

Efeito de *Trichoderma* no biocontrole de *Myrothecium roridum* e na germinação de sementes de melão e caracterização isoesterásica do antagonista.

Maria do Carmo Veloso MACHADO¹, Maria MENEZES²

RESUMO: Seis isolados de *Trichoderma*: *T. koningii* (T15); *T. harzianum* (25); *T. viride* (TR2, TM, TPET e TSM) aplicados individualmente e em mistura, dois a dois, foram testados no biocontrole de *M. roridum*, um novo patógeno causador de cancro na base da haste da planta e podridão de frutos de melão. A ação dos antagonistas foi avaliada através do tratamento de sementes por via úmida, empregando-se uma suspensão de esporos pelo método de aspersão e imersão. As avaliações foram efetuadas no 7º dia de incubação, sendo calculada o efeito de *Trichoderma* sobre a inibição do crescimento de *M. roridum*, bem como observado a influência desses tratamentos sobre a germinação das sementes. De um modo geral, o efeito dos isolados de *Trichoderma* individualmente foi melhor na redução do crescimento de *M. roridum* do que a mistura dos isolados nos dois métodos aplicados. Os tratamentos por via úmida em ação individual não afetaram a germinação, o que não ocorreu na combinação de *Trichoderma*, que apresentou germinação deficiente. A caracterização dos isolados, através da análise eletroforética, mostrou comportamento semelhante com relação ao número de bandas de esterase, intensidade e mobilidade relativa entre os isolados: TR2, TPET, TSM e T25. O isolado TM, embora previamente identificado como *T. viride* pela morfologia, mostrou ser diferente com três bandas de esterase, enquanto os demais houve predominância de duas bandas, exceto T15 que apresentou apenas uma banda de esterase.

Palavras-chave: *Cucumis melo*, melão-semente-controle biológico, *Trichoderma*, *Myrothecium roridum*, Eletroforese.

INTRODUÇÃO

O melão (*Cucumis melo* L.) originado da Ásia Tropical, tem sido cultivado em várias regiões do mundo. Seu fruto é uma baga carnuda variando muito de forma, cor, tamanho, espessura, sabor e aroma, onde essas características determinam a qualidade comercial dos vários tipos de melão. Têm propriedades estimulantes, diurética e laxativas (Gomes, 1982). Sendo economicamente importante devido a sua participação crescente na alimentação humana e animal. Segundo Tessarioli (1983), o melão é uma das frutas mais ricas em ácido ascórbico e de grande teor energético. Balbach e Boarim (1992) relatam, além do teor de vitamina C (ácido ascórbico), em torno de 27,90mg para cada 100g do fruto, encontram-se ainda no melão, as vitaminas A, B₁ (tiamina), B₂ (riboflavina), como também, proteínas, carboidratos e lipídios. É recomendado para reumatismo, prisão de ventre, infecções renais, do fígado, etc. Suas sementes servem para expulsar a tênia, quando mastigada pela manhã, em jejum, servindo ainda para inflamações do fígado, estômago e do baço.

No Nordeste, o melão vem ocupando posição de destaque, principalmente na região de Petrolina-PE, devido ao clima favorável à

cultura, tornando-se um produto de exportação e portanto fonte de divisas para o país.

Ao lado de sua importância medicinal e econômica, o melão está vulnerável a várias doenças em todas as fases de seu ciclo de vida, podendo causar grandes prejuízos, se o controle adequado não for executado. Dentre as doenças, um novo patógeno causando cancro na base do caule, identificado como *Myrothecium roridum*, foi isolado de plantas de melão, procedentes do Rio Grande do Norte. *M. roridum* tem sido objeto de estudos de vários pesquisadores sendo relatado como patógeno de diferentes culturas como: caupi, soja, cucurbitacea, quiabo, beringela, algodão, (Fitton e Holliday, 1970), tomate (Stevenson e McColloch, 1947), café (Urhan, 1953); arroz (Almeida, Kaster e Albuquerque, 1980); trevo vermelho e alfafa (Leath e Kendall, 1983); gardenia (Fergus, 1957 e Barret, 1941). Preston (1961) incluiu outros hospedeiros, tais como, mamoeiro violeta, alface, ervilha, batata, etc. No Texas, Mclean e Sleeth (1961) associaram *M. roridum* com podridão de frutos de melão cantaloupe (*Cucumis melo* L. var. *reticulatus* Naud). Segundo Cardoso e Pitta (1982), *Aphelandra squarrosa* Nees apareceu como novo hospedeiro de *M. roridum* encontrado em folhas, como manchas aquosas com coloração marrom escura, forma irregular,

¹ Bolsista do PIBIC-CNPq.

² Prof. Adjunto do Depto. de Agronomia da UFRPE. Pesquisadora do CNPq

sementes, estas foram postas para secar sobre papel toalha e submetidas aos tratamentos descritos acima. Então foram plaqueadas em placas de Petri sobre papel de filtro esterilizado e umedecido com 5ml de ADE perfazendo 10 sementes por placa com três repetições por tratamento, totalizando 1.320 sementes com *Trichoderma* individualmente.

Aplicação da mistura de *Trichoderma* nas sementes, por via úmida

A ação combinada dos isolados de *Trichoderma* seguiu o mesmo esquema de tratamento dos isolados individuais. Foram efetuadas 15 misturas: T15xTR2; T15xTSM; T15xTPET; T15xTM; T15xT25; TR2xTSM; TR2xTPET; TR2xTM; TR2xT25; TSMxTPET; TSMxTM; TSMxT25; TPETxTM; TPETxT25 e TMxT25, sendo utilizadas 3.330 sementes ao todo. O período de incubação das sementes foi de sete dias em regime de alternância luminosa, temperatura 25°C e umidade relativa do ar em torno de 60%.

A avaliação consistiu na contagem de sementes germinadas e não germinadas, determinando-se a percentagem de germinação e observando-se o desenvolvimento radicular e parte aérea. Com auxílio de uma lupa estereoscópica fez-se a contagem das sementes com *M. roridum* e com os isolados de *Trichoderma*. Com os dados obtidos foi calculada a percentagem de inibição de *M. roridum* empregando-se a fórmula de Edington, Khew e Barron (1971), assim adaptada: $I(\%) = (M_{test} - M_{trat})/M_{test} \times 100$. Onde: M_{test} = crescimento de *M. roridum* nas sementes sem *Trichoderma*; M_{trat} = crescimento de *M. roridum* nas sementes tratadas com *Trichoderma*.

Em ambos os experimentos envolvendo *Trichoderma* individual e em mistura, o delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado, com três repetições.

Caracterização dos isolados individuais de *Trichoderma* através da análise eletroforética de isoesterase

Inicialmente, os isolados individuais de *Trichoderma* (TR2, T25, TPET, TM, T15 E TSM) foram cultivados em Erlenmeyers contendo 100ml de meio líquido BD. Com seis dias de idade, o micélio foi filtrado, lavado com ADE e seco à temperatura ambiente. Do micélio seco de cada isolado, foi pesado 1,23g, onde cada um foi triturado isoladamente em almofariz, mantido em banho de gelo com 1,5ml de tampão tris-glicina a 0,125M, pH 8,2, ao qual foram adicionados 300mg de sacarose

e 300mg de polivinilpirrolidona (PVP). Após o processo, as amostras foram mantidas a 4°C, por um período de 4h, sendo depois filtradas com gaze obtendo-se então o extrato proteico.

Para a análise eletroforética dos isolados de *Trichoderma* foi utilizada uma placa de gel de poli(acrilamida a 5% de AA/BIS (acrilamida e bisacrilamida)). O preparo do gel consistiu na dissolução de acrilamida e bis acrilamida na solução tampão de tris-glicina. À mistura foram adicionados 0,1ml de TEMED (tetrametil-diamina) e 0,2ml de persulfato de amônia a 1%. Com auxílio de um bécker, a mistura foi introduzida entre as placas, separadas por meio de um espaçador de 2mm de espessura. Completada a polimerização do gel de poli(acrilamida foram removidos a placa superior e o espaçador, permanecendo o gel na placa inferior, onde foi colocada numa cuba horizontal contendo tampão tris-glicina a 0,125M, pH 8,2, como ponte de conexão foi usado "perfex". Com auxílio de micropipetas, 20µl dos extratos dos isolados de *Trichoderma* foram colocados em cada cavidade do gel. Então foi realizada a corrida eletroforética a 4°C, mantendo-se a corrente constante a 10 mA. O azul de bromofenol foi o corante marcador utilizado e a migração horizontal ocorreu num período de 4h.

Após a corrida, o gel foi retirado cuidadosamente da placa e sendo imerso por uma hora em uma solução corante para esterase, composta com tampão fosfato a 0,1 M, pH 6,5 (100ml), naftilacetato 1% (2ml) e fast blue RR (0,05g).

Para a secagem e preservação do gel, foi utilizada uma placa de vidro ajustada com papel celofane e sobre esta foi colocado o gel, sendo o mesmo coberto com outra folha de papel celofane, objetivando sua conservação posterior. A secagem do gel foi feita à temperatura ambiente, por 48h. Depois disso, o gel foi retirado da placa e o papel celofane excedente foi cortado e guardado para utilização posterior.

A interpretação do perfil eletroforético foi baseada no número e posição das bandas de esterase e intensidade da cor. A mobilidade relativa das bandas de esterase (R_f) foi calculada pela fórmula de Alfenas et al. (1991): $R_f = (d/D) \times 100$. Onde: R_f = mobilidade relativa de esterase; d = distância percorrida pela molécula; D = distância percorrida pela linha frontal do corante.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aplicação individual de *Trichoderma* nas sementes, por via úmida e seu efeito na inibição de *M. roridum* e na germinação.

Os resultados do efeito de *Trichoderma* na inibição de *M. roridum* quando aplicado às sementes de melão, individualmente, por via úmida, são apresentados na Figura 1. Em geral houve inibição de *M. roridum* em todos os tratamentos por aspersão e por imersão das sementes na suspensão de conídios de *Trichoderma*, em ação individual, ocorrendo variação quanto ao grau de inibição. O isolado T25 destacou-se como o mais eficiente reduzindo 100% o crescimento de *M. roridum* em todos os tratamentos. O melhor controle foi obtido quando as sementes foram tratadas por imersão na suspensão do antagonista, com exceção de T15. Os resultados foram superiores aos obtidos por Sivan, Chet e Zeidan(1985) no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, onde *T. harzianum*(T25) foi aplicado como cobertura de sementes de melão reduzindo em 75% os sintomas da doença.

Com relação ao período de aplicação, constatou-se que a aplicação dos antagonistas, 2h antes da inoculação com *M. roridum*, pareceu ser mais eficiente do que quando aplicados simultaneamente, principalmente, quando o método utilizado foi por imersão.

Quanto ao efeito dos tratamentos(aspersão e imersão) na germinação das sementes observa-se através da Figura 2, que de um modo geral, não houve influência no processo germinativo, quando comparado à testemunha absoluta, onde as sementes foram imersas em ADE e apresentaram 88,3% de germinação. Entretanto, quando o isolado TR2 foi aplicado por aspersão nos três períodos de tratamento, ocorreu inibição da germinação.

Em geral, as sementes germinadas apresentaram a radícula e caulículo bem desenvolvidos. Considerando-se Windham, Elad e Baker (1986), as espécies de *Trichoderma* podem estimular a germinação e crescimento de plantas. Este fato foi observado com relação ao processo germinativo, no tratamento por via úmida, principalmente envolvendo os isolados de *T. viride*: TPET(A2) e TSM(B1), onde apresentaram 100% de germinação.

Aplicação de mistura de *Trichoderma* nas sementes, por via úmida e seu efeito na inibição de *M. roridum* e na germinação.

Os dados sobre o efeito da mistura de *Trichoderma* na inibição de *M. roridum* quando aplicadas às sementes, por via úmida, são apresentados na Figura 3.

O método por aspersão foi o mais eficiente quanto a inibição do crescimento de *M. Roridum*, com a combinação TR2 x TM do tratamento B1(Sementes aspergidas com *Trichoderma* e em seguida, inoculadas com o fitopatógeno) que apresentou 90% de redução do fitopatógeno. Em alguns tratamentos não houve inibição de *M. roridum* e sim um estímulo ao seu crescimento, tais como nas combinações: T15 x T25(A1); TPET x T25(A1); TSMx TM(A1,A2); TPETx TM(B1); T15 x TM(B2); T15x TSM(A2); TR2x TPET(A2); TPET x T25(B2); TSM x TM(B2) e TSM x T25(B2).

Com relação ao efeito da mistura sobre a germinação das sementes de melão(Fig. 4) , foi observado que certas combinações de isolados de *Trichoderma* exerceram um efeito negativo, inibindo o processo germinativo. Talvez a falta de controle de *M. roridum*, tenha ocasionado a inibição da germinação, devido a sua ação patogênica a sementes de melão.

Era de se esperar que as combinações de isolados do antagonista exercessem um resultado superior, em relação a ação individual, no controle de *M. roridum*, o que em geral não ocorreu.

Neste caso, os resultados sugerem o emprego de *Trichoderma* individual como melhor tratamento das sementes de melão. Segundo Mukhopadhyay, Shrestha e Mukherjee(1992), o método mais econômico e mais efetivo de controle biológico é o de introduzir o antagonista com as sementes no solo. Isto permite o biocontrole de patógenos levados pelas sementes e daqueles habitantes do solo, principalmente se os antagonistas têm habilidade de produzir enzimas ou antibióticos prejudiciais ao fitopatógeno.

Caracterização dos isolados de *Trichoderma*, através de análise isoenzimática em gel de poliácridamida.

O resultados da análise eletroforética em gel de poliácridamida mostraram semelhança no padrão de esterase, quanto a intensidade e número de bandas apresentadas pelos isolados TR2, TPET, TSM, e T25, indicando uma base genética uniforme para esses isolados. As distâncias de migração relativas das bandas de esterase, também indicaram comportamento semelhante da atividade enzimática, conforme mostrado no zimograma(Figura 5).

que exibiu sobre o tecido infectado frutificações do tipo esporódoquio. Segundo Fergus(1957), *M. roridum* foi considerado saprófita sendo capaz de infectar plantas expostas a umidade excessiva e a temperaturas elevadas ou com ferimentos. Conforme relatado por Gees e Coffex(1989), *M. roridum* surge também como agente biocontrolador contra *Phytophthora cinnamomi*, provando ser o mais ativo antagonista no controle do agente causal da podridão da raiz do abacate.

Como fitopatógeno, *M. roridum* ocorre comumente causando manchas necróticas nas folhas, pecíolos, cancrios na base do caule, murcha e podridão de frutos. De acordo com Fitton e Holliday(1970), o patógeno apresenta uma ampla distribuição geográfica, tornando mais severo em regiões mais quentes. Contudo no Brasil a ocorrência de espécies de *Myrothecium* têm sido bastante restrita(Cardoso e Pitta, 1982). Considerando a ocorrência de *M. roridum* em melão no Nordeste (Silva et al., 1996, em fase de elaboração) e a evidência de sua disseminação através de sementes e procurando medidas alternativas de controle, o biológico surge como medida altamente promissora. Dos antagonistas estudados, algumas espécies do gênero *Trichoderma* têm se destacado devido suas características peculiares de antagonismos em condições naturais e, principalmente, no solo, e seus benefícios na redução de doenças causadas por fungos. Embora não tenha sido encontrado na literatura, trabalhos sobre o biocontrole de *M. roridum* com *Trichoderma*, há contudo referência de trabalhos realizados com espécies desse antagonista no biocontrole de diferentes fitopatógenos(Abdl-El-Moity e Shatla, 1981; Chet e Baker, 1981; Elad, Chet e Henis, 1981; Bell, Wells e Narkham, 1982; Blakeman e Fokkema, 1982; Elad, Chet e Boyle, 1983; Cook, 1985; Sivan, Chet e Zeidam, 1985; Sivan e Chet, 1986; Peixoto, 1992; além de outros), que serviram de alicerce para o desenvolvimento da presente pesquisa.

Portanto, o trabalho em tela teve como objetivo principal avaliar o efeito de *Trichoderma*, individual ou em mistura, no tratamento de sementes de melão, por via úmida, em condições de laboratório, como também caracterizar os isolados do antagonista através da análise eletroforética.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o controle biológico de *M. roridum* em sementes de melão foram testados seis isolados de *Trichoderma*: *T. koningii*(T15); *T. harzianum*(T25); *T. viride* (TR2, TM, TPET e

TSM), aplicados individualmente e em mistura, por via úmida: aspersão e imersão das sementes na suspensão de esporos do antagonista.

Aplicação individual de *Trichoderma* nas sementes, por via úmida

Inicialmente foi preparada uma suspensão de inóculo. Os isolados de *Trichoderma* foram cultivados em Batata + Dextrose(BD), contidos em Erlenmeyers com 100ml do referido meio, durante 10 dias. Então foram uniformizados em liquidificador por 90 segundos e a suspensão filtrada em gaze. A concentração de cada isolado foi determinada com auxílio de câmara de Neubauer e ajustada para 1×10^8 conídios/ml. *M. roridum* foi cultivado em Batata + Dextrose + Ágar(BDA), durante 14 dias, até obtenção de esporos, sob regime de luz contínua, temperatura 25°C e umidade relativa em torno de 60%. Foram adicionadas 20ml de água destilada esterilizada(ADE) às placas de Petri, para auxiliar na remoção das estruturas do patógeno com auxílio de uma escova de cerdas macias. Então a suspensão obtida foi também filtrada e a concentração de conídios ajustada para 1×10^8 conídios/ml. Foi adicionada uma gota de tween-20 por 100ml de suspensão para melhor distribuição dos conídios na superfície das sementes. As sementes foram tratadas com *Trichoderma* de duas maneiras: por aspersão com auxílio de um aspersor manual, e por imersão na suspensão de conídios, durante 5min. Porém, a inoculação do fitopatógeno foi realizada apenas por aspersão de conídios. O experimento constou dos seguintes tratamentos: **A1**. Sementes tratadas por aspersão com *Trichoderma* e duas horas depois inoculadas com o fitopatógeno; **B1**. Sementes aspergidas com *Trichoderma* e, em seguida, inoculadas com o fitopatógeno; **C1**. Sementes aspergidas somente com *Trichoderma*; **A2**. Sementes imersas na suspensão de conídios de *Trichoderma* e, duas horas depois, inoculadas com o fitopatógeno; **B2**. Sementes imersas na suspensão de conídios de *Trichoderma* e, em seguida, inoculadas com o fitopatógeno; **C2**. Sementes imersas somente na suspensão de conídios de *Trichoderma*; **D**. Sementes somente inoculadas com o fitopatógeno; **E**. Sementes somente imersas em ADE.

As sementes foram previamente tratadas por 5min, com hipoclorito de sódio, preparado na proporção de 1:3(1 parte do produto comercial para três partes de água) e lavadas duas vezes com ADE para retirar o excesso de hipoclorito. Após desinfecção das

Praticamente em todos os isolados estudados houve predominância de duas bandas de esterase, com exceção de TM que apresentou três bandas, distribuídas no gel de acordo com a sua mobilidade relativa (Tabela 1).

Os isolados de *Trichoderma* utilizados no tratamento das sementes "in vitro", previamente identificados pelas características morfológicas, como pertencentes a *T. viride* (TR2, TPET, TM e TSM) e *T. harzianum* (T25), mostraram através da eletroforese comportamento semelhante. Com exceção de TM, todos apresentaram duas bandas de esterase com praticamente a mesma intensidade e mobilidade relativa no gel de poli-acrilamida. Desta forma, o isolado T25 utilizado apresenta características isoenzimáticas dentro de *T. viride* e TM apresenta características, quanto ao número e posição de bandas, diferentes de *T. viride*.

A análise de isoenzima em fungos constitui uma ferramenta simples que serve para separar isolados diferentes. O aspecto morfológico pelo método tradicional é necessário, para a denominação das espécies, porém o método de isoenzima, e mais modernamente o de marcadores moleculares servem para identificar as espécies com maior grau de exatidão.

ABSTRACT

Six *Trichoderma* isolates (*T. koningii*, T15; *T. harzianum*, T25; *T. viride*, TR2, TM, TPET and TSM), single or in mixture each other, were studied on biocontrol of *Myrothecium roridum*, a new pathogen causing canker of the stem base and fruit rot of melon. The antagonistic activity was determined by seed treatment with a spores suspension applied to seeds by aspersion or immersion methods. Seven days after incubation, the effect of *Trichoderma* on growth inhibition of *M. roridum* was calculated and observed the influence of these treatments on seed germination. In general, the individual effect of *Trichoderma* isolates was better on growth reduction of *M. roridum*, than in mixture of isolates, in both applied methods. When individual isolates of *Trichoderma* were used, there was a superior germination, but the mixture of isolates inhibited the germinative process of melon seeds. The characterization of *Trichoderma* isolates by electrophoretic analysis showed a similar behavior in relation to number of esterase bands, intensity and relative mobility among TR2, TPET, TSM and T25 isolates. The TM isolate identified by morphology as *T. viride* showed be different with three bands of esterase, while in the others

there was predominance of two bands, except T15 that showed only one band of esterase.

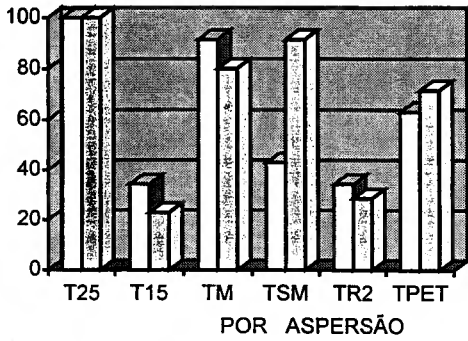
Key-words: *Cucumis melo*, melon-seed-biological control, *Trichoderma*, *Myrothecium roridum*, Eletroforese.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ABDL-EL-MOITY, T. H.; SHATLA, M. N. Biological control of rot disease of onion (*Sclerotium cepivorum*) by *Trichoderma harzianum*.. *Phytopathologische Zeitschrift*, Berlin, v. 100, n.1, p. 29-35. 1981.
- 2 ALFENAS, A. C.; PETERS, I.; BRUNE, W. et al. Eletroforese de proteína e isoenzimas de fungos e essências florestais. Viçosa-MG : Universidade Federal de Viçosa, 1991. 242 p.
- 3 ALMEIDA, A. M. R.; KASTER, M.; ALBUQUERQUE, F. C. Ocorrência de *Myrothecium roridum* Tode ex Fr. em soja (*Glycine max*(L.) Merrill) no Estado do Piauí. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 5, n. 2, p. 129-133, Feb., 1980.
- 4 BALBACH, A.; BOARIM, D. As frutas na medicina natural. São Paulo:Ed. Vida Plena, 1992. 316 p.
- 5 BARRET, J. T. A new leaf spot and canker of gardenia.. *Phytopathology*, St. Paul, v. 31, p. 2, 1941. (Abstract).
- 6 BELL, D. K.; WEELS, H. D. ; MARKHAM, C. R. In vitro antagonisms of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*, St. Paul, v. 72, n.4, p. 379-382, 1982.
- 7 BLAKEMAN, J. P.; FOKKEMA, N. J. Potential for biological control of plant diseases on the phylloplane. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v. 20, p.167-192, 1982.
- 8 BROOKS, F. T. Notes on the pathogenicity of *Myrothecium roridum* Tode ex Fries. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, Great Britain, v. 27, p. 155-157, 1945.
- 9 CHET, I.; BAKER, R. Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, St. Paul, v. 71, n. 3, p. 286-290, 1981.
- 10 CARDOSO, R. M. G.; PITTA, G. P. B. *Aphelandra squarrosa* Nees, um novo hospedeiro de *Myrothecium roridum* Tode ex.Fr. *Biológico*, São Paulo, v. 48, n. 8, p. 183-187, 1982.

- 11 COOK, R. J. Biological control of plant pathogens: theory to application. *Phytopathology*, St. Paul, v. 75, n. 1. p. 25-29, 1985.
- 12 EDINGTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. *Phytopathology*, St. Paul, v. 61, n. 1, p. 42-44, 1971.
- 13 ELAD, Y.; CHET, I.; BOYLE, P. Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* - Scanning electron-microscopy. *Phytopathology*, St. Paul, v. 73, n.1, p. 85-88, 1983.
- 14 ELAD, Y.; CHET, I.; HENIS, Y. Biological control of *Rhizoctonia solani* in strawberry field by *Trichoderma harzianum*. *Plant and Soil*, v. 60, p. 245-254, 1971.
- 15 ELAD, Y.; CHET, I.; KATAN, J. *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, St. Paul, v. 70, n. 2, p. 119-121, 1980.
- 16 FERGUS, C. L. *Myrothecium roridum* on gardenia. *Mycologia*, Bronx, v. 49, p. 124-127, 1957.
- 17 FITTON, M.; HOLLIDAY, P. *Myrothecium roridum*. C. M. I. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, Surrey, n. 253, 1970.
- 18 GEES, R.; COFFEY, M. D. Evaluation of a strain of *Myrothecium roridum* as a potential biocontrol agent against *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathology*, St. Paul, v. 79, n. 10, p. 1079-1084, 1989.
- 19 GOMES, R. P. *Fruticultura Brasileira*. São Paulo: Livraria Nobel S/A, 1982. 446 p.
- 20 LEATH, K. T.; KENDALL, W. A. *Myrothecium roridum* and *M. verrucaria* pathogenic to roots of red clover and alfalfa. *Plant Disease*, St. Paul, v. 67, n. 10, p. 1154-1155, 1983.
- 21 McLEAN, D. M.; SLEETH, B. *Myrothecium* rind rot of cantaloup. *Plant Disease Reporter*, Beltsville, v. 45, n. 9, p. 728-729, 1961.
- 22 MUKHOPADHYAY, A. N.; SHRESTHA, S. M.; MUKHERJEE, P. K. Biological seed treatment for control of soil-borne plant pathogens. *FAO Plant Prot. Bull.*, New York, v.40, n. 1/2, p. 21-30, 1992.
- 23 PEIXOTO, C. N. Avaliação da micoflora associada a sementes de mamona, *Ricinus comunis* L. e efeito de *Trichoderma* spp. e substâncias tóxicas sobre *Alternaria ricini*(Yoshii) Hans. Recife, 1992. 123 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia -Fitossanidade) - Universidade Federal Rural de Pernambuco; 1992.
- 24 PRESTON, N. C. Observations on genus *Myrothecium* Tode. I. the three classic species. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, v. 27, p. 158-168, 1943.
- 25 PRESTON, N. C. Observations on the genus *Myrothecium*. II. the cylindrical-spored species of *Myrothecium* known in Britain. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, England, v. 44, p. 31-41. 1961.
- 26 SILVA, D. M. W.; MENEZES, M.; OLIVEIRA, S. M. A. et. al. Ocorrência de *Myrothecium roridum* em melão, em Mossoró, Rio Grande do Norte. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília. (Em fase de elaboração).
- 27 SIVAN, A.; CHET, I. Biological control of *Fusarium* spp. in cotton, wheat and muskmelon by *Trichoderma harzianum*. *Journal of Phytopathology*, Berlin, v. 116, n. 1, p. 36-47, 1986.
- 28 SIVAN, A.; CHET, I.; ZEIDAN, O. Application of *Trichoderma harzianum* for biological control of *Fusarium* wilt on melons and of *Fusarium* crown rot on tomatoes. *Phytopathology*, St. Paul, v. 13, n. 2, p. 157, 1985.
- 29 STEVENSON, J. A.; McCOLLOCH, L. P. *Myrothecium* as a tomato fruit rot organism. *Plant Disease Reporter*, Beltsville, v. 31, p. 147-149, 1947.
- 30 TESSARIOLI, J. N. Doenças que atacam o melão e a melancia.. *Correio Agrícola*, São Paulo, n. 1, p. 497-500, jan., 1983.
- 31 URHAN, O. Llaga y marchitamento del cafeto causado por *Myrothecium roridum* Tode. *Rev. Appl. Mycol.*, England, v. 32, p. 251, 1953.
- 32 WINDHAM, M. T.; ELAD, Y.; BAKER, R. A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, St. Paul, v. 76, n. 5, p. 518-521, 1986.

% INIBIÇÃO



% INIBIÇÃO

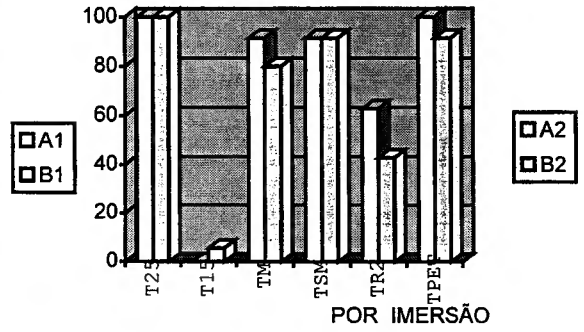
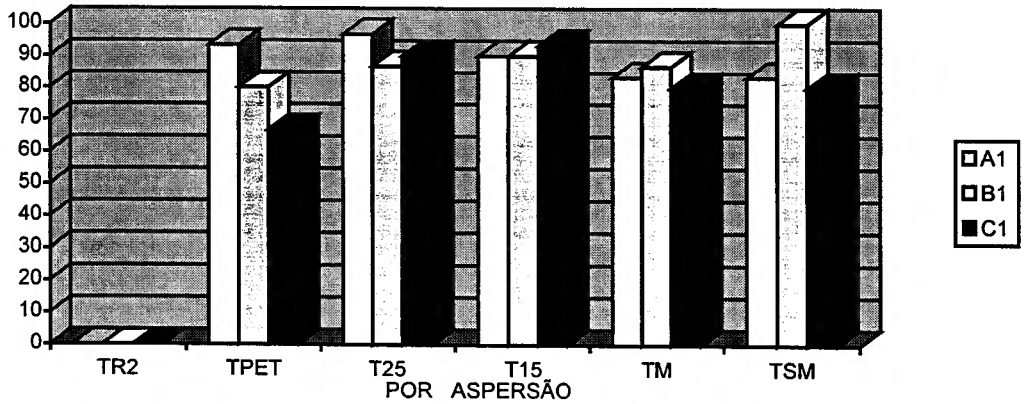


FIGURA 1 - Percentagem de inibição de *M. roridum* por isolados individuais de *Trichoderma*, em sementes de melão, por via úmida.

% GERMINAÇÃO



% GERMINAÇÃO

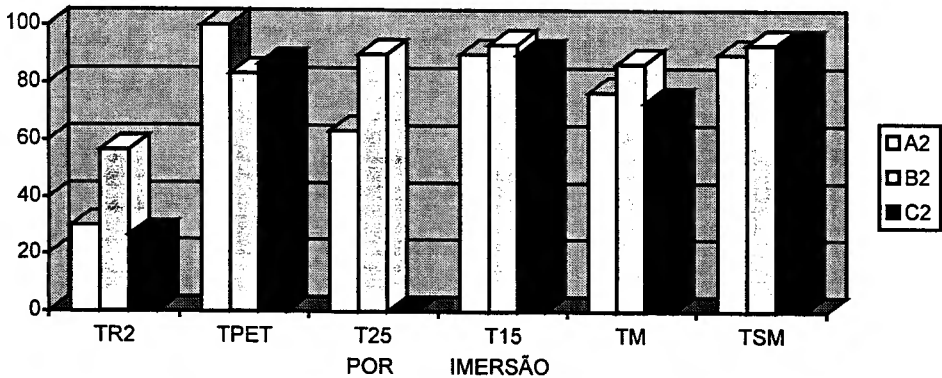


FIGURA 2 - Efeito da ação individual de *Trichoderma* sobre a germinação de sementes de melão, por via úmida.

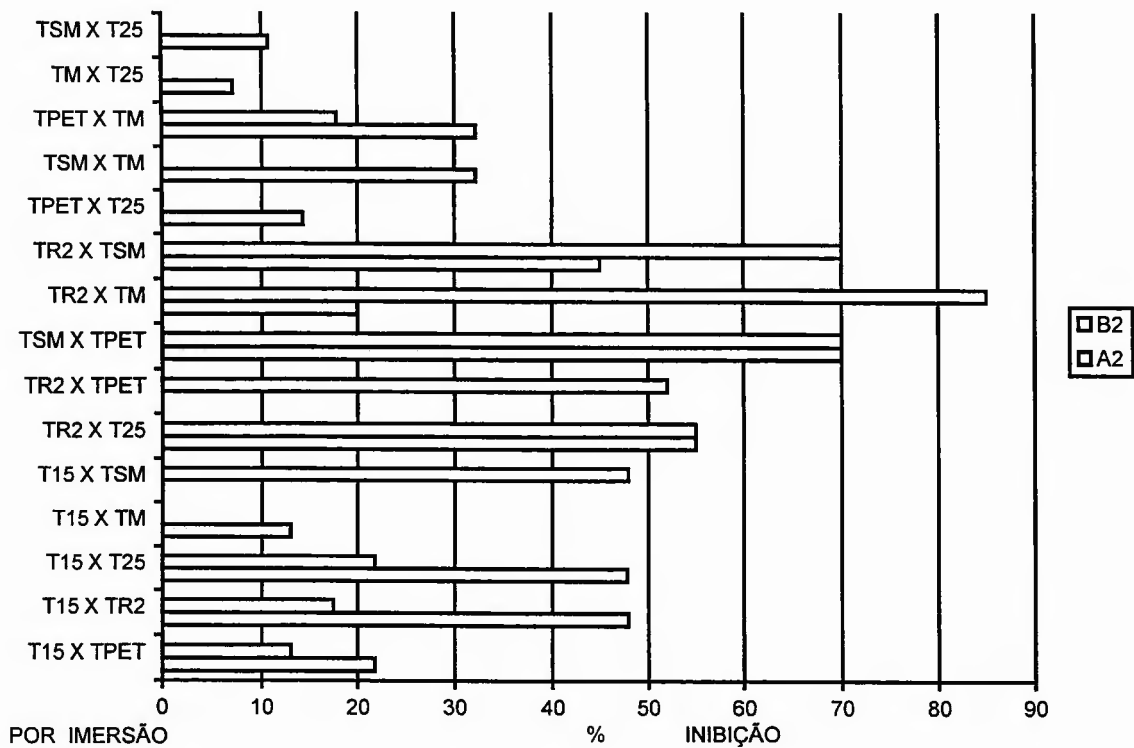
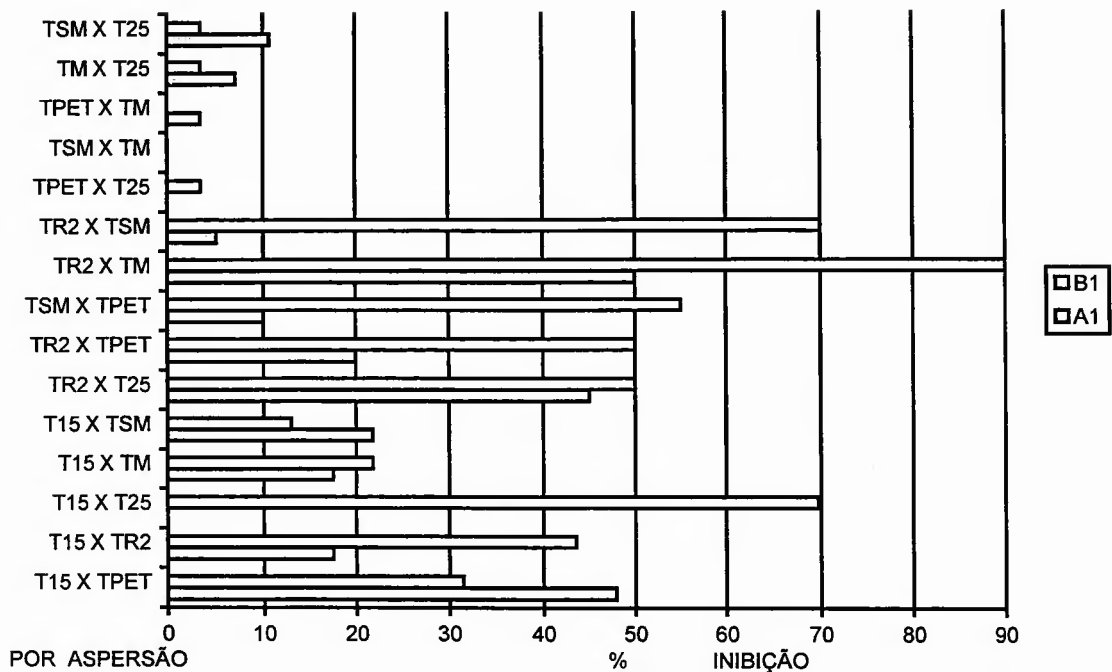
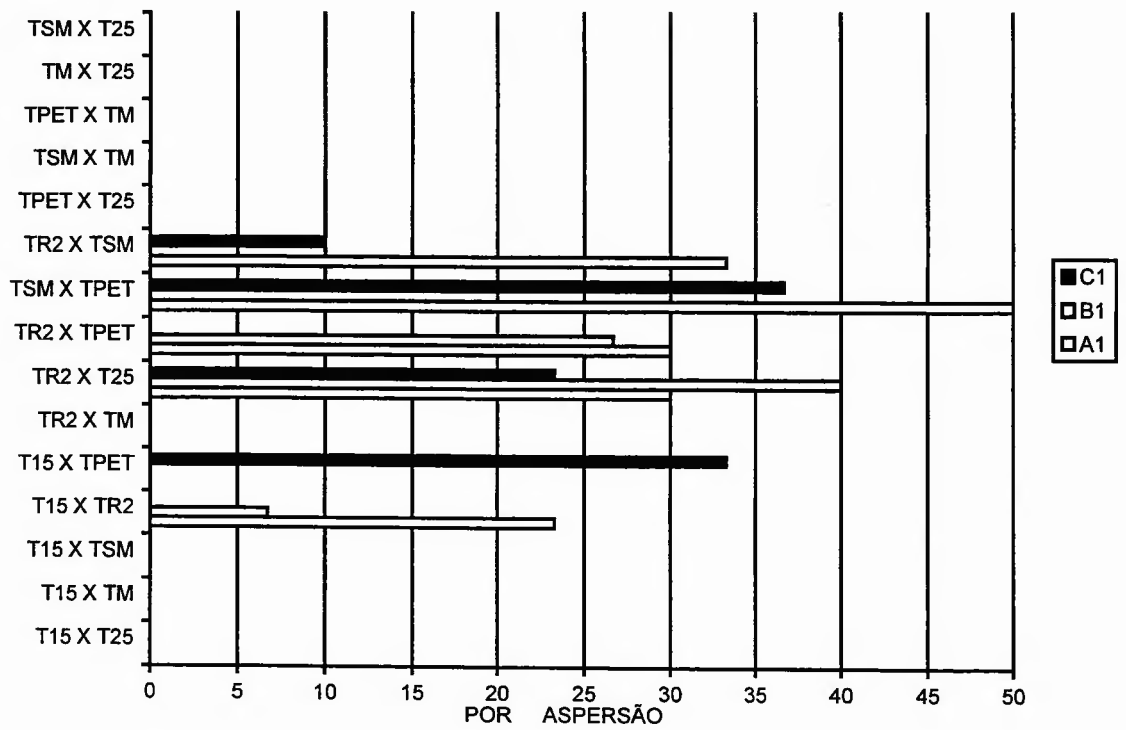


FIGURA 3 - Percentagem de inibição de *M. roridum* por mistura de *Trichoderma*, em sementes de melão, por via úmida, aspersão e imersão.

% GERMINAÇÃO



% GERMINAÇÃO

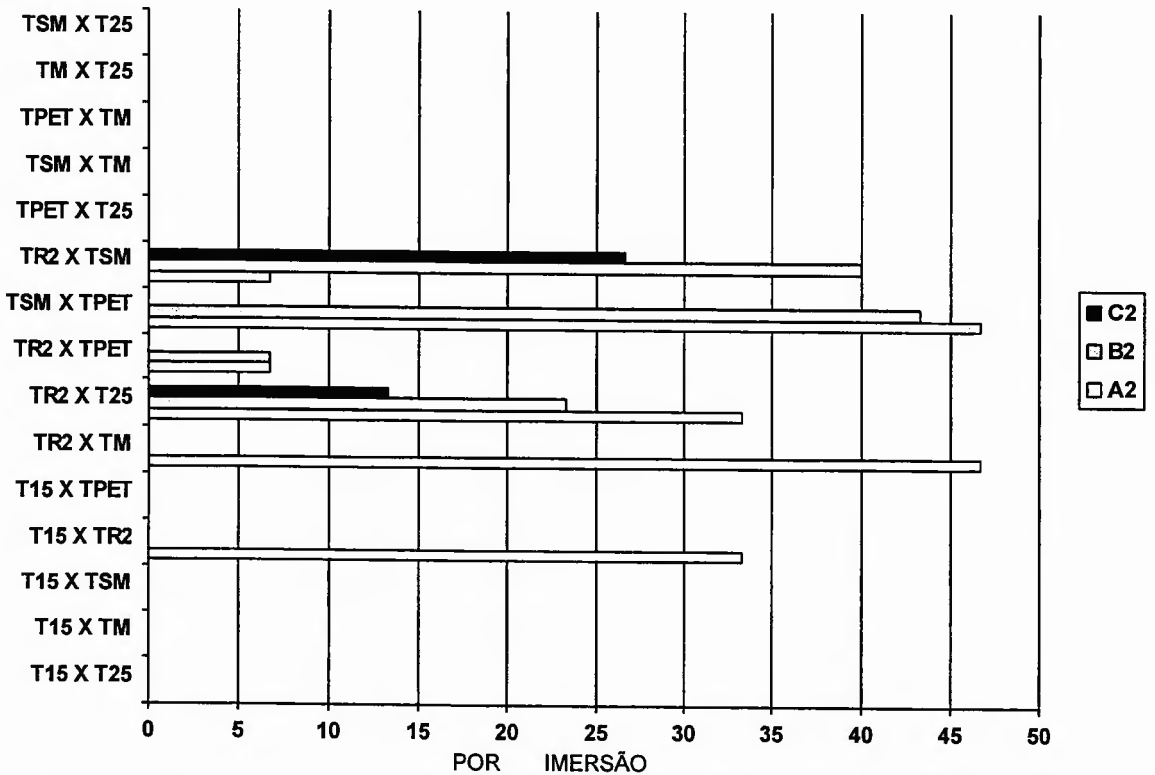


FIGURA 4 - Efeito da ação combinada de *Trichoderma* sobre a germinação de sementes de melão, por via úmida.

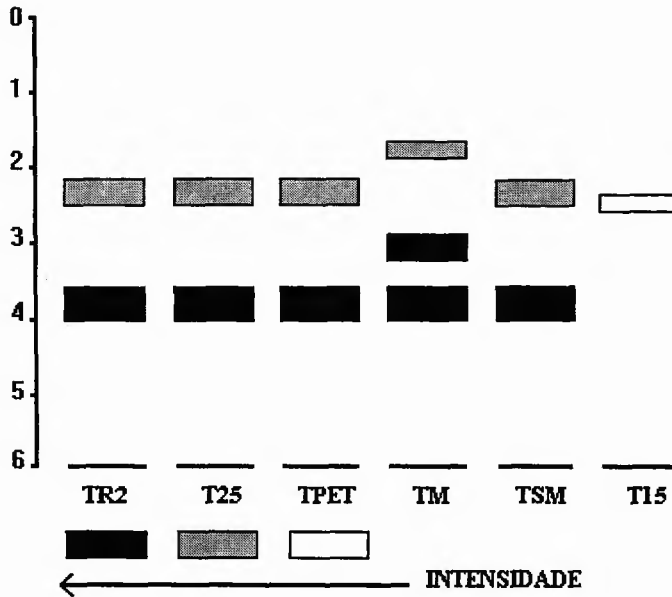


FIGURA 5 - Zimograma de isolados de *Trichoderma* em gel de poliacrilamida, para detecção de esterase.

TABELA 1. Número e intensidade das bandas de esterase e mobilidade relativa apresentada pelos isolados de *Trichoderma*.

Isolado	Nº de bandas	Intensidade das bandas			Rf		
		Fraca	Média	Forte	Est. 1	Est. 2	Est. 3
T15	1	+	+	+	41,67		
TR2	2		+	+	40,00	66,67	
T25	2		+	+	40,00	66,67	
TPET	2		+	+	40,00	66,67	
TSM	2		+	+	40,00	66,67	
TM	3		+	++	31,67	53,33	66,67