

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
AGRÍCOLA
CURSO MESTRADO

COMPATIBILIDADE DE *Trichoderma asperellum* COM
PRODUTOS AGRÍCOLAS APLICADOS NA CULTURA DA
BANANEIRA

LORENA SANTOS KRUSCHEWSKY

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

ABRIL-2019

**COMPATIBILIDADE DE *Trichoderma asperellum* COM
PRODUTOS AGRÍCOLAS APLICADOS NA CULTURA DA
BANANEIRA**

LORENA SANTOS KRUSCHEWSKY

Bacharel em Ciências Biológicas

Universidade Estadual de Santa Cruz, 2012

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola.

Orientador: Dr. Fernando Haddad

Co-orientador: Dr. Leandro de Souza Rocha

Co-orientador: Dr. Harllen Sandro Alves Silva

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA

ABRIL- 2019

FICHA CATALOGRÁFICA

K194c Kruschewsky, Lorena Santos.

Compatibilidade de *Trichoderma asperellum* com produtos agrícolas aplicados na cultura da bananeira / Lorena Santos Kruschewsky._ Cruz das Almas, BA, 2019.

91f.; il.

Orientador: Fernando Haddad.
Coorientador: Leandro de Souza Rocha.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas.

CDD: 634.772

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas – UFRB.
Responsável pela Elaboração – Antonio Marcos Sarmento das Chagas (Bibliotecário – CRB5 / 1615).
Os dados para catalogação foram enviados pela usuária via formulário eletrônico.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
LORENA SANTOS KRUSCHEWSKY

Prof. Dr. Fernando Haddad

Embrapa Mandioca e Fruticultura

(Orientador)

Prof. Dr. Carlos Augusto Dórea Bragança

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof. Dr. Aldo Vilar Trindade

Embrapa Mandioca e Fruticultura

“Dissertação homologada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola _____ conferindo o Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola em _____.”

AGRADECIMENTOS

À Embrapa Mandioca e Fruticultura, pela estrutura fornecida para realização dos experimentos.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e aos professores do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, pelos conhecimentos prestados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa.

Ao meu orientador, Dr. Fernando Haddad, pela orientação, compreensão, pela confiança depositada e pelos conhecimentos que me foram transmitidos.

Aos meus co-orientadores Leandro Rocha e Harllen Sandro Alves Silva, pela orientação, apoio e confiança na elaboração prática e escrita deste trabalho, além de todo o conhecimento transmitido.

Aos professores Aldo, Harllen e Saulo, que se tornaram referências durante a minha formação. Obrigada por cada conhecimento compartilhado, todo meu respeito e admiração.

Às minhas amigas e parceiras da Embrapa, Anelita, Mileide, Fernanda e Juliana, que me ajudaram em todos os sentidos. Sem palavras para agradecer! Amo vocês!

Aos meus colegas do laboratório de Fitopatologia da Embrapa por tantos momentos de apoio, amizade e descontração, muito obrigada!

À Renata e Adriele, amigas que o mestrado me deu e eu levarei por toda essa vida! Seguiremos juntas!

À minha amiga Rhavena, com quem dividi a rotina, todos os anseios e alegrias nesses dois anos de curso. Obrigada por tudo!

Ao meu amigo e ex-chefe Dr. Magno Filho, pelo incentivo na realização desse mestrado, pela torcida e pelo apoio. Você é parte importante dessa conquista!

Às minhas melhores amigas e primas Mona Lisa e Maria pelas palavras de incentivo e apoio de sempre. Amo vocês!

Ao meu namorado Rafael, obrigada por todo carinho, paciência (muita!), e por ter sido meu suporte, minha calma e minha paz nesse momento tão importante. Te amo!

Ao meu pai e minha vó, que mesmo não entendo muito, me incentivaram em todos os momentos. Amo vocês!

E à minha mãe, que sempre foi a pessoa que mais acreditou em mim, nos meus objetivos e esteve junto me apoiando em todas as decisões tomadas. Te amo mãe, mais uma conquista para nos orgulharmos!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Análise de Componentes Principais (ACP) biplot (eixos F1 e F2: 100%) da compatibilidade de produtos químicos utilizados na cultura da bananeira com o isolado 81 de *T. asperellum*, baseada em três variáveis: crescimento, esporulação e germinação.....59

Figura 2. Heatmap para classificação de 24 produtos químicos utilizados na cultura da bananeira quanto à compatibilidade com o isolado 81 de *T. asperellum*, baseada no agrupamento hierárquico das variáveis crescimento (cm), esporulação (Log_{x+1}) e germinação (%).....60

Figura 3. Redução do crescimento micelial do isolado de *T. asperellum* em 96 horas de incubação sob influência das doses dos produtos fosfito de magnésio (B), fosfito de zinco (C) e óleo mineral (D) em comparação ao controle (A)61

Figura4. Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) do isolado 81 de *T. asperellum* sob as doses dos produtos fosfito de magnésio, fosfito de zinco e óleo mineral avaliados em função das médias de crescimento micelial (cm) e os tempos de 24, 48, 72 e 96 horas.....62

Figura 5. Antagonismo do isolado 81 de *T. asperellum* sobre os agentes de biocontrole comerciais à base dos seguintes microrganismos: *Azospirillum* sp.(A), *Bacillus* sp. (B), *Beauveria* sp. (C), *Trichoderma* sp. (D).....63

ÍNDICE

RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO GERAL	11
CAPÍTULO I	
Revisão de Literatura	
1.A cultura da bananeira	14
2.Principais doenças que acometem a bananeira	15
2.1 Murcha de <i>Fusarium</i>	15
2.1 Sigatoka-amarela e Sigatoka-negra.....	17
3.Condições nutricionais necessárias ao cultivo	18
4.Manejo integrado de pragas e doenças	22
5.Controle Biológico e <i>Trichoderma</i> sp. como agente de biocontrole	25
5.1 <i>Trichoderma</i> sp. como agente de biocontrole.....	26
6.Referências Bibliográficas	29
CAPÍTULO II	
Compatibilidade de <i>Trichoderma asperellum</i> com produtos agrícolas aplicados na cultura da bananeira	
RESUMO	47
ABSTRACT	48
INTRODUÇÃO	48
MATERIAL E MÉTODOS	50
Preparo dos tratamentos para teste de compatibilidade com <i>Trichoderma asperellum</i>	50
Efeito das doses dos produtos agrícolas no crescimento micelial, esporulação e germinação dos conídios de <i>T. asperellum</i>	50
Compatibilidade do isolado de <i>T. asperellum</i> com agentes de controle biológicos comerciais	51
Análise de dados.....	52
RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
CONCLUSÃO	55
AGRADECIMENTO	55
REFERÊNCIAS	56

RESUMO

KRUSCHEWSKY, L. S. **Compatibilidade de *Trichoderma asperellum* com produtos agrícolas utilizados na cultura da bananeira**. Cruz das Almas, Bahia. 2019. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

A banana compõe a alimentação de milhões de pessoas no mundo, sendo uma importante fonte nutricional e de segurança alimentar. Doenças como a murcha de Fusarium, provocada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* e as Sigatoka-amarela e Sigatoka-negra provocadas por *Mycosphaerella musicola* e *Mycosphaerella fijiensis*, comprometem o desenvolvimento e a produtividade da cultura. O manejo integrado pode ser uma alternativa eficaz para reduzir os prejuízos ocasionados na cultura se agregar diferentes estratégias como o controle químico e o controle biológico, assegurando que todos os componentes envolvidos nessas duas abordagens devem ser compatíveis entre si. Este estudo verificou a compatibilidade *in vitro* de produtos agrícolas utilizados na cultura da banana com o isolado *Trichoderma asperellum* 81, agente de biocontrole da murcha de Fusarium. O crescimento micelial, concentração e germinação de conídios do isolado submetido à cinco doses de 24 produtos agrícolas indicados para a cultura, foram avaliados e comparados pelo teste de Skott Knott a 5% de probabilidade. Com os valores de diâmetro obtidos das colônias fúngicas, calculou-se a Área Abaixo da Curva de Crescimento Micelial (AACCM) em função dos tempos de avaliação e a compatibilidade com os agentes de biocontrole comerciais foi avaliada pela técnica de cultivo pareado. A correlação entre os produtos químicos e as variáveis relacionadas ao desenvolvimento do fungo foi avaliada pela Análise de Componentes Principais (ACP) e a classificação quanto à compatibilidade dos produtos foi apresentada por meio de um Heatmap, gerado por um padrão de cores predefinido. Os resultados indicaram que os produtos químicos tiabendazol, carbofurano, tebuconazol, propiconazol, difenoconazol, flutriafol e glifosato foram incompatíveis ao isolado. Os fertilizantes, incluindo o ácido bórico, sulfato de amônia, carbonato de cálcio e lixiviado de engaço foram compatíveis e o fosfito de magnésio e fosfito de zinco foram classificados como dose-dependentes. No entanto, o óleo mineral foi o único produto que apresentou incompatibilidade para apenas uma característica vegetativa do isolado.

Palavras-chave: *T. asperellum*, *Musa* sp., controle biológico, manejo integrado

ABSTRACT

KRUSCHEWSKY, L. S. **Compatibility of *Trichoderma asperellum* with agricultural products used in banana cultivation**. Cruz das Almas, Bahia. 2019. Dissertation (Master's Degree in Agricultural Microbiology). Federal University of the Recôncavo of Bahia.

Banana is one of the constituents in the diet of millions of people worldwide, being an important source of nutrients. To this crop, diseases such as Fusarium wilt, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, Yellow Sigatoka Leaf Spot and Black Sigatoka caused by *Mycosphaerella musicola* and *Mycosphaerella fijiensis*, respectively, compromise the development and productivity of the plants. Integrated management system can be an effective approach to reduce crop damage by combining different strategies such as chemical and biological control, ensuring that all components involved in these two approaches must be compatible with each other. In this study we have presented the *in vitro* compatibility of 24 agricultural products used in banana cultivation with *Trichoderma asperellum* 81 isolate, biocontrol agent of fusarium wilt. Five different dosages for each product were tested. The mycelial growth, concentration and germination of conidia of the isolate were evaluated in four different times. The means were grouped by the Scott-Knott test at 5% probability. From the diameter values of the fungal colonies, the area under the micellar growth curve was calculated as a function of the evaluation times and, the compatibility with the commercial biocontrol agents was evaluated by the antagonism. The correlation among the agricultural products and the variables related to the development of the fungus was exploited by the Principal Component Analysis (PCA) and the classification regarding the compatibility of the products was presented through a Heatmap, generated by a predefined color pattern. The results indicated that the products thiabendazole, carbofuran, tebuconazole, propiconazole, diphenconazole, flutriafol and glyphosate were incompatible with the isolate. Fertilizers, including boric acid, ammonium sulfate, calcium carbonate and leachate of banana rakes were compatible and magnesium phosphite and zinc phosphite were classified as dose-dependent. However, mineral oil was the only product that presented incompatibility for only one vegetative characteristic of the isolate.

Keywords: *T. asperellum*, *Musa* sp., biological control, integrated management system.

INTRODUÇÃO GERAL

A banana é um dos constituintes da alimentação de milhões de pessoas no mundo, sendo considerada uma importante fonte nutricional. A produção mundial no ano de 2017 foi de, aproximadamente, 114,0 milhões de toneladas, em uma área plantada de 5,4 milhões de hectares. A Ásia contribui com 55,8% da produção mundial, seguido pelas Américas (24,7%) e a África, com 17,9% (FAO, 2018). O Brasil se destaca como o quarto maior produtor mundial, com produção estimada de 7,0 milhões de toneladas, representando 6% de toda produção mundial (DOSSA E FUCHS, 2017; LSPA, 2018, DE SÁ et al., 2019).

Embora plantada em diversos países, a predominância do cultivo ocorre em regiões com climas tipicamente tropical, com registro de altas temperaturas e precipitação. Nessas condições, o desenvolvimento de doenças como a murcha de Fusarium, provocada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* e as Sigatoka-amarela e Sigatoka-negra provocadas por *Mycosphaerella musicola* e *Mycosphaerella fijiensis*, respectivamente, podem comprometer o desenvolvimento e a produtividade da cultura (PLOETZ, 2015; MARTINS et al., 2016). Esses fungos fitopatogênicos interferem em processos metabólicos importantes da planta durante todo o ciclo da cultura. Assim, ações de controle são necessárias durante todos os estágios de desenvolvimento da planta.

Atualmente o controle químico desses patógenos é complexo e de baixa eficiência, especialmente pela rápida disseminação que patógenos como *Mycosphaerella musicola* e *Mycosphaerella fijiensis* possuem e pela capacidade de produzir estruturas de sobrevivência e recente evolução de raças mais agressivas e virulentas do patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, a qual cultivares antes resistentes como por exemplo o subgrupo Cavendish, tornaram-se altamente suscetíveis (MOSTERT et al., 2017; DITA et al., 2018). Esses eventos têm limitado as estratégias de controle dos produtores e forçado uma utilização cada vez mais intensa dos agrotóxicos (RAUT E RANADE, 2004; SHANKAR et al., 2016).

Dentro desse contexto, o manejo integrado pode ser uma alternativa para reduzir os impactos e as perdas econômicas provocados por essas doenças além de contaminações ambientais e humanas (FRIENSEN, 2016; DIAZ-TRUJILLO et

al., 2018; BUBICI et al., 2019). O manejo integrado de doenças na cultura da banana agrega diversas estratégias de controle disponíveis, incluindo o uso de cultivares melhoradas e aplicações frequentes de fungicidas pertencentes principalmente aos grupos dos triazóis, benzimidazóis e estrobirulinas (MARTÍNEZ-BOLAÑOS et al., 2012; ALAKONYA et al., 2018).

Por outro lado, para uma maior eficiência do manejo integrado de doenças, é necessário considerar a influência desses produtos químicos sobre a microbiota existente nesses ambientes, do qual fazem parte os agentes de controle biológico, com destaque para os fungos do gênero *Trichoderma* sp. Estes microrganismos atuam por meio de mecanismos antagônicos como parasitismo, competição, antibiose, indução de resistência a patógenos e promoção de crescimento (MORANDI E BETTIOL, 2009; SINGH et al., 2018).

O controle biológico realizado naturalmente por microrganismos nativos ou introduzidos em maior quantidade nesses ambientes, tem apresentado bons resultados na redução de doenças de diversas culturas, inclusive a cultura da banana (HADDAD et al., 2018; GONZÁLEZ et al., 2018). Esses microrganismos benéficos e seus mecanismos antagônicos, somados ao controle químico, podem resultar em produções agrícolas eficientes, produtivas e sustentáveis. Para isso, todos os componentes envolvidos nas duas abordagens, devem ser compatíveis entre si (SAITO et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2016).

Dessa forma, estudos que avaliem os efeitos de diferentes produtos químicos sobre espécies de *Trichoderma* sp., são necessários para esclarecer e fornecer informações importantes quanto a interação dessas duas estratégias, possibilitando a tomada de decisões sobre o uso combinado e contribuindo para um manejo de doenças eficiente principalmente na cultura da bananeira.

CAPÍTULO I
Revisão de Literatura

1. A cultura da bananeira

O surgimento da bananeira ocorreu na Ásia Meridional em regiões tropicais da Índia e Malásia e posteriormente disseminou-se para outras partes do mundo. Desde então, a cultura passou a concentrar-se em várias regiões tropicais quentes, sendo cultivada em quase todo o ano, movimentando a economia de vários países que a produzem (COSTA & REGO, 2015).

Destacando-se como um dos produtos mais importantes no comércio mundial de frutas, no Brasil a cultura da bananeira corresponde a uma das atividades agrícolas de maior importância. Praticamente toda a produção nacional, além de ser voltada para o consumo interno, também assume um papel social de fixação do homem no campo e geração de empregos nas zonas rurais (CORDEIRO et al., 2004; GASPAROTTO et al., 2006).

Considerada como um dos alimentos de maior importância devido ao seu alto potencial nutritivo, a cultura da banana no Brasil destaca-se no ranking mundial com uma produção de 113 milhões de toneladas em 2017, colocando o país no quarto lugar de maior produtor da fruta, atrás de países como Índia, China e Indonésia (FAOSTAT, 2019). Sua produção no Brasil apresenta uma grande dispersão geográfica, porém São Paulo, Bahia, Minas Gerais, Santa Catarina e Pará correspondem aos principais estados produtores com 58,8 % de toda produção nacional na safra de 2018 (IBGE, 2019).

A maior parte das cultivares de bananeira evoluíram de duas espécies diplóides selvagens principais, a *Musa acuminata* Colla (AA) e *Musa balbisiana* Colla (BB), de forma que cada cultivar contém variadas combinações do genoma dessas espécies parentais. São quatro os subgrupos principais de cultivares de banana, a Prata, Maçã, Cavendish e Terra, os quais contam com um ou mais cultivares. No Brasil, os cultivares mais difundidos são Prata, Pacovan, Prata anã, D' Angola, Maçã, Mysore, Terra, Nanica, Nanicão e Grand Naine (PEREIRA et al., 2006; LIMA et. al., 2012).

As condições que mais favorecem ao desenvolvimento da bananeira estão relacionadas à temperatura do ambiente de cultivo que deve se situar em torno de 28 °C. Temperaturas abaixo de 15 °C ou acima de 35 °C limitam o desenvolvimento da cultura por paralisia das atividades fisiológicas e desidratação dos tecidos

(folhas). A bananeira também requer uma alta taxa de luminosidade que influencia diretamente na fotossíntese, beneficiando seu crescimento e frutificação, diminuindo inclusive o tempo de ponto e corte comercial de cachos. Condições de alta umidade relativa que superem 80% proporcionam também um melhor desenvolvimento da planta, acelerando a emissão de folhas e aumentando a sua longevidade. Além disso, a bananeira constitui uma planta de rápido desenvolvimento que para suprir suas exigências nutricionais, requer uma utilização de concentrações elevadas de alguns nutrientes (BORGES, 2004; NOMURA et al., 2013).

2. Principais doenças que acometem a bananeira

Assim como em outros tipos de culturas em grandes áreas, o cultivo da bananeira também enfrenta problemas, ocasionados tanto por fatores abióticos quanto bióticos. Dentre os fatores bióticos, destacam-se doenças e pragas provocadas por diferentes agentes, como vírus, bactérias, insetos, nematoides e fungos, esses últimos considerados os mais importantes por causarem danos econômicos na cultura (CORDEIRO et al., 2005; DA SILVA et al., 2016).

Doenças causadas por fungos limitam a produção da cultura de forma considerável. Estes microrganismos prejudicam e interferem em processos metabólicos importantes da planta, desde o transporte de nutrientes pelos vasos condutores, até a realização de fotossíntese nas folhas, afetando dessa forma todo o seu ciclo vegetativo e produtivo. Com relação às perdas econômicas, as doenças fúngicas mais importantes que acometem a cultura são a Murcha de Fusarium, provocada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, Sigatoka-amarela e Sigatoka-negra causadas respectivamente por *Mycosphaerella musicola* e *Mycosphaerella fijiensis* (CORDEIRO et al., 2005).

2.1 Murcha de Fusarium

O agente patogênico *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (E.F. Smith) Snyder & H.N Hansen (Foc) apareceu no ano de 1900 em plantações de banana da

Indonésia, mas o seu relato na literatura ocorreu a partir de amostras coletadas em uma plantação cubana (SMITH, 1910; STOVER, 1962). A murcha de *Fusarium*, foi amplamente divulgada no mundo quando em meados do século XX os seus danos impactaram o cenário agrícola da América Central, em especial a cultivar de banana “Gros Michel”, responsável por sustentar o mercado de exportações naquele período (SOLURI, 2005; PLOETZ, 2015). A doença, após os primeiros relatos feitos na Costa Rica e Panamá, se espalhou com muita rapidez eliminando a produção de Gros Michel.

No Brasil, o primeiro registro da doença ocorreu em 1930, na cidade de Piracicaba, São Paulo, com a cultivar ‘maçã’, em que foram afetados cerca de um milhão de plantas durante três a quatro anos. Posteriormente, outras regiões no estado de São Paulo e também Minas Gerais e Goiás tiveram grandes áreas de plantio dizimadas. No Espírito Santo mais de 20% das plantas pertencentes a cultivar “Prata” foram também eliminadas (PLOETZ et al., 1990; CORDEIRO & KIMATI, 2005).

Os altos níveis de incidência da doença na cultivar “Prata-Anã”, principal variedade plantada no país, levou à substituição da cultivares tipo “Prata” por variedades do tipo “Cavendish”. Contudo mudanças como essas, podem acarretar a seleção de variantes do patógeno, o que torna o monitoramento dessas populações patogênicas uma ação de grande importância. Atividades de manejo inadequado da cultura também podem estar ligadas ao aumento da incidência da doença no país (CORDEIRO et al., 2004; HADDAD et al., 2015).

A espécie *Fusarium oxysporum* (Fo) compreende um dos grupos de fitopatógenos mais importantes para a agricultura mundial e seus isolados já foram classificados em mais de 120 *formae speciales*, os quais se diferenciam por produzirem doença apenas em um número limitado de espécies hospedeiras como tomate, banana, algodão, feijão e outras (KATAN E DI PRIMO, 1999; Dlet al., 2016, MOSTERT et al., 2017).

O Foc é um fungo de solo e sua capacidade em produzir três tipos de esporos assexuados denominados de microconídios, macroconídios e clamidósporos permitem a esse fitopatógeno uma eficaz dispersão e sobrevivência neste ambiente. Assim, em condições ambientais favoráveis, o ciclo da doença

ocasionada pelo Foc se inicia com a germinação do conídio e formação de hifas que ao colonizarem a superfície da raiz da planta, cruzam a epiderme e infectam os vasos xilemáticos das raízes, crescendo em direção ao rizoma e pseudocaule, causando a morte desses tecidos e consequente morte de toda a planta (GUO et al., 2014; COSTA et al., 2015).

2.1 *Sigatoka-amarela e Sigatoka-negra*

Sigatoka da bananeira compreende um grupo de doenças foliares causadas por espécies fúngicas do gênero *Mycosphaerella*, filo Ascomycota (VILJOEN et al., 2017; INDEX FUNGORUM, 2019). A importância dessas doenças em áreas onde ocorrem o cultivo da bananeira, está associada à limitação da produção, devido à redução da capacidade fotossintética provocada pelas manchas foliares, qualidade dos frutos e consequente queda no rendimento da produção (CROUS EMOURICHON, 2002; CHILLET et al., 2009).

Das espécies associadas a Sigatoka, *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal da Sigatoka-negra, é considerada a mais danosa quando comparada a Sigatoka-amarela (*Mycosphaerella musicola*). Este patógeno é mais agressivo e afeta um maior número de espécies do que *M. musicola*, no entanto, sua distribuição geográfica ocorre em locais mais específicos, diferente de *M. musicola* que é mais amplamente distribuído (CARLIER et al., 2003).

O primeiro relato da Sigatoka-amarela no mundo ocorreu em Java, no ano de 1902, e posteriormente novos casos da doença foram observados em países da Ásia, África, América Central e do Sul, além do Caribe (PHILPOTT EKNOWLES, 1913). No Brasil sua presença foi observada inicialmente no estado do Amazonas, em 1944, e posteriormente disseminou-se para os demais estados brasileiros.

A Sigatoka-negra, por sua vez, foi primeiramente observada nas Ilhas Fiji, no Vale de Sigatoka, em 1963, e na década de 1970 o seu aparecimento na América Central provocou a primeira epidemia em Honduras, constatando assim, sua maior agressividade quando comparada a Sigatoka-amarela. Sua ocorrência no Brasil foi constatada no ano de 1998 na região amazônica com subsequente disseminação para mais sete estados da região norte e Mato Grosso. Em 2005, foi

relatada nos estados de Mato Grosso do Sul, São Paulo, Minas Gerais, Paraná e Santa Catarina (GASPAROTTO et al., 2006; MARTINS et al., 2016). A região nordeste até então livre da doença, teve a sua primeira identificação no estado da Bahia em 2015 no município de Cruz das Almas após estudos de identificação molecular de isolados obtidos dessa região (RAMOS et al., 2018).

Os sintomas das duas doenças se assemelham devido à infecção pelos dois patógenos ocorrer nas folhas mais novas das plantas e mesmo sendo possível distingui-las em campo, é necessário ter um certo cuidado na identificação dos sintomas (CORDEIRO et al., 2001; CORDEIRO et al., 2011; VILJOEN, 2017). A Sigatoka-amarela apresenta inicialmente lesões necróticas ovais a redondas, de coloração amarelada entre as nervuras secundárias da folha, desenvolvendo nos estágios mais avançados lesões com centro deprimido de coloração cinza envolvidos por halos amarelados.

Já a Sigatoka-negra se inicia com manchas de cor marrom evoluindo para estrias negras na face abaxial da folha, e as lesões no estágio final também apresentam centro deprimido de coloração cinza, podendo levar ao coalescimento dessas mesmas (MEREDITH & LAWRENCE, 1970; CORDEIRO & KIMATI, 2005; VILJOEN, 2017). Assim como os sintomas, os ciclos da doença também se assemelham e os patógenos propagam-se por meio de dois tipos de esporos, conhecidos como conídios (assexuados) e ascósporos (sexuados).

A disseminação por longas distâncias ocorre por meio do vento na forma de ascósporos e localmente na forma de conídios. A maturação de ascósporos em um menor tempo e rápido desenvolvimento da doença fazem de *M. fijiensis* um agente mais agressivo que a *M. musicola*, evidenciada por estudos realizados em Honduras, onde o aparecimento de manchas associadas à infecção ocorreu em 8 a 10 dias mais rápido que as manchas associadas a *M. musicola* (STOVER, 1980; MOURICHON EFULLERTON, 1990).

3. Condições nutricionais necessárias ao cultivo

A bananeira é uma planta de crescimento rápido e o seu desenvolvimento é influenciado por diversos fatores entre eles a nutrição. Embora parte da

necessidade nutricional da planta seja suprida pelo próprio solo, para uma boa produtividade associada a um rápido crescimento e elevado acúmulo nutricional, existe a necessidade em sua maioria das vezes de aplicações de calcário e fertilizantes que variam de acordo com a variedade plantada e o seu potencial produtivo.

Nomura et al. (2016) ao avaliarem a adubação nitrogenada e potássica das variedades “Caipira” e “BRS Princesa” no Vale do Ribeira em São Paulo, demonstrou que para expressarem o seu potencial produtivo nessa região, houve a necessidade de quantidades maiores desses nutrientes do que o recomendando para a cultura bananeira do estado de São Paulo (LAHAV, 1995; LÓPEZ EESPINOSA, 1995; BORGES, 2004). Os nutrientes mais absorvidos e necessários para o crescimento e produção da bananeira são o nitrogênio (N) e o potássio (K), pois além de estarem relacionados ao desenvolvimento da planta eles também influenciam a produção de pencas por cacho e de frutos por penca (BORGES, 2004; KUMAR EKUMAR, 2008).

Em 2010, Melo e colaboradores concluíram que o maior ganho de produção de biomassa de parte aérea foi obtido com a combinação de doses elevadas de N e K. Seguidos desses nutrientes demandados em maior quantidade estão o magnésio (Mg) e cálcio (Ca) e em sequência o enxofre (S) e fósforo (P). Para os micronutrientes, os mais absorvidos pela planta são nesta ordem o cloro (Cl), manganês (Mn), ferro (Fe), zinco (Zn), boro (B) e cobre (Cu).

O nitrogênio tem função estrutural na planta compondo moléculas de aminoácidos, proteínas além de bases nitrogenadas que constituem os ácidos nucleicos. Processos como fotossíntese e respiração também demandam de quantidades desse nutriente que pode ser fornecido através de fontes como uréia (45% N), sulfato de amônio (20% N), nitrato de cálcio (14%) e nitrato de amônio (34%) (MALAVOLTA, 1997; BORGES, 2004).

O potássio por sua vez é o nutriente mais importante na produção da banana devido à alta quantidade em que é absorvido pela planta e importante não só na translocação dos fotossintetizados como também na produção de frutos. Atua também na manutenção da água na planta por meio do controle de abertura e fechamento de estômatos e resistência à incidência de pragas e doenças como

efeito da permeabilidade das membranas plasmáticas (BORGES, 2007; CANTARELLA, 2007). Sua aplicação pode ser realizada nas formas de cloreto de potássio (60% K_2O), sulfato de potássio (50% K_2O) e nitrato de potássio (48% K_2O).

Adubações a base de fósforo favorecem o desenvolvimento vegetativo e o sistema radicular da bananeira além desse nutriente constituir compostos importantes como fosfolipídios e coenzimas. Mesmo demandado em pequenas quantidades, a falta de fósforo promove um crescimento atrofiado das plantas e baixo desenvolvimento radicular (MALAVOLTA et al., 1997; BORGES, 2004).

O fósforo quando colocado no solo não se move a longas distâncias, dessa forma a adubação fosfatada apresenta efeito residual e de longa duração e também por esse motivo é que ele é um nutriente pouco utilizado em fertirrigação, pois sua difusão no solo é muito baixa. Sua aplicação pode ser realizada na forma de superfosfato simples (18% P_2O_5), superfosfato triplo (45% P_2O_5), fosfato diamônico (DAP) (45% P_2O_5) e fosfato monoamônio (MAP) (48% P_2O_5) (BORGES, 2004).

Além do fosfato, uma outra forma de adubação que disponibiliza fósforo para a planta vem sendo utilizada como pesticida, fertilizante suplementar e bioestimulante. O fosfito é um composto derivado do ácido fosforoso (H_3PO_3) que contém aproximadamente 7% a mais de concentração de fósforo por molécula que os fertilizantes tradicionais à base de fosfato (LOVATT EMIKKELSEN, 2006; DIANESE EBLUM, 2010).

Sua alta solubilidade em água e solventes orgânicos permite uma absorção mais rápida através de raízes e folhas em relação ao fosfato e sua recomendação como fertilizante está associado geralmente ao fato da sua composição possuir nutrientes como potássio, magnésio, cálcio entre outros que irão depender da base utilizada para neutralizar o ácido fosforoso (H_3PO_3) ou o próprio fósforo. (DIANESE E BLUM, 2010).

A ação fungicida dos fosfitos pode ocorrer diretamente ou por ativação dos mecanismos de defesa da planta, estimulando a produção de fitoalexinas, substância natural de autodefesa das plantas (SMILLIE et al., 1989; GUEST EGRANT, 1991). Segundo Stehmann e Grant (2000), o fosfito de potássio inibe o crescimento de esporos de fungos, a produção de enzimas da via glicolítica e consequentemente a produção de energia, agindo diretamente sobre o patógeno.

Os outros nutrientes absorvidos em menor quantidade pela planta como enxofre, magnésio e cálcio além dos micronutrientes, podem ser fornecidos conforme a deficiência apresentada. Cálcio e magnésio são supridos pela calagem, onde o Ca participa dos processos e funcionamento das membranas, favorecendo o desenvolvimento do sistema radicular. Já o magnésio é constituinte da molécula de clorofila, ativador de enzimas e participa nos processos de absorção iônica, fotossíntese e respiração. Sobre os micronutrientes, os que normalmente são encontrados em deficiência na bananeira são o boro (B) e zinco (Z). O boro participa no transporte de açúcares e na formação das paredes celulares, o zinco por sua vez, interfere na síntese de auxinas, substâncias reguladoras de crescimento (MALAVOLTA et al., 1997; BORGES, 2006).

A adubação orgânica também corresponde a uma forma de suprimento nutricional bastante eficaz para a cultura da banana. Essa prática além de fornecer nutrientes, melhora os atributos físicos do solo como aeração, densidade, porosidade, infiltração e auxilia na composição biológica, proporcionando um aumento na sua diversidade (MOREIRA, 1987; DAMATTO JÚNIOR et al., 2006). Um adubo orgânico corresponde a um produto de origem vegetal, animal ou agroindustrial que quando aplicado no solo tem a capacidade de melhorar sua fertilidade e aumentar a produtividade e qualidade das culturas.

Das diversas fontes que podem ser utilizadas para o suprimento de nutrientes em culturas como a banana, podem-se destacar os esterco animais, fontes minerais naturais e “adubo verde”, que pode ser composto pelos restos culturais (folhas, frutos de refugo e engaço) como também leguminosas, que incorporam quantidades significativas de N via fixação biológica de N_2 atmosférico e protegem o solo de insolação e erosão na área do plantio (IGUE et al., 1984; BORGES, 2002).

O lixiviado do engaço, rico em nutrientes essenciais, também pode ser reutilizado como adubo para o cultivo de banana. Produto da própria planta, o lixiviado é adquirido através da exsudação do material líquido encontrado no engaço, parte responsável pela sustentação dos cachos (CABRAL, 2006). Este material, devido ao seu alto valor nutricional, pode ser reintegrado ao solo e além disso vem sendo estudado como um potencial controle de pragas e patógenos, o que deve ser atribuído ao grande número de microrganismos presentes nesse

composto. Dessa forma, o baixo custo para a produção desse composto associado ao seu alto valor nutricional tem aumentando a importância da sua utilização (SMESRUD et al., 2012; STANLEY et al., 2012).

4. Manejo integrado de pragas e doenças

As pragas e doenças constituem os principais problemas enfrentados pela cultura da banana, sendo por isso necessário um manejo integrado de controle em todas as fases da cultura. O manejo integrado de pragas e doenças tem como principal objetivo manter os agentes causadores de doenças em níveis abaixo do que sejam considerados economicamente prejudiciais à cultura, empregando, de forma combinada, estratégias culturais, químicas, físicas, biológicas e genéticas (GASPAROTTO, 2003; SHANKAR et al., 2016).

O controle químico corresponde à utilização de produtos denominados agrotóxicos, que se dividem de acordo com o alvo que se deseja controlar, sendo assim classificados como fungicidas, nematicidas, inseticidas e herbicidas (LAHAV, 1995; MAIA E DA SILVA, 2011). O uso desses produtos é uma prática muito comum na maioria das plantações tropicais inclusive na cultura da banana onde o uso intensivo é feito como forma de suprir as perdas ocasionadas pelas fortes chuvas que ocorrem nessas regiões de altas temperaturas, lavando esses produtos das áreas-alvo, além da vulnerabilidade que grandes monoculturas apresentam assim como a bananicultura (STOVER, 1987; HENRIQUE et al., 1997).

Vários são os tipos de agrotóxicos utilizados na cultura da banana devido à sua grande susceptibilidade a uma ampla gama de pragas e doenças (SHANKAR et al., 2016). As ervas daninhas também constituem um grande problema para a cultura uma vez que competem por nutrientes com a planta e servem de refúgio para pragas, além de agirem como intermediários para doenças (MORTON, 1987; DPI, 2004). O controle mais eficiente até então, ocorre com a utilização de herbicidas como o glifosato, que ao ser pulverizado age pela inibição de sistemas enzimáticos e metabolismo de aminoácidos, levando a morte da planta em poucos dias ou semanas (DE AMARANTE JÚNIOR et al., 2002).

As doenças fúngicas, no entanto, constituem as maiores causas de perdas econômicas relevantes da cultura e por isso os fungicidas ainda são os produtos mais utilizados no controle dessas enfermidades. As sigatoka-amarela e sigatoka-negra, por sua vez, dependem quase que completamente do tratamento frequente com fungicidas principalmente quando se tratam de cultivares suscetíveis como as do subgrupo Cavendish (CORDEIRO, 2004).

O *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* é particularmente difícil de se controlar por ser um fungo do solo e sobreviver por um longo período neste ambiente, fato que ocorre pela capacidade em produzir estruturas de sobrevivência como o clamidósporo e, além disso, por ser um patógeno vascular, o fungo escapa do contato de meios de controle, especialmente os químicos permitindo sua disseminação por meio de material vegetativo de propagação, maquinaria de preparo da terra, água de irrigação entre outros (STOVER, 1962; BUDDENHAGEN, 2009, BUBICI et al., 2019).

Um outro fator que dificulta o controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* está associado à alta variabilidade genética desse patógeno, que ao longo do processo evolutivo, possibilitou o surgimento de raças, as quais se dividem com base na patogenicidade em cultivares hospedeiras. A raça 4 (SR4 e TR4) constitui a variação mais agressiva e virulenta do patógeno, porém não está incluída entre as populações presentes em áreas de produção brasileira. Sendo assim o Brasil concentra-se em medidas de controle voltadas principalmente às raças 1 e 2 do patógeno (R1 e R2) (MOSTERT et al., 2017; DITA et al., 2018).

O uso de cultivares resistentes é frequentemente abordado como a única ou mais eficaz medida para o manejo da murcha de *Fusarium* (PLOETZ, 2015). Contudo, cultivares resistentes podem não corresponder às demandas do mercado e a resistência pode ser suplantada por novas variações do patógeno. O comportamento do patógeno bem como a característica de monocultura da maioria das plantações de banana existentes, evidenciam que o manejo dessa doença não é simples, e reforça a utilização de medidas alternativas como práticas culturais e biológicas, que tem sido eficaz em diversos países no mundo, inclusive no Brasil (BUDDENHAGEN, 2009; AKILA et. al., 2011; HADDAD et al., 2018).

Para os fungos causadores da Sigatoka-amarela e Sigatoka-negra o controle se baseia principalmente no uso extensivo de fungicidas de sítio específico, os quais possuem mecanismos de ação que agem em processos particulares do patógeno (ROMERO E SUTTON, 1997; HAYDEN et al., 2003; RIVAS et al., 2004; ISAZA et al., 2016; DIAZ-TRUJILLO et al., 2018). Porém, para essas doenças, a reprodução sexual contínua dos patógenos pode produzir populações altamente diversificadas, que se adaptam rapidamente a ambientes em constante variação e também aos extensivos tratamentos com fungicidas.

Com isso, o resultado é a frequente e rápida redução da eficácia desses produtos, contribuindo para o aumento do número de aplicações e resistência aos fungicidas pelo patógeno, limitando a eficiência dos programas de manejo integrado do fungo (ISAZA et al., 2016). A capacidade de *Mycosphaerella fijiensis* desenvolver resistência a fungicidas sistêmicos do grupo benzimidazóis, triazóis e estrobirulinas é demonstrada em vários estudos (FULLERTON E TRACEY, 1984; ROMERO E SUTTON, 1997; MARTÍNEZ-BOLAÑOS et al., 2012).

O grupo dos fungicidas apresentam propriedades químicas e ação biológica variáveis, que interferem em processos específicos de infecção desses agentes como síntese de ácidos nucleicos, inibição de mitose e divisão celular, inibição de síntese de aminoácidos e proteínas ou ativam mecanismos de defesa das plantas não atuando diretamente sobre o patógeno (GHINI E KIMATI, 2000). Dentre os mais utilizados na cultura da banana destacam-se os pertencentes aos grupos químicos triazol, benzimidazol e estrobirulina.

De uma forma geral, a alta pressão exercida pelas doenças e pragas, em grandes monoculturas, desencadeou um aumento na utilização de agrotóxicos especialmente em sistemas de cultivo de banana (COMTE et al., 2016). Os impactos dessas atividades vão desde a resistência a várias classes de fungicidas pelos fitopatógenos, até impactos socioeconômicos que incluem riscos ambientais e à saúde humana (FRIENSEN, 2016). Neste contexto, o manejo integrado de praga e doenças constitui um sistema dinâmico e que vive uma constante evolução, no qual todas as práticas de controle devem estar disponíveis e combinadas para um melhor retorno de produtividade ao agricultor (SHANKAR et al., 2016).

5. Controle Biológico e *Trichoderma* sp. como agente de biocontrole

Dentro do manejo integrado de doenças, uma estratégia que está em evidência e já vem sendo utilizada em muitas culturas é o controle biológico. Definido por Bake e Cook (1983) como “a redução da densidade de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocada por um patógeno ou parasita”, essa alternativa tem apresentado bons resultados, e alinhado ao controle químico caminham numa direção de produções agrícolas mais limpas e sustentáveis (MORANDI E BETTIOL, 2009; SAITO et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2016).

O controle biológico emprega inimigos naturais de pragas e patógenos de plantas, podendo ser os próprios organismos nativos ou introduzidos nestes ambientes, que por sua vez tem a finalidade de erradicar ou controlar essas populações patogênicas. Esses organismos são denominados agentes de controle biológico, ou simplesmente agentes de biocontrole, e atuam por meio de mecanismos antagônicos, como parasitismo, competição e antibiose, reduzindo os efeitos negativos do patógeno e promovendo uma resposta positiva na planta (COOK, 1993; VINALE et al., 2008; BETTIOL E GHINI, 2009).

Na bananicultura a utilização de agentes de biocontrole já se tornou uma realidade e muito dessa prática decorre da dificuldade em controlar doenças como a murcha de Fusarium e as Sigatoka-amarela e Sigatoka-negra (CAVERO et al., 2015; SHEN et al., 2015; GONZÁLEZ et al., 2018). Vários microrganismos já foram isolados e reconhecidos pelo seu potencial antagônico contra diversos patógenos de plantas, incluindo cepas pertencentes a gêneros bacterianos, como *Agrobacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Streptomyces* sp. e *Bacillus* sp., e gêneros fúngicos como *Gliocadium* sp., *Ampelomyces* sp. e *Trichoderma* sp. (VINALE et al., 2008; CHEN et al., 2018; DE SÁ et al., 2019).

O uso desses agentes é cada vez mais importante no panorama agrícola atual, e por isso em vários casos são utilizados como complemento ou até mesmo como substitutos dos produtos químicos, pois por já pertencerem ao ambiente natural, geralmente são muitos mais seletivos e específicos que os produtos químicos (TEMPLETON E HEINY, 1989; WHIPPS et al., 2001; MENEZES, 2010).

5.1 *Trichoderma* sp. como agente de biocontrole

Um dos agentes de controle biológico mais estudado e utilizado nos programas de manejo integrado é o fungo *Trichoderma* sp. Este microrganismo é altamente diversificado podendo ser encontrado em todos os tipos de solos temperados e tropicais, diferentes materiais vegetais como madeira em decomposição, serapilheira e raízes, colonizando a superfície radicular ou invadindo a epiderme, não ultrapassando a primeira ou segunda camada de células (SAMUELS, 2006; LEE et al., 2012). No entanto, alguns trabalhos afirmam a natureza endofítica de isolados testados, inclusive em cultivares de banana (CABALLERO HERNÁNDEZ et al., 2013; CHAVES et al.2016).

Espécies de *Trichoderma* spp. apresentam uma ampla diversidade genética sendo capazes de produzir várias proteínas extracelulares com potencial enzimático como celulases, quitinases, além de uma grande variedade de metabólitos com diferentes atividades antibióticas (BUBICI et al., 2019). Recentemente, verificou-se que espécies desse fungo promovem o crescimento de plantas devido a sua capacidade em produzir sideróforos, enzimas solubilizadoras de fosfato e reguladores de crescimento vegetal, e ainda, em alguns casos, são responsáveis pela indução de resistência em plantas (HARMAN et al., 2004; LÓPEZ-BUCIO et al., 2015). Por todas essas características é que espécies do gênero *Trichoderma* sp. tem sido reconhecidas como potenciais agentes de biocontrole (HARMAN et al., 2004; VINALE et al., 2008; WOO et al., 2014).

O antagonismo associado as espécies de *Trichoderma* spp. envolvem os diferentes mecanismos como parasitismo, antibiose, competição e indução de resistência à planta hospedeira. O micoparasitismo se inicia pelo reconhecimento do patógeno e com a produção de várias enzimas extracelulares, como quitinases e celulases, que degradam a parede celular do patógeno, possibilitando ao *Trichoderma* enrolar as suas hifas em torno das estruturas do patógeno, penetrar para permitir a absorção dos nutrientes que finalmente levará a morte do patógeno (ELAD et al., 1983; RABEA et al., 2003).

A antibiose ocorre com a produção de substâncias capazes de inibir o crescimento ou até mesmo destruir o patógeno. Esses compostos são metabólitos

secundários dos tipos antibióticos voláteis, solúveis em água e peptídeos (MUKHERJEE et al., 2012; ZEILINGER et al., 2016). A competição entre *Trichoderma* sp. e um patógeno pode ocorrer por espaço, nutrientes ou pelos dois, e além disso o próprio antagonista pode também promover a acidificação do solo rizosférico impedindo o crescimento de outros fungos, incluindo espécies patogênicas (WELLS, 1988; BENITEZ et al., 2004).

A indução de resistência em plantas constitui um importante mecanismo de supressão de doenças realizado pelo agente de biocontrole. Isolados de *Trichoderma* spp., quando adicionados ao solo rizosférico podem proteger plantas de patógenos como vírus, bactérias e fungos ao induzirem mecanismos de defesas das plantas, similares a hipersensibilidade, na resistência sistêmica adquirida e resistência sistêmica induzida (HOWELL et al., 2003; HARMAN et al., 2004; HAGGAG, 2008).

Vários isolados de *Trichoderma* spp. já foram relatados por reduzir efetivamente doenças de plantas entre elas a murcha de Fusarium (SRIVASTAVA et al., 2010; MARZANO et al., 2013). Estudos sobre o controle de Sigatoka-negra ainda são pouco disponíveis, mas alguns trabalhos já vêm sendo desenvolvidos. *Trichoderma* spp. foi capaz de inibir em 45% o crescimento micelial de *Pseudocercospora fijiensis* em experimentos *in vitro*, segundo Arzate et al. (2006).

Cavero et al. (2015) testou o potencial de 29 isolados de *Trichoderma* sp. para o controle de Sigatoka-negra em condições de campo e a partir deste estudo, um isolado foi selecionado por reduzir significativamente a severidade da doença, sendo identificado por meio de técnicas moleculares como *Trichoderma atroviride*. Este isolado foi tão efetivo no controle da doença quanto o fungicida Azoxystrobina, demonstrando ser um agente de controle biológico potencial para Sigatoka-negra e que pode ser produzido em larga escala para aplicações em campo, usando como material inerte, grãos de arroz autoclavados.

O controle de doenças realizado por estes agentes naturais pode variar devido a determinadas espécies ou isolados de *Trichoderma* sp. expressarem níveis diferentes quanto a sua ação antagônica. Dessa forma é necessário selecionar espécies ou isolados eficazes para o controle de um determinado patógeno além de conhecer os modos de ação associados. Além disso, a

combinação de diferentes modos de ação de agentes de biocontrole pode possibilitar um melhor resultado no controle biológico devido a interações aditivas ou mesmo sinérgicas entres esses microrganismos (MARZANO et al., 2013; PARNELL et al., 2016; DE VRIEZE et al., 2018; GUZMÁN-GUZMÁN et al., 2018).

O controle de doenças utilizando agrotóxicos e agentes de controle biológico pode se tornar uma eficiente estratégia de manejo integrado reduzindo o volume e número de aplicações dos produtos de controle químico utilizados nas grandes culturas como a da banana. Silva et al. (2018) demonstraram que o isolado *T. asperellum* IBLF 914 pode ser compatível com os demais tratamentos fitossanitários utilizados na cultura da alface.

Ao avaliar a compatibilidade *in vitro* entre dois isolados antagonistas de *T. asperellum* e seis fungicidas recomendados para o controle da podridão negra do Cacau (*Phytophthora megakarya*), Marcellin et al. (2018) observaram que os fungicidas apresentaram um efeito negativo sobre os isolados de *T. asperellum* em suas concentrações recomendadas, sugerindo que o uso em conjunto com os agentes de biocontrole como parte de uma estratégia de manejo, só será possível em concentrações dos produtos químicos abaixo do ideal.

Esses estudos sugerem que o uso de agentes de biocontrole juntamente com aplicações de agrotóxicos visando uma estratégia de manejo integrado de doenças e pragas vem sendo uma prática adotada por produtores rurais, no entanto, o efeito dessa ação conjunta ainda vem sendo estudado e necessita uma maior atenção.

6. Referências Bibliográficas

AKILA, R.; RAJENDRAN, L.; HARISH, S.; SAVEETHA, K.; RAGUCHANDER, T.; SAMIYAPPAN, R. Combined application of botanical formulations and biocontrol agents for the management of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) causing Fusarium wilt in banana. **Biological control**, v. 57, n. 3, p. 175-183, 2011.

ALAKONYA, A.; ORTEGA-BELTRAN, A.; MAHUKU, G.; SWENNEN, R.; BANDYOPADHYAY, R. Rapid screening for resistance against *Pseudocercospora* banana pathogens using relatively long detached banana leaves under controlled conditions. In: **Phytopathology**, p 25-25, 2018.

ARZATE-VEGA, J.; MICHEL-ACEVES, A.C.; DOMÍNGUEZ-MÁRQUEZ, V.M.; SANTOS-EMÉSTICA, O.A. Antagonismo de *Trichoderma* spp. sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, agente causal de la Sigatoka Negra del plátano (*Musa* sp.) in vitro e invernadero. **Revista mexicana de fitopatología**, v. 24, n. 2, p. 98-104, 2006.

BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A.M; LIMÓN, M.C; CODON, A.C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International microbiology**, v. 7, n. 4, p. 249-260, 2004.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Impactos das mudanças climáticas sobre o controle biológico de doenças de plantas. **Embrapa Meio Ambiente-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2009.

BORGES, A. L.; COELHO, E.F.; DA COSTA, E.L.; DA SILVA, J.T.A. Fertirrigação da bananeira. **Embrapa Mandioca e Fruticultura-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2007.

BORGES, A.L. **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004.

BORGES, A.L.; SILVA, T.O. da; CALDAS, R.C.; ALMEIDA, I.E. de A. Adubação nitrogenada para bananeira terra (*Musa* sp. AAB, subgrupo Terra). **Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal**, v.24, n.1, p.189-193, 2002.

BORGES, A.L.; SILVA, A.L.; BATISTA, D.C.; MOREIRA, F.R.B.; FLORI, J.E.; OLIVEIRA, J.E.M.; ARAÚJO, J.L.P.; PINTO, J.M.; CASTRO, J.M.C.; MOURA, M.S.B.; AZOUBEL, P.M.; CUNHA, T.J.F.; SILVA, S.O.; CORDEIRO, Z.J.M. Sistema de Produção da Bananeira Irrigada. Sistemas de Produção – Embrapa Semiárido. 2009.

BRITO, F. S.D.; FRAAIJE, B.; MILLER, R.N.G. Sigatoka Disease Complex of Banana in Brazil: Management Practices and Future Directions. **Outlooks on Pest Management**, v. 26, n. 2, p. 78-81, 2015.

BUBICI, G.; KAUSHAL, M.; PRIGIGALLO, M.I.; CABANÁS, C.G.L.; MERCADO-BLANCO, J. Biological control agents against Fusarium wilt of banana. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 616, 2019.

BUDDENHAGEN, I. W. Banana breeding and Fusarium wilt. **Fusarium wilt of banana.**, p. 107-113, 1990.

BUDDENHAGEN, I. Understanding strain diversity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* and history of introduction of 'Tropical Race 4' to better manage banana production. In: **III International Symposium on Banana: ISHS-ProMusa Symposium on Recent Advances in Banana Crop Protection for Sustainable** 828, p. 193-204, 2009

CABALLERO, H.; POCASANGRE, E.; CASANOVES, F.; AVELINO, J.; TAPIA, F.; ORTIZ, J.L. Use of endophytic insulation of *Trichoderma* spp., for biocontrol of Panama disease (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) race 1, in vitro plants of banana, Gros Michel variety (AAA) under greenhouse. **La Calera**, v. 13, n. 20, p. 16-23, 2013.

CABRAL, D. Microbiological quality of organic vegetables produced in soil treated with different types of manure and mineral fertilizer. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37(4), p. 538-544, 2006.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. (Ed.). **Fertilidade do solo**, Viçosa, v. 2, p. 375-470, 2007.

CARLIER, J.; HAYDEN, H.; RIVAS, G.; ZAPATER, M.F.; ABADIE, C.; AITKEN, E. Genetic differentiation in *Mycosphaerella* leaf spot pathogens. **Mycosphaerella leaf spot diseases of bananas: present status and outlook**, p. 123, 2002.

CAVERO, P.A.S.; HANADA, R.E.; GASPAROTTO, L.; COLEHO NETO, R.A.; SOUZA, J.T.D. Biological control of banana black Sigatoka disease with *Trichoderma*. **Ciência Rural**, v. 45, n. 6, p. 951-957, 2015.

CHAVES, N. P.; STAVER, C.; DITA, M. A. Potential of *Trichoderma asperellum* for biocontrol of Fusarium wilt in banana. In: **XXIX International Horticultural Congress on Horticulture: Sustaining Lives, Livelihoods and Landscapes (IHC2014): IX 1114**, p. 261-266, 2014.

CHEN, H.B.; XU, C.U.; FENG, Q.R.; HU, G. B.; LI, J.G.; WANG, Z.H.; MOLINA JR, A.B. Screening of banana clones for resistance to Fusarium wilt in China. In: Molina AB, Roa VN, Van den Bergh I, Borromeo KH, editors. Advancing banana and plantain R&D in Asia and the Pacific—Vol.13, Proceedings of the 3rd BAPNET Steering Committee meeting, 2004 November 23–26, Guangzhou, China. Los Bãnos: INIBAP-AP; p. 165–174, 2005.

CHEN, Y.; ZHOU, D.; QI, D.; GAO, Z.; XIE, J.; LUO, Y. Growth promotion and disease suppression ability of a *Streptomyces* sp. CB-75 from banana rhizosphere soil. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 2704, 2018.

CHILLET, M.; ABADIE, C.; HUBERT, O.; CHILIN-CHARLES, Y.; DE BELLAIRE, L.L. Chilin-Charles Y, de Bellaire LL. Sigatoka disease reduces the greenlife of bananas. **Crop Protection**, v. 28, p. 41–5, 2009.

COMTE, I.; CATTAN, P.; CHARLIER, J. B.; GENTIL, C.; MOTTES, C.; LESUEUR-JANNOYER, M.; VOLTZ, M. Assessing the environmental impact of pesticide use in banana cropping systems. In: **X International Symposium on Banana: ISHS-ProMusa Symposium on Agroecological Approaches to Promote Innovative Banana 1196**, p. 195-202, 2016.

COOK, R. James. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. **Annual review of phytopathology**, v. 31, n. 1, p. 53-80, 1993.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. The nature and practice of biological control of plant pathogens, 1983.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; KIMATI, H. Doenças da bananeira (*Musa* spp.). In: KIMATI; GALLI (eds.) **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo. Ed. Agronômica Ceres. v. 2. p.99-117, 2005.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; SILVA, S. O. **Recomendações técnicas sobre a Sigatoka-negra da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, p. 107, 2011.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, AP DE; MEISSNER FILHO, P. E. Doenças e métodos de controle. **O cultivo da bananeira**, v. 1, p. 146-182, 2004.

CORDEIRO, Z.J.M.; MATOS, A.P.de; FERREIRA, D.M.V. **Manual para identificação da Sigatoka-negra**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, (Documentos, 96)., p. 16, 2001.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; KIMATI, H. Doenças da bananeira (*Musa* spp.). In: KIMATI ; GALLI (eds.) **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo. Ed. Agronômica Ceres. v. 2. p.99-117, 2005.

COSTA, B.P.; DE MORAES REGO, C.A.R. As várias cultivares de banana e a problemática de sua comercialização no município de Olinda Nova do Maranhão. **Agropecuária Científica do Semiárido**, v. 10, n. 4, p. 01-04, 2015.

COSTA, S. N.; BRAGANÇA, C.A.D.; RIBEIRO, L.R.; AMORIM, E.P.; OLIVEIRA, S.A.S.; DITA, M.A; LARANJEIRA, F.F.; HADDAD, F. Genetic structure of *Fusariumoxysporum* f. sp. *cubense* in different regions from Brazil. **Plant pathology**, v. 64, n. 1, p. 137-146, 2015.

CROUS, P.W.; MOURICHON, X. *Mycosphaerella eumusae* and its anamorph *Pseudocercospora eumusae* spp. nov.: Causal agent of eumusae leaf spot disease of banana. *Sydowia* v. 54, p. 35-43, 2002.

DAMATTO JUNIOR, E.R.; VILLAS BOAS, R.L.; LEONEL, S.; FERNANDES, D.M. Alterações em propriedades de solo adubado com doses de composto orgânico sob cultivo de bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, p. 546-549, 2006.

DA SILVA, M.J.R.; DE JESUS, P.R.R.; DOS ANJOS, J.M.C.; MACHADO, M.; RIBEIRO, V.G. Caracterização agronômica e pós-colheita das bananeiras 'Maravilha' e 'Preciosa' no Submédio do Vale São Francisco. **Revista Ceres**, v. 63, n. 1, p. 46-53, 2016.

DE AMARANTE JUNIOR, O.P.; DOS SANTOS, T.C.R.; BRITO, N.M.; RIBEIRO, M.L. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Quimica nova**, p. 589-593, 2002.

DE SÁ, M.N.F.; DE SOUZA LIMA, J.; DE JESUS, F.N, PEREZ, J.O; GAVA, C.A.T. Seleção in vitro de agentes de biocontrole visando o controle de *Fusarium* sp. **Acta Brasiliensis**, v. 3, n. 1, p. 14-16, 2019.

DE VRIEZE, J.; PINTO, A.J.; SLOAN, W.T.; LJAZ, U.Z. The active microbial community more accurately reflects the anaerobic digestion process: 16S rRNA (gene) sequencing as a predictive tool. **Microbiome**, v. 6, n. 1, p. 63, 2018.

DI, X.; TAKKEN, F.L.W.; TINTOR, N. How phytohormones shape interactions between plants and the soil-borne fungus *Fusarium oxysporum*. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 170, 2016.

DIANESE, A. de C.; BLUM, L.E.B. O uso de fosfitos no manejo de doenças fúngicas em fruteiras e soja. **Embrapa Cerrados-Documents (INFOTECA-E)**, 2010.

DIAZ-TRUJILLO, C.; CHONG, P.; STERGIPOULOS, I.; CORDOVEZ, V.; GUZMAN, M.; DE WIT, P.J. A new mechanism for reduced sensitivity to demethylation-inhibitor fungicides in the fungal banana black Sigatoka pathogen

Pseudocercospora fijiensis. **Molecular plant pathology**, v. 19, n. 6, p. 1491-1503, 2018.

DITA, M. B.; HECK, D.; MIZUBUTI, E.S.; STAVER, C.P. Fusarium wilt of banana: current knowledge on epidemiology and research needs toward sustainable disease management. **Frontiers in plant science**, v. 9, 2018.

DOSSA, D.; FUCHS, F. Banana: produção, mercado e preços na CEASA-PR. Boletim Técnico, 6 Curitiba: CEASA, p. 3, 2017.

DPI; F. Basic requirement of south Queensland bananas. Queensland Department of Primary Industries & Fisheries, 2004.

EHR, R. J.; KEMMITT, G. **Periodic table of the fungicides**. Indianapolis: Dow Agrosciences, 2002.

ELAD, Y.; BARAK, R.; CHET, I. Possible role of lectins in mycoparasitism. **Journal of Bacteriology**, v. 154, n. 3, p. 1431-1435, 1983.

FAOSTAT. Banana Market review: Preliminary results for 2017. Rome: Food and Agriculture Organizations of United Nations. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> . Acesso em: abril de 2019.

FORCELINI, C.A. Fungicidas inibidores da síntese de esteróis. I. Triazoles. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 2, p. 335-355, 1994.

FRIENSEN, T.L. Combating the Sigatoka Disease Complex on Banana. **PLoS Genetic**, v. 12, 2016.

FULLERTON, R.A.; TRACEY, G.M. Tolerance of *Mycosphaerella fijiensis* to benomyl and carbendazim in the Pacific Islands. **Tropical agriculture**, v. 61, n. 2, p. 133-136, 1984.

GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J.C.R.; HANADA, R.E.; MONTARROYOS, A.V.V. Sigatoka-negra da bananeira. **Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental**, 2006.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000., 2000.

GONZÁLEZ, D. N.; CHÁVEZ, M.A.A.; GUTIÉRREZ, R.L.; CUPUL, W.C.; OCHOA, J.M.; VELASCO, E.G. Suitability of *Cordyceps bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for biological control of *Cosmopolites sordidus* (Germar)(Coleoptera: Curculionidae) in an organic Mexican banana plantation: laboratory and field trials. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 125, n. 1, p. 73-81, 2018.

GUEST, D. I.; GRANT, B. R. The complex action of phosphonates as antifungal agents. **Biological Review**, Cambridge, v.66, s.I, p.159-187, 1991.

GUO, L.; HAN, L.; YANG, L.; ZENG, H.; FAN, D.; ZHU, Y.; FENG, Y.; WANG, G.; PENG, C.; JIANG, X.; ZHOU, D.; NI, P.; LIANG, C. Genome and transcriptome analysis of the fungal pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* causing banana vascular wilt disease. **PLoS One**, v. 9, n. 4, p. e95543, 2014.

GUZMÁN-GUZMÁN, P.; PORRAS-TRONCOSO, M.D.; OLMEDO-MONFIL, V.; HERRERA-ESTRELLA, A. *Trichoderma* Species: Versatile Plant Symbionts. **Phytopathology**, v. 109, n. 1, p. 6-16, 2018.

HADDAD, F.; AMORIM, E. P.; RODRIGUEZ, M. A. D. Fusariose da bananeira no Brasil: situação atual e perspectivas de pesquisa. **Congresso latino-americano y del Caribe de Plátanos y Bananos**, Brasil, 2015.

HADDAD, F.; ROCHA, L.S.; SOARES, A.C.F.; MARTINS, I.P.S.; TEIXEIRA, L.A.J.; STAVAR, C.; DITA, M. Management of *Fusarium* wilt of bananas in Minas Gerais, Brazil. In: **X International Symposium on Banana: ISHS-ProMusa Symposium on Agroecological Approaches to Promote Innovative Banana 1196**, p. 137-146, 2018.

HAGGAG, Wafaa M. Induction of hyperproducing chitinase *Trichoderma* mutants for efficient biocontrol of *Botrytis cinerea* on tomato and cucumber plants growing in plastic houses. **Arab Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 2, p. 151-164, 2008.

HARMAN, G.E.; HOWELL, C.R.; VITERBO A.; CHET, I.; LORITO, M. Trichoderma species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Review Microbiology**, v. 2, p. 43-56, 2004.

HAYDEN, H. L.; CARLIER, J.; AITKEN, E. A. B. Genetic structure of *Mycosphaerella fijiensis* populations from Australia, Papua New Guinea and the Pacific Islands. **Plant pathology**, v. 52, n. 6, p. 703-712, 2003.

HENRIQUE, W.; JEFFERS, R.D.; JR. LACHER, T.E.; KENDALL, J. Agrochemicals use on banana plantations in Latin America: perspectives on ecological risk. **Environmental Toxicologic and Chemistry**, USA, v. 16, n.1, p. 91-99, 1997.

HEWITT, H.G. **Fungicides in crop protection**. Oxon, UK: CAB International, 221p, 1998.

HOUBIN, C.; CHUNXIANG, X.; QIRUI, F.; GUIBING, H.; JIANGUO, L.; ZEHUAI, W.; MOLINA JR, A.B. Screening of banana clones for resistance to fusarium wilt in China. **Advancing Banana and Plantain R and D in Asia and The Pasific**, v. 13, p. 165-174, 2004.

HOWELL, C. R. Mechanisms employed by Trichoderma species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant disease**, v. 87, n. 1, p. 4-10, 2003.

HWANG, S.C.; KO, W.H. Cavendish banana cultivars resistant to Fusarium wilt acquired through somaclonal variation in Taiwan. **Plant disease**, v. 88, n. 6, p. 580-588, 2004.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Agropecuário-2019: resultados preliminares. Recuperado de <https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/bibliotecacatalogo?view=detalhes&id=7309> 3. Acesso em março de 2019.

IGUE, K.; ALCOVER, M.; DERPSCH, R.; PAVAN, M.A.; MELLA, S.C.; MEDEIROS, G.D. **Adução orgânica**. IAPAR, p. 33, 1984.

INDEXFUNGORUM. Disponível em:
[http://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=318160.](http://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=318160)
 Acessado em março de 2019.

ISAZA, R.E.; DIAZ-TRUJILLO, C.; DHILLON, B.; AERTS, A.; CARLIER, J.; CRANE, C.F.; V. DE JONG, T.; DE VRIES, I.; DIETRICH, R.; FARMER, A.D.; FORTES FERREIRA, C.; GARCIA. S.; GUSMAZ, M.; REYNOLDS, E.; SCALLIET, G.; SOUZA, M.; STERGIOPOULOS, I.; VAN DER LEE, T.A.J.; DE WIT, P.J.G.M.; ZAPATER, M. –F.; ZWIERS. L.-H.; GRIGORIEV, I.V.; GOODWIN, S.B.; KEMA, G.H.J. Combating a global threat to a clonal crop: banana black Sigatoka pathogen *Pseudocercospora fijiensis* (synonym *Mycosphaerella fijiensis*) genomes reveal clues for disease control. **PLoS genetics**, v. 12, n. 8, p. e1005876, 2016.

JIMÉNEZ, J.L.S.; BRIOSO, P.S.T. Surgery or surgical defoliation in ‘Grand Naine’ banana in the control of black Sigatoka in the state of Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 40, n. 5, 2018.

KATAN, T. Current status of vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. **Phytoparasitica**, v. 27, n. 1, p. 51-64, 1999.

KAVITHA, P.; RAO, J.V. Oxidative stress and locomotor behaviour response as biomarkers for assessing recovery status of mosquito fish, *Gambusia affinis* after lethal effect of an organophosphate pesticide, monocrotophos. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.87 (2), p.182-188, 2007.

KUMAR, A. R.; KUMAR, N. Potassium nutrition in banana. **The Asian Journal of Horticulture**, v.3, p.479-482, 2008.

LAHAV, E. Banana nutrition. In: GOWEN, S., ed. **Bananas and plantains**. London, Chapman & Hall, p.258-316, 1995.

LEE, J.; NUH, N.; HONG, J.H.; KIM, B.S.; KIM, G.H.; KIM, J.J. The antagonistic properties of 669 *Trichoderma* spp. inhabiting woods for potential biological control of wood-damaging 670 fungi, **Holzforschung**, v. 66, p. 883–887, 2012.

LIMA, R.D.S.; MUNIZ, M.D.F.S.; CASTRO, J.D.C.; OLIVEIRA, E.R.L.; OLIVEIRA, P.G.; SIQUEIRA, K.M.S.; MACHADO, A.C.Z.; COSTA, J.G. Frequencies and population densities of the major. **Nematropica**, v. 43, n. 2, p. 186-193, 2013.

LITORIYA, N.S.; JOSHI, M.N.; SINGH, S.; PATEL, A.R.; SHAH, P.G. Persistence and Residues of a Combi Product of Trifloxystrobin and Tebuconazole on Banana. **Pesticide Research Journal**, v. 29, n. 1, p. 35-41, 2017.

LÓPEZ-ARREDONDO, D.L.; LEYVA-GONZÁLEZ, M.A.; GONZÁLEZ-MORALES, S.I.; LÓPEZ-BUCIO, J.; HERRERA-ESTRELLA, L. Phosphate nutrition: improving low-phosphate tolerance in crops. **Annual review of plant biology**, v. 65, p. 95-123, 2014.

LÓPEZ-BUCIO, J.; PELÁGIO-FLORES, R.; HERRERA-ESTRELLA, A. Trichoderma as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. **Scientia horticultrae** (Amsterdam), v.196, p. 109–123, 2015.

LÓPEZ, M. A.; ESPINOZA, M. J. **Manual de nutrición y fertilización del banano**. Corporación Bananera Nacional (CORBANA), Pococí (Costa Rica) Instituto de la Potasa y el Fósforo, Querétaro (México)., 1995.

LOVATT, C. J.; MIKKELSEN, R. L. Phosphite fertilizers: What are they? Can you use them? What can they do. **Better crops**, v. 90, n. 4, p. 11-13, 2006.

LSPA - Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Banco de tabelas estatísticas. 2018. Acesso em: Março de 2019.

MAIA, A.M.; DA SILVA, C.M. Efeito da adubação no controle do Mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) na cultura da banana. **Campo Digital**, v. 6, n. 1, 2011.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; DE OLIVEIRA, A. S. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafos 2. ed., ver. e atual., 1997.

MARCELLIN, M.L.; FRANÇOIS, M.E.; VALTERI, V.A.; ENDALI, E.M.J.; BEGOUDE, B.A.D. In vitro study of the compatibility of six fungicides with two strains of

Trichoderma asperellum, biocontrol agents used against cacao black pod disease in Cameroon. **International Journal of Innovation and Applied Studies**, v. 24, n. 4, p. 1834-1848, 2018.

MARTÍNEZ-BOLANÓS, L.; TÉLIZ-ORTIZ, D.; RODRÍGUEZ-MACIEL, J. C.; MORA-AGUILERA, J. A.; NIETO-ÁNGEL, D.; CORTÉZ-FLORES, J. I.; ... E SILVA-AGUAYO, G. Resistencia a fungicidas en poblaciones de *Mycosphaerella fijiensis* del sudeste mexicano. **Agrociencia**, v. 46(7), p. 707-717, 2012.

MARTINS, M. B.; GASPAROTTO, L.; MOREIRA, A. Black-sigatoka in banana cultivated in South-Central region of Mato Grosso State, Brazil. **Revista de Ciências Agrárias/Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 59, n. 1, p. 74-79, 2016.

MARZANO, M.; GALLO, A.; ALTOMARE, C. Improvement of biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum* vs. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* through UV-induced tolerance to fusaric acid. **Biological control**, v. 67, n. 3, p. 397-408, 2013.

MELO, A. S. DE; FERNANDES, P. D.; SOBRAL, L. F.; BRITO, M. E. B.; DANTAS, J. D. M. Crescimento, produção de biomassa e eficiência fotossintética da bananeira sob fertirrigação com nitrogênio e potássio. **Revista Ciência Agronômica**, v.41, p.417-426, 2010.

MENEZES, J. P.; JUNGES, E.; BLUME, E.; PEREIRA, M. E. Toxicologia do biopreparado à base de *Trichoderma* sp. (isolado UFSM T17) administrado em mamífero. **Revista da FZVA**, v. 17, n. 1, 2010.

MEREDITH, D.S.; LAWRENCE, J.S. Black leaf streak disease of bananas (*Mycosphaerella fijiensis*): Susceptibility of cultivars. **Tropical Agriculture Trinidad**, v. 47: p. 375-387, 1970.

MOLINA, A.B.; FABREGAR, E.; SINOHIN V.G.; YI, G.; VILJOEN A. Recent occurrence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* tropical race 4 in Asia. *Acta Horticulturae*. v. 828, p. 109–116, 2009.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, cap. 1, p. 7-14, 2009.

MOREIRA, R.S. **Banana: teoria e prática de cultivo**. Campinas: Fundação Cargill, p. 335, 1987.

MORTON, J.F. Banana. In: Fruits of Warm Climates. **Florida Flair Books**, Miami, p. 29 - 46, 1987.

MOSTERT, D.; MOLINA, A.B.; DANIELLS, J.; FOURIE, G.; HERMANTO, C.; CHAO, C.P.; E LI, C. The distribution and host range of the banana Fusarium wilt fungus, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, in Asia. **PloS one**, v. 12, n. 7, p. e0181630, 2017.

MOURICHON, X.; FULLERTON, R.A. Geographical distribution of the two species *Mycosphaerella musicola* Leach (*Cercospora musae*) and *M. fijiensis* Morelet (*C. 28 fijiensis*), respectively, agents of Sigatoka disease and black leaf streak disease in bananas and plantains. **Fruits**, v. 45, p. 213-218, 1990.

MUKHERJEE, P.K.; HORWITZ, B.A.; KENERLEY, C.M. Secondary metabolism in Trichoderma - a genomic perspective. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 35-45, 2012.

NOMURA, E.S.; CUQUEL, F.L.; DAMATTO JUNIOR, E.R.; FUZITANI, E.J.; BORGES, A.L.; SAES, L.A. Nitrogen and potassium fertilization on 'Caipira' and 'BRS Princesa' bananas in the Ribeira Valley. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, n. 8, p. 702-708, 2016.

NOMURA, E.S.; DAMATTO JUNIOR, E.R.; FUZITANI, E.J.; AMORIM, E.P.; SILVA, S DE O. E. Avaliação agrônômica de genótipos de bananeiras em condições subtropicais, Vale do Ribeira, São Paulo - Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal** - SP, v. 35, n. 1, p. 112-122, 2013.

OLIVEIRA, E.S.D.; VIANA, F.M.P.; MARTINS, M.V.V. Alternatives to fungicides in the control of banana anthracnose. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 4, p. 340-350, 2016.

PARNELL, J. J.; BERKA, R.; YOUNG, H.A.; STURINO, J.M.; KANG, Y.; BARNHART AND D. M.; DIELO, M.V. From the lab to the farm: an industrial perspective of plant beneficial microorganisms. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 1110, 2016.

PEREIRA, M. C. T.; SALOMÃO, L. C. S.; SILVA, S. de O. Suscetibilidade à queda natural e caracterização dos frutos de diversos genótipos de bananeiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.3, p. 499-502, 2004.

PHILPOTT, J.C.; KNOWLES, C.H. **Report on a visit to Sigatoka**. Fiji: Phamphlet Of the Department of Agriculture, v. 3, 1913.

PLOETZ, R. C. Fusarium wilt of banana. **Phytopathology** , v. 105, n. 12, p. 1512-1521, 2015.

PLOETZ, R.C. Management of Fusarium wilt of banana: A review with special reference to tropical race 4. **Crop Protection**, v. 73, p. 7–15, 2015.

PLOETZ, R.C. Panama Disease: An old nemesis rears its ugly head. Part 1 and 2. APS Feature; 2005.

PLOETZ, R.C., HERBERT, J., KABONJI, S., HERNANDEZ, J.H., PEGG, K.G., VENTURA, J.A., MAYATO, L.S. Importance of Fusarium wilt in different banana-growing regions. In: PLOETZ, R.C. (Ed.). **Fusarium wilt of Banana**, St. Paul. The American Phytopathological Society, p.9-26, 1990.

RABEA, E.I.; BADAWEY, M.E.T.; STEVENS, C.V.; SMAGGHE, G.; STEURBAUT, W. Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action. **Biomacromolecules**, v. 4, n. 6, p. 1457-1465, 2003.

RAMAN, T.; GOPALAKRISHNAN, V.; PERUMAL, G.D. Identification of differentially expressed genes from *Fusarium oxysporum* f. sp *ubense* and *Trichoderma asperellum* (prr2) interaction in the susceptible banana cultivar Grand Naine. **Turkish Journal of Botany**, v. 40, n. 5, p. 480-487, 2016.

RAMOS, J. B.; BRAGANÇA, C.A.D.; ROCHA, L.S.; OLIVEIRA, A. DA S.; CORDEIRO, Z.J.M.; HADDAD, F. First Report of Black Sigatoka of Banana Caused by *Mycosphaerella fijiensis* in Bahia, Brazil. **Plant disease**, v. 102, n. 10, p. 2035-2035, 2018.

RAUT, S. P.; RANADE, S. Diseases of banana and their management. In: **Diseases of Fruits and Vegetables: Volume II**. Springer, Dordrecht, p. 37-52, 2004.

RIVAS, G. G.; ZAPATER, M.F.; ABADIE, C.; CARLIER, J. Founder effects and stochastic dispersal at the continental scale of the fungal pathogen of bananas *Mycosphaerella fijiensis*. **Molecular Ecology**, v. 13, n. 2, p. 471-482, 2004.

ROMERO, R.A.; SUTTON, T.B. Sensitivity of *Mycosphaerella fijiensis*, causal agent of black Sigatoka of banana, to propiconazole. **Phytopathology**, v. 87, p. 96–100, 1997.

SÁ, R.F.D.; OLIVEIRA, A.D.S.; OLIVEIRA, R.D.C.D.; SANTOS, J.C.M.; MOREIRA, A.A.; CASTELLANI, M.A. First record of the association of banana (*Musa* sp.) and *Ceratitidis capitata* (Widemann, 1824) in Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 41, n. 1, 2019.

SAITO, L. R.; SALES, L.L.S.R.; MARTINCKOSKI, L.; ROYER, R.; RAMOS, M.S.D.; REFFATTI, T. Aspectos dos efeitos do fungo *Trichoderma* spp. no biocontrole de patógenos de culturas agrícolas. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v. 2, n. 3, p. 203-216, 2011.

SAMUELS, G.J. *Trichoderma*: systematics, the sexual state, and ecology. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 195-206, 2006.

SHANKAR, U.; SINGH, A. K.; MONDAL, A. Integrated Pest Management in Banana. **Integrated Pest Management in the Tropics**, cap. 12, p. 329-349, 2016.

SHEN, Z.; WANG, B.; LV, N.; SUN, Y.; JIANG, X.; LI, R.; SHEN, G. Effect of the combination of bio-organic fertiliser with *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6 on the control of banana Fusarium wilt disease, crop production and banana rhizosphere

culturable microflora. **Biocontrol science and technology**, v. 25, n. 6, p. 716-731, 2015.

SILVA, M.A.F.; MOURA, K.E.; SALOMÃO, D.; PATRICIO, F.R.A. Compatibilidade de isolados de *Trichoderma* com pesticidas utilizados na cultura da alface. **Summa Phytopathologica**, v.44, n.2, p.137-142, 2018.

SINGH, A.; SHUKLA, N.; KABADWAL, B.; TEWARI, A.; KUMAR, J. Review on Plant-Trichoderma-Pathogen Interaction. **International Journal Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 7, p. 2382-2397, 2018.

SMESRUD, J.; DUVENDACK, G.; OBEREINER, J.; JORDAHL, J.; MADISON, M. Practical salinity management for leachate irrigation to poplar trees. **International Journal of Phytoremediation**, v. 14(S1), p. 26-46, 2012.

SMILLIE, R.; GRANT, B.R.; GUEST, D. The mode of action of phosphite: evidence for both direct and indirect modes of action on three *Phytophthora* spp. in plants. **Phytopathology**, Saint Paul, v.79, n.9, p.921-926, 1989.

SMITH, E. F. **A Cuban banana disease**, 1910.

SOLURI, J. *Banana cultures: Agriculture, consumption, and environmental change in Honduras and the United States*. Austin: University of Texas Press; 2005.

SRIVASTAVA, R., KHALID, A.; SINGH, U.S; SHARMA, A.K. Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungus, fluorescent *Pseudomonas* and *Trichoderma harzianum* formulation against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* for the management of tomato wilt. **Biological control**, v. 53, n. 1, p. 24-31, 2010.

STANLEY, B.F.; DE LOS REYES, F.L.; BARLAZ, M.A. Comparison of bacteria and archaea communities in municipal solid waste, individual refuse components, and leachate. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 79(2), p. 465-473, 2012.

STEHMANN, C.; GRANT, B. R. Inhibition of enzymes of the glycolytic pathway and hexose monophosphate bypass by phosphonate. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 67, n. 1, p. 13-24, 2000.

STOVER, R.H. Sigatoka leaf spot diseases of bananas and plantains. **Plant Disease**, v. 64, p. 750-756, 1980.

STOVER, R.H. Fusarial wilt (Panama Disease) of bananas and other Musa species. **Fusarial wilt (Panama disease) of bananas and other Musa species.**, 1962.

STOVER, R.H.; SIMMONDS, N.H. Bananas. **Jhon Wiley & Sons**, New York, USA, 1987.

TARKOWSKI, G. M. Carbofuran analysis of risks to endangered and threatened salmon and steelhead. **US Environmental Protection Agency Environmental Field Branch Office of Pesticide Programs**, 2004.

TEMPLETON, G. E.; HEINY, D. K. Improvement of fungi to enhance mycoherbicide potential. **Biotechnology of fungi for improving plant growth**, p. 127-151, 1989.

TOMLIN, C. D. S. **The pesticide manual** – a world compendium. Surrey, UK: British Crop Protection Council. 11 ed., p. 1252-4, 1997.

VENÂNCIO, W.S.; ZAGONEL, J.; FURTADO, E.L.; SOUZA, N.L. Novos fungicidas. I produtos naturais e derivados sintéticos: estrobilurinas e fenilpirroles. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 7, p. 103-155, 1999.

VILJOEN, A. The status of Fusarium Wilt (Panama disease) of banana in South African. **South African Journal of Science**, v. 98, p. 1–4, 2002.

VILJOEN, A.; MAHUKU, G.S.; MASSAWE, C.; TENDO SSALI, R.; KIMUNYE, J.N.; MOSTERT, G.; COYNE, D.L. Banana diseases and pests: field guide for diagnostics and data collection. 2017.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI E. L., MARRA, R.; WOO, S. L.; LORITO, M. Review Article Trichoderma–plant–pathogen interactions. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, p. 1-10, 2008.

WHIPPS, J. M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. **Journal of experimental Botany**, v. 52, p. 487-511, 2001.

WELLS, H. D. **Trichoderma as a biocontrol agent**, 1988.

WOO, S.L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MANGANIELLO, G.; LORITO, M. Trichoderma-based products and their widespread use in 1966 agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, p. 71-126, 2014.

ZEILINGER, S.; GRUBER, S.; BANSAL, R.; MUKHERJEE, P.K. Secondary metabolism in Trichoderma—Chemistry meets genomics. **Fungal Biology Reviews**, v. 30, n. 2, p. 74-90, 2016.

CAPÍTULO II

Compatibilidade de *Trichoderma asperellum* com produtos agrícolas aplicados na cultura da bananeira

*Artigo elaborado sob as normas da Revista Brasileira de Fruticultura

1 **Compatibilidade de *Trichoderma asperellum* com produtos agrícolas aplicados na**
2 **cultura da bananeira**

3

4 Lorena Santos Kruschewsky¹, Fernando Haddad², Leandro de Souza Rocha³, Harllen Sandro
5 Alves Silva², ⁴Anelita de Jesus Rocha

6

7 **RESUMO**

8 O manejo integrado pode ser uma alternativa eficaz para reduzir os prejuízos ocasionados na
9 cultura da bananeira. Entretanto, para agregar diferentes estratégias com uso de produtos
10 químicos e biológicos, faz-se necessário conhecer a compatibilidade de todos os componentes
11 envolvidos nessa integração. Este estudo verificou a compatibilidade in vitro de produtos
12 agrícolas utilizados na cultura da bananeira com o isolado de *Trichoderma asperellum* Tri-
13 81. O crescimento micelial, concentração e germinação de conídios do isolado foram
14 avaliados em cinco doses para cada produto. Por meio da Análise de Componentes Principais
15 e Heatmap, verificou-se que os produtos químicos tiabendazol, carbofurano, tebuconazol,
16 propiconazol, difenoconazol, flutriafol e glifosato foram incompatíveis ao isolado. Todos os
17 fertilizantes, incluindo os produtos lixiviado de engajo, óleo de neem e o ingrediente ativo
18 Imidacloprido foram compatíveis. O fosfito de magnésio e fosfito de zinco foram
19 classificados como dose-dependentes, enquanto o óleo mineral interferiu negativamente
20 apenas no crescimento micelial do isolado de *T. asperellum* Tri-81. Dentre os agentes de
21 biocontrole testados, apenas o produto à base de *Trichoderma asperellum* foi compatível ao
22 *T. asperellum* Tri-81. A utilização dos produtos que apresentaram incompatibilidade deve ser
23 estabelecida de forma que seus efeitos residuais não interfiram na efetividade do *T.*
24 *asperellum* Tri-81.

25 **Termos para indexação:** Antagonismo, *Musa* sp., controle biológico, manejo integrado.

26

27

¹Mestranda em Microbiologia Agrícola, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), email: lorena-bio@hotmail.com. ² Dotor, Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas-BA, email: fernando.haddad@embrapa.br; harllen.alves@embrapa.br. ³Doutor, Analista da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas-BA, email: leandro.rocha@embrapa.br. ⁴Doutoranda em Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), email: anelitarocha@gmail.com

28 **Compatibility of *Trichoderma asperellum* with agricultural products used in banana**
29 **cultivation.**

30

31 **ABSTRACT**

32 Integrated management system can be an effective approach to reduce damage to banana
33 crops. However, to aggregate different strategies with the use of chemical and biological
34 products, it is necessary to know the compatibility of all the components involved in this
35 integration. In this study we have presented the *in vitro* compatibility of agricultural products
36 used in banana cultivation with the isolate *Trichoderma asperellum* Tri-81. The mycelial
37 growth, concentration and germination of conidia of the isolate were evaluated in four
38 different dosages for each product. Through Principal Component Analysis (PCA) and
39 Heatmap it was that the chemicals products thiabendazole, carbofuran, tebuconazole,
40 propiconazole, diphenconazole, flutriafol and glyphosate were incompatible with the isolate.
41 All fertilizers, including the leachate of banana rakes, neem oil and the active ingredient
42 Imidacloprid were compatible. The magnesium phosphite and zinc phosphite were classified
43 as dose-dependent. Mineral oil negatively interfered only in the the mycelial growth of isolate.
44 Among the biocontrol agents tested, only the product based on *Trichoderma asperellum* was
45 compatible with the *Trichoderma asperellum*Tri-81. The use of incompatibles products
46 should be established so that their residual effects do not interfere with the effectiveness of *T.*
47 *asperellum* Tri-81.

48 **Index terms:** Atagonism, *Musa* sp., biological control, integrated management system.

49

50 **INTRODUÇÃO**

51 A banana além de ser um dos alimentos básicos mais importantes do mundo, possui o
52 seu cultivo distribuído em diversas regiões, principalmente em países da África, Ásia e
53 América Latina, que em 2016 corresponderam a um total de 113.28 milhões de toneladas
54 produzidas (FAOSTAT, 2018). O Brasil, que ocupa o quarto lugar no *ranking* de produção
55 mundial, teve uma área plantada de 486,8 mil hectares com produção de 7,185 milhões de
56 toneladas em 2017 (FAOSTAT, 2018). Embora a exportação brasileira da fruta seja ainda
57 pouco expressiva, a cultura integra uma das atividades agrícolas de maior importância e
58 praticamente toda a produção nacional é voltada para o consumo interno (FAOSTAT, 2018;
59 OLIVEIRA et al., 2018).

60 A predominância do cultivo da bananeira se dá em regiões com clima tipicamente
61 tropical, com registro de altas temperaturas e precipitação. Nessas condições, o
62 desenvolvimento de doenças como a murcha de *Fusarium*, provocada por *Fusarium*
63 *oxysporum* f. sp. *cubense* e as Sigatoka-amarela e Sigatoka-negra provocadas por
64 *Mycosphaerella musicola* e *Mycosphaerella fijiensis*, respectivamente, podem comprometer
65 o desenvolvimento e a produtividade da cultura. Com isso, torna-se indispensável a utilização
66 de diferentes produtos químicos no manejo dessas doenças (PLOETZ, 2015; ALAKONYA,
67 2018).

68 Atualmente o uso indiscriminado de pesticidas, que ocorre de forma geral devido à alta
69 pressão exercida pelas doenças e pragas, tem forçado a busca por alternativas que minimizem
70 o impacto dessas atividades (FRIENSEN et al., 2016). Com isso, o manejo integrado de
71 doenças em todas as fases da cultura tem como principal objetivo manter os agentes
72 causadores de doenças em níveis abaixo do que sejam considerados economicamente
73 prejudiciais, por meio da integração de métodos como o controle químico, genético e
74 biológico (COMTE et al., 2016).

75 O controle biológico realizado naturalmente por microrganismos nativos ou
76 introduzidos em maior quantidade nesses ambientes, tem apresentado bons resultados na
77 redução de doenças de diversas culturas, inclusive a da banana (HADDAD et al., 2018;
78 GONZÁLEZ et al., 2018, BUBICI et al., 2019). A utilização desses microrganismos
79 benéficos e seus mecanismos antagônicos, somados ao controle químico, podem resultar em
80 produções agrícolas eficientes, produtivas e sustentáveis (SAITO et al., 2011).

81 Isolados de várias espécies de *Trichoderma* sp. já foram relatados por reduzir de forma
82 efetiva doenças na cultura da bananeira (KAHN et al., 2017; HADDAD et al., 2018). Os
83 efeitos provocados por esses antagonistas sobre diferentes fitopatógenos determinam sua
84 eficiência de biocontrole, que ocorre por meio de mecanismos como antibiose,
85 micoparasitismo, competição por nutrientes e potenciais campos de infecção e resistência
86 sistêmica induzida em plantas (HARMAN, 2004).

87 Dessa forma, o manejo integrado de doenças de plantas precisa ser empregado de
88 forma que não haja efeito negativo entre os componentes utilizados na proteção da planta
89 hospedeira. Os produtos considerados incompatíveis com microrganismos antagônicos
90 como *Trichoderma* sp., reduzem a capacidade do antagonista em expressar seu potencial
91 de agir de forma eficiente no controle do fitopatógeno. A influência dos produtos químicos

92 sobre os agentes de biocontrole, como espécies de *Trichoderma* sp., é uma informação útil
93 dentro de um programa de manejo integrado, por identificar se as aplicações desses produtos
94 podem ser utilizadas em conjunto com agentes de controle biológico. Diante disso, o
95 presente trabalho foi realizado com objetivo de avaliar a compatibilidade de diferentes
96 produtos agrícolas e agentes de controle biológico com um isolado de *Trichoderma*
97 *asperellum*, com potencial antagônico já comprovado na cultura da bananeira para manejo
98 da murcha de Fusarium.

99 MATERIAL E MÉTODOS

100 O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e
101 Fruticultura, município de Cruz das Almas, Bahia. Foi utilizado o isolado de *Trichoderma*
102 *asperellum*– Tri-81, previamente selecionado com potencial de biocontrole sobre *F.*
103 *oxysporum* f.sp *cubense*, por meio de estudos realizados na cultura da bananeira.

104 Os produtos agrícolas testados nos experimentos *in vitro* foram selecionados por
105 indicação de produtores. Ao todo, 24 produtos agrícolas foram utilizados, sendo 14 de uso
106 para adubação e 10 para controle de pragas e doenças, demonstrados por meio dos seus
107 ingredientes ativos.

108 Preparo dos tratamentos para teste de compatibilidade com *Trichoderma asperellum*

109 O efeito dos produtos agrícolas sobre o isolado de *T. asperellum* Tri-81 foi avaliado
110 sob cinco doses. Além da dosagem de cada produto recomendada para a cultura da bananeira,
111 utilizou-se duas doses a 10 % e 20 % abaixo e a 10% e 20 % acima da recomendada. Cada
112 produto teve sua concentração ajustada para o volume final de 200 mL de meio de cultura
113 (BDA). As doses dos produtos nas concentrações referidas foram adicionadas a 200 mL de
114 meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) fundente, e este foi vertido em placas de Petri
115 descartáveis de 9 cm de diâmetro. Como controle, preparou-se apenas o meio de cultura BDA
116 sem adição de produtos. Discos de micélio de *Trichoderma asperellum* de 0,6 cm de diâmetro
117 foram colocados no centro de cada placa. O fungo foi incubado em BOD a 25 °C com
118 fotoperíodo de 12 horas. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente
119 casualizado com 5 repetições.

120 Efeito das doses dos produtos agrícolas no crescimento micelial, esporulação e 121 germinação dos conídios de *T. asperellum*

122 A avaliação do crescimento micelial do isolado foi realizada pela mensuração do
123 diâmetro da colônia, com uma régua milimetrada, em dois sentidos perpendiculares da placa.
124 Nos tempos de 24, 48, 72 e 96 horas, com os valores obtidos do diâmetro das colônias,
125 calculou-se a área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM), utilizando a equação
126 $AACCM = \sum [(Y_{i+1} + Y_i)/2] [X_{i+1} - X_i]$, proposta por Campbell e Madden (1990), onde que
127 Y_i e Y_{i+1} são valores de crescimento da colônia observados em duas avaliações consecutivas
128 e X_{i+1} e X_i são os períodos das avaliações.

129 A esporulação do isolado de *T. asperellum*, determinada pela concentração de
130 conídios, foi avaliada após 10 dias de incubação do fungo em BOD a 25 °C, com fotoperíodo
131 de 12 horas. Para isso foram adicionados 10 mL de água destilada sobre a colônica fúngica,
132 seguido da raspagem da colônia com uma alça de Drigalski. Para tubos de ensaio contendo 9
133 mL de água destilada foi transferido 1 mL da suspensão, seguido da homogeneização do
134 conteúdo em um agitador de tubos. Uma alíquota da suspensão foi transferida para Câmara
135 de Neubauer e realizada a contagem dos conídios em microscópio óptico. Os resultados foram
136 expressos em concentração de conídios por mL de suspensão para cada placa.

137 Para a avaliação da viabilidade de conídios do *T. asperellum*, uma alíquota de 15 µL
138 da suspensão utilizada na contagem de conídios foi pipetada em cinco pontos equidistantes
139 de uma placa com meio BDA. As placas foram incubadas a temperatura de 25 °C por 16 horas
140 no escuro. Adicionaram-se sobre cada área onde foi pipetada a suspensão 8 µL de Azul de
141 lactofenol, o qual permitiu a paralização da germinação dos conídios. A visualização foi
142 realizada em microscópio óptico no aumento de 40 vezes admitindo como germinado ou
143 “viável” o conídio que emitiu o tubo germinativo ou o que apresentou seu volume maior que
144 o conídio inativo ou “inviável”.

145 **Compatibilidade do isolado de *T. asperellum* com agentes de controle biológicos** 146 **comerciais**

147 O teste de compatibilidade do isolado *T. asperellum* Tri-81 com os agentes de controle
148 biológicos comerciais à base dos microrganismos *Azospirillum brasiliense*, *Bacillus subtilis*,
149 *Beauveria bassiana* e *Trichoderma asperellum* foi realizado pela técnica de pareamento de
150 culturas ou “confronto direto”. Um disco de micélio de 0,6 cm de diâmetro do isolado foi
151 colocado a uma distância de 0,5 cm da borda da placa de Petri, contendo meio BDA. Do lado
152 oposto da mesma placa, foi colocado outro disco de micélio com 0,6 cm de diâmetro do agente

153 biológico comercial previamente isolado, obedecendo à distância da borda da placa de 0,5
154 cm. Para o teste com o agente biológico comercial à base de *Bacillus* spp. e *Azospirillum* spp.,
155 foram feitas estrias dos produtos em um dos lados da placa 48 horas antes do disco de micélio
156 do isolado Tri-81. Os microrganismos foram incubados em BOD a 25 °C com fotoperíodo de
157 12 horas por sete dias. Foram empregadas cinco repetições para cada ensaio em delineamento
158 inteiramente casualizado. Para a avaliação do teste de pareamento adotou-se a Escala de Bell
159 et al. (1982).

160 **Análise de dados**

161 Para avaliar a correlação entre os produtos químicos utilizados e as variáveis
162 relacionadas ao desenvolvimento ou inibição do isolado de *T. asperellum* Tri-81, os valores
163 de crescimento, germinação e esporulação foram submetidos à análise de ACP (Análise de
164 Componentes Principais) por meio dos pacotes “Factoextra” e “FactoMineR” no programa
165 estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016).

166 A classificação dos produtos quanto à compatibilidade com o isolado *T. asperellum*
167 Tri-81 foi apresentada por meio de um Heatmap, gerado com um padrão de cores predefinido,
168 utilizando o pacote gplots do software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016). O
169 agrupamento dos produtos foi realizado conforme o método de distância euclidiana. Os dados
170 do Heatmap foram escalonados para as variáveis se tornarem comparáveis e exibidos em
171 padrões de cores distintas, vermelho, amarelo e verde, conforme compatibilidade.

172 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

173 Quando submetido às doses dos ingredientes ativos tiabendazol, carbofurano,
174 tebuconazol, propiconazol, difenoconazol, flutriafol e glifosato o crescimento micelial do *T.*
175 *asperellum* Tri-81 foi totalmente inibido. Não houve associação entre os produtos químicos
176 que inibiram completamente o crescimento de *T. asperellum* (GI) com as variáveis analisadas,
177 tendo em vista que seus valores foram iguais a 0 (Figura 1 e 2). Esses produtos demonstraram
178 uma elevada toxicidade sobre o microrganismo já na primeira dose testada, evidenciando que
179 essa incompatibilidade está relacionada ao modo de ação dessas substâncias e possíveis danos
180 causados às vias biossintéticas de importância do fungo.

181 A utilização de glifosato a 2000 ppm reduziu o crescimento micelial de *Trichoderma*
182 *harzianum* ThS12 em 53,3%, enquanto que para a espécie *Trichoderma viride* o percentual
183 de inibição do isolado foi de 76,4%-79,5% em doses de 0,5%-1,0%, respectivamente

184 (ROLLÁN et al., 2007; MONDAY et al., 2017). Da mesma forma Sharma e Singh (2017),
185 verificaram a incompatibilidade por meio do crescimento micelial e germinação de esporos
186 da linhagem de *T. harzianum* Rifai PBAT-21 avaliados *in vitro* com os fungicidas
187 propiconazol, flutriafol e a combinação azoxystrobina+flutriafol utilizados em suas doses
188 recomendadas.

189 Os fungicidas orgânicos do grupo dos triazóis, os quais pertencem os ingredientes
190 ativos tebuconazol, flutriafol, propiconazol e difenoconazol possuem o mecanismo de ação
191 relacionado à inibição da síntese de esterol, lipídio de importância funcional para a
192 manutenção das membranas plasmáticas fúngicas (NABI et al., 2017). Por sua vez, o
193 mecanismo de ação do ingrediente ativo tiabendazol, um dos principais representantes do
194 grupo dos benzimidazóis, está baseado do efeito sobre as proteínas tubulinas, resultando na
195 destruição da mitose e consequente morte celular do fungo (FUJIMURA et al., 1990). Em
196 estudos *in vitro*, o ingrediente ativo carbofurano que apesar de possuir ação inseticida,
197 acaricida e nematicida, demonstrou moderada compatibilidade sobre isolados de *T.*
198 *harzianum* e *T. viride* (RANGANATHSWAMY et al., 2011). Estes resultados sugerem que
199 a compatibilidade do carbofurano com o gênero *Trichoderma* pode estar relacionada em
200 nível de espécies.

201 O crescimento micelial bem como a esporulação e germinação dos conídios de *T.*
202 *asperellum* Tri-81 não foram influenciados pelas diferentes doses dos produtos: ácido bórico,
203 sulfato de amônia, cloreto de potássio, nitrato de cálcio, sulfato ferroso, nitrato de amônia,
204 sulfato de magnésio, fosfito de potássio, fosfato monoamônio, nitrato de cálcio, sulfato de
205 potássio, carbonato de cálcio e lixiviado de engaço. O mesmo resultado foi observado para
206 óleo de neem e imidacloprido, ambos utilizados para o controle de pragas na cultura da
207 bananeira (Figura 2). Em relação a estes produtos que foram compatíveis (GII) a variável que
208 mais se relaciona é o crescimento micelial do fungo (Figura 1).

209 Fosfito de magnésio, fosfito de zinco e óleo mineral reduziram significativamente o
210 crescimento micelial de *T. asperellum* Tri-81, o que demonstra um efeito fugistático (Figura
211 3). Os valores de área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) do *T. Asperellum*
212 Tri-81 submetido às diferentes doses de fosfito de magnésio, fosfito de zinco e óleo mineral,
213 em função dos tempos de 24, 48, 72 e 96 horas, foram menores em relação aos controles
214 (Figura 4). O efeito dos fosfitos de zinco e magnésio sobre *T. asperellum* Tri-81 apresentou
215 comportamento dose dependente, com a redução do crescimento micelial do isolado em

216 função do aumento das doses utilizadas (Figura 2 e 4). Com relação ao óleo mineral,
217 independente da dose utilizada, resultou nos menores valores de AACCM (Figura 4).
218 Entretanto, o produto é o que mais se diferencia dos demais (GIII), pois sobre a esporulação
219 e germinação de conídios não foi observado efeito negativo (Figura 1 e 2).

220 Produtos agrícolas à base de fosfitos têm sido bastante utilizados na agricultura como
221 fertilizantes foliares e como fungicidas, por meio da atuação direta na germinação de esporos
222 de patógenos, penetrando na planta, bloqueando o crescimento micelial e a produção de
223 esporos (BRACKMAN et al., 2008; ESHRAGHI et al., 2011; CERQUEIRA et al., 2017). A
224 utilização de fosfitos bem como óleo mineral para o controle de doenças e pragas na cultura
225 da bananeira é realizada em muitos casos por meio de pulverizações foliares. Sendo assim, os
226 resultados deste trabalho demonstram que o possível efeito residual destes produtos no solo
227 pode comprometer a atividade antagônica do isolado de *T. asperellum* Tri-81, reduzindo sua
228 eficácia no controle de patógenos de solo, como por exemplo, o fungo *F. oxysporum* f.sp.
229 *cubense*.

230 O isolado *T. asperellum* Tri-81 apresenta incompatibilidade com os agentes de controle
231 biológico comerciais *Azospirillum brasiliense*, *Bacillus subtilis* e *Beauveria bassiana*. Com
232 relação ao *Trichoderma asperellum* (produto comercial) não foi observado incompatibilidade
233 (Figura 5). O pareamento com os isolados bacterianos *Azospirillum brasiliense*, *Bacillus*
234 *subtilis* apresentou a nota 1, referindo-se ao crescimento total do *T. asperellum* Tri-81 sobre
235 o meio de cultura, independente da presença das colônias bacterianas. A nota 2 foi atribuída
236 ao antagonismo do isolado colocado no meio de cultura juntamente com o isolado do fungo
237 entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Figura 5). Quando colocados sobre o meio de cultura
238 de uma mesma placa, os dois isolados de *Trichoderma asperellum* cessaram o crescimento na
239 direção ao ponto de contato (Figura 5). Os fungos se mantiveram em territórios separados um
240 do outro, o que correspondeu à nota 3 na escala de Bell (Figura 5).

241 Os resultados expostos neste trabalho demonstram que para a utilização conjunta de
242 agentes de controle biológico deve-se verificar a compatibilidade entre eles, para que não
243 haja perda na eficiência de um antagonista em detrimento da ação do outro. Fuga et al.
244 (2016), demonstraram que doze das quarenta combinações de *Bacillus* spp. e *Trichoderma*
245 spp. testadas para o controle de *Sclerotium cepivorum* foram incompatíveis. Bécquer et al.
246 (2013) ao avaliarem a interação *in vitro* entre um isolado de *T. harzianum* e diferentes cepas
247 de *Azospirillum* sp. e *Sinorhizobium* sp., observaram a colonização total de *T. harzianum*

248 sobre as colônias de *A. zaeae* e *A. canadense*, diferente na interação neutra que ocorreu entre
249 o antagonista com os isolados de *S. meliloti*.

250 Este estudo fornece informações importantes acerca da utilização combinada do
251 isolado de *T. asperellum* Tri-81, com potencial antagonístico sobre *F. oxysporum* f. sp. *cubense*
252 (HADDAD et al., 2018), com produtos agrícolas indicados para a cultura da bananeira. A
253 aplicação de produtos químicos e biológicos na cultura da bananeira, incompatíveis com o
254 antagonista, deve ser estabelecida de forma que o efeito residual dos produtos não interfira na
255 efetividade do *T. asperellum* Tri-81 sobre o *F. oxysporum* f. sp. *cubense*.

256 A utilização integrada de produtos químicos com agentes de controle biológico
257 constitui uma opção que ajudará a prolongar o período de controle ativo de doenças, bem
258 como reduzir doses e aplicações desses produtos com consequente redução do custo de
259 produção. Por isso, estudos como este assumem grande importância prática ao fornecerem
260 informações que ajudarão a tomada de decisão sobre a integração e opções de manejo na
261 cultura da bananeira.

262 CONCLUSÃO

263 A utilização combinada do agente de controle biológico *T. asperellum* Tri-81 com os
264 produtos químicos tiabendazol, carbofurano, tebuconazol, propiconazol, difenoconazol,
265 flutriafol e glifosato não é recomendada em planos de manejo integrado na cultura bananeira.

266 Os produtos indicados para a adubação da bananeira testados no experimento podem
267 ser utilizados ao mesmo tempo que o agente de controle biológico sem que haja efeitos
268 prejudiciais ao microrganismo.

269 Os agentes de biocontrole *Azospirillum brasiliense*, *Bacillus subtilis* e *Beauveria*
270 *bassiana*, testados neste estudo, não devem ser utilizados com o isolado de *T. asperellum* Tri-
271 81. O isolado de *T. asperellum* Tri-81 pode ser utilizado em conjunto com o *T. asperellum*.

272 As aplicações dos produtos fosfito de magnésio, fosfito de zinco e óleo mineral, não
273 devem ocorrer de forma combinada com o *T. asperellum* Tri-81.

274

275 AGRADECIMENTO

276 O autor realizou o presente trabalho com o apoio de uma bolsa de estudo financiada
277 pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

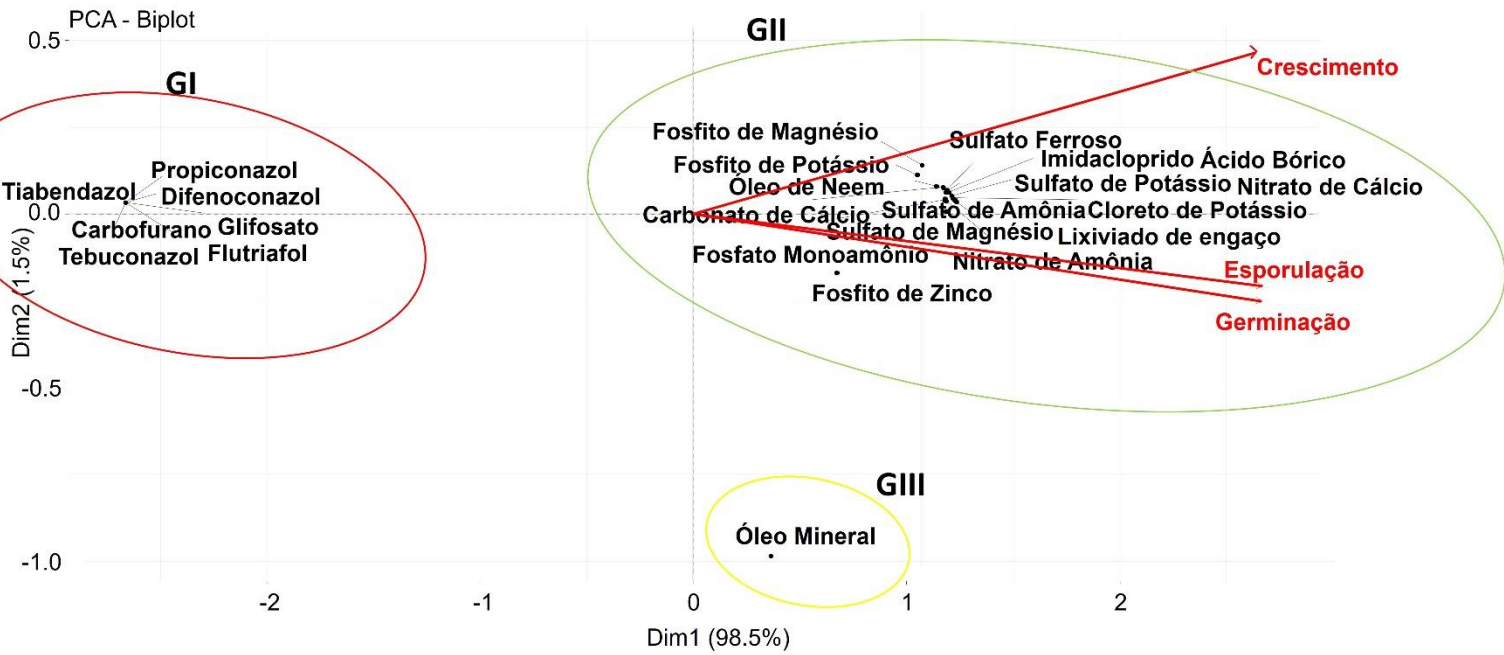
278 **REFERÊNCIAS**

- 279 ALAKONYA, A. E.; KIMUNYEB, J.; MAHUKUC, G.; AMAHA, D.; UWIMANAB, B.;
280 BROWND, A. SWENNEND, R. Progress in understanding *Pseudocercospora* banana
281 pathogens and the development of resistant *Musa* germplasm. **Plant Pathology**, v. 67, n.4, p.
282 759–770, 2018.
- 283 BECQUER, C. J.; LAZAROVITS, L.; LALIN, I. In vitro interaction between *Trichoderma*
284 *harzianum* and plant growth promoter rhizosphere bacteria. **Cuban Journal of Agricultural**
285 **Science**, v. 47, n. 1, 2013.
- 286 BELL, D. K.; WELLS, H.D.; MARKHAM, C.R. In vitro antagonism of *Trichoderma* species
287 against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, v. 72, n. 4, p. 379-382, 1982.
- 288 BRACKMANN, A.; GIEHL, R.F.H.; SESTARI, I.; WEBER, A.; PINTO, J.A.V.;
289 EISERMANN, A.C. Controle de podridões em maçãs ‘Fuji’ Frigoconservadas com a
290 aplicação de fosfitos e cloretos de benzalcônio em pré e pós-colheita. **Revista da FZVA**, v.
291 15, n. 2, 2008.
- 292 BUBICI, G.; KAUSHAL, M.; PRIGIGALLO, M.I.; CABANÁS, C.G.L.; MERCADO-
293 BLANCO, J. Biological control agents against Fusarium wilt of banana. **Frontiers in**
294 **Microbiology**, v. 10, p. 616, 2019.
- 295 CERQUEIRA, A.; ALVES, A.; BERENQUER, H.; CORREIA, B.; GOMEZ-CADENAS,
296 A.; DIEZ, J.J.; MONTEIRO, P.; PINTO, G. Phosphite shifts physiological and hormonal
297 profile of Monterey pine and delays *Fusarium circinatum* progression. **Plant physiology and**
298 **biochemistry**, v. 114, p. 88-99, 2017.
- 299 COMTE, I.; CATTAN, P.; CHARLIER, J. B.; GENTIL, C.; MOTTES, C.; LESUEUR-
300 JANNOYER, M.; VOLTZ, M. Assessing the environmental impact of pesticide use in
301 banana cropping systems. In: **X International Symposium on Banana: ISHS-ProMusa**
302 **Symposium on Agroecological Approaches to Promote Innovative Banana 1196**, p. 195-
303 202, 2016.
- 304 ESHRAGHI, L.; ANDERSON, J.; ARYAMANESH, N.; SHEARER, B.; MCCOMB, J.;
305 HARDY, G.E.S.; O’BRIEN, P.A. Phosphite primed defence responses and enhanced
306 expression of defence genes in *Arabidopsis thaliana* infected with *Phytophthora*
307 *cinnamomi*. **Plant Pathology**, v. 60, n. 6, p. 1086-1095, 2011.

- 308 FAOSTAT. Banana Market review: Preliminary results for 2018. Rome: Food and
309 Agriculture Organizations of United Nations. Disponível em:
310 <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> . Acesso em: 12.04.2019.
- 311 FRIENSEN, T.L. Combating the Sigatoka Disease Complex on Banana. **PLoS Genetic**, v.
312 12, 2016.
- 313 FUGA, C.A.G.; LOPES, E.A.; VIEIRA, B.S.; DA CUNHA, W.V. Efficiency and
314 compatibility of *Trichoderma* spp. and *Bacillus* spp. isolates on the inhibition of *Sclerotium*
315 *cepivorum*. **Científica**, v. 44, n. 4, p. 526-531, 2016.
- 316 FUJIMURA, M.; OEDA, K.; INOUE, H.; KATO T. Mechanism of action of *N*-
317 phenylcarbamates in benzimidazole-resistant *Neurospora* strains. In: Green, M.B.; Lebaron,
318 H.M.; Moberg, W.K. **Managing resistance to agrochemicals**. Washington: ACS, p. 224-36,
319 1990.
- 320 GONZÁLEZ, D. N.; CHÁVEZ, M.A.A.; GUTIÉRREZ, R.L.; CUPUL, W.C.; OCHOA, J.M.;
321 VELASCO, E.G. Suitability of *Cordyceps bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for
322 biological control of *Cosmopolites sordidus* (Germar)(Coleoptera: Curculionidae) in an
323 organic Mexican banana plantation: laboratory and field trials. **Journal of Plant Diseases**
324 **and Protection**, v. 125, n. 1, p. 73-81, 2018.
- 325 HADDAD, F. ; ROCHA, L.S. ; SOARES, A.C.F. ; MARTINS, I.P.S. ; TEIXEIRA, L.A.J. ;
326 STAVER, C. ; DITA, M. . Management of Fusarium wilt of bananas in Minas Gerais, Brazil.
327 **Acta Horticulturae**, v. 1, p. 137-146, 2018.
- 328 HARMAN, G.E.; HOWELL, C.R.; VITERBO A.; CHET, I.; LORITO, M. Trichoderma
329 species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Review Microbiology**, v. 2, p. 43-
330 56, 2004.
- 331 KHAN, B.; AKASH, Z.; ASAD, S.; JAVED, N.; RAJPUT, N.A.; JABBAR, A.; DIN, W.U.;
332 ATIF, R.M. Antagonistic potential of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum*
333 f.sp. *cubense* associated with Panama Wilt of banana. **Pakistan Journal of Phytopathology**,
334 v. 29, n. 1, p. 111-116, 2017.
- 335 MONDAY, U.; EJIRO, A.; SOLOMON, O. D. In vitro evaluation of growth inhibition of
336 some common soil fungi by selective and non-selective herbicides. **Frontiers in**
337 **Environmental Microbiology**, v. 3, n. 1, p. 1-8, 2017.

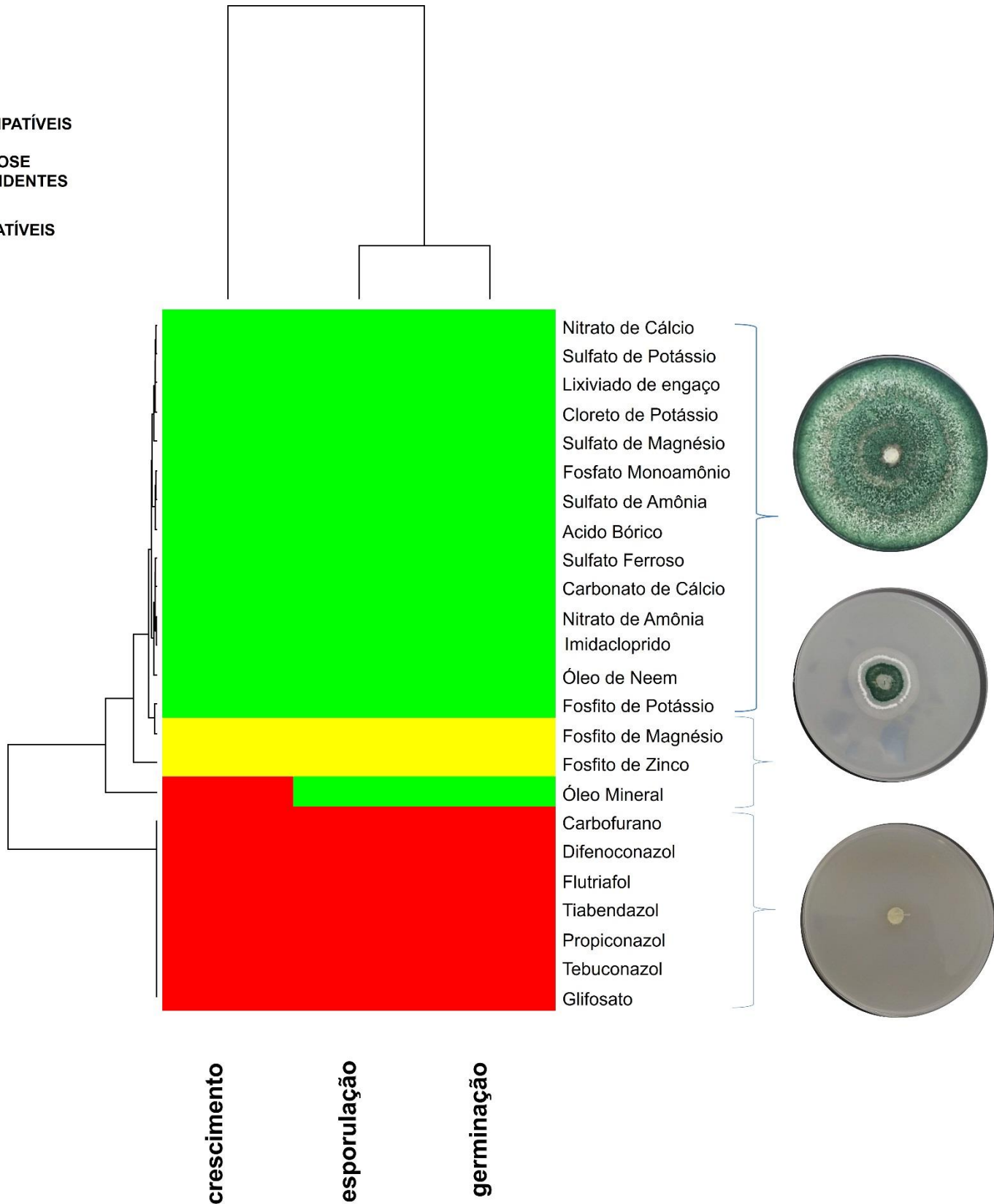
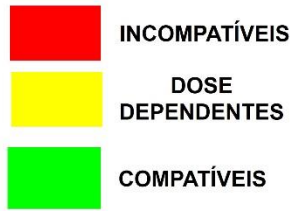
- 338 NABI, S.U.; RAJA, W.H.; DAR, M.S.; KIRMANI, S.N.; MAGRAY, M.M. New generation
339 fungicides in disease management of horticultural crops. **Indian Horticulture Journal**, v. 7,
340 n. 1, p. 01-07, 2017.
- 341 OLIVEIRA, J.A.A.; BRUCKNER, C.H.; DA SILVA, D.F.P. Estado atual da bananicultura
342 de Minas Gerais, 2018. Acesso em:
343 <http://www.todafruta.com.br/wpcontent/uploads/2018/05/BANANA.pdf>, acessado em
344 20.03.2019.
- 345 PLOETZ, R.C. Management of Fusarium wilt of banana: A review with special reference to
346 tropical race 4. **Crop Protection**, v. 73, p. 7–15, 2015.
- 347 R CORE DEVELOPMENT TEAM. R: A language and environment for statistical
348 computing, reference index version 2.12.1. ISBN 3-900051-07-0. **R Foundation for**
349 **Statistical Computing**, Viena, Austria, 2016.
- 350 RANGANATHSWAMY, M.; PATIBANDA, A.K.; CHANDRASHEKAR, G.S.;
351 MALLESH, S.B.; SANDEEP, D.; KUMAR, H.B.H. Compatibility of *Trichoderma* isolates
352 to selected insecticides in vitro. **Asian Journal of Bio Science**, v. 6, n. 2, p. 238-240, 2011.
- 353 ROLLÁN, M.; MÓNACO, C.; LAMPUGNANI, G.; ARTETA, N.; BAYO, D.; URRUTIA,
354 M. Effects of post-emergent herbicides on *Trichoderma harzianum*, a potential biocontrol
355 agent against *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean cropping. **Acta Agronomica Hungarica**,
356 v. 55, n. 3, p. 355-362, 2007.
- 357 SAITO, L. R.; SALES, L.L.S.R.; MARTINCKOSKI, L.; ROYER, R.; RAMOS, M.S.D.;
358 REFFATTI, T. Aspectos dos efeitos do fungo *Trichoderma* spp. no biocontrole de patógenos
359 de culturas agrícolas. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**,
360 v. 2, n. 3, p. 203-216, 2011.
- 361 SHARMA, D.; SINGH, R.P. Compatibility of different fungicides with *Trichoderma*
362 *harzianum* rifai strain PBAT-21. **Pesticide Research Journal**, v. 29, n. 1, p. 42-47, 2017.
- 363
364
365
366
367

368

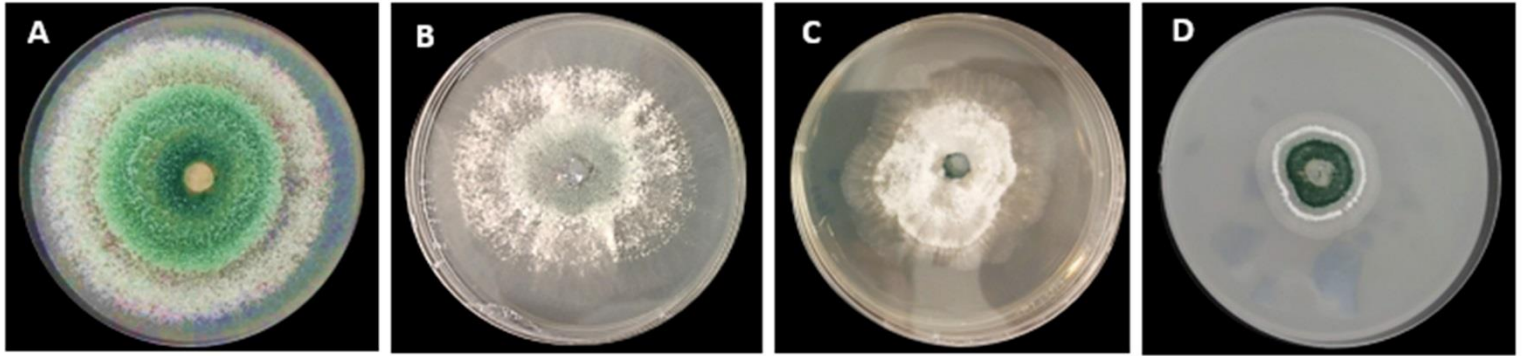


369 **Figura 1.** Análise de Componentes Principais (ACP) biplot (eixos F1 e F2: 100%) da
 370 compatibilidade de produtos químicos utilizados na cultura da bananeira com o isolado 81 de
 371 *T. asperellum*, baseada em três variáveis: crescimento, esporulação e germinação.

LEGENDA



372 **Figura 2.** Heatmap para classificação de 24 produtos químicos utilizados na cultura da
 373 bananeira quanto à compatibilidade com o isolado 81 de *T. asperellum*, baseada no
 374 agrupamento hierárquico das variáveis crescimento (cm), esporulação (Log x+1) e
 375 germinação (%).



376 **Figura 3.** Redução do crescimento micelial do isolado de *T. asperellum* em 96 horas de
377 incubação sob influência das doses dos produtos fosfito de magnésio (B), fosfito de zinco (C)
378 e óleo mineral (D) em comparação ao controle (A).

379

380

381

382

383

384

385

386

387

388

389

390

391

392

393

394

395

396

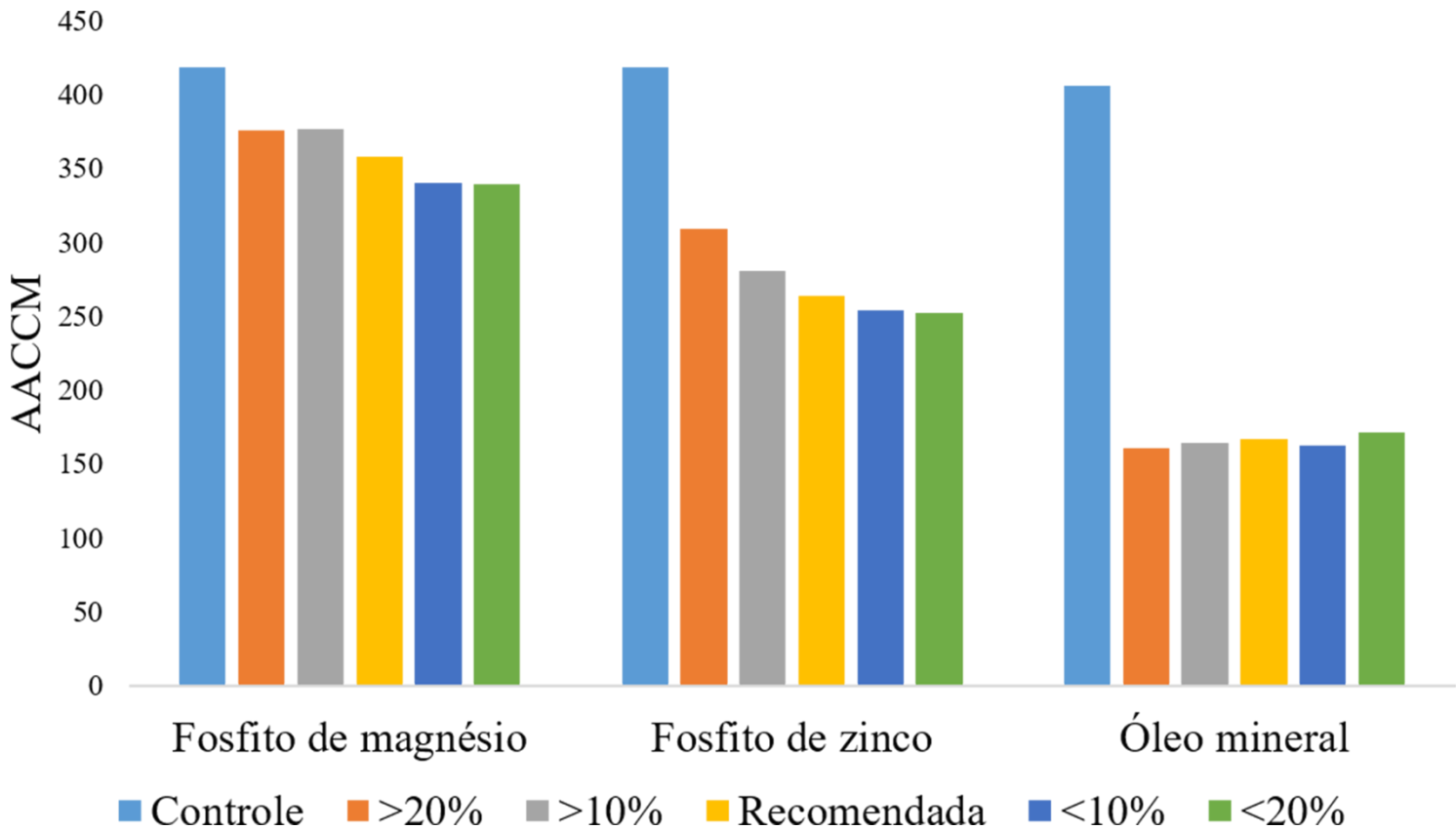
397

398

399

400

401



402

403 **Figura 4.** Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) do isolado 81 de *T.*
 404 *asperellum* sob as doses dos produtos fosfito de magnésio, fosfito de zinco e óleo mineral
 405 avaliados em função das médias de crescimento micelial (cm) e os tempos de 24, 48, 72 e 96
 406 horas.

407

408

409

410

411

412

413

414

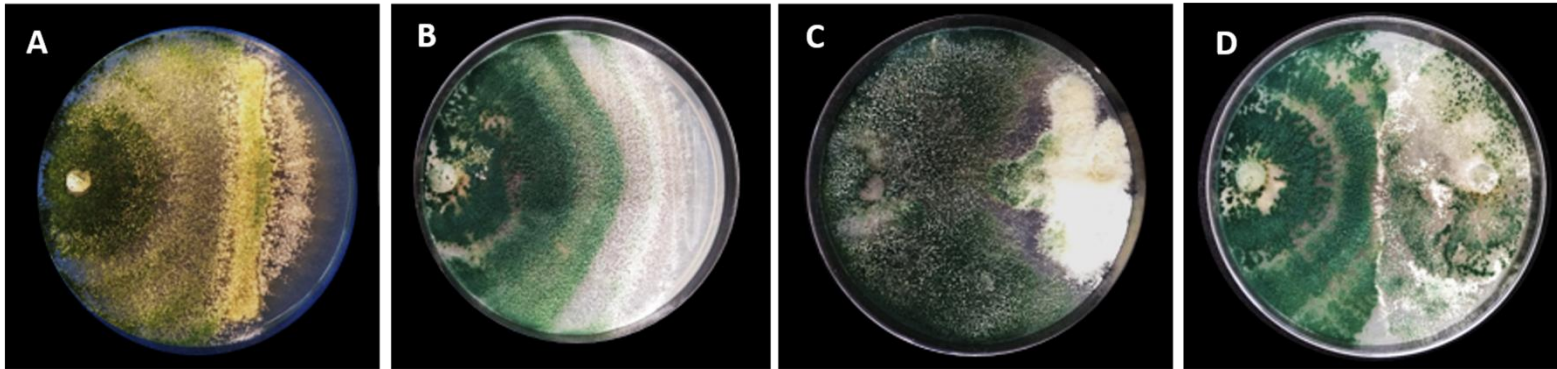
415

416

417

418

419



420 **Figura 5.** Antagonismo do isolado 81 de *T. asperellum* sobre os agentes de biocontrole
421 comerciais à base dos seguintes microrganismos: *Azospirillum* sp.(A), *Bacillus* sp. (B),
422 *Beauveria* sp. (C), *Trichoderma* sp. (D).

423

424

425

426

427

428