fungicidas não tem apresentado eficiência no controle (Celmer & Balardin, 2003).

O controle biológico através do emprego do fungo *Trichoderma* sp. é uma opção quando se busca o controle integrado. De acordo com a literatura, diversas pesquisas mostram a ação antagonista de *Trichoderma* sp. sobre *R. solani* em diversas culturas (Hadar et al., 1979; Elad et al., 1982; Harman et al., 1980). Na cultura do arroz,

Rodriguez et al., 1999, buscando o controle de *R. solani*, obtiveram uma redução na incidência de queima das bainhas utilizando doses de 5 e 10 kg.ha<sup>-1</sup> de bioformulado à base de *Trichoderma* sp. aplicado 70 dias após a emergência das plantas. Entretanto, há pouco conhecimento sobre quantidades e formas de aplicação dos bioformulados de *Trichoderma* sp. em nível de campo.

Além de apresentar potencial como biocontrolador de fitopatógenos, o fungo *Trichoderma* sp. pode apresentar ainda a capacidade de promover o crescimento vegetal e mostrar competência rizosférica, quando próximo das raízes das plantas (Chang et al., 1986; Windham et al., 1986; Melo, 1996; Matsumura et al., 2003; Weiler, 2004).

Assim, o objetivo desse trabalho foi verificar o efeito da utilização de bioformulados à base de isolados de *Trichoderma* sp. no controle de *R. solani* e seu efeito no crescimento de plantas de arroz, utilizando diferentes doses e formas de aplicação.

## **3.2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.2.1. Obtenção de isolados de *Trichoderma* sp.**

Os isolados de *Trichoderma* sp. foram obtidos a partir de amostras de solos coletadas de lavouras, procurando-se abranger a maioria das regiões produtoras de arroz do Rio Grande do Sul, dos municípios de Torres, Santana do Livramento, Restinga Seca, Dom Pedrito, Rosário do Sul, Cachoeirinha, Guaíba, Mostardas, Camaquã, Cristal, Cachoeira do Sul, Jaguarão, Arroio Grande, Gravataí, Alegrete, São Borja, Turuçu, Santo Antonio da Patrulha, Porto Alegre, Viamão, São Sebastião do Caí, Tapes, Santa Vitória do Palmar, Mampituba, Santa Maria e São Sepé.

Da amostra de solo, devidamente identificada, foi retirada uma alíquota de 10 mL, diluído em 90 mL de água destilada e esterilizada. Após agitação e homogeneização foram realizadas diluições sucessivas, até obter-se a diluição  $10^{-3}$ . Desta solução, foi transferido 0,2 mL para placas de Petri contendo meio de cultura BDA e espalhado com o auxílio de alça de Drigalsky. As placas foram incubadas por quatro dias a  $\pm 25^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 12h. Foram selecionadas somente as colônias de *Trichoderma* sp. após identificação através de observação morfológica, coloração, análise microscópica e verificação por comparação com chaves de identificação taxonômica de fungos. Posteriormente, obtiveram-se culturas axênicas identificadas e denominadas de isolados.

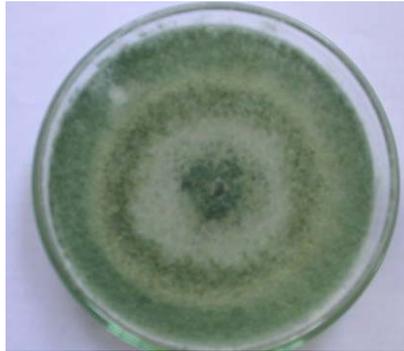


FIGURA 1. Cultura axênica de *Trichoderma* sp. isolada de solo de lavoura de arroz irrigado, em meio de cultura BDA. Porto Alegre, RS, UFRGS/IRGA. 2003.

### 3.2.2. Obtenção dos isolados de *Rhizoctonia solani*

Um isolado do patógeno foi obtido a partir de amostras de plantas, de lavoura no município de Dona Francisca, contendo sintomas característicos causados pelo fungo *Rhizoctonia solani*.

As amostras foram acondicionadas e identificadas, para posterior processamento. No laboratório, e em câmara de fluxo laminar, para isolamento do patógeno, foram retiradas partes das bainhas das folhas lesionadas, as quais foram desinfestadas com hipoclorito 1% por 1 min e com álcool 70% por 1 min. Em seguida, esse material foi lavado com água destilada e esterilizada. Após a assepsia, esse material foi plaqueado em meio de cultura agar-água (AA), para obtenção de cultura axênica.



FIGURA 2. Cultura axênica de *Rhizoctonia solani*, isolada de bainhas de arroz, em meio de cultura ágar-água (AA). Porto Alegre, RS, UFRGS/IRGA. 2003.

### 3.2.3. Seleção *in vitro* dos isolados de *Trichoderma* sp.

Para seleção de todos os isolados obtidos das amostras de solo foram utilizados o teste de confrontação direta e o crescimento em grãos de arroz sem casca.

Este teste foi realizado em placas de Petri, de 9 cm de diâmetro, com meio BDA, em três repetições, que foram marcadas no lado externo com duas linhas transversais que se cruzavam no centro da placa. A partir das culturas axênicas de cada isolado de *Trichoderma* sp. e de *R. solani*, foi feita a repicagem de um disco, de 9 mm de diâmetro, com micélio de *Rhizoctonia* sp. no centro da placa, e 4 discos, de 7 mm de diâmetro, contendo micélio e esporos de *Trichoderma* sp., dois em cada linha, distando 1 cm da borda da placa. A repicagem das culturas de *Trichoderma* sp. foi realizada 48h antes da cultura de *R. solani*. As culturas foram incubadas em câmara BOD, a uma temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12h. Como testemunha foram cultivadas placas contendo somente o antagonista e somente o patógeno.

As avaliações foram realizadas a cada 24 h, através da medição das duas linhas transversais, sendo estes valores transformados em médias. As medidas foram realizadas até 144 h, quando a colônia de *Rhizoctonia solani* cobriu toda a placa, testemunha. No entanto, para a análise dos resultados foram utilizadas as médias dos

diâmetros obtidos em 48 h, em virtude de nesse momento já ter havido o contato do micélio de todos os isolados do antagonista com o do patógeno.

A análise dos resultados foi realizada através de análise de variância, com utilização do teste de Tukey, ao nível de 5%, para comparação de médias.

Desse teste, foram selecionados três isolados de *Trichoderma* sp., que se destacaram como eficientes na redução do crescimento da colônia do patógeno e apresentaram crescimento satisfatório em grãos de arroz sem casca, para produção de inóculo. Estes foram formulados para os ensaios em nível de campo.

#### **3.2.4. Produção massal de *Trichoderma* sp. em arroz**

Para produção de inóculo foram utilizados sacos plásticos transparentes de 2 L, contendo 250 g de grãos de arroz sem casca, previamente esterilizados em autoclave por 60 min a 120°C e 1 atm de pressão. Após, o substrato foi inoculado com uma suspensão de  $10^7$  esporos de *Trichoderma* sp. por 50 ml de água destilada e esterilizada e incubado em câmara de crescimento com temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Após 14 dias, o substrato colonizado foi retirado dos sacos plásticos e colocado em envelopes de papel para secagem, a uma temperatura de 37°C por aproximadamente quatro dias. Em seguida, o inóculo foi triturado até ser obtido um pó fino e homogêneo. Para uniformização da granulometria o inóculo foi passado por peneiras de 80 mesh.

#### **3.2.5. Experimento em nível campo**

O ensaio experimental foi conduzido, de 15/10/2003 a 27/02/2004, em uma área de várzea de um produtor rural associado à Cooperativa Mista de Nova Palma (CAMNPAL), com histórico de ocorrência natural de *Rhizoctonia solani*, no município

de Dona Francisca, RS (Figura 3). O experimento foi conduzido em delineamento blocos ao acaso, com quatro repetições, onde os tratamentos foram organizados em fatorial 3x2x2, sendo utilizados três isolados de *Trichoderma* sp., duas formas de aplicação e duas doses do bioformulado, conforme descrito na Tabela 2.

TABELA 2. Descrição dos tratamentos para o experimento em nível de campo, com a cultivar de arroz IRGA 417. Dona Francisca, RS, UFRGS/IRGA. 2003.

Tratamento	Isolado	Formas de Aplicação	Doses
1	8	Semente	2 kg.ha <sup>-1</sup>
2	8	Semente	4 kg.ha <sup>-1</sup>
3	8	Adubo	2 kg.ha <sup>-1</sup>
4	8	Adubo	4 kg.ha <sup>-1</sup>
5	10	Semente	2 kg.ha <sup>-1</sup>
6	10	Semente	4 kg.ha <sup>-1</sup>
7	10	Adubo	2 kg.ha <sup>-1</sup>
8	10	Adubo	4 kg.ha <sup>-1</sup>
9	11	Semente	2 kg.ha <sup>-1</sup>
10	11	Semente	4 kg.ha <sup>-1</sup>
11	11	Adubo	2 kg.ha <sup>-1</sup>
12	11	Adubo	4 kg.ha <sup>-1</sup>
13 (Testemunha)	-	-	-

Para a forma de aplicação via semente, estas foram umedecidas com água e posteriormente misturadas com bioformulado, cobrindo a superfície das mesmas. Na aplicação via adubo o bioformulado foi misturado no adubo a seco. Em ambas as formas as misturas foram realizadas no momento da semeadura.

A semeadura foi realizada pelo sistema de cultivo convencional de arroz irrigado por inundação utilizando-se a cultivar IRGA 417, em parcelas com dimensões de 3 m x 4 m, com densidade de 122 kg de semente.ha<sup>-1</sup> e espaçamento de 0,20 m. Cada

parcela experimental foi isolada com taipas (Figura 4), a fim de evitar que a entrada de água de irrigação descaracterizasse os tratamentos. A data de semeadura foi dia 15/10/2003, com a emergência ocorrendo no dia 23/10/2003. A entrada de água foi realizada 25 dias após a emergência.



FIGURA 3. Vista geral do experimento, área com histórico de queima das bainhas. Dona Francisca, RS, UFRGS/IRGA. 2003.



FIGURA 4. Visualização das taipas separando individualmente as parcelas, na área de realização do experimento de campo. Dona Francisca, RS, UFRGS/IRGA. 2003.

A adubação da área foi baseada na análise de solo (Amostra 1 do Apêndice 1) e no Manual de Procedimentos do Projeto 10, contido em IRGA (2003c). Na

semeadura, foi aplicado 200 Kg.ha<sup>-1</sup> de NPK (5-20-30) juntamente com 50 Kg.ha<sup>-1</sup> de Cloreto de Potássio (KCl), a lanço. A adubação de cobertura, 100 Kg.ha<sup>-1</sup> de nitrogênio na forma de uréia, foi dividida em duas aplicações, sendo que 2/3 foram aplicados três dias antes da inundação e o 1/3 restante no estágio V8 da escala de Counce et al. (2000). Uma terceira aplicação de 30 Kg.ha<sup>-1</sup> de nitrogênio em cobertura, sob forma de uréia, foi realizada aos 75 dias após a emergência.

O controle de plantas daninhas baseou-se nas recomendações técnicas para a cultura do arroz, sendo utilizados os herbicidas Pyrazosulfuron (20g i.a.ha<sup>-1</sup>) e Quinclorac (375 g i.a.ha<sup>-1</sup>), aplicados dois dias antes da entrada da água.

As seguintes avaliações foram realizadas: I - estande de plantas (número de plantas emergidas.m<sup>-1</sup>), foi realizada a contagem de quatro repetições de 1 m por parcela; II - peso seco de plantas (g), foram pesadas duas repetições de 10 plantas por parcela; III - altura de plantas (cm), foram medidas 10 plantas por parcela; IV - incidência de queima das bainhas (número de perfilhos com sintomas.m<sup>-1</sup>), foram realizadas contagens em cinco repetições de 1 m por parcela; e V - rendimento de grãos (kg.ha<sup>-1</sup>), foi colhida uma área de 3 m<sup>2</sup> por parcela. As épocas de avaliação estão apresentadas na Tabela 3.

TABELA 3. Épocas de avaliação e/ou coleta de plantas de arroz do experimento em nível de campo. Dona Francisca, RS, UFRGS/IRGA. 2003.

Avaliação	Dias após emergência (dae)
Estande de plantas	10
Peso seco de plantas	30
Altura de plantas	30
Incidência de queima das bainhas	90 e 119
Rendimento de grãos	120

Os dados obtidos foram submetidos à análise da variância utilizando o teste F, em nível de 5% de probabilidade de erro, para testar as hipóteses dos efeitos principais e das interações. Para as variáveis com efeito principal ou interação significativos foi utilizado o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro, para comparação de médias. As médias dos tratamentos também foram comparados com a testemunha através do teste de Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade de erro. Ainda foi realizada a análise de correlação de Pearson pelo teste t, em nível de 5% de probabilidade de erro, entre as variáveis avaliadas.

### **3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.3.1. Avaliação *in vitro* dos isolados de *Trichoderma* sp.**

Os isolados de *Trichoderma* sp. utilizados nessa avaliação foram obtidos dos seguintes locais: Isolado 1 – Restinga Seca, Isolado 2 – São Sepé, Isolado 3 – São Sepé, Isolado 4 – São Sepé, Isolado 5 – Torres, Isolado 6 – Porto Alegre, Isolado 7 – Santana do Livramento, Isolado 8 – Santa Maria, Isolado 9 – Santa Maria, Isolado 10 – Santa Vitória do Palmar e Isolado 11 – Santa Cruz do Sul.

Os resultados da avaliação de confrontação direta mostram que todos os isolados reduziram o crescimento do micélio de *R. solani* e diferenciaram da testemunha (Tabela 4). Entretanto, verificou-se que o isolado 11 diferenciou-se estatisticamente de todos os outros isolados, exceto os isolados 8 e 5. Com estes resultados, verificou-se o efeito antagônico dos isolados de *Trichoderma* sp. (Figura 5), propiciando a utilização desses em testes posteriores, para seu emprego no controle do patógeno em nível de campo.

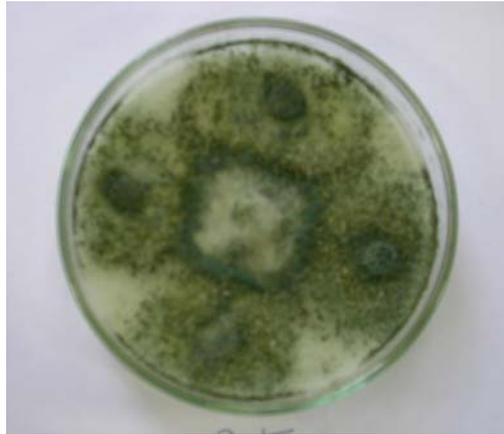


FIGURA 5. Antagonismo de *Trichoderma* sp., cultura de coloração verde, sobre *R. solani*, micélio claro no centro da placa. Porto Alegre, RS, UFRGS/IRGA. 2003.

TABELA 4. Redução do diâmetro da colônia de *Rhizoctonia solani*, *in vitro*, por isolados de *Trichoderma* sp. Porto Alegre, RS, UFRGS/IRGA. 2003.

Isolado de <i>Trichoderma</i> sp.	Diâmetro da colônia (cm) <sup>1</sup>	% de Redução
-	2,88 a <sup>2</sup>	-
7	2,50 b	13,19
9	2,47 b	14,24
4	2,42 b	15,97
1	2,38 b	17,36
6	2,35 b	18,40
10	2,33 b	19,10
3	2,32 b	19,44
2	2,30 b	20,14
5	2,27 bc	21,18
8	2,27 bc	21,18
11	1,97 c	31,60

<sup>1</sup> Valor referente a média de duas medidas transversais do diâmetro da colônia de *Rhizoctonia solani*.

<sup>2</sup> Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste Tukey, ao nível de 5%.

Em trabalho realizado com isolados de *R. solani* obtidos de plantas de arroz, para verificar a ação antagônica, *in vitro*, de isolados de *Trichoderma* sp., Cúndom et al. (2002) também observaram a inibição do crescimento do micélio do patógeno em

função da ação de metabólitos não-voláteis dos isolados de *Trichoderma* sp. Melo & Faull (2000) testaram o efeito, *in vitro*, de isolados de *T. harzianum* e *T. konigii* sobre isolados de *R. solani* de plantas de tomate e verificaram que os isolados dos antagonistas foram capazes de parasitar e destruir o micélio do patógeno, proporcionando uma redução que variou de 79 a 82%. Além disso, houve a redução da viabilidade dos escleródios de *R. solani*, com os valores de 18,2 a 47,0 %. Os valores de redução de crescimento micelial obtidos mostraram-se superiores aos obtidos no presente trabalho.

### 3.3.2. Experimento em nível de campo

Através dos resultados da análise de variância observou-se a ocorrência de interação significativa entre isolado x forma de aplicação para a característica peso seco, o que revela que os isolados de *Trichoderma* sp. comportaram-se de maneira diferenciada em função das formas de aplicação. Já, para a variável altura de plantas somente o efeito principal, forma de aplicação, foi significativo, indicando comportamento semelhante dos isolados utilizados, quando aplicados via semente ou via adubo (Tabela 5).

Ao comparar-se a média de cada tratamento com a testemunha houve efeito significativo para o variável estande de plantas (Tabela 5), ou seja, houve diferenciação de pelo menos um tratamento da testemunha, o que pode ser corroborado na Tabela 8. Ainda, para a mesma variável, verificou-se que a média dos tratamentos foi superior a da testemunha sugerindo que, possivelmente, haja um efeito positivo dos isolados de *Trichoderma* sp., proporcionando um aumento do número de plantas.m<sup>-2</sup>.

Quanto à variável rendimento de grãos, a média da testemunha foi superior a dos tratamentos. A ocorrência deste fato foi de certa forma inesperada e uma possível explicação para este cenário, seja que os níveis de incidência e severidade da doença ocorridos na área experimental não foram suficientes para causar perdas de rendimento (Tabela 5).

Nas Tabelas 6 e 7 estão os resultados do teste de médias para as interações ocorridas na análise da variância (Tabela 5). Na Tabela 6 observa-se que a forma de aplicação, dos isolados de *Trichoderma* sp. via adubo proporcionou uma maior altura de plantas quando comparada com a aplicação por tratamento de sementes. Esse fato, talvez seja devido à incorporação do bioformulado em toda área, pois foi aplicado junto com o adubo a lanço, e isso possa ter favorecido o contato do antagonista com as raízes. Entretanto, esperava-se que a aplicação via semente proporcionasse uma maior altura, pois o antagonista está aderido à semente, o que favoreceria mais seu contato com as raízes. Weiler (2004), aplicando bioformulados de *Trichoderma* sp. misturado ao substrato, observou que esses proporcionaram uma maior altura de plantas de fumo crescidas neste substrato, quando comparados com a testemunha.

Na Tabela 7, observa-se que para a variável peso seco o isolado 10 diferenciou-se do isolado 11, quando aplicado via semente. Possivelmente, isso tenha ocorrido pelo fato da melhor interação, na espermosfera, do isolado 10 com as sementes de arroz, pois como considera Luz (1998) a espécie de planta e exsudatos liberados pela semente são fatores importantes nessa interação.

TABELA 5. Graus de liberdade (GL) e quadrado médio em relação à altura de plantas (AP), ao estande de plantas (EP), ao peso seco (PS10), a primeira (AVAL1) e a segunda avaliação de incidência de *Rhizoctonia solani* (AVAL2), e ao rendimento de grãos de arroz (REND) para as causas de variação, médias, coeficiente de variação (CV%), diferença mínima significativa a 5% pelo teste de Tukey (DMS Tukey 5%) e pelo teste de Dunnett (DMS Dunnett 5%) da cultivar IRGA 417 avaliada com aplicação de 12 tratamentos (três isolados de *Trichoderma* sp., duas formas de aplicação e duas doses) e testemunha. Dona Francisca, RS, UFRGS/IRGA, 2004.

Causas de variação	GL	Quadrado médio <sup>(1)</sup>					
		AP (cm)	EP (plantas.m <sup>-2</sup> )	PS10 (g.de 10 plantas <sup>-1</sup> )	AVAL1 (perfilhos.m <sup>-1</sup> )	AVAL2 (perfilhos.m <sup>-1</sup> )	REND (kg.ha <sup>-1</sup> )
Bloco	3	38,71 *	13930,48 *	1,236 *	162,99 <sup>ns</sup>	227,65 <sup>ns</sup>	8797319 *
Trat + Test	12	17,06 <sup>ns</sup>	3495,25 <sup>ns</sup>	0,419 <sup>ns</sup>	96,10 <sup>ns</sup>	65,72 <sup>ns</sup>	501027 <sup>ns</sup>
Trat	11	18,58 <sup>ns</sup>	2621,33 <sup>ns</sup>	0,457 *	100,71 <sup>ns</sup>	71,49 <sup>ns</sup>	489460 <sup>ns</sup>
Isolado (I)	2	18,79 <sup>ns</sup>	1837,34 <sup>ns</sup>	0,744 *	192,77 <sup>ns</sup>	18,84 <sup>ns</sup>	584646 <sup>ns</sup>
Forma de aplicação (F)	1	99,76 *	3942,19 <sup>ns</sup>	0,013 <sup>ns</sup>	9,36 <sup>ns</sup>	370,13 <sup>ns</sup>	27552 <sup>ns</sup>
Dose (D)	1	3,51 <sup>ns</sup>	1547,01 <sup>ns</sup>	0,500 <sup>ns</sup>	12,81 <sup>ns</sup>	168,86 <sup>ns</sup>	2311774 <sup>ns</sup>
I*F	2	14,36 <sup>ns</sup>	1284,47 <sup>ns</sup>	0,872 *	54,50 <sup>ns</sup>	31,17 <sup>ns</sup>	213418 <sup>ns</sup>
I*D	2	17,18 <sup>ns</sup>	2850,81 <sup>ns</sup>	0,243 <sup>ns</sup>	80,24 <sup>ns</sup>	4,18 <sup>ns</sup>	2531 <sup>ns</sup>
F*D	1	0,43 <sup>ns</sup>	6,38 <sup>ns</sup>	0,559 <sup>ns</sup>	198,45 <sup>ns</sup>	8,31 <sup>ns</sup>	511707 <sup>ns</sup>
I*F*D	2	0,04 <sup>ns</sup>	5696,91 <sup>ns</sup>	0,119 <sup>ns</sup>	116,08 <sup>ns</sup>	65,34 <sup>ns</sup>	465915 <sup>ns</sup>
Trat vs Test	1	0,34 <sup>ns</sup>	13108,33 *	0,0001 <sup>ns</sup>	45,45 <sup>ns</sup>	2,32 <sup>ns</sup>	628269 <sup>ns</sup>
Erro	36	12,03	2295,39	0,217	75,65	126,28	701763
Média geral	-	39,25	383,44	2,46	14,64	22,19	7619
Média tratamentos	-	39,22	388,02	2,46	14,91	22,12	7587
Média testemunha	-	39,53	328,44	2,45	11,40	22,92	8000
CV(%)	-	8,84	12,49	18,94	59,42	50,65	11,00
DMS Tukey (5%)	-	8,69	120,09	1,17	21,80	28,17	2100
DMS Dunnett (5%)	-	7,16	98,92	0,96	17,96	23,20	1730

<sup>(1)</sup>\* = efeito significativo em nível de 5% de probabilidade pelo teste F; <sup>ns</sup> = efeito não significativo pelo teste F.

TABELA 6. Médias de altura de plantas de arroz para as diferentes formas de aplicação dos isolados de *Trichoderma* sp. Dona Francisca, RS, UFRGS/IRGA, 2004.

Forma de aplicação	Altura de plantas (cm)
Adubo	40,67 a*
Semente	37,78 b

\* Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste Tukey, ao nível de 5%.

TABELA 7. Médias de peso seco de plantas de arroz tratadas com diferentes isolados de *Trichoderma* sp. aplicados via adubo e via semente. Dona Francisca, RS, UFRGS/IRGA, 2004.

Isolados	Peso seco (g.10 plantas <sup>-1</sup> )
	Adubo
Isolado 11	2,48 <sup>ns</sup>
Isolado 10	2,44
Isolado 8	2,40
	Semente
Isolado 10	2,94 a
Isolado 8	2,43 ab
Isolado 11	2,05 b

\* Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste Tukey, ao nível de 5%.

<sup>ns</sup> = Médias que não diferiram pelo teste Tukey, ao nível de 5%.

Na Tabela 8 estão apresentados os resultados do teste Dunnett, para comparação das médias de cada tratamento com a testemunha e observa-se que para estande de plantas as médias de todos os tratamentos mostraram-se superiores à testemunha, porém apenas os tratamentos T2 e T9 foram estatisticamente superiores. Esse resultado reforça a perspectiva de que os isolados de *Trichoderma* sp. estão possibilitando um aumento do número de plantas.m<sup>-2</sup>. Entretanto, esse maior número de plantas.m<sup>-2</sup> pode se tornar prejudicial em situações onde a semeadura já foi realizada com densidade elevada, pois como cita Rodriguez et al. (1999), a densidade de plantas menor, no caso 100 kg de semente.ha<sup>-1</sup>, é um fator importante para a diminuição da

ocorrência de queima das bainhas, já que possibilita a formação de um microclima menos favorável ao patógeno. No presente trabalho a densidade de semeadura utilizada foi de 122 kg de semente.ha<sup>-1</sup>.

Na espermosfera, região de solo que circunda a semente em germinação, podem haver interações planta-microrganismo e microrganismo-microrganismo, e essas podem proporcionar efeitos benéficos, patogênicos e neutros. Os efeitos benéficos exercidos pelos microrganismos podem ocorrer diretamente através do estímulo ao crescimento da planta na ausência de patógenos, ou indiretamente quando o crescimento é estimulado por um ou mais mecanismos, através da proteção microbiológica. A maioria dos microrganismos que induzem bioproteção de plantas, se não todos, apresentam ambos mecanismos de ação (Luz, 1998). A ação benéfica do fungo *Trichoderma* sp. na germinação de plantas já foi observada por alguns autores. Oliveira et al. (2003) verificaram que um isolado de *T. viride* foi capaz de aumentar a germinação de sementes de *Pterocaulon polystachyum*, planta medicinal conhecida com quitoco, em mais de 50%, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, sem a presença de patógeno. Martins & Melo (1989) avaliaram a ação de *T. viride* e *T. konigii* sobre a germinação de sementes de berinjela. Os resultados mostraram que um isolado de *T. viride* proporcionou uma germinação de 99%, enquanto que na testemunha a germinação foi somente de 10%. Kleifeld & Chet (1992) observaram um aumento da germinação em até 35% para sementes feijão, rabanete, tomate, pimentão e pepino, pela ação de um isolado de *Trichoderma* sp. sob diferentes formulações. As razões para esse resultado, segundo os autores, são outras além da proteção contra patógenos, pois o aumento da germinação foi observado em substratos estéreis.

No caso dos três trabalhos citados no parágrafo anterior o patógeno não estava presente na interação com a planta e o antagonista. No entanto, no presente estudo, o patógeno estava presente, visto que a área apresentava histórico de ocorrência da doença e no período de estudo as plantas do experimento apresentavam sintomas.

Nos resultados de rendimento mostrados na Tabela 8, observa-se que apenas um tratamento apresentou média superior à testemunha, isto referenda a possibilidade exposta na análise da variância, onde a provável explicação para este resultado seria de que os níveis de doença, incidência e severidade, tenham sido baixos para causar perdas de rendimento de grãos, ou que os isolados de *Trichoderma* sp. não foram eficientes no controle do patógeno.

Para as variáveis altura de plantas, peso seco, primeira e segunda avaliação de incidência de doença e rendimento (Tabela 8) não houve diferença significativa de nenhum tratamento sobre a testemunha, isto é, não se observou ação dos isolados sobre as características que proporcionem maior rendimento e nem sobre o patógeno, propiciando menor incidência de doença. A não verificação da ação antagônica e de promoção de crescimento dos isolados de *Trichoderma* sp. nas condições onde foi instalado o experimento pode ser devido à fatores como as condições de irrigação por inundação, pH do solo, temperatura, condição nutricional, presença de outros microrganismos, podendo um ou mais desses proporcionar a inativação dos propágulos do antagonista, como cita Luz (1998). Harman & Taylor (1988) verificaram que a ação de isolados de *Trichoderma* spp. foi mais efetiva em valores de pH 3,7 do que em pH 5,3. Chet & Baker (1981), verificaram incremento da supressividade à doenças do solo com pH de 5,1 quanto comparado com pH perto de 8,0, consequência de um favorecimento do desenvolvimento de *Trichoderma* sp. Harman et al. (1981)

observaram que *T. hamatum* foi eficiente no controle de *Pythium* sp. em temperaturas entre 17 e 34°C. Resultados semelhantes foram obtidos por Lifshitz et al. (1986) onde isolados de *T. harzianum* e *T. koningii*, demonstraram maior eficiência à temperatura de 26 do que a 19°C. As lavouras de arroz irrigado por inundação apresentam uma condição diferenciada, visto que até a entrada da água e conseqüente permanência da lâmina de água, o pH é mais ácido do que após a permanência da mesma, pH de 6,5 a 7,0 conforme Gomes et al. (1998). Dito isso, possivelmente a ação do *Trichoderma* sp. seja mais eficiente na fase inicial da cultura até a entrada de água, pois, no caso desse trabalho, o valor de pH foi de 5,1 e verificou-se, ainda, o efeito do antagonista sobre o estande de plantas.

Resultados diferentes do presente trabalho foram encontrados por Rodriguez et al. (1999) que, testaram o controle de *R. solani* na cultura do arroz através de um bioformulado à base de *T. harzianum*, nas doses de 5 e 10 kg.ha<sup>-1</sup>, e a aplicação aos 70 dias de estabelecimento da cultura. Os resultados de percentagem de incidência foram de 28,3% na dose de 5 kg.ha<sup>-1</sup>, 31,9% na dose de 10 kg.ha<sup>-1</sup> e de 45,3% na testemunha, verificando portanto, que o antagonista foi capaz de reduzir a incidência de queima das bainhas. Entretanto vale ressaltar, que o valor denominado de incidência por estes autores, deveria ser corretamente chamado de severidade, com isso, não permite uma comparação direta com os resultados do presente trabalho. Ainda, a forma de aplicação do antagonista e a época foram diferentes do presente trabalho e os autores não avaliaram o rendimento de grãos dos tratamentos utilizados. Semelhante a esse trabalho, Ribeiro & Menezes (1995) não observaram efeito de dois isolados de *Trichoderma* sp., nem para a redução da severidade da doença e nem para o aumento do rendimento com

a aplicação do antagonista em tratamento de sementes e em pulverizações aos 30, 50 e 70 dias após a emergência.

Na Tabela 9, observa-se correlação significativa e positiva entre altura de plantas e peso seco, sendo que a magnitude do valor desta é considerada média. Assim, espera-se que o aumento da altura de plantas implique em um maior peso seco, ou vice-versa. Entre a primeira e a segunda avaliação da incidência de doença, a correlação também foi significativa e positiva, indicando que poderia ser realizada somente uma das duas avaliações. Entretanto, em vista da baixa magnitude da correlação, seria recomendável fazer as duas avaliações, pois em alguns tratamentos pode não ter ocorrido o mesmo comportamento da variável.

Correlação significativa, negativa e de baixa magnitude foi verificada para estande de plantas e rendimento de grãos, assim pode-se inferir que nem sempre o maior estande de plantas, proporcionado pelo antagonista, acarretará em perdas de rendimento de grãos.

TABELA 8. Médias <sup>(1)</sup> da altura de plantas (AP), estande de plantas (EP), peso seco (PS10), primeira (AVAL1) e segunda avaliação de incidência de *Rhizoctonia solani* (AVAL2), e rendimento de grãos (REND) da cultivar de arroz IRGA 417 avaliada com aplicação de 12 tratamentos (três isolados de *Trichoderma* sp., duas formas de aplicação e duas doses) e testemunha. Dona Francisca, RS, UFRGS/IRGA, 2004.

Isolado	Forma de aplicação	Dose (kg.ha <sup>-1</sup> )	AP (cm)	EP (plantas.m <sup>-2</sup> )	PS10 (g.10 plantas <sup>-1</sup> )	AVAL1 (perfilhos.m <sup>-1</sup> )	AVAL2 (perfilhos.m <sup>-1</sup> )	REND (kg.ha <sup>-1</sup> )
8	Semente	2	35,61 a	366,88 a	2,36 a	24,33 a	22,75 a	7644 a
8	Semente	4	37,24 a	435,31	2,50 a	11,30 a	24,67 a	7041 a
8	Adubo	2	39,62 a	364,69 a	2,37 a	19,10 a	17,00 a	7639 a
8	Adubo	4	41,85 a	361,56 a	2,44 a	20,05 a	24,84 a	7322 a
10	Semente	2	41,09 a	370,31 a	2,51 a	12,05 a	19,42 a	7720 a
10	Semente	4	39,13 a	395,94 a	3,38 a	16,80 a	28,00 a	7373 a
10	Adubo	2	41,70 a	372,81 a	2,39 a	9,10 a	19,00 a	7844 a
10	Adubo	4	39,98 a	387,19 a	2,50 a	9,55 a	17,42 a	7300 a
11	Semente	2	36,12 a	435,94	1,92 a	17,33 a	25,67 a	8437 a
11	Semente	4	37,51 a	378,13 a	2,18 a	10,30 a	28,92 a	7451 a
11	Adubo	2	39,58 a	383,44 a	2,59 a	10,65 a	17,67 a	7555 a
11	Adubo	4	41,26 a	404,06 a	2,38 a	18,35 a	20,17 a	7719 a
-	-	-	39,53 a	328,44 a	2,45 a	11,40 a	22,92 a	8000 a

<sup>(1)</sup> Médias de tratamentos não seguidas por letra diferem da testemunha ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett.

TABELA 9. Coeficientes de correlação de Pearson entre as características altura de planta (AP), estande de plantas (EP), peso seco (PS10), primeira (AVAL1) e segunda avaliação de incidência de *Rhizoctonia solani* (AVAL2), e rendimento de grãos (REND) da cultivar de arroz IRGA 417 avaliada com aplicação de 12 tratamentos (três isolados de *Trichoderma* sp., duas formas de aplicação e duas doses) e testemunha. Dona Francisca, RS, UFRGS/IRGA, 2004.

Característica	EP (plantas/m <sup>2</sup> )	PS10 (g/de 10 plantas)	AVAL1 (perfilhos/m)	AVAL2 (perfilhos/m)	REND (Kg.ha-1)
AP (cm)	-0,27 ns	0,60 *	0,10 ns	-0,14 ns	0,19 ns
EP (plantas.m <sup>-1</sup> )		-0,18 ns	0,11 ns	-0,10 ns	-0,28 *
PS10 (g.10 plantas <sup>-1</sup> )			0,13 ns	0,03 ns	-0,01 ns
AVAL1 (perfilhos.m <sup>-1</sup> )				0,31 *	0,06 ns
AVAL2 (perfilhos.m <sup>-1</sup> )					0,27 ns

<sup>(1)</sup> \* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t, com 50 graus de liberdade. ns = não significativo.

A falta de efeito dos isolados de *Trichoderma* sp. sobre características como incidência de doença e rendimento, pode ser devida a forma de aplicação, a época de aplicação, a desuniformidade da distribuição do patógeno e, até mesmo, a uma possível ineficiência dos isolados em condições de campo. Trabalhos futuros devem ser realizados com a utilização de outras formas de aplicação, como pulverização e doses maiores do bioformulado, e diferentes épocas de aplicação, como na entressafra e em cobertura após o estabelecimento da cultura, como já observado por Rodriguez et al. (1999). Outra alternativa possível, seria a utilização de uma mistura de isolados, buscando obter uma melhor ação do antagonista, além de que a formulação de um bioformulado comercial à base de mais de um isolado é mais adequada.

### 3.4. CONCLUSÕES

A utilização de bioformulados à base de isolados de *Trichoderma* sp., testados nesse estudo, é capaz de proporcionar um maior estande de plantas em lavouras de arroz com histórico de queima das bainhas. Entretanto, esta prática não implica na diminuição da incidência da doença e nem no aumento do rendimento de grãos da cultura.

## CAPÍTULO III

### **4. POTENCIAL DO USO DE *Trichoderma* sp. NO CONTROLE DO COMPLEXO ENROLAMENTO DO ARROZ *Polymyxa graminis*-*Rice stripe necrosis virus* (RSNV), E NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE PLANTAS DE ARROZ (*Oryza sativa*)**

#### **4.1. INTRODUÇÃO**

No mundo inteiro o arroz, *Oryza sativa* L., é um cereal de destacada importância no aspecto econômico e social, além de ser uma excelente base alimentar para a população, principalmente de países em desenvolvimento. Entretanto, essa cultura apresenta fatores que proporcionam reduções de produção, dentre eles as doenças fúngicas, bacterianas e viróticas. No Brasil, até alguns anos não existia relato da ocorrência de viroses que afetassem plantas de arroz. Porém, na safra agrícola de 2001/02 foi identificada a presença da virose do enrolamento do arroz, causada por *Rice stripe necrosis virus* (RSNV), em lavouras da Depressão Central do estado do Rio Grande do Sul, no município de Dona Francisca (Maciel et al., 2002). O vírus RSNV é transmitido pelo protozoário *Polymyxa graminis* Ledingham (Morales et al., 1995; Morales et al., 1999), que é um parasita obrigatório de raízes e está classificado no

Reino Protozoa, no Filo Plasmodiophoromycota, na Ordem Plasmodiophorales e na Família Plasmodiophoraceae (Agrios, 1997; Kaniuka et al., 2003).

A primeira ocorrência desta virose, no mundo, foi na Costa do Marfim, África, na metade dos anos 70 (Louvel & Bidaux, 1977). Na América do Sul, a primeira constatação desta virose foi no ano de 1969, na Colômbia (Restrepo citado por Morales et al., 1995). Entretanto, até o ano de 1991 quando foi observada novamente, essa doença não havia causado problemas nas lavouras de arroz na Colômbia. Após este ano então, o patógeno disseminou-se nas principais áreas de produção de arroz do Colômbia, principalmente devido a mecanização bastante intensa (Morales et al., 1995).

As perdas de produção causadas por esta doença podem chegar até 20%, como já relatada em trabalhos realizados na Colômbia (Pardo & Muñoz, 1994). No Brasil, estima-se que as perdas possam atingir em torno de 30% do rendimento.

Os sintomas do enrolamento do arroz caracterizam-se pela morte de plântulas, retorcimento de folhas e panículas, estrias amarelas nas folhas, plantas com aspecto de roseta e redução no crescimento e desenvolvimento das plantas (Morales et al., 1999).

Algumas estratégias têm sido buscadas para o manejo desta virose, dentre as quais destacam-se a obtenção de cultivares resistentes, adequação das doses de adubação de base e de cobertura, uso de agentes de biocontrole e adequação da época de semeadura (Morales, 2001).

Calvert & Sedano (2001) e Correa et al. (2002), observaram na Colômbia, em um local com histórico de ocorrência da virose do enrolamento do arroz, que alguns genótipos apresentam um grau mais elevado de resistência à doença, destacando-se a espécie silvestre *Oryza glaberrima*, na qual a incidência de plantas sintomáticas foi menor que 1%. Considere-se que esse nível de resistência é relativamente baixo na

medida em que os mesmos autores verificaram que em algumas cultivares comerciais de arroz a incidência da doença variou de 16 a 30%.

A época de semeadura pode se tornar um importante componente no controle desta doença, já que a variação dessa pode alterar a faixa de temperatura a qual a planta e o vetor são submetidos no momento da possível infecção. Nesse sentido, Legréve et al. (1998), usando isolados de *Polymyxa graminis*, *P. betae* e *Polymyxa* sp., verificaram que a habilidade dos vetores de causar infecção é influenciada pela faixa de temperatura a qual são submetidos. Assim, os isolados de *P. graminis* obtidos de área de clima temperado evidenciaram uma maior infecção na faixa de 15 a 22°C.

D'Ambra & Mutto (1986) verificaram que o fungo *Trichoderma harzianum* foi capaz de parasitar e destruir os cistosoros de *Polymyxa betae*, reduzindo com isto a penetração do vetor nas raízes de beterraba e, conseqüentemente, podendo haver uma menor incidência da doença (*Beet Necrotic Yellow Vein Virus*).

Devido à falta de conhecimento sobre as alternativas para o controle desta doença, este trabalho objetivou a avaliação de bioformulados à base isolados de *Trichoderma* sp. como biocontroladores do complexo enrolamento do arroz *Polymyxa graminis*-RSNV e o efeito no crescimento das plantas de arroz, em casa de vegetação e em nível de campo, em diferentes doses e formas de aplicação.

## 4.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1. Obtenção de isolados de *Trichoderma* sp.

A obtenção dos isolados de *Trichoderma* sp. foi realizada a partir de amostras de solos de várzea. Estas amostras foram coletadas procurando-se abranger a maioria das regiões produtoras de arroz no Rio Grande do Sul nos seguintes municípios: Torres, Santana do Livramento, Restinga Seca, Dom Pedrito, Rosário do Sul, Cachoeirinha, Guaíba, Mostardas, Camaquã, Cristal, Cachoeira do Sul, Jaguarão, Arroio Grande, Gravataí, Alegrete, São Borja, Turucu, Santo Antonio da Patrulha, Porto Alegre, Viamão, São Sebastião do Caí, Tapes, Santa Vitória do Palmar, Mampituba, Santa Maria e São Sepé.

A partir da amostra de solo, devidamente identificada, foi retirada 10 mL, diluído em 90 mL de água destilada e esterilizada. Após agitação e homogeneização foram realizadas diluições sucessivas, até obter-se a diluição  $10^3$ . Desta solução, foi transferido 0,2 mL para placas de Petri contendo meio de cultura BDA e espalhado com o auxílio de alça de Drigalsky. As placas foram incubadas por quatro dias a  $\pm 25^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12h. Foram selecionadas somente as colônias de *Trichoderma* sp. após identificação através de observação morfológica, coloração, análise microscópica e verificação por comparação com chaves de identificação taxonômica de fungos. Posteriormente, obtiveram-se culturas axênicas identificadas e denominadas de isolados.

#### **4.2.2. Produção massal de *Trichoderma* sp. em arroz**

Para produção de inóculo foram utilizados sacos plásticos transparentes de 2 L, contendo 250 g de grãos de arroz sem casca, que foram esterilizados em autoclave por 60 min a 120°C e 1 atm de pressão. Após, o substrato foi inoculado com uma suspensão de  $10^7$  esporos de *Trichoderma* sp. por 50 ml de água destilada e esterilizada e incubado em câmara de crescimento com temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Após 14 dias, o substrato colonizado foi retirado dos sacos plásticos e colocado em envelopes de papel para secagem, a uma temperatura de 37°C por aproximadamente quatro dias. Em seguida, o inóculo foi triturado até ser obtido um pó fino e homogêneo. Para uniformização da granulometria o inóculo foi passado por peneiras de 80 mesh.

#### **4.2.3. Experimento em casa de vegetação**

O experimento foi realizado, no período de 21/01/2004 a 08/03/2004, na casa de vegetação do Departamento de Fitossanidade (Figura 6), da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. Foram testados sete tratamentos, os quais estão descritos na Tabela 10. Os isolados de *Trichoderma* sp. utilizados nos testes de casa de vegetação e de campo são dos seguintes locais: isolado 8 – Santa Maria, isolado 10 – Santa Vitória do Palmar e isolado 11 – Santa Cruz do Sul.

Para montagem do experimento foram coletadas plantas com sintomas característicos de enrolamento e solo de lavoura com ocorrência do enrolamento, em Dona Francisca, RS. As plantas com sintomas no experimento, foram trituradas e posteriormente misturadas no solo conforme o tratamento correspondente (Tabela 10). O solo contaminado foi seco, à temperatura ambiente, para posterior utilização. O solo

não contaminado foi obtido na Estação Experimental do Arroz em Cachoeirinha, RS, em área sem ocorrência do enrolamento do arroz.

TABELA 10. Descrição dos tratamentos para o experimento em casa de vegetação, com a cultivar de arroz IRGA 417. Porto Alegre, RS, UFRGS/IRGA. 2004.

Tratamento	Caracterização
Isolado 8	Solo contaminado + Planta contaminada (SC + PC)
Isolado 10	Solo contaminado + Planta contaminada (SC + PC)
Isolado 11	Solo contaminado + Planta contaminada (SC + PC)
MIX (Isolados 8, 10 e 11)	Solo contaminado + Planta contaminada (SC + PC)
Testemunha 1	Solo contaminado + Planta contaminada (SC + PC)
Testemunha 2	Solo contaminado (SC)
Testemunha 3	Solo não contaminado (SNC)



FIGURA 6. Vista geral do experimento em casa de vegetação. Porto Alegre, RS, UFRGS/IRGA. 2004.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados, com quatro blocos e uma repetição de cada tratamento por bloco. A unidade experimental foi composta de quatro copos plásticos de 500 mL, contendo solo e plantas trituradas conforme o respectivo tratamento. Os copos foram perfurados no fundo e colocados dentro de bandejas plásticas, mantidas com lâmina de água constante.

O bioformulado à base de *Trichoderma* sp. foi aplicado na dose de 1,0g.copo<sup>-1</sup>. O MIX resultou da mistura de porções iguais dos três isolados e aplicado na mesma dose. Para o tratamento de sementes, estas foram umedecidas com água e misturadas ao bioformulado.

A semente utilizada foi da cultivar IRGA 417, sendo colocadas 20 sementes por copo. Posteriormente foi realizado raleio, mantendo-se oito plantas por copo. A temperatura média na casa de vegetação foi de 25°C. A adubação realizada foi a aplicação de uréia, na proporção de 120 kg N.ha<sup>-1</sup> levando-se em conta a área da parte superior do copo, dividida em três aplicações aos 10, 24 e 38 dias após a emergência.

As avaliações realizadas foram altura e peso seco de plantas, com a coleta das plantas 45 dias após a emergência, e número de plantas com sintoma, também 45 dias após a emergência das plantas. Para as duas primeiras avaliações foram coletadas quatro plantas por copo, totalizando 16 plantas por unidade experimental e para a terceira avaliação foram utilizadas todas as plantas dos copos, antes da coleta.

A análise dos resultados foi realizada através de análise de variância, com utilização do teste de Tukey, ao nível de 5%, para comparação de médias.

#### **4.2.4. Experimento em nível de campo**

O experimento foi conduzido, de 16/10/2003 a 27/02/2004, em área de várzea com histórico de ocorrência natural de enrolamento de arroz (Figura 7), no município de Agudo, RS. O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados, com quatro repetições, com os tratamentos sendo organizados em fatorial 3x2x2, sendo utilizados três isolados de *Trichoderma* sp., duas formas de aplicação e duas doses do bioformulado, que estão demonstrados na Tabela 11.

TABELA 11. Descrição dos tratamentos para o experimento em nível de campo, com a cultivar de arroz IRGA 417. Agudo, RS, UFRGS/IRGA. 2004.

Tratamento	Isolados	Formas de Aplicação	Doses
1	8	Semente	2 kg.ha <sup>-1</sup>
2	8	Semente	4 kg.ha <sup>-1</sup>
3	8	Adubo	2 kg.ha <sup>-1</sup>
4	8	Adubo	4 kg.ha <sup>-1</sup>
5	10	Semente	2 kg.ha <sup>-1</sup>
6	10	Semente	4 kg.ha <sup>-1</sup>
7	10	Adubo	2 kg.ha <sup>-1</sup>
8	10	Adubo	4 kg.ha <sup>-1</sup>
9	11	Semente	2 kg.ha <sup>-1</sup>
10	11	Semente	4 kg.ha <sup>-1</sup>
11	11	Adubo	2 kg.ha <sup>-1</sup>
12	11	Adubo	4 kg.ha <sup>-1</sup>
13 (Testemunha)	-	-	-



FIGURA 7. Vista geral da área do experimento, com histórico de enrolamento do arroz. Agudo, RS, UFRGS/IRGA. 2004.

Para a forma de aplicação via semente, essas foram umedecidas com água e posteriormente misturadas com bioformulado, cobrindo a superfície das mesmas. Na aplicação via adubo o bioformulado foi misturado no adubo a seco. Em ambas as formas as misturas foram realizadas no momento da semeadura.

A semeadura foi realizada pelo sistema de cultivo convencional de arroz irrigado por inundação utilizando-se a cultivar IRGA 417, em parcelas com dimensões de 3m x 4m, com densidade de 122 Kg de semente.ha<sup>-1</sup> e espaçamento de 0,20m. A data de semeadura foi dia 16/10/2003, com a emergência das plântulas ocorrendo em torno do dia 26/10/2003. Cada parcela experimental foi isolada com taipas, evitando que a entrada de água de irrigação descaracterizasse os tratamentos (Figura 8). A entrada de água foi realizada 25 dias após a emergência.



FIGURA 8. Vista das parcelas separadas individualmente por taipas, na área de realização do experimento de campo. Agudo, RS, UFRGS/IRGA. 2004.

A adubação da área foi baseada na análise de solo (Amostra 2 do Apêndice 1) e no Manual de Procedimentos do Projeto 10, contido em IRGA (2003c). A adubação utilizada foi de 300 Kg.ha<sup>-1</sup> de NPK (5-20-30) na semeadura. Em cobertura foram adicionados 100 Kg de N.ha<sup>-1</sup>, divididos em duas aplicações, 2/3 da dose de nitrogênio de cobertura, sob a forma de uréia, foi aplicada três dias antes da inundação e o 1/3 restante no estágio V8 da escala de Counce et al. (2000).

A aplicação de herbicidas baseou-se nas recomendações técnicas para a cultura do arroz, sendo utilizados os herbicidas Pyrazosulfuron (20g i.a.ha<sup>-1</sup>) e Quinclorac (375 g i.a.ha<sup>-1</sup>), aplicados dois dias antes da colocação da lâmina de água.

As avaliações realizadas nos ensaios foram as seguintes: I - estande de plantas (número de plantas emergidas.m<sup>-1</sup>), foi realizada a contagem de quatro repetições de 1 m por parcela; II - peso seco de plantas (g), foram pesadas duas repetições de 10 plantas por parcela; III - altura de plantas (cm), foram medidas 10 plantas por parcela; incidência de enrolamento (plantas com sintomas.m<sup>-2</sup>), foram realizadas contagens de duas repetições de 1 m<sup>2</sup> por parcela ; e V - rendimento de grãos (kg.ha<sup>-1</sup>), foi colhida uma área de 3 m<sup>2</sup> por parcela. Para avaliação de altura e peso seco de plantas foram coletadas amostras de plantas. As épocas de avaliação estão apresentadas na Tabela 12.

TABELA 12. Épocas de avaliação e/ou coleta de plantas no experimento de campo, da cultivar de arroz IRGA 417. Agudo, RS, UFRGS/IRGA. 2003.

Avaliação	Dias após emergência (dae)
Plantas emergidas	10
Peso seco de plantas	30
Altura de plantas	30
Incidência de enrolamento	30
Rendimento de grãos	120

Os dados obtidos foram submetidos à análise da variância utilizando o teste F, em nível de 5% de probabilidade de erro, para testar as hipóteses dos efeitos principais e das interações. Para as variáveis com efeito principal ou interação significativos foi utilizado o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro, para comparação de médias. As médias dos tratamentos também foram comparados com a testemunha através do teste de Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade de erro. Ainda foi realizada a análise de correlação de Pearson pelo teste t, em nível de 5% de probabilidade de erro, entre as variáveis avaliadas.

### **4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **4.3.1. Experimento em casa de vegetação**

Os resultados das avaliações de altura de plantas, peso seco de plantas e incidência de plantas com enrolamento estão apresentados na Tabela 13.

Em relação ao parâmetro altura de plantas, observa-se que todos os tratamentos com isolados de *Trichoderma* sp. diferenciaram da testemunha 1. O isolado 10 e o MIX diferenciaram ainda da testemunha 2. Esses resultados possibilitam dizer que os isolados de *Trichoderma* sp. foram capazes de proporcionar um maior crescimento das plantas de arroz, mesmo expostas ao vetor e ao patógeno (Figura 9). Isso possivelmente seja devido a ação do antagonista sobre o vetor, com isto evitando sua penetração nas raízes e, conseqüentemente, evitando a penetração do patógeno, proporcionando à planta melhores condições de crescimento. Isto encontra respaldo na ponderação feita por Melo (1996), onde o autor salienta que a promoção de crescimento das plantas pela ação de fungos pode ser devida, além de outros fatores, ao controle do fitopatógeno. No caso do presente trabalho o foco de controle foi o vetor do patógeno, *Polymyxa graminis*. Há ainda a possibilidade da ação direta do antagonista sobre a planta em combinação a ação sobre o vetor, na promoção do crescimento nas plantas.

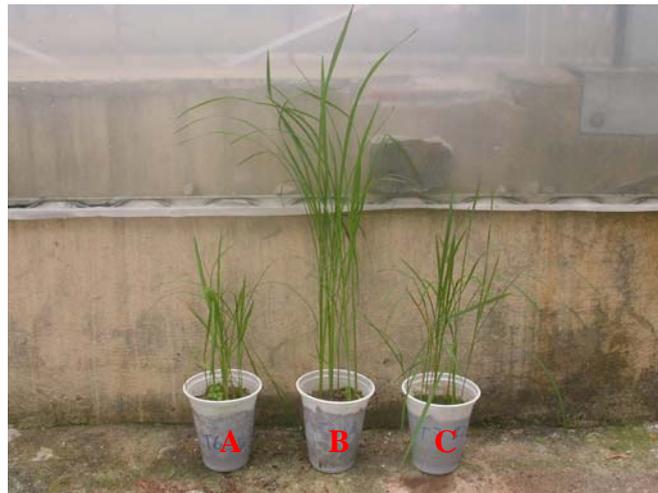


FIGURA 9. Plantas de arroz cultivadas (A) em solo e plantas contaminados com *Polymyxa graminis*-RSNV, (B) em solo e plantas contaminados com *Polymyxa graminis*-RSNV e tratadas com isolado 10 de *Trichoderma* sp. e (C) em solo não contaminado. Porto Alegre, RS, UFRGS/IRGA. 2004.

TABELA 13. Altura, peso seco e número de plantas de arroz, cultivar IRGA 417, com virose no experimento em casa de vegetação. Porto Alegre, RS, UFRGS/IRGA. 2004.

Tratamento	Caracterização	Altura (cm)	Peso seco (g)	Incidência <sup>1</sup>
Isolado 10	SC + PC	43,225 a <sup>2</sup>	1,801 a <sup>2</sup>	1,50 c <sup>2</sup>
MIX <sup>3</sup>	SC + PC	43,050 a	1,772 ab	0,75 c
Isolado 8	SC + PC	42,300 ab	1,666 abc	2,25 bc
Isolado 11	SC + PC	40,950 ab	1,753 abc	2,50 bc
Testemunha 2	SC	37,500 bc	1,481 abc	8,50 ab
Testemunha 3	SNC	34,675 c	1,314 c	0,00 c
Testemunha 1	SC + PC	33,700 c	1,326 bc	10,50 a

<sup>1</sup> Esta avaliação refere-se ao número de plantas com sintoma de enrolamento.

<sup>2</sup> Valores seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

<sup>3</sup> MIX = mistura dos isolados 8, 10 e 11.

Entretanto, é válido ressaltar que a maioria dos trabalhos mostram que a promoção de crescimento é devida a outros fatores que não somente a inibição da ação de fitopatógenos (Windham et al., 1986; Altomare et al., 1999; Salgado et al., 1999; Harmam, 2000; Weiler, 2004).

Quanto ao parâmetro peso seco, os resultados mostraram-se um pouco diferentes dos encontrados para altura de plantas. Todos os tratamentos com *Trichoderma* sp. apresentaram um peso superior às testemunhas. Entretanto somente o isolado 10 diferenciou significativamente da testemunha 1. O maior peso seco proporcionado pelos isolados de *Trichoderma* sp. deve-se provavelmente ao mesmo fator que foi discutido para altura de plantas, ou seja, a proteção contra o patógeno, no caso impedindo a penetração do vetor da virose. Vale ressaltar ainda que os baixos valores de peso seco e altura de plantas apresentados pela testemunha 3, possivelmente são devidos a baixa fertilidade do solo utilizado.

Quanto à avaliação da incidência de enrolamento, ou seja, número de plantas com sintoma, os resultados foram semelhantes aos obtidos para altura de plantas. Todos os tratamentos com *Trichoderma* sp. diferenciaram significativamente da testemunha 1. Porém, assim como ocorreu para altura de plantas (Figura 9), somente o isolado 10 e o MIX diferiram significativamente da testemunha 2.

A menor ocorrência de plantas com enrolamento deveu-se possivelmente, a ação dos isolados de *Trichoderma* sp. sobre os cistosoros de *P. graminis* presentes no solo e nas plantas contaminados. D'Ambra & Mutto (1986) verificaram a ação de *T. harzianum* sobre os cistosoros de *P. graminis* em raízes de beterraba, *in vitro*. Os autores observaram que o antagonista foi capaz de penetrar nas raízes, degradar e destruir os cistosoros presentes no interior das mesmas.

Observando os resultados das três variáveis avaliadas, altura de plantas, peso seco de plantas e incidência de enrolamento, verifica-se que o isolado 10 e o MIX credenciam-se como os melhores tratamentos.

### 4.3.2. Experimento em nível de campo

Através da análise da variância apresentada na Tabela 14, verifica-se que houve uma interação isolados x formas de aplicação x doses significativa para peso seco, ou seja, há um comportamento diferente dos isolados dentro das formas de aplicação e das doses ou para as combinações desses, para a característica abordada. Também ocorreu interação isolados x formas de aplicação significativa para altura de plantas, estande de plantas e incidência de enrolamento.m<sup>-2</sup>. Portanto, para essas características, os isolados comportam-se de maneira diferenciada nas formas de aplicação. Observa-se, também, interação significativa no teste de comparação de cada tratamento com a testemunha para a característica rendimento. Portanto, para essa variável, pelo menos um dos tratamentos difere significativamente da testemunha, quando analisados, de forma isolada, no teste de médias.

Pela análise das médias dos tratamentos e das testemunhas, observa-se que para as variáveis estande de plantas e rendimento de grãos, a média dos tratamentos foi superior à média da testemunha. Para a incidência de enrolamento.m<sup>-2</sup> os tratamentos apresentaram média inferior à testemunha (Tabela 14).

Outro resultado verificado na Tabela 14 é a não ocorrência de efeito principal significativo para os isolados, doses e formas de aplicação para incidência de enrolamento e rendimento de grãos.

TABELA 14. Graus de liberdade (GL) e quadrado médio em relação à altura de planta (AP), ao estande de plantas (EP), ao peso seco (PS10), à incidência de enrolamento (INCE) e ao rendimento de grãos (REND) para as causas de variação, médias, coeficiente de variação (CV%), diferença mínima significativa a 5% pelo teste de Tukey (DMS Tukey 5%) e pelo teste de Dunnett (DMS Dunnett 5%) da cultivar de arroz IRGA 417 avaliada com aplicação de 12 tratamentos (três isolados de *Trichoderma* sp., duas formas de aplicação e duas doses) e testemunha. Agudo, RS, UFRGS/IRGA, 2004.

Causas de variação	GL	Quadrado médio (QM) <sup>(1)</sup>				
		AP (cm)	EP (plantas.m <sup>-2</sup> )	PS10 (g.10 plantas <sup>-1</sup> )	INCE (plantas.m <sup>-2</sup> )	REND (Kg.ha <sup>-1</sup> )
Bloco	3	19,04*	14126,16*	0,048 <sup>ns</sup>	1131,50 <sup>ns</sup>	710888 <sup>ns</sup>
Trat + Test	12	6,62 <sup>ns</sup>	2526,65 <sup>ns</sup>	0,296 *	685,50 <sup>ns</sup>	898441 <sup>ns</sup>
Trat	11	7,09 <sup>ns</sup>	2530,08 <sup>ns</sup>	2,303 *	731,86 <sup>ns</sup>	440215 <sup>ns</sup>
Isolado (I)	2	8,51 <sup>ns</sup>	3026,60 <sup>ns</sup>	0,337 <sup>ns</sup>	0,32 <sup>ns</sup>	548163 <sup>ns</sup>
Forma de aplicação (F)	1	2,44 <sup>ns</sup>	164,10 <sup>ns</sup>	0,590 *	305,02 <sup>ns</sup>	58241 <sup>ns</sup>
Dose (D)	1	1,22 <sup>ns</sup>	386,75 <sup>ns</sup>	0,032 <sup>ns</sup>	65,33 <sup>ns</sup>	2730 <sup>ns</sup>
I*F	2	20,08*	7032,26 *	0,141 <sup>ns</sup>	1571,10*	885167 <sup>ns</sup>
I*D	2	2,12 <sup>ns</sup>	2996,52 <sup>ns</sup>	0,138 <sup>ns</sup>	869,69 <sup>ns</sup>	616776 <sup>ns</sup>
F*D	1	1,79 <sup>ns</sup>	49,51 <sup>ns</sup>	0,143 <sup>ns</sup>	1541,33 <sup>ns</sup>	2852 <sup>ns</sup>
I*F*D	2	5,58 <sup>ns</sup>	559,86 <sup>ns</sup>	0,753 *	628,29 <sup>ns</sup>	339165 <sup>ns</sup>
Trat vs Test	1	1,42 <sup>ns</sup>	2489,00 <sup>ns</sup>	0,048 <sup>ns</sup>	175,58 <sup>ns</sup>	5938922 *
Erro	36	5,41	2108,24	0,138	474,02	714860
Média geral	-	26,02	404,28	1,83	57,26	5108
Média tratamentos	-	26,06	406,28	1,84	56,73	5206
Média testemunha	-	25,44	380,31	1,72	63,63	3938
CV(%)	-	8,94	11,36	20,34	38,02	16,55
DMS Tukey (5%)	-	5,83	115,09	0,93	54,57	2119
DMS Dunnett (5%)	-	4,80	94,80	0,77	44,95	1746

<sup>(1)</sup>\* = efeito significativo em nível de 5% de probabilidade pelo teste F; <sup>ns</sup> = efeito não significativo pelo teste F,

Na Tabela 15, estão contidos os testes de média realizados para as interações duplas verificadas na análise de variância. Observa-se que a única situação onde houve diferença estatística foi para a variável altura de plantas quando avaliada na forma de aplicação via adubo para os diferentes isolados. Portanto, para esta situação o isolado 8 mostrou-se superior, diferenciando-se do isolado 10.

TABELA 15. Médias de altura, estande e incidência de enrolamento de plantas de arroz da cultivar IRGA 417, na combinação das diferentes formas de aplicação com os isolados de *Trichoderma* sp. Agudo, RS, UFRGS/IRGA, 2004.

Isolados	Altura de plantas (cm)	Estande (plantas.m <sup>-2</sup> )	Incidência de enrolamento (plantas afetadas.m <sup>-2</sup> )
	Adubo		
Isolado 8	27,77 a*	397,50 <sup>ns</sup>	69,94 <sup>ns</sup>
Isolado 11	25,54 ab	419,84	57,56
Isolado 10	24,20 b	407,03	50,25
Semente			
Isolado 11	26,80 <sup>ns</sup>	393,44 <sup>ns</sup>	56,19 <sup>ns</sup>
Isolado 10	26,38	377,66	62,94
Isolado 8	25,69	442,19	43,50

\* Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste Tukey, ao nível de 5%.

<sup>ns</sup> = Médias que diferiram pelo teste Tukey, ao nível de 5%.

Na Tabela 16 estão apresentadas a comparação das médias pelo teste de Dunnett, na qual a média de cada tratamento é testada contra a média da testemunha. Pode-se verificar que para todas as variáveis, exceto rendimento de grãos, nenhum tratamento diferenciou-se estatisticamente da testemunha. Na variável rendimento de grãos o tratamento 6 (Isolado 10, tratamento de semente, 4 kg.ha<sup>-1</sup>) diferenciou da testemunha, mostrando-se superior aos demais.

Vale ressaltar que, conforme já comentado para a Tabela 14, todas as médias de rendimento de grãos dos tratamentos foram superiores a testemunha. Resultado semelhante observa-se para estande de plantas onde apenas dois tratamentos,

T6 e T9, não foram superiores a testemunha. Estes resultados permitem inferir que há, possivelmente, um efeito positivo dos isolados de *Trichoderma* sp. sobre as características citadas acima, mesmo não tendo sido registrado efeito destes na redução da incidência de enrolamento. Uma provável explicação para este fato, pode ser que a severidade da doença, apesar de valores de incidência semelhantes, nas plantas tratadas com bioformulados tenha sido menor, portanto, proporcionando um maior rendimento de grãos.

Na avaliação de incidência de enrolamento nenhum tratamento se diferenciou da testemunha. Entretanto, esperava-se algum efeito dos tratamentos, pois em casa de vegetação houve um efeito significativo dos isolados de *Trichoderma* sp. sobre, provavelmente, os cistosoros de *P. graminis*. Esta ação sobre os cistosoros ocorre, pois foi verificada, em experimento *in vitro*, por D'Ambra & Mutto (1986). Possivelmente, em nível de campo, tenha ocorrido um efeito de menor severidade da doença, como já comentado acima.

Observa-se também na Tabela 16, que o rendimento, para todos os tratamentos, foi relativamente baixo quando comparados com a média da região, em torno de 7000 kg.ha<sup>-1</sup> na safra 2002/03 (IBGE, 2003). Entretanto, a área sobre a qual foi instalado o experimento apresentou, além da ocorrência de doença, problemas sérios com manutenção de lâmina de água recomendada para a cultura, sendo este também um fator para redução do rendimento.

As correlações testadas não mostraram efeito significativo para nenhuma das variáveis estudadas (Tabela 17).

TABELA 16. Média <sup>(1)</sup> da altura de plantas (AP), estande de plantas (EP), peso seco (PS10), incidência de enrolamento (INCE) e rendimento de grãos (REND) da cultivar de arroz IRGA 417 avaliada com aplicação de 12 tratamentos (três isolados de *Trichoderma* sp., duas formas de aplicação e duas doses) e testemunha. Agudo, RS, UFRGS/IRGA, 2004.

Isolado	Forma de aplicação	Dose (kg.ha <sup>-1</sup> )	AP (cm)	EP (plantas.m <sup>-2</sup> )	PS10 (g.10 plantas <sup>-1</sup> )	INCE (plantas.m <sup>-2</sup> )	REND (Kg.ha <sup>-1</sup> )
8	Semente	2	25,01 a	450,31 a	1,56 a	46,50 a	4703 a
8	Semente	4	26,38 a	434,06 a	1,68 a	40,50 a	4903 a
8	Adubo	2	28,52 a	397,81 a	1,72 a	84,50 a	5040 a
8	Adubo	4	27,03 a	397,19 a	2,00 a	55,38 a	5478 a
10	Semente	2	26,64 a	394,06 a	1,61 a	64,25 a	5391 a
10	Semente	4	26,12 a	361,25 a	1,53 a	61,63 a	5859
10	Adubo	2	25,08 a	422,19 a	1,81 a	50,25 a	5253 a
10	Adubo	4	23,32 a	391,88 a	2,13 a	50,25 a	5094 a
11	Semente	2	27,12 a	374,38 a	1,77 a	38,38 a	5629 a
11	Semente	4	26,48 a	412,50 a	2,22 a	74,00 a	4960 a
11	Adubo	2	24,97 a	415,94 a	2,40 a	63,50 a	5175 a
11	Adubo	4	26,11 a	423,75 a	1,64 a	51,63 a	4988 a
-	-	-	25,44 a	380,31 a	1,72 a	63,63 a	3938 a

<sup>(1)</sup> Médias de tratamentos não seguidas por letra diferem da testemunha ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett.

TABELA 17. Coeficientes de correlação de Pearson entre as características altura (AP), estande (EP), peso seco (PS10), incidência de enrolamento (INCE) e rendimento de grãos (REND) da cultivar de arroz IRGA 417 avaliada com aplicação de 12 tratamentos (três isolados de *Trichoderma* sp., duas formas de aplicação e duas doses) e testemunha. Agudo, RS, UFRGS/IRGA, 2004.

Característica	EP (plantas.m <sup>-2</sup> )	PS10 (g.10 plantas <sup>-1</sup> )	INCE (plantas.m <sup>-2</sup> )	REND (Kg.ha <sup>-1</sup> )
AP (cm)	-0,20 ns	-0,07 ns	-0,14 ns	0,03 ns
EP (plantas.m <sup>-2</sup> )		0,10 ns	0,15 ns	-0,14 ns
PS10 (g.10 plantas <sup>-1</sup> )			0,01 ns	-0,04 ns
INCE (plantas.m <sup>-2</sup> )				-0,06 ns

<sup>(1)</sup> \* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t, com 50 graus de liberdade, ns = não significativo.

O isolado 10 foi o que mostrou melhor resultado nas avaliações feitas em casa de vegetação, apesar de não se ter avaliado o rendimento de grãos. Também mostrou um bom resultado no experimento de campo, quanto ao rendimento de grãos, quando aplicado no tratamento de semente na dose de 4 kg.ha<sup>-1</sup>. Portanto, pode-se considerar que esse isolado tem potencial para uma possível utilização em lavouras comerciais com ocorrência de enrolamento. Entretanto, esperava-se um controle do vetor por parte deste isolado, devido ao resultado de casa de vegetação. Porém, vale ressaltar que o efeito de bioformulados de *Trichoderma* sp. pode ser melhorado, em nível de campo, com a utilização de doses maiores, pois em casa de vegetação as doses utilizadas foram relativamente altas.

#### **4.4. CONCLUSÕES**

Considerando os resultados obtidos, infere-se que bioformulados à base de *Trichoderma* sp. apresentam potencial para o controle do complexo enrolamento do arroz *Polymyxa graminis*-RSNV e proporcionam um maior rendimento de grãos de arroz em áreas com ocorrência do enrolamento.

## 5. CONCLUSÕES GERAIS

Observando os resultados obtidos no presente trabalho e a característica deste estudo ser uma das primeiras utilizações de bioformulados à base de *Trichoderma* sp. para o controle de doenças e promoção de crescimento em plantas de arroz, conclui-se que:

A utilização de *Trichoderma* sp. em lavouras de arroz possibilita um maior estande de plantas em áreas com ocorrência de queima das bainhas, assim como proporciona um aumento do rendimento em lavouras com ocorrência de enrolamento do arroz, nas condições testadas no trabalho.

Os isolados de *Trichoderma* sp. não mostraram efeito na redução da incidência de queima das bainhas e enrolamento do arroz em nível de campo.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, G. C. *Thanatephorus cucumeris (Rhizoctonia solani)*, a species complex of wide host range. **Advances in Plant Pathology**, Flórida, v.6, 1988.

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 4.ed. San Diego: Academic Press, 1997. 635p.

ALTOMARE, C. et al. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.65, n.7, p.2926-2933, 1999.

ANDERSON, N. The genetic and pathology of *Rhizoctonia solani*. **Annual Review of Phytopathology**, St. Paul, v.20, p. 329-347, 1982.

AVILA, M. S.; BLANCO, P. H.; CASALES, L. A. Evolución y predicción de grado de severidad de podredumbre del tallo y mancha agregada de las vainas, mediante la detección temprana de síntomas, en tres cultivares. In: CONFERENCIA INTERNACIONAL DE ARROZ DE CLIMA TEMPERADO, 3., 2003, [S. l.]. **Resumos ...** [S. l.], 2003. p.79.

BALARDIN, R. S. **Doenças do Arroz**. Santa Maria: Ed. do autor, 2003. 59 p.

BEDENDO, I. P. Podridões de Raiz e Colo. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L (Ed.) **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 3ed. São Paulo: Ceres, 1995. p.829-837.

BEDENDO, I. P. Doenças do arroz. In: KIMATI, H. et al. (Ed.) **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3ed. São Paulo: Ceres, 1997. 2v. p.85-99.

BETTIOL, W. Perspectivas de produtos biológicos para o controle de doença de plantas. In: REUNIÃO DE CONTROLE BIOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS, 2003, Ilhéus. **Palestras ...** Ilhéus: CEPLAC/CEPEC, 2003. p. 50-62.

CALVERT, L.; SEDANO, R. Caracterización de la enfermedad del entorchamiento: Un complejo de *Polymyxa graminis* y el virus de la necrosis rayada del arroz. Output 2. Caracterización de Patógenos del Arroz y la Genética de la Resistencia. Centro Internacional de Agricultura Tropical Annual Report for 2000. Cali, Colombia: CIAT, 2001. p.134-141.

CAMARGO, L. E. A. Mecanismos de variabilidade genética de agentes fitopatogênicos. In: BERGAMIM FILHO, A. et al. (Ed.) **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 3ed. São Paulo: Ceres, 1995. p.455-469.

CAMARGO, L. E. A.; BERGAMIM FILHO, A. Controle genético. In: BERGAMIM FILHO, A. et al. (Ed.) **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 3ed. São Paulo: Ceres, 1995. p.729-760.

CEDEÑO, L. et al. *Sclerotium hydrophilum* en arroz en Venezuela. **Fitopatologia Venezolana**, Maracay, v.10, n.1, p.9-12, 1997.

CELMER, A. F.; BALARDIN, R. S. Controle da mancha das bainhas no arroz irrigado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 3., 2003, Florianópolis. **Resumos ...** Itajaí: EPAGRI, 2003. p. 340-342.

CHANDLER, R. F. **Arroz en los trópicos**. San José: IICA, 1984. 304p.

CHANG, Y. et al. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. **Plant Disease**, St. Paul, v.70, n.2, p.145-148, 1986.

CHET, I.; BAKER, R. Induction of suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. **Phytopathology**, St. Paul, v.70, n.10, p.994-998, 1980.

CHET I.; BAKER R. Isolation and biocontrol potencial of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, St Paul, v.71, n.3, p.286-290, 1981.

CORREA, F. et al. *Rice stripe necrosis virus*: identification of resistance sources to the RSNV (crinkling or entorchamiento) under greenhouse inoculations. Evaluation of wild species and progenies. Development of evaluation methods. Output 2. Characterising Rice Pests and the Genetics of Resistance. Centro Internacional de Agricultura Tropical Annual Report for 2001. Cali, Colombia: CIAT, 2002. p.162-166.

COUNCE, P. A.; KEISLING, T. C.; MITCHELL, A. J. A uniform, objective, and adaptive system for expressing rice development. **Crop Science**, Athens, v.40, n.2, p.436-443, 2000.

CUBETA, M. A.; VILGALYS, R. Population biology of the *Rhizoctonia solani* complex. **Phytopathology**, St. Paul, v.87, n.4, p.480-484, 1997.

CÚNDOM, M. et al. Actividad antagonica *in vitro* de *Trichoderma* sp., contra *Rhizoctonia solani* patógeno del arroz. In: REUNIÓN DE COMUNICACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS, 13., 2002, Corrientes. **Resumos ...** Corrientes: UNNE, 2002. Não paginada.

D'AMBRA, V.; MUTTO, S. Parasitism of *Trichoderma harzianum* on cystosori of *Polymyxa betae*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.115, p.61-71, 1986.

DODE, L. B.; RIBEIRO, A. S. Resistência de arroz à queima das bainhas (*Rhizoctonia solani* Kühn). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.1, n.2, p.87-90, 1995.

EASTBURN, D. M., BUTLER, E. E. Effects of soil moisture and temperature on the saprophytic ability of *Trichoderma harzianum*. **Mycologia**, Lawrence, v.83, n.1, p.257-263, 1991.

ELAD, Y. et al. *Trichoderma harzianum*: a biocontrol effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, St. Paul, v.70, n.2, p.119-121, 1980.

ELAD, Y. et al. Prevention with *Trichoderma harzianum* Rifai aggr. of reinfestation by *Sclerotium rolfsii* Sacc. and *Rhizoctonia solani*. **Crop Protection**, Oxford, v.1, n.2, p.199-211, 1982.

FAO. **Internacional Rice Commission**. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: jul. 2003.

FEDEARROZ. **Guia de reconocimiento y manejo de las principales enfermedades del arroz**. Colômbia, 2000. p. 21-29.

GOMES, A. S.; PAULETTO, E. A.; SOUSA, R. O. Manejo da água em arroz irrigado. In: PESKE, S. T.; NEDEL, J. L.; BARROS, A. C. S. A. (Ed.) **Produção de arroz irrigado**. Pelotas: Universitária, 1998. p.99-126.

GRIST, D. H. **Rice**. 4. ed. London: Longman, 1965. 548p.

GUNNELL, P. S.; WEBSTER, R. K. Aggregate sheath spot of rice in California. **Plant Disease**, St. Paul, v.68, n.6, p.529-531, 1984.

HADAR, Y.; CHET, I.; HENIS, Y. Biological control of *Rhizoctonia solani* damping-off with wheat bran culture of *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**, St. Paul, v.69, n.1, p.64-68, 1979.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol – Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, St. Paul, v.84, n.4, p.377-393, 2000.

HARMAN, G. E.; TAYLOR, A. G. Improved seedling performance by integration of biological control agents at favorable pH levels with solid matrix priming. **Phytopathology**, St. Paul, v.78, n.5, p.520-525, 1988.

HARMAN, G. E.; CHET, I.; BAKER, R. *Trichoderma hamatum* effects on seed and seedling disease induced in radish and pea by *Pythium* spp. or *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, St. Paul, v.70, n.12, p.1167-1172, 1980.

HARMAN, G. E.; CHET, I.; BAKER, R. Factors affecting *Trichoderma hamatum* applied to seeds as a biocontrol agent. **Phytopathology**, St. Paul, v.71, n.5, p.569-572, 1981.

HENIS, Y.; GHAFAR, A.; BAKER, R. Integrated control of *Rhizoctonia solani* damping-off of radish: effect of successive plantings, PCNB and *Trichoderma harzianum* on pathogen and disease. **Phytopathology**, St. Paul, v.68, n.6, p.900-907, 1978.

HUBBARD, J. P.; HARMAN, G. E.; HADAR, Y. Effect of soilborn *Pseudomonas* sp. on the biological control agent, *Trichoderma hamatum*, on pea seeds. **Phytopathology**, St. Paul, v.73, n.5, p.655-659, 1983.

IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: jul. 2003.

IMOLEHIN, E. D.; GROGAN, R. G.; DUNIWAY, J. M. Effect of temperature and moisture tension on growth, sclerotial production, germination and infection by *Sclerotinia minor*. **Phytopathology**, St. Paul, v.70, n.12, p.1153-1157, 1980.

IRGA. **Arroz Irrigado: Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil**. Porto Alegre, 2003a. 128p.

IRGA. **Arroz irrigado no RS**. Disponível em: <[www.irga.rs.gov.br](http://www.irga.rs.gov.br)>. Acesso em: ago. 2003b.

IRGA. **Manual de Procedimentos do Projeto 10**. Cachoeirinha, 2003c.

JOHNSON, L. F. et al. Isolation of *Trichoderma* sp. at low temperatures from Tennessee and Alaska soils. **Plant Disease**, St. Paul, v.71, n.2, p.137-140, 1987.

KANIUKA, K.; WARD, E.; ADAMS, M. J. *Polymyxa graminis* and the cereal viruses it transmits: a research challenge. **Molecular Plant Pathology**, [S. l.], v.4, n.5, p.393-406, 2003.

KLEIFELD, O.; CHET, I. *Trichoderma harzianum* – interaction with plants and effect on growth. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.144, n.2, p.267-272, 1992.

LANOISELET, V. L. et al. Potencial chemical and biological agents for the control of aggregate sheath spot and sheath spot of rice in south eastern Australia. In: CONFERENCIA INTERNACIONAL DE ARROZ DE CLIMA TEMPERADO, 3., 2003, [S. l.]. **Resumos ...** [S. l.], 2003. p.75.

LEGRÉVE, A. et al. Differences in temperature requirements between *Polymyxa* sp. of Indian origin and *Polymyxa graminis* and *Polymyxa betae* from temperate areas. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.104, n.2, p.195-205, 1998.

LIFSHITZ, R.; WINDHAM, M. T.; BAKER, R. Mechanism of biological control of preemergence damping-off of pea by seed treatment with *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, St. Paul, v.76, n.6, p.720-725, 1986.

LIU, S.; BAKER, R. Mechanism of biological control in soil suppressive to *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, St. Paul, v.70, n.5, p.404-412, 1980.

LOUVEL, D.; BIDAUX, J. M. Observation de nouveaux symptomes pathologiques sur dês varietes precoces de riz em Cote-d'Ivoire. **Agronomie Tropicale**, [S. l.], v.32, p.257-261, 1977.

LUZ, W. C. Ecologia da Esfermosfera. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.) **Ecologia Microbiana**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1998. p.167-183.

MACIEL, J. L.N. et al. Ocorrência do vírus RSNV (*Rice stripe necrosis virus*) em lavouras de arroz do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO DA CADEIA PRODUTIVA DE ARROZ, 2002, Florianópolis. **Resumos ...** Florianópolis, 2002. p.491-492.

MARTINS, M. P.; MELO, I. S. Efeito de *Trichoderma konigii* e *T. viride* na germinação e no desenvolvimento de berinjela (*Solanum melongena* L.). **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.15, suplemento, p.37, 1989. Trabalho apresentado no 12º Congresso Paulista de Fitopatologia, Araras, SP, 1989.

MATSUMURA, A. T. S. et al. *Trichoderma* sp. como promotor de crescimento de plântulas de fumo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, suplemento, p.354, 2003. Trabalho apresentado no 36º Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Uberlândia, MG, 2003.

MELO, I. S. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* sp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. (Org.) **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. p.7-23.

MELO, I. S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de planta. In: LUZ, W. C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 4, p.261-295, 1996.

MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S. de.; AZEVEDO, J.L. de. **Controle biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998.

MELO, I. S.; FAULL, J. L. Parasitism of *Rhizoctonia solani* by strains of *Trichoderma* sp. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, n.1, 2000. Disponível em: <<http://www.scielo.br>>. Acesso em: 15 jul. 2004.

MISRA, J. K. et al. Fungal Pathogens. In: MEW, T. W.; MISRA, J. K. (Ed.) **A manual of rice seed health test**. Manila: IRRI, 1994. p. 75-89.

MORALES, F. J. et al. 'Entorchamiento': una nueva enfermedad vira del arroz en Colombia. **Ascolfi Informa**, Cali, v.21, p.52-54. 1995.

MORALES, F. J. et al. Emergence and partial characterization of rice stripe necrosis virus and its fungus vector in South America. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.105, n.7, p.643-650. 1999.

MORALES, F. J. El entorchamiento del arroz: un modelo para el manejo integrado de enfermedades virales. **Foro Arrocerero Latinoamericano**, Cali, v.7, n.1, p.12-15, 2001.

OLIVEIRA, G. G. et al. Avaliação do efeito de *Trichoderma viride* no aumento do poder germinativo de sementes de *Pterocaulon polystachyum*. In: REUNIÃO DE CONTROLE BIOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS, 8., 2003, Ilhéus. **Resumos ...** Ilhéus: CEPLAC, 2003. p.110-111.

OU, S. H. **Rice Diseases**. London: Eastern Press, 1972. 368 p.

PAPAVIZAS, G. C. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potencial for biocontrol. **Annual Review Phytopathology**, St. Paul, v.53, p.23-54, 1985.

PARDO, F.; MUÑOZ, D. Agente causal del entorchamiento en el cultivo del arroz en los Llanos Orientales. **Arroz**, Bogotá, v.43, p.16-22, 1994.

PAULITZ, T. C. Virulence of *Rhizoctonia oryzae* on wheat and barley cultivars from the Pacific Northwest. **Plant Disease**, St. Paul, v.87, n.1, p.51-55, 2003.

POTAFOS. **Como a planta de arroz se desenvolve**. Disponível em: <[www.potafos.org](http://www.potafos.org)>. Acesso em: ago. 2003.

RIBEIRO, A. S. et al. Controle biológico de doenças fúngicas de arroz irrigado:1989-92. In: REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 20., 1993, Pelotas. **Resumos ...** Pelotas: EMBRAPA-CPACT, 1993. p.182-184.

RIBEIRO, A. S.; MENEZES, A. D. Controle biológico das doenças de arroz irrigado: 1993-95. In: REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 21., 1995, Porto Alegre. **Resumos ...** Porto Alegre: IRGA, 1995. p.191-193

RIBEIRO, A. S.; SPERANDIO, C. A. Controle de doenças na cultura do arroz irrigado. In: PESKE, S. T.; NEDEL, J. L.; BARROS, A. C. S. A. (Ed.) **Produção de arroz irrigado**. Pelotas: Universitária, 1998. p.301-349.

RODRIGUEZ, I.; ARCIA, A. Influencia de diferentes concentraciones de conidios de *Trichoderma* sp. en el control de *Sclerotium rolfsii*. **Fitopatologia Venezolana**, Maracay, v.6, n.2, p.42, 1993. Trabalho apresentado no 13° Congreso Venezolano de Fitopatologia, San Cristóbal, 1993.

RODRIGUEZ, H. A. et al. Alternativas para controlar el añublo de la vaina causado por *Rhizoctonia solani* en arroz. **Fitopatologia Venezolana**, Maracay, v.12, n.1, p. 18-21, 1999.

RODRIGUEZ, H. A. et al. Control químico del añublo de la vaina causado por *Rhizoctonia solani* Kühn en arroz. **Bioagro**, Barquisimeto, v.13, n.1, p.32-38, 2001.

ROIGER D. J.; JEFFERS S. N.; CALDWELL R. W. Ocurrence of *Trichoderma* species in apple orchard and woodland soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Britain, v.43, n.4, p.353-359, 1991.

RUSH, C. M. Ecology and epidemiology of *Benyviruses* and plasmodiophorid vectors. **Annual Review of Phytopathology**, St.Paul, v.41, p.567-592, 2003.

RYKER, T. C.; GOOCH, F. S. *Rhizoctonia* sheath spot of rice. **Phytopathology**, St. Paul, v.28, n.4, p.233-246, 1938.

SALGADO, C. H. G. et al. Efecto de la aplicacion de *Trichoderma harzianum* R. sobre la composicion cuantitativa de bacterias, hongos y actinomicetos de la rizosfera de solanaceas y su influencia en el crecimiento vegetativo. **Investigaciones Agropecuarias: Produccion Produto Vegetal**, Bayamo, v.14, n.1-2, 1999.

SNEH, B. et al. **Identification of *Rhizoctonia* species**. St. Paul: APS Press, 1991. 133p.

SOUZA, E. C. et al. Caracterização citomorfológica, cultural, molecular e patogênica de *Rhizoctonia solani* Kühn associado ao arroz no estado do Tocantins. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, suplemento, p.264, 2004. Trabalho apresentado no 37º Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Gramado, RS, 2004.

ULACIO, D. et al. Viabilidad de *Rhizoctonia solani* Kuhn AG1-IA bajo condiciones de inundación. I. micoflora asociada al patógeno en tejido de *Oryza sativa*. **Bioagro**, Barquisimeto, v.10, n.2, p.40-47, 1998.

WEBSTER, R. K.; GUNNELL, P. S. **Compendium of Rice Diseases**. Davis: APS Press, 1992. 62p.

WEILER, C. A. **A interação Fumo-*Trichoderma* sp. no sistema *floating* de produção de mudas**. 2004. 42 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

WINDHAM, M. T. et al. A Mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* sp. **Phytopathology**, St. Paul, v.76, n.5, p.518-521, 1986.

## **7. APÊNDICES**

APÊNDICE 1. Análise química das amostras de solo das áreas com histórico de queima das bainhas e enrolamento do arroz. Dona Francisca e Agudo, RS, UFRGS/IRGA. 2003.

Amostra	Argila (%)	pH – Água	Índice SMP	P (mg.L <sup>-1</sup> )	K (mg.L <sup>-1</sup> )	% M.O. (m.v <sup>-1</sup> )	AL (cmolc.L <sup>-1</sup> )	Ca (cmolc.L <sup>-1</sup> )	Mg (cmolc.L <sup>-1</sup> )
1	12	5,1	6,5	16,3	32	1,1	0,2	2,5	0,6
2	26	5,5	6,4	6,0	27	1,4	0,1	9,5	3,1

Amostra	H <sup>+</sup> Al	CTC (cmolc.L <sup>-1</sup> )	Saturação (%)		Relações			
			Al	Bases	Ca/ Mg	Ca/K	Mg/K	K/Ca+Mg
1	1,4	3,4	5,9	94,1	4,2	30,5	7,3	0,03
2	1,5	12,8	0,8	99,2	3,1	137,6	44,9	0,01