
Isolamento e seleção de *Trichoderma* spp. antagonistas à *Pestalotiopsis clavispora*, patógeno da noqueira-pecã

Isolation and selection of antagonists *Trichoderma* spp. to *Pestalotiopsis clavispora*, pathogen of pecan-trees

SILVA, Franquiéle Bonilha da¹; SILVA, Francislene Junia Telles da²; FERNANDES, Fernando da Silva³; LEAL, Leonardo Viedo⁴; POLETO, Igor⁵

1 Graduando em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel, São Gabriel/RS - Brasil, franquiele_bonilha@yahoo.com.br. 2 Graduando em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel, São Gabriel/RS - Brasil, juniatelles@gmail.com; 3 Graduando em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel, São Gabriel/RS - Brasil, fernandofernandesczs@hotmail.com; 4 Graduando em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel, São Gabriel/RS - Brasil,leonardo-viedo@hotmail.com; 5 Engenheiro Florestal, Prof. Dr. da Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel-RS, Brasil, igorpoletto@unipampa.edu.br.

RESUMO: O Rio Grande do Sul é o maior produtor de noqueira-pecã (*Carya illinoensis*) do Brasil, e essa cultura contribui significativamente para o aumento da renda, principalmente em pequenas propriedades rurais, no entanto, algumas doenças limitam a sua produção e, uma das principais é a mancha-foliar causada por *Pestalotiopsis clavispora* (G.F. Atk.) Steyaert. O objetivo deste trabalho foi testar a eficiência de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *P. clavispora*. Para isso, foram coletadas folhas de noqueira-pecã em vários locais do Rio Grande do Sul e isoladas 12 colônias de *Trichoderma* spp. a partir das folhas. Além disso, 15 isolados de *Trichoderma* spp. foram obtidos na micoteca do Laboratório de Fitopatologia do DFS - UFSM. Todos os isolados foram confrontados *in vitro* com dois isolados de *P. clavispora* comprovadamente patogênicos. Observou-se que todos os isolados de *Trichoderma* apresentaram poder antagonístico em confronto com os dois isolados de *P. clavispora*, havendo uma variação de resistência ao antagonista entre os dois isolados do patógeno.

PALAVRAS-CHAVE: controle biológico, manejo de doenças, proteção florestal

ABSTRACT: The Rio Grande do Sul state is the largest producer of walnut-pecan (*Carya illinoensis*) in Brazil, and this crop contributed significantly to the increase of the income, mainly in small farms, however, some diseases limit their production, and the leaf-spot (*Pestalotiopsis clavispora* (GF Atk.) Steyaert) is the mainly. The objective of this work was to test the efficiency of different isolated of *Trichoderma* spp. in the control of *P. clavispora*. For that, leaves were collected of pecan-trees in several places of Rio Grande do Sul state and 12 colonies of *Trichoderma* spp. were isolated of the leaves. In addition, 15 *Trichoderma* spp. colonies were obtained from the Fungal Culture Collection of the Phytopathology Laboratory of DFS - UFSM. All of them were confronted, *in vitro*, with two pathogenic isolates of *P. clavispora*. It was observed that all the *Trichoderma* spp. isolates had antagonistic efficiency in confrontation with the two isolates of *P. clavispora*, having a resistance variation between two antagonist pathogen isolates..

KEY WORDS: biological control, disease management, forest protection.

Correspondências para: franquiele_bonilha@yahoo.com.br

Aceito para publicação em 16/07/2013

Introdução

O estado do Rio Grande do Sul há mais de meio século cultiva a noqueira-pecã (*Carya illinoensis*). Pomares domésticos da espécie encontram-se distribuídos por todo o estado e os plantios comerciais com maiores extensões de área plantada, encontram-se principalmente nas regiões do Vale do Taquarí, Rio Pardo e Centro do estado. No entanto, o cultivo desta espécie ficou desacreditado por algumas décadas e muitos povoamentos ficaram abandonados. O abandono destes contribuiu para o surgimento de pragas e, principalmente, doenças foliares. Porém, nos últimos cinco anos o plantio da espécie para fins comerciais tem se intensificado por parte dos produtores rurais e empresários, incentivados pelo preço pago pelo fruto, tornando-se umas das culturas mais lucrativas por área cultivada no estado. Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2011), a área plantada no Rio Grande do Sul, em 2011, foi de 1398 hectares. Outros estados brasileiros também são produtores de nozes, porém, em menor escala.

Algumas doenças de importância para a noqueira-pecã no Brasil, são descritas por Ortiz e Camargo (2005). Entre elas citamos a **sarna**, causada pelo fungo *Cladosporium caryigenum*, principal doença que ataca tecidos jovens em crescimento tais como folhas, pecíolo, epicarpo dos frutos e amentos; a **antracnose**, causada pelo fungo *Glomerella cingulata*, forma sexuada de *Colletotrichum gloeosporioides*, o qual manifesta-se na forma de lesões deprimidas, circulares e escuras no fruto, resultando na diminuição do tamanho da amêndoa, abscisão do fruto e a soltura do epicarpo da casca da noz; e a **fumagina**, causada pelo fungo não parasita *Capnodium* sp., associada ao ataque de pulgões, caracterizada pela formação de uma manta micelial escura e espessa que recobre as folhas, mas que pode ocorrer também sobre ramos e frutos, causando bloqueio físico da luz com conseqüente redução da

fotossíntese. Além das doenças citadas pelos autores, destacamos a mancha-foliar causada pelo fungo *Pestalotiopsis clavispora*.

Embora não existam dados oficiais, relatos de produtores e técnicos da Associação Rio-Grandense de Empreendimentos de Assistência Técnica e Extensão Rural (EMATER - RS) estimam prejuízos em torno de 50%, em média, nos pomares afetados e, dependendo das condições climáticas, este valor pode ser ainda maior. Em condições de campo, a mancha-foliar se manifesta na forma de manchas de coloração escura, que evoluem para a queda das folhas e, conseqüentemente, na diminuição da produção de frutos. Eventualmente ocorrem manchas nos frutos proporcionando sua queda. Além de plantas adultas, a doença afeta mudas no viveiro ocasionando queda das folhas e conseqüente diminuição de seu crescimento. Assim, mudas contaminadas podem transmitir o patógeno para áreas livres da doença. No campo, os sintomas surgem a partir do mês de janeiro sendo o período de maior incidência o mês de março (LAZAROTTO et al., 2012).

O combate à doenças através de agrotóxicos tem, reconhecidamente, promovido diversos problemas ao meio ambiente. Em função disso, os centros de pesquisa relacionados ao tema buscam realizar o controle das doenças evitando a utilização de agrotóxicos, tentando utilizar tratamentos baseados no manejo integrado como, por exemplo, o emprego de medidas silviculturais, a seleção de genótipos resistentes e, principalmente, o controle biológico, com a seleção de agentes com potencial antagonista ao patógeno sem causar danos ao hospedeiro.

As principais vantagens do controle biológico de doenças de plantas, principalmente com a utilização do fungo *Trichoderma* spp., pautam-se na não toxicidade dos produtos usados, tanto para quem os manipula, como para o meio ambiente. Além disso, os custos totais destes produtos são

Isolamento e seleção de *Trichoderma* spp.

geralmente menores, e uma vez aplicados, permanecem no ambiente mesmo na ausência do patógeno, reduzindo a necessidade de aplicações. O controle biológico baseia-se na relação antagonista entre microrganismos e fitopatógenos e se caracteriza por diferentes modos de atuação do antagonista como a antibiose, a predação, a indução de resistência da planta hospedeira, o micoparasitismo, a produção de enzimas e toxinas, a colonização sistêmica da planta hospedeira, a competição por nutrientes e sítios de colonização e a liberação de enzimas hidrolíticas que atuam na degradação da parede celular do patógeno (BETTIOL, 1991).

De acordo com Benítez et al. (2004), o sucesso de variedades de *Trichoderma* no controle biológico é devido à sua alta capacidade de reprodução, habilidade de sobreviver em condições desfavoráveis, eficiência na utilização de nutrientes, capacidade de modificar a rizosfera, ser fortemente agressivo a fungos fitopatogênicos e estimularem o crescimento das plantas e ativando seus mecanismos de defesa. A literatura disponível enfatiza que os fungos desse gênero possuem amplas possibilidades para aplicação, tanto no biocontrole de patógenos foliares, quanto no de patógenos radiculares (LOUZADA, 2009). Dados da literatura apontam sucesso na aplicação de *Trichoderma* spp. no filoplano. MARTINS et al., (2007) estudaram a aplicação de *Trichoderma* spp. em folhas de maracujazeiro-amarelo e obtiveram efeito significativo no controle da antracnose, uma das principais doenças da cultura. Para a agricultura, além do controle de patógenos, o *Trichoderma* spp. pode oferecer várias vantagens como: decomposição de matéria orgânica, competição da microflora através da colonização da rizosfera e melhoria da sanidade e crescimento das plantas.

O presente trabalho teve por objetivo verificar *in vitro*, a eficiência de *Trichoderma* spp. como

controlador biológico de *Pestalotiopsis clavispora* e selecionar isolados nativos de *Trichoderma* spp. presentes nas folhas de nogueira-pecã antagonistas à este patógeno

Material e métodos

Seleção de *Trichoderma* spp. antagonistas à *Pestalotiopsis clavispora*

Para os ensaios experimentais foram utilizados 15 isolados de *Trichoderma* spp. provenientes de plantas de erva-mate, como folhas, sementes, raízes e frutos, e também do substrato (comercial) em viveiro e solo em meio à povoamentos de erva-mate, todos obtidos em 2010, por ocasião de outro trabalho científico (POLETTTO, 2010) e, depositados na micoteca do Laboratório de Fitopatologia Elocy Minussi da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Também foram obtidos nesta micoteca dois isolados de *Pestalotiopsis clavispora* (denominados Pes e Pes4) oriundos de folhas de nogueira-pecã colonizadas (coletados em pomares em Santa Maria - RS) e comprovadamente patogênicos (LAZAROTTO et al., 2012). Cada isolado de *P. clavispora* foi confrontado com os 15 isolados de *Trichoderma* spp.

Para a seleção de *Trichoderma* spp. antagonistas à *P. clavispora*, foi utilizado o teste de pareamento de culturas. Os experimentos foram instalados no laboratório de biologia da Universidade Federal do Pampa, campus São Gabriel - RS. Um disco de meio de cultura de batata-dextrose-ágar (BDA; 200 g batata, 20 g dextrose, 20 g Agar e 1000 mL de água destilada) (10 mm de diâmetro) contendo micélio do patógeno foi transferido para outras placas de Petri contendo BDA (15 ml por placa), a uma distância de 0,5 cm do bordo. As placas foram incubadas por 48 h a temperatura de 24 °C, com fotoperíodo de 12 h. Após esse período, foi colocado um disco de meio de cultura (10 mm de diâmetro) contendo micélio

de *Trichoderma* spp. na outra extremidade da placa (ETHUR, 2007) e incubadas em câmara de crescimento a 24 °C, com fotoperíodo de 12 h, por sete dias. Cada confronto teve quatro placas (repetições). Além dos tratamentos, foram confeccionados tratamentos testemunha, somente com *P. clavispora* para comparar os resultados de crescimento com os demais tratamentos.

Para obtenção dos discos de meio de cultura com os fungos, os isolados foram cultivados em placas de Petri com meio de cultura BDA, incubados a 24 °C com fotoperíodo de 12 h por 10 dias. Os discos foram retirados da parte central da colônia.

Para avaliação dos testes de pareamento de culturas foi utilizado o modelo de notas de Bell et al. (1982), adaptado por Rodrigues (2010), atribuindo notas que variam de 1 (para a melhor nota, quando o potencial antagonista se sobrepõe totalmente sobre o patógeno, indicando 100% de poder antagônico) a 7 (para a pior nota, quando o patógeno se sobrepõe sobre o potencial antagonista). Outras características, como agressividade do antagonista e produção de metabólitos no meio de cultura também foram avaliadas de forma qualitativa. De acordo com as notas, os isolados foram classificados da seguinte forma: notas até 1,50 foram classificados como muito eficientes; 1,51 até 2,50 eficientes; 2,51 até 4,00 pouco eficientes; e acima de 4,00 ineficientes.

Buscando uma melhor uniformidade nas avaliações, foi utilizado um gabarito com escalas de notas sob o fundo das placas, possibilitando a atribuição das notas conforme o crescimento das colônias.

Isolamento de *Trichoderma* spp. das folhas de noqueira-pecã com potencial para controle biológico

Para a seleção de *Trichoderma* spp. das folhas de noqueira-pecã com potencial para controle

biológico de *P. clavispora*, foram coletadas folhas da copa de árvores adultas e também folhas caídas no chão em municípios produtores de nozes no Rio Grande do Sul: Santa Maria (em dois locais), São Gabriel (um local) e Anta Gorda (em quatro locais), totalizando 7 diferentes locais. A coleta foi realizada nos meses de março e abril.

As folhas coletadas foram armazenadas em sacos plásticos estéreis, vedados, identificados de acordo com o local de coleta e a posição da árvore e, imediatamente enviados ao laboratório de biologia da Universidade Federal do Pampa, campus São Gabriel – RS, onde permaneceram armazenadas em refrigerador (± 4 °C) até sua análise.

Inicialmente, cinco folhas de cada amostra (local de coleta) foram processadas em liquidificador juntamente com 500 ml de água destilada. A solução obtida foi filtrada e foi retirada uma alíquota da suspensão que foi depositada em quatro placas de Petri (0,5 mL placa⁻¹) contendo meio BDA, suplementado com 4,0 mg de estreptomicina (concentração de 70%) para cada 100 mL de meio. As placas foram mantidas em câmara de crescimento por seis dias a 24 °C (± 2 °C), com fotoperíodo de 12 horas e, após esse período, os fungos presentes foram identificados, em nível de gênero, pelas observações das placas diretamente no microscópio estereoscópico e com confecção de lâminas para observação em microscópio óptico, com base na bibliografia especializada (BARNETT e HUNTER, 1999). As colônias de *Trichoderma* spp. foram isoladas e purificadas de acordo com a metodologia descrita por Fernandes (1993) e, em seguida, repicadas para tubos de ensaio contendo meio de cultura BDA, devidamente identificados e armazenados. Em seguida, todos os isolados de *Trichoderma* spp. foram confrontados com *P. clavispora* conforme descrito no item anterior.

Procedimento estatístico

As notas obtidas nos testes de pareamento de culturas foram transformadas para Raiz (x+k) com $k = 0,5$, para aproximação da curva normal. A partir dos dados referentes ao teste de pareamento de culturas foi realizada a análise da variância e, nos casos de significância estatística, foi aplicada a comparação de médias pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. Para estas análises foi utilizado o software estatístico SASM-Agri 3.2.4 (ALTHAUS et al, 2001).

Resultados e discussão

Seleção de *Trichoderma* spp. antagonistas à *Pestalotiopsis clavispora*.

Os valores obtidos na análise da variância para os diferentes isolados de *Trichoderma*, confrontados com *P. clavispora* (Pes e Pes4) são apresentados na Tabela 1. Observa-se que o efeito dos tratamentos foi estatisticamente significativo e os coeficientes de variação apresentaram valores médios (7,5% para Pes e 6,39% para Pes4), que indicaram boa homogeneidade dos dados.

O teste de comparação de médias (Tabela 2) distinguiu os isolados em diferentes grupos. Quando *Trichoderma* spp. foi confrontado com Pes, todos foram eficazes ao impedir o desenvolvimento do patógeno. Dos 15 isolados, 13 (ND-ME, AR-OSD, AF-ME, AC-OSD T2, SRI, SP-SFE T1, JD,

AM-OSD, NS T1, LP T1, CG2 T1, AC T1 e SP-OSD T1) obtiveram média até 1,50, e foram considerados muito eficientes, seguidos pelos demais (DC-ME e LE T1) com médias variando de 1,75 a 2,25, considerados eficientes. As placas testemunhas (somente patógeno) apresentaram nota 7 em todas as repetições, crescendo por toda a placa, demonstrando assim, que o antagonista foi eficiente no controle *in vitro* desse patógeno.

Para o isolado Pes4, houve uma redução na eficiência dos isolados de *Trichoderma*. Nove dos 15 isolados (ND-ME, AR-OSD, SRI, SP-SFE T1, AM-OSD, NS T1, LP T1, CG2 T1 e JD), em confronto com Pes4, obtiveram média até 1,50, sendo considerados muito eficientes. Os isolados AC-OSD T2, DC-ME, AC T1 e SP-OSD T1 apresentaram médias de 2,51 até 4,00, sendo considerados pouco eficientes. Os isolados AF-ME e LE T1 foram considerados ineficientes.

Além disso, foram observadas características de agressividade do antagonista nos isolados JD e CG2 visualizadas através do elevado crescimento de esporódóquios (estrutura em forma de “árvore”, onde ocorre o crescimento de esporos) sobre o micélio do patógeno; e produção de metabólitos (AF-ME, AC-OSD T2, AC T1, AC T1), que foi verificada a partir da coloração amarelada do meio.

Resultados parecidos com o presente trabalho

Tabela 1: Análise de variância para as médias das notas aplicadas à eficiência antagonista de isolados *Trichoderma* depositados na Micoteca da UFSM confrontados *Pestalotia* (Pes e Pes4).

Causa de variação	Pes			Pes4		
	QM	Fc	Ft	QM	Fc	Ft
Blocos	0,0419	3,9	2,81	0,0416	3,72	2,81
Tratamentos	0,5855	54,4	1,89*	1,129	100,96	1,89*
Resíduo	0,0108			0,011		
CV%	7,5			6,39		

* Efeito significativo a 5% de probabilidade de erro. CV = Coeficiente de Variação.

Tabela 2: Comparação de médias das notas aplicadas à eficiência antagônica de isolados *Trichoderma* depositados na Micoteca da UFSM confrontados Pestalotia (Pes e Pes4) pelo teste de Scott-Knott.

Pes				Pes4			
Trat.	Média t	Média de notas	S-K 5%	Trat.	Média t	Média de notas	S-K 5%
Tri ND-ME	1,22	1,00	d	Tri ND-ME	1,22	1,00	f
Tri AR-OSD	1,22	1,00	d	Tri AR-OSD	1,22	1,00	f
Tri AF-ME	1,22	1,00	d	Tri SRI	1,22	1,00	f
Tri AC-OSD T2	1,22	1,00	d	Tri SP-SFE T1	1,22	1,00	f
Tri SRI	1,22	1,00	d	Tri AM-OSD	1,22	1,00	f
Tri SP-SFE T1	1,22	1,00	d	Tri NS T1	1,22	1,00	f
Tri JD	1,22	1,00	d	Tri LP T1	1,22	1,00	f
Tri AM-OSD	1,22	1,00	d	Tri CG2 T1	1,22	1,00	f
Tri NS T1	1,22	1,00	d	Tri JD	1,31	1,25	f
Tri LP T1	1,22	1,00	d	Tri AC-OSD T2	1,87	3,00	e
Tri CG2 T1	1,22	1,00	d	Tri DC-ME	1,93	3,25	e
Tri AC T1	1,4	1,50	c	Tri AC T1	2,00	3,50	e
Tri SP-OSD T1	1,4	1,50	c	Tri SP-OSD T1	2,12	4,00	d
Tri DC-ME	1,48	1,75	c	Tri AF-ME	2,28	4,75	c
Tri LE T1	1,65	2,25	b	Tri LE T1	2,44	5,50	b
Testemunha	2,74	7,00	a	Testemunha	2,74	7,00	a

Média t = média transformada. S-K(5%) = Scott-Knott a 5% de probabilidade.

foram encontrados por Carvalho Filho et al. (2008), que, utilizando o método de pareamento de culturas em meio BDA de 12 isolados de *Trichoderma* spp. contra *Cylindrocladium scoparium*, observaram que cinco destes apresentaram grau máximo (nota 1) na escala de Bell et al. (1982), reduzindo o crescimento de ambos isolados do patógeno e esporulando sobre toda a superfície das placas. Além disso, apenas um dos isolados não exerceu atividade antagônica contra os isolados do patógeno nos testes de pareamento de culturas, uma vez que estes avançaram sobre o mesmo e colonizaram a maior superfície do meio.

Outros resultados, obtidos por Almeida (2009),

também vêm ao encontro do presente trabalho. Ao avaliar o potencial antagônico de *Trichoderma viride* sobre fungos fitopatogênicos de fruteiras tropicais, os autores observaram crescimento micelial de *T. viride* em 90%, 80% e 75% da placa, reduzindo o desenvolvimento de *Colletotrichum* sp. (patógeno do cajueiro e da mangueira), de *Asperisporium caricae* (patógeno do mamoeiro) e de *Cercospora musae* (patógeno da bananeira) respectivamente.

Utilizando três isolados de *Trichoderma* sp. obtidos em diferentes tipos de solos, Lohmann et al. (2007) obtiveram redução de tombamento em soja causado por *Sclerotium rolfsii* de 25% para o

Isolamento e seleção de *Trichoderma* spp.

isolado I, 27,5% para o isolado II e 70% para o isolado III, mostrando-se eficazes no controle desse patógeno. Santos et al. (2007), após confrontarem 20 isolados de *Trichoderma* spp. de diferentes linhagens, com *Cylindrocladium* sp. advindo de viveiros de eucalipto no sul do Brasil, observaram que todos os isolados apresentaram alto poder antagônico, mas apenas três desses isolados tiveram poder antagônico próximo a 100%, sendo estes três selecionados para experimentos em casas de vegetação e a campo.

Seleção de *Trichoderma* spp. das folhas de nogueira-pecã com potencial para controle biológico de *Pestalotiopsis clavispora*.

Nos sete locais de coleta, além de *Trichoderma* spp. foram encontrados nas folhas de nogueira-pecã outros nove gêneros fúngicos: *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Nigrospora* sp., *Penicillium* sp., *Pestalotiopsis clavispora*, *Rhizopus* sp. e *Verticillium* sp., todos presentes em cada uma das amostras.

A literatura relata que alguns desses fungos são fitopatogênicos como *Fusarium* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Alternaria* sp. e *Cladosporium* sp., assim como, fungos com potencial antagônico, como *Penicillium* sp. e *Trichoderma* sp. Também foram encontrados *Aspergillus* sp. e *Verticillium* sp. que, de acordo com a literatura, são gêneros que possuem tanto espécies antagônicas como fitopatogênicas. Não foi objetivo deste estudo testar a eficiência de outros gêneros fúngicos, além do *Trichoderma*, como antagônicos a *Pestalotiopsis clavispora*, porém, novos estudos poderão ser realizados neste intuito.

Habitualmente, as folhas das plantas abrigam uma vasta variedade de fungos, sejam eles fitopatogênicos, antagônicos ou espontâneos, vivendo na superfície ou internamente às folhas, dando um caráter complexo ao controle das doenças foliares causadas por eles. Isso é

evidenciado por trabalhos já publicados na literatura, como o estudo realizado por Luz et al. (2006), que analisaram oito amostras de plantas aparentemente sadias de maracujazeiro-amarelo, e obtiveram 93 isolados de fungos endofíticos, sendo 45 destes nas folhas, cujos gêneros mais frequentes foram *Fusarium* e *Colletotrichum*. Em outro estudo, Souza et al. (2010), observaram que a colonização de *Colletotrichum dematium* e *Colletotrichum gloeosporioides* em 60 fragmentos de folhas de *Psidium araca*, conhecido popularmente como araçá-verdadeiro, é de 56% e 44% respectivamente.

Em trabalhos utilizando 100 folhas de erva-mate de plantios nativos e 100 folhas de plantios cultivados, Pimentel et al. (2006) isolaram 133 colônias de fungos endofíticos, dentre os quais, fungos patogênicos dos gêneros *Colletotrichum*, *Fusarium* e *Rhizoctonia*, assim como fungos com potencial antagônico como *Trichoderma* e *Verticillium*, encontrados principalmente nos plantios nativos, o que poderia explicar a menor quantidade de pragas e doenças em relação aos plantios cultivados.

No presente artigo, foi possível isolar das folhas de nogueira-pecã 11 colônias de *Trichoderma* das amostras de Anta Gorda, nove de São Gabriel e 22 de Santa Maria. Destas amostras, foram escolhidas 12 colônias distintas, denominadas: IvonirA e IldoA (oriundas de Anta Gorda); SMIIA, SMIIA-2, SMIIA*, SMIIA**, SMIA-2, SMIIA-3, SMIA-3, SMIA (oriundas de Santa Maria) e SGC e VID (oriundas de São Gabriel). A diferenciação das colônias foi em função da coloração e do crescimento da colônia e, pelas características morfológicas do micélio.

Na Tabela 3 estão apresentados os valores da análise da variância para os 12 isolados de *Trichoderma*, confrontados com os isolados de *P. clavispora*. Observa-se que o efeito dos tratamentos foi estatisticamente significativo. Os

Tabela 3: Análise de variância para a média de notas aplicadas à eficiência antagônica de *Trichoderma* isolados de folhas de nogueira-pecã, confrontados *Pestalotia* sp.

Causa da Variação	Pes			Pes4		
	QM	Fc	Ft	QM	Fc	Ft
Blocos	0,0504	2,87	2,87	0,0354	2,77	2,87
Tratamentos	0,7173	57,62	2,03*	0,7201	56,38	2,03
Resíduo	0,0124			0,0128		
CV%	7,86			7,96		

* Efeito significativo a 5% de probabilidade de erro. CV = Coeficiente de Variação.

coeficientes de variação apresentaram valores médios (7,86% para Pes e 7,96% para Pes4), indicando uma boa homogeneidade dos dados.

Na comparação dos tratamentos resultantes do confronto entre *Trichoderma* e o isolado Pes, o teste de Scott Knott separou as médias em três grupos (Tabela 4), enquanto que para o isolado Pes4 foram dois grupos. Para o isolado Pes, apenas o confronto com SMIA foi considerado

eficiente, e os demais confrontos foram classificados em muito eficientes. Nos confrontos com o isolado Pes4, nove dos 12 confrontos foram considerados muito eficientes, e os confrontos com IldoA, SMIA e SMIA** eficientes. O tratamento testemunha apresentou nota 7 em todas as repetições, mostrando que com a ausência do antagonista, o patógeno tem um crescimento “ótimo”, avançando sobre toda a placa.

Tabela 4: Comparação de médias das notas aplicadas à eficiência antagônica de isolados *Trichoderma* isolados de folhas de nogueira-pecã, confrontados *Pestalotia* (Pes e Pes4) pelo teste de Scott-Knott.

Trat.	Pes			Trat.	Pes4		
	Média t	Média de notas	S-K (5%)		Média t	Média de notas	S-K (5%)
Tri IvonirA	1,22	1,00	d	Tri IvonirA	1,22	1,00	c
Tri SMIA	1,22	1,00	d	Tri SMIA	1,22	1,00	c
Tri SMIA-2	1,22	1,00	d	Tri SMIA-3	1,22	1,00	c
Tri SMIA*	1,22	1,00	d	Tri SMIA-2	1,22	1,00	c
Tri SGC	1,22	1,00	d	Tri VID	1,22	1,00	c
Tri SMIA**	1,22	1,00	d	Tri SMIA*	1,22	1,00	c
Tri IldoA	1,22	1,00	d	Tri SGC	1,22	1,00	c
Tri SMIA-2	1,22	1,00	d	Tri SMIA-3	1,22	1,00	c
Tri SMIA-3	1,31	1,25	d	Tri SMIA-2	1,22	1,00	c
Tri VID	1,40	1,50	d	Tri IldoA	1,47	1,75	b
Tri SMIA-3	1,47	1,75	c	Tri SMIA**	1,55	2,00	b
Tri SMIA	1,73	2,50	b	Tri SMIA	1,61	2,25	b
Testemunhas	2,74	7,00	a	Testemunhas	2,74	7,00	a

Média t = média transformada. S-K(5%) = Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Isolamento e seleção de *Trichoderma* spp.

Estes resultados mostram que é possível obter isolados de *Trichoderma* das próprias folhas de nogueira-pecã, aumentando as chances de sucesso quando estes forem testados *in vivo*

Conclusões

Com base nos resultados obtidos no teste de pareamento de culturas e na seleção de fungos das folhas de nogueira-pecã, pode-se concluir que:

- A maioria dos isolados de *Trichoderma* apresentou alta capacidade antagônica.
- Houve variação na capacidade antagônica de *Trichoderma* em relação aos dois isolados de *P. clavispora*, havendo maior resistência do isolado Pes4 em relação ao isolado Pes.
- É possível obter isolados de *Trichoderma* spp. antagônicos à *P. clavispora* a partir das folhas da nogueira-pecã.

Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, W. K. D. da S. Antagonismo de *Trichoderma viride* sobre fungos fitopatogênicos, *Colletotrichum* spp., *Cercospora musae* e *Asperisporium caricae* em fruteiras tropicais. **Revista Brasileira de Agroecologia**. Porto Alegre, vol. 4, n. 2, p. 1374-1378, 2009.
- ALTHAUS, R. A.; CANTERI, M. G.; GIGLIOTI, E. A. Tecnologia da informação aplicada ao agronegócio e ciências ambientais: sistema para análise e separação de médias pelos métodos de Duncan, Tukey e Scott-Knott, Parte 1. In: ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 10., 2001, Ponta Grossa. **Anais...** Ponta Grossa, 2001. p. 280-281.
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 4. ed. Minnesota: American Phytopathology Society, 1999. 218 p.
- BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, v. 72, p. 379-382, 1982.
- BENÍTEZ T. et al. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v. 7, p. 249-260, 2004.
- BETTIOL, W. Controle biológico de doenças do filoplano. In: BETTIOL, W. (Org.). **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa-Cnpda, 1991b. 338 p. (Embrapa-Cnpda. Documentos, 15).
- CARVALHO FILHO, M. R. de. *Trichoderma* spp. como agentes de biocontrole de *Cylindrocladium scoparium* e como promotores de crescimento em mudas de eucalipto. 2008. 86 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2008.
- ETHUR, L. Z. Dinâmica populacional e ação de *Trichoderma* no controle de fusariose em mudas de tomateiro e pepineiro. 2006. 154 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.
- FERNANDES, M. R. **Manual para Laboratório de Fitopatologia**. Passo Fundo - RS: EMBRAPA - CNPT, 1993. 128 p.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **O Brasil estado por estado**. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=rs&tema=lavourapermanente2011>>. Acesso em: 28 de jan. de 2011.
- LAZAROTTO, M. et al. First report of *Pestalotiopsis clavispora* causing leaf-spots in *Carya illinoensis* in Brazil. **Plant Disease**, v. 96, n. 12, p. 1826. 2012.
- LOHMANN, T. R. et al. Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. para controle de *Sclerotium rolfsii* em soja. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v. 2, n. 2, p. 1665-1668. 2007.
- LOUZADA, G. A. S. et al. Potencial antagônico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes agroecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biota Neotropica**. v. 9, n. 3, p. 145-149. 2009.
- LUZ, J. S. et al. Atividade enzimática de fungos endofíticos e efeito na promoção do crescimento de mudas de maracujazeiro-amarelo. **Revista Caatinga**, v. 19, n. 2, p. 128-134, 2006.
- MARTINS, I. et al. **Potencial de *Trichoderma* spp. como agente de controle biológico da antracnose em maracujazeiro-amarelo**. Brasília: EMBRAPA, 2007. 17 p. (Documentos, 233)
- ORTIZ, E. R. N.; CAMARGO, L. E. A. Doenças da nogueira-pecan (*Carya illinoensis*). In: KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia: Doenças de plantas cultivadas**. 4. ed., São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2005. p. 501-505.
- PIMENTEL, I. C. et al. Fungos endofíticos em folhas de Erva-Mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). **Revista Floresta**, Curitiba - PR, v. 36, n. 1,

2006.

- POLETTI, I. Caracterização e manejo do patossistema erva-mate / podridão-de-raízes. 2010. 98 f. Tese (Doutorado em Engenharia florestal)- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, 2010.
- RODRIGUES, J. *Trichoderma* spp. associados a níveis de adubação NPK no patossistema *Sclerotinia sclerotiorum* - feijoeiro. 2010. 84 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.
- SANTOS, R. P. dos. et al. **Variabilidade entre isolados de *Trichoderma* spp. quanto à capacidade de inibir o crescimento de *Cylindrocladium* sp. em cultivo pareado.** Brasília: Embrapa recursos genéticos e Biotecnologia, 2007. 10 p. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 186).
- SOUZA, R. M. et al. Fungos endofíticos de *Psidium araca* Raddi e seu potencial antimicrobiano. **62ª Reunião Anual da SBPC**, 2010. Disponível em <<http://www.sbpcnet.org.br/livro/62ra/resumos/resumos/5832.htm>>. Acesso em 07 de junho de 2011.