



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
TECNOLOGIA EM AGROECOLOGIA**

**JOÃO AUGUABERTO LIMA JÚNIOR**

**BIOCONTROLE DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* A PARTIR DE  
*Trichoderma* spp.**

Cruz das Almas - BA

2015

**JOÃO AUGUABERTO DE LIMA JÚNIOR**

**BIOCONTROLE DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, A PARTIR DE  
*Trichoderma* ssp.**

Trabalho de conclusão de curso submetido ao Colegiado de Graduação de Tecnologia em Agroecologia do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Agroecologia.

Orientador Carlos Augusto Vieira Bogaças

Cruz das Almas - BA

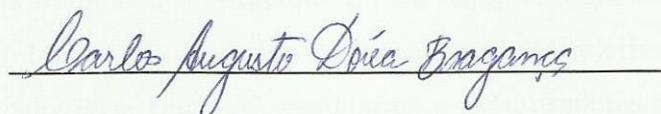
2015

JOÃO AUGUABERTO DE LIMA JÚNIOR

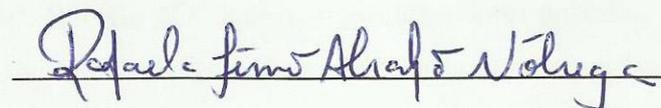
**BIOCONTROLE DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* A PARTIR DE  
*Trichoderma* spp.**

Monografia defendida e aprovada pela banca examinadora

Aprovado em 08/05/2015



Prof. Dr. Carlos Augusto Dórea Bragança  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Rafaela Simão Abrahão Nóbrega  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Dr. Harllen Sandro Alves Silva  
EMBRAPA Mandioca e Fruticultura

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais por toda dedicação e apoio nos momentos difíceis, pela educação e conselhos ofertados, sempre com muito amor e atenção. A meus irmãos Maine e Diego pelo companheirismo e amizade de todas as horas. Aos meus familiares, que sempre demonstram atenção.

A minha namorada Ílari Soraia pelo apoio, companheirismo e reciprocidade, se fazendo tão presente em todos os momentos dessa jornada, e a sua família pelo respeito e confiança ofertados.

A EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, pela enriquecedora experiência acadêmica e pessoal vivida. Em busca do desenvolvimento pessoal e coletivo. A toda equipe do Laboratório de Fitopatologia, Técnicos, estagiários e pesquisadores. Em especial a equipe “Haddad”. Ao Dr. Hermes Peixoto, Leandro Rocha e Paulo pelo conhecimento passado, auxílio nos experimentos e amizade.

Agradeço aos orientadores desse projeto o Prof. Dr. Carlos Bragança, Dr. Fernando Haddad e a Prof. Dr<sup>a</sup>. Rafaela Nobrega pelo conhecimento passado, paciência durante todo esse processo, confiança e incentivos para minha vida pessoal e profissional.

Aos meus amigos, eles que sempre se fazem presentes em diversos momentos da vida, em especial Bruno Rodrigues, Alan Lennon, Daniel Invenção, Florivaldo Júnior, João Mello, Rodrigo França, Fabiano Oliveira, Aline Sales, Adevan pulgas, Antônio Uilian, Reinaldo Leite, Romário, Flávia Nunes, Ivanick Flaubert, Walmick Lima, Thayná Barreto, Igor Carvalho, Luiz Henrique, Gisele Moreira, Jardel Cabra, Leandro Marcos. Vocês são muito especiais, e são parte importante nesse processo. Agradeço também aos professores do curso pela dedicação e conhecimentos passados.

À Universidade Federal do recôncavo da Bahia (UFRB) pelo espaço de ensino e pela possibilidade de formação profissional.

Muito obrigado a todos!

## RESUMO

A banana é uma das culturas mais importantes no cenário agrícola mundial. A área cultivada corresponde a 4,8 milhões de hectares, sendo base alimentar de milhões de pessoas em todo o mundo. O *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), é um fungo que causa o mal-do-Panamá, que é considerada a doença mais destrutiva da cultura bananeira. Um fator que dificulta o controle do Foc é a presença em sua estrutura, dos clamidósporos, que são unidades de resistência que proporcionam ao fungo se estabelecer por mais de 30 anos no solo. Neste contexto o presente estudo teve como objetivo principal avaliar a eficiência de isolados de *Trichoderma* spp. para biocontrole de Foc. Para isso, foram realizados dois experimentos utilizando dois isolados de *Trichoderma* spp.. No primeiro experimento testou-se a antibiose por meio de confrontação direta em placas de Petri. A colonização dos isolados foi avaliada por meio de escala de notas. No segundo experimento, avaliou-se o antagonismo entre os isolados de *Trichoderma* spp. e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* em mudas de banana Prata-anã em casa de vegetação. A infestação do substrato foi realizada com inóculo dos isolados de *Trichoderma* spp. 81 e 82, e inóculo de Foc. Como controles, foram utilizadas mudas plantadas em solo infestado com Foc, com os isolados 81 e 82 e mudas sem inoculação. O isolado de *Trichoderma* 81 apresentou potencial para biocontrole de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* já que foi eficiente no antagonismo *in vivo*. Posteriormente a este estudo, é possível a realização de testes em condições naturais de produção com o uso deste isolado para controle do mal-do-Panamá. O isolado de *Trichoderma* spp. 82 possui potencial como promotor de crescimento de bananeira da variedade Prata-Anã.

Palavras chave: Mal-do-Panamá, Controle biológico, Controle alternativo.

## ABSTRACT

Banana is one of the most important crops in the world agricultural scenario. The cultivated area corresponds to 4.8 million hectares, of which food base of millions of people worldwide. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), is a fungus that causes Panama disease, which is considered the most destructive disease of the banana crop. A factor which complicates the control of Foc is the presence in their structure of the chlamydospores, which are units that provide resistance to the fungus establish for over 30 years in soil. In this contest the present study aimed to evaluate the efficiency of *Trichoderma* spp. Foc for biocontrol. For this, two experiments were conducted using two isolates of *Trichoderma* spp.. In the first experiment antibiosis was tested by direct confrontation in Petri dishes. The colonization of the isolates was assessed by grading scale. In the second experiment, the antagonism between isolates of *Trichoderma* spp. and *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* was evaluated on banana seedlings Silver dwarf in a greenhouse. The infestation of the substrate was carried out with inoculum of *Trichoderma* spp. 81 and 82, and inoculum of Foc. As controls, seedlings were used planted in soil infested with Foc, with isolated 81 and 82 and seedlings no inoculated. The strain *Trichoderma* 81 has the potential for biocontrol of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* as it was effective in in vivo antagonism. Subsequently to this study, testing is possible under natural conditions of production with the use of this isolated for control of Panama disease. The isolate of *Trichoderma* spp. 82 has potential as banana growth promoter.

Key words: Biological control, Alternative control of plant pathogens, Panama disease.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	7
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	9
2.1. IMPORTÂNCIA E MANEJO DA CULTURA DA BANANA ( <i>Musa</i> spp.) NO BRASIL ...	9
2.2. CONTROLE BIOLÓGICO.....	11
2.3. <i>Trichoderma</i> spp. ....	13
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	15
3.1. TESTE DE ANTAGONISMO EM CONFRONTAÇÃO DIRETA <i>in vitro</i> .....	15
3.2. AVALIAÇÃO DE ANTAGONISMO ENTRE <i>Trichoderma</i> spp. e <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> EM MUDAS DE BANANA PRATA-ANÃ.....	16
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	20
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	26
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	27
ANEXOS.....	32

## 1. INTRODUÇÃO

A banana é uma das culturas mais importantes no cenário agrícola mundial. A área cultivada corresponde a 4,8 milhões de hectares (FAO, 2011) sendo base alimentar de milhões de pessoas em todo o mundo principalmente nas regiões tropicais da Ásia, África e Américas do Sul e Central. Por apresentar um elevado nível nutricional, a banana representa um papel estratégico na segurança alimentar mundial (SILVA NETO & GUIMARÃES, 2011). O Brasil ocupa um lugar de destaque nessa produção, sempre figurando entre os cinco maiores produtores mundiais. A Bahia é o segundo maior produtor, sendo grande parte da produção oriunda da agricultura familiar. O *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), é agente causal da doença mais ameaçadora aos bananais mundiais o Mal-do-Panamá, uma doença vascular, endêmica no Brasil, que pode inviabilizar o plantio de cultivares suscetíveis, como a Maçã e a Prata que são de grande aceitação no mercado nacional.

O controle químico do Foc é normalmente inviável, seja pelos custos elevados ou pela profundidade que a aplicação do fungicida deve atingir (MATOS, 2012). Outro fator que dificulta o controle do Foc é a produção dos clamidósporos, que são unidades de resistência produzidas pelo fungo, que proporcionam ao mesmo, persistir no solo por mais de 30 (HERNANDEZ, 2011). Atualmente, o único controle efetivo dessa doença se apresenta somente por meio do plantio de variedades resistentes (CORDEIRO & KIMATI, 1997), como as cultivares do subgrupo *Cavendish* (Nanica, Nanicão, Grande Naine), que vem sendo utilizadas em áreas com altos índices de infestação de Foc.

É imprescindível o desenvolvimento e ampliação de tecnologias alternativas de manejo dessa doença que minimizem os prejuízos, viabilizando uma produção de alimentos saudáveis, livres de resíduos químicos sintéticos, garantido assim uma maior segurança alimentar aos consumidores, em busca de sistemas de produção agrícola sustentáveis. Nesse cenário, a utilização do controle biológico, empregando espécies de microrganismos com comprovada eficiência no controle de doenças causadas por patógenos radiculares, pode ser uma alternativa de controle ecologicamente correta e economicamente viável. Essa estratégia pode viabilizar o plantio das cultivares mais suscetíveis à doença como a Maçã e a Prata em áreas com a presença do Foc.

Dentre as espécies fúngicas com bom potencial para o biocontrole estão as do gênero *Trichoderma* spp. A capacidade antagônica inerente a esse fungo é atribuída à atividade

sinérgica de vários mecanismos, como a competição por nutrientes em atividade saprofítica, a produção de enzimas que degradam a parede celular e antibiose (BRUNNER, 2005).

Em ensaio realizado por BLUMEI (2007), em que foram testados diversos tipos de fungos para verificação de efeito antagônico com *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani*, a redução máxima na população de *Fusarium oxysporum*, assim como de *Fusarium solani*, foi apresentada pelos isolados do gênero *Trichoderma*. Existe antagonismo e ao que tudo indica, por diferentes mecanismos, de isolados de *Trichoderma* da região sisaleira da Bahia à *Aspergillus niger*, agente causal da podridão vermelha do sisal e o potencial de controle desta doença com *Trichoderma* (SÁ, 2009). Os isolados de *Trichoderma* selecionados e denominados de TC e TCE reduziram o crescimento micelial da maioria dos fitopatógenos das espécies florestais avaliadas, sendo o isolado TC, o mais eficiente (FERREIRA, 2013).

Com isso, a proposta do presente estudo foi avaliar o potencial de biocontrole de isolados de *Trichoderma* spp. sobre o *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* *in vitro* e *in vivo*, na cultivar Prata-Anã, em casa de vegetação.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. IMPORTÂNCIA E MANEJO DA CULTURA DA BANANA (*Musa spp.*) NO BRASIL

A banana é uma das frutas mais cultivadas no mundo, se estabelecendo em mais de 120 países. Constitui um alimento importante na dieta básica de 400 milhões de pessoas, sendo uma importante fonte de renda para países em desenvolvimento na África, Ásia, América Latina e Caribe, com uma produção de 104 milhões de toneladas ao ano, em aproximadamente 10 milhões de hectares (AUORE et al., 2009).

No Brasil a área plantada em 2012 foi de 523 mil hectares, com produção de 6,846 toneladas (IBGE, 2012). A região Nordeste contribui com cerca de 36 % da produção e 34 % da área cultivada (IBGE, 2012). A banana é a segunda fruta mais consumida no Brasil, ficando atrás apenas da laranja (IBGE, 2011). A bananicultura apresenta importante papel social, uma vez que é fonte de renda, principalmente, de pequenos produtores rurais, o que permite a fixação de mão-de-obra no campo (MASCARENHAS, 1997). A Bahia é o segundo maior produtor de banana do Brasil, representando cerca de 15%, da produção total do país (IBGE, 2012).

A multiplicação convencional da bananeira é realizada pela retirada de parte ou de todo o rizoma ou caule subterrâneo da planta contendo uma ou mais gemas desenvolvidas. As plantas que fornecerão as mudas a serem propagadas devem reunir características desejadas quanto à identidade genética da variedade, vigor e estado fitossanitário. O ideal é que as mudas a serem produzidas por esse método sejam oriundas de plantas matrizes produzidas pelo método da micropropagação, que normalmente garantem essas características (BORGES et al. 2009). O plantio deve ser realizado em época chuvosa pela economia no consumo de água e energia (GUERRA et al. 2010). Os principais tratos culturais exigidos no cultivo são a “capina”, para eliminar a competição de plantas espontâneas, a desfolha das folhas velhas que não contribuem mais com a taxa fotossintética da planta, e a eliminação do botão floral de flores masculinas “coração” ou “mangará” para que a planta passe a priorizar o desenvolvimento do cacho. Após a colheita recomenda-se o corte do pseudocaule rente ao solo. Essa prática antecipa a sua decomposição e promove a rápida cicatrização no rizoma diminuindo o abrigo e ataque de pragas (BORGES et al. 2009).

A bananeira é afetada por diversos problemas fitossanitários causados por fungos, bactérias, vírus, nematóides e insetos (CORDEIRO, 2005). Porém, os fungos destacam-se,

pois são causadores de diversas enfermidades como o mal-do-Panamá, doença vascular que tem como agente causal o Foc, como também manchas foliares, que são representadas principalmente pela Sigatoka-negra e Sigatoka-amarela' (PLOETZ, 2006).

O mal-do-Panamá destaca-se dentre as doenças citadas, uma vez que, na primeira metade do século XX, dizimou os plantios de 'Gros Michel' na América Central, até então a principal variedade de banana para exportação, (CORDEIRO & MATOS, 2003). No Brasil, o mal-do-Panamá foi inicialmente constatado em 1930 no município de Piracicaba – SP, e nos dias atuais é encontrada em todas as regiões do mundo que produzem banana (NOGUEIRA, 2002). Esta doença vascular provoca elevadas perdas, infectando as cultivares Maçã com maior severidade por ser altamente suscetível, e de uma forma um pouco menos severa na Prata Comum e Prata Anã que são classificadas como suscetíveis (ALVES et al., 2004). *Fusarium oxysporum* produz os seguintes tipos de esporos assexuais: microconídio, macroconídio e clamidósporos. Microconídios e macronídios são estruturas de reprodução produzidas em condições favoráveis, enquanto, os clamidósporos são produzidos em condições desfavoráveis sendo estruturas de resistência podendo ser formadas por micélios ou macroconídios (AGRIOS, 2004).

A penetração do Foc, na bananeira ocorre pelas raízes da planta, seguindo pelo xilema. Os conídios colonizam os tecidos condutores, obstruindo o movimento da água no sistema vascular da planta. Os esporos germinam e continuam sua expansão pelo xilema (JONES, 2000).

O controle químico do *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* é inviável, em grande parte devido à produção dos clamidósporos, que são estruturas de sobrevivência que proporcionam ao fungo se estabelecer por mais de 30 anos no solo (HERNANDEZ, 2011). Atualmente, o único controle efetivo dessa doença se apresenta somente por meio do plantio de variedades resistentes (CORDEIRO & KIMATI, 1997). Esses fatores demonstram a necessidade de pesquisas para desenvolvimento de tecnologias alternativas de controle da doença como, o emprego de extratos vegetais, caldas orgânicas ou utilização de microrganismos como agentes biocontroladores.

## 2.2. CONTROLE BIOLÓGICO

A crescente preocupação da sociedade com os impactos que o uso constante de pesticidas e outros insumos químicos na agricultura podem provocar para a saúde humana e para o meio ambiente demonstram a necessidade de se diminuir o emprego de produtos químicos, buscando um sistema de produção apoiado nos princípios agroecológicos (MORANDI & BETTIOL, 2009). Assim, o controle biológico se constitui numa alternativa para a substituição ou a diminuição da utilização de pesticidas (MENEZES, 2002).

Dentre as várias definições para controle biológico, a de maior aceitação entre pesquisadores é a descrita por BAKER & COOK (1974), que definem controle biológico sendo a redução da densidade de inóculo ou das ações determinantes da doença infligidos por um patógeno ou parasita, podendo ser em estados de atividade ou dormência, por um ou mais organismos, realizado naturalmente ou por meio da manipulação dos fatores do uso do agente biocontrolador contra doenças.

A doença, em uma visão de controle biológico é levado em conta outro fator importante, além da íntima interação patógeno x hospedeiro x ambiente. Nesta relação também participam microrganismos não patogênicos, presentes no sítio de infecção, podendo interferir de forma positiva ou negativa na atividade do patógeno ou do hospedeiro (COOK & BAKER, 1983, citado por BETTIOL, 1991).

Os agentes microbianos para o controle de doenças e pragas são organismos que estão presentes no ambiente e que, geralmente, são muito mais seletivos que os pesticidas químicos (MENEZES, 2010). Os interesses na utilização de microrganismos para fins de agentes de biocontrole na agricultura têm aumentado significativamente, devido a uma maior mobilização da população sobre a preservação do meio ambiente, representando uma possível alternativa para a redução da utilização desses insumos químicos (SOUZA, 2001). BETTIOL & MORADI (2009) relatam que dentre os microrganismos com potencial para o desenvolvimento de bioprodutos, utilizando-se sistemas de produção em meios de cultura no mundo, para doenças de plantas, são a bactéria *Bacillus subtilis* e espécies do fungo *Trichoderma* são os mais difundidos e utilizados.

No Brasil existem grandes dificuldades para a evolução do mercado de bioprodutos, em grande parte devido aos custos para registro. Como boa parte das empresas nacionais é de pequeno porte e com recursos financeiros limitados, os custos do registro restringem o desenvolvimento das indústrias que produzem agentes microbianos de controle (BETTIOL &

MORADI 2009). O Trichodermil® foi o primeiro fungicida biológico comercial contendo um antagonista para o controle de doenças de plantas registrado no Brasil. Em trabalho realizado por DEMANT et al., (2006) demonstraram, em ambiente controlado, a eficiência do controle do mofo cinzento da mamoneira, causado por fungo do gênero *Botrytis*, por meio do bioproduto Trichodermil®.

Em culturas convencionais, os fungicidas propiciam a produção em grandes quantidades das fibras e alimentos, mas mesmo para essas culturas o controle biológico de fitopatógenos apresenta uma série de vantagens em relação ao uso de fungicidas químicos (DE SOUZA LOUZADA, 2009). Enquanto os fungicidas possuem um efeito temporário e necessitam de repetidas aplicações durante o ciclo das culturas, os agentes de controle biológico são capazes de se estabelecer, colonizar e dispersar no ecossistema (ÁVILA, 2005).

Diversos trabalhos demonstram a eficiência da utilização de controle biológico de fitopatógenos, como os resultados obtidos por LOUZADA et al. (2009) que avaliaram o potencial antagonístico de isolados de *Trichoderma* spp. e verificaram que 50 isolados inibiram o crescimento micelial de *Fusarium solani*, fungo fitopatogênico causador de enfermidades em diversas culturas agrícolas.

CARVALHO et al., (2011) testaram seis isolados de *Trichoderma harzianum* para controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em sementes de feijão, os quais dois isolados de *Trichoderma* controlaram com eficiência o fungo patogênico nos testes *in vitro*.

A maioria dos estudos publicados com microrganismos como agentes biocontroladores ressalta a utilização de fungos pertencentes ao gênero *Trichoderma* como agentes de controle biológico efetivo de enfermidades importantes que acometem culturas de importância econômica e mundial, pois atuam como antagonistas naturais de vários fungos fitopatogênicos (STEYAERT et al., 2003).

### 2.3. *Trichoderma* spp.

Fungos pertencentes ao gênero anamórfico *Trichoderma* são mencionados na literatura científica como eficazes agentes de biocontrole de fitopatógenos, BRAÚNA, (2011) avaliou a possibilidade de controle biológico do mofo branco por isolados de *Trichoderma* nas culturas de soja e feijão comum. Já SÁ (2009) comprovou a eficiência de isolados de *Trichoderma* spp. no biocontrole da podridão vermelha do sisal causada pelo fungo *Aspergillus niger*. MARTIS-CÓRDER & MELO (1998), estudaram a ação de isolados selvagens de *Trichoderma* spp. confrontados com *Verticillium dahliae*, causador de murcha da berinjela e verificaram efeitos positivos do antagonista.

Vários produtos comerciais à base de espécies deste gênero foram desenvolvidos para utilização em casa-de-vegetação e em campo (ELAD, 2000). *Trichoderma* spp., são fungos de vida livre, que se reproduzem assexuadamente, presentes com mais frequência em solos de regiões de clima temperado e tropical. Muitas linhagens não possuem ciclo sexual conhecido sendo classificadas na sub-divisão Deuteromycotina (MACHADO et al., 2012).

Os fungos do gênero *Trichoderma* utilizam, para sua sobrevivência e proliferação, variados mecanismos de ação contra seus competidores, como ação direta, degradação e uso de carboidratos complexos, que os tornam um dos mais bem sucedidos colonizadores dos seus habitats, quer pela utilização eficiente de substrato, quer pela capacidade de secreção de metabólitos (ISAIAS, 2014).

*Trichoderma* é o agente de controle biológico de doenças de plantas mais estudado e mais utilizado no Brasil e em outros países da América Latina (BETTIOL et al., 2008). O controle biológico de fitopatógenos de solo utilizando espécies de *Trichoderma* vem sendo objeto de estudo desde meados dos anos 1930, pesquisando suas aplicações diretamente no solo e em tratamentos de sementes (HARMAN, 1991).

Por meio dos estudos e avaliações de interação de hifas de *Trichoderma* spp. com hospedeiro, verificaram-se diversas formas típicas de parasitismo. Crescimento paralelo das hifas de ambos os fungos, formação de estruturas semelhantes a ganchos, que crescem em direção aos feixes de hifas do hospedeiro, enrolamentos de hifas do antagonista sobre o patógeno, e intensiva fragmentação de hifas do hospedeiro (MARTINS-CORDER, 1998).

Os mecanismos de controle biológico encontrados em gêneros de *Trichoderma* spp. podem ocorrer simultaneamente ao longo do processo de vida do antagonista os quais se sobrepõem e prejudicam o desenvolvimento dos competidores. *Trichoderma* spp. são

responsáveis pela degradação das hifas hospedeiras através da secreção de metabólitos tóxicos inibindo assim o seu desenvolvimento (MARTINS-CORDER, 1998).

Isolados de *Trichoderma* spp. podem ser introduzidos antes ou no momento do plantio da cultura de interesse. Recomenda-se que a aplicação seja realizada sempre de forma preventiva, principalmente quando o fator responsável pela diminuição do crescimento das plantas for associado à presença de patógenos no solo (LUCON, 2009).

Para MACHADO et al., (2012). Apesar do enfoque ecológico ser amplamente difundido pela sociedade, a política agrícola convencional ainda encontra-se incipiente no que se refere à expansão de práticas agrícolas alternativas e ecologicamente sustentáveis. Pesquisas comprovam que *Trichoderma* é eficiente, prático e seguro quanto aos métodos de aplicação, biocontrole e promoção de crescimento vegetal, no entanto, na prática a sua aplicação ainda é restrita.

Diante das características positivas de *Trichoderma* spp., este trabalho teve como objetivo principal, avaliar a eficiência de isolados de *Trichoderma* spp. para controle do fungo *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, agente causador da doença popularmente conhecida como mal-do-Panamá da bananeira, sendo que o único método de controle eficiente para essa doença se apresenta somente por meio da utilização de variedades resistentes (CORDEIRO & KIMATI, 1997).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos foram conduzidos na EMBRAPA Mandioca e Fruticultura no município de Cruz das Almas – BA, em latitude 12°40'48"S, longitude 39 ° 05'20" O e altitude de 223 metros, O clima da região é classificado como úmido a sub-úmido, com uma pluviosidade média anual de 1143 mm.

#### 3.1. TESTE DE ANTAGONISMO EM CONFRONTAÇÃO DIRETA *in vitro*

O primeiro ensaio foi realizado no laboratório de Fitopatologia a fim de verificar o potencial dos isolados de *Trichoderma* como agentes biocontroladores de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. O patógeno utilizado, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raça 1 CNPMF-0801, foi oriundo do cultivo monospórico, a partir do seu isolamento na cultivar 'Maçã' na área experimental da Embrapa Mandioca e Fruticultura em 2008. Esse isolado é comprovadamente patogênico a bananeira sendo utilizado como padrão nos experimentos da unidade. Para a obtenção de cultura pura do Foc CNPMF-0801, o isolado foi cultivado em meio BDA (Batata, Dextrose e Ágar) mantido em incubadora B.O.D. a 25°C com fotoperíodo de 12 h.

Os isolados 81 e 82 de *Trichoderma* spp. foram adquiridos na coleção de culturas do Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Campus Cruz das Almas – BA, O experimento foi realizado em delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos receberam a denominação de: T1 = tratamentos confrontação direta entre *Trichoderma* 81 x Foc, T2 = confrontação direta entre *Trichoderma* 82 x Foc, T3 = confrontação direta entre o mesmo isolado *Trichoderma* 81 x *Trichoderma* 81 como controle, T4 = confrontação direta entre o mesmo isolado *Trichoderma* 82 x *Trichoderma* 82 como controle, e T5 = confrontação direta entre o mesmo isolado Foc x Foc como controle.

Em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo meio de cultivo BDA foi colocado separadamente um disco de 5 mm de diâmetro contendo micélio e conídios de Foc CNPMF-0801 a uma distância de 1 cm da borda da placa. Em seguida, foi colocado um disco de micélio e conídios de *Trichoderma* spp. nas placas de Petri, em posição oposta à colônia de

Foc CNPMF-0801 (Figura 1). Para o controle, foram confrontadas as colônias Foc x Foc, *Trichoderma* (81,82) x *Trichoderma* (81,82). As colônias foram incubadas a 25 °C por 12 dias em fotoperíodo de 12 horas.

O potencial antagônico dos isolados foi avaliado aos 4, 8 e 12 dias, atribuindo-se notas de acordo com escala proposta por Bell et al. (1982) que variam entre: Nota 1- sobreposição de *Trichoderma* que colonizou a superfície total do meio, e reduziu a colônia do Foc; Nota 2- sobreposição de *Trichoderma* que colonizou pelo menos 2/3 da superfície do meio; Nota 3 - *Trichoderma* e Foc colonizaram mais que 1/3 e, menos que 2/3 da superfície do meio; Nota 4 - Foc colonizou ao menos 2/3 da superfície do meio e resistiu a invasão por *Trichoderma*; Nota 5- sobreposição do Foc, que colonizou toda a superfície do meio. O efeito antagônico foi analisado por meio das médias obtidas em cada tratamento e, posteriormente, o antagonismo dos isolados foi testado em casa de vegetação.

### 3.2.AVALIAÇÃO DE ANTAGONISMO ENTRE *Trichoderma* spp. e *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* EM MUDAS DE BANANA PRATA-ANÃ

Para a preparação do inóculo de *Trichoderma*, em 150 g de arroz umedecido com 25 mL de água destilada foram depositados em sacos de polipropileno de 500 mL e esterilizados a 120°C por uma hora, durante dois dias seguidos com um intervalo de 24 horas. Posteriormente, o substrato autoclavado foi infestado com discos de meio de cultura contendo micélio e esporos dos isolados 81 e 82 separadamente e mantidos em BOD a 25°C, com fotoperíodo de 12 horas por 15 dias (Figura 1A). Decorrido esse período, o arroz colonizado foi transferido para envelopes de papel e foi realizada a secagem em estufa a temperatura de 35 ± 3°C por cinco dias. Depois de seco, o arroz foi triturado em liquidificador e peneirado, separando-se o pó fino. Para estimar a concentração de unidades formadoras de colônias por grama de formulado a base de *Trichoderma* (UFC g<sup>-1</sup>) foi realizada contagem usando câmara de Neubauer e a técnica de diluição seriada (FERNANDEZ, 1993).

Para o preparo do inóculo de Foc, primeiramente foi preparado o veículo, constituído de 1330 Kg de areia lavada, 250 g de fubá de milho (canjiquinha em algumas regiões do Brasil) umedecido com 150 mL de água destilada, depositados em sacos de polipropileno de 500 mL, os sacos foram esterilizados em autoclave a 120°C por uma hora. Após, foram adicionados aos sacos oito discos de meio de cultura contendo micélio e esporos do isolado

Foc CNPMF0801. Os sacos foram mantidos em BOD a 25°C, com fotoperíodo de 12 horas por 15 dias (Figura 1B).

Para quantificação de unidades formadoras de colônias (UFC) de Foc, foi utilizada à técnica de diluição em série. Em um tubo de ensaio, um grama do inóculo areia-fubá foi misturado em 9 ml de água destilada esterilizada. Em seguida, realizou-se a diluição da suspensão inicial até  $10^{-5}$ . Uma alíquota das suspensões  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$  foram plaqueadas em meio BDA com cinco repetições. Posteriormente, as placas foram mantidas em BOD a 25°C e após 24 horas realizou-se a quantificação do inóculo por meio da contagem do número de unidades formadoras de colônias (UFC).

Para o cultivo das mudas foi adicionado em recipientes plásticos, com volume de seis quilos, substrato Plantimax<sup>®</sup> previamente esterilizado e infestado separadamente com 80 g de formulado à base de *Trichoderma* 81, 30 g do meio areia-fubá infestado com Foc e substrato sem infestação. As quantidades de inóculo areia-fubá e do formulado foram calculadas para concentração final no substrato de  $10^5$  UFC g<sup>-1</sup> (Figura 1C).

As mudas da cultivar Prata-anã utilizadas no experimento foram obtidas a partir de cultura *in vitro* e aclimatadas em substrato em casa-de-vegetação pela empresa Campo Biotecnologia Vegetal Ltda, Cruz das Almas, BA. As mudas, com 100 dias e altura média de 0,15 m, foram removidas cuidadosamente do substrato e suas raízes foram lavadas em água corrente. Posteriormente, foram plantadas em tubetes de 0,3 litros (figura 1D) utilizando substrato comercial com os respectivos tratamentos.



**Figura 1 – Inoculação das mudas com *Trichoderma* e Foc. (A) arroz colonizado por isolado de *Trichoderma*, (B) substrato areia fubá como inóculo de Foc pronto para ser utilizado, (C) incorporação do formulado de *Trichoderma*, inóculo em areia-fubá no substrato comercial, (D) plantio das mudas.**

O experimento foi disposto em casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizados (DIC) com 10 repetições para cada tratamento, denominados T1 *Trichoderma* 81 x Foc, T2 *Trichoderma* 82 x Foc, T3 apenas Foc, T4 plantas sem Foc e sem *Trichoderma*, T5 apenas *Trichoderma* 81 e T6 apenas *Trichoderma* 82

Os sintomas internos foram avaliados 90 dias após o plantio através de corte horizontal e vertical do pseudocaule, foram atribuídas notas de acordo a descoloração do rizoma segundo escala de notas (CORDEIRO et al., 1993) que varia de 1 a 6. As notas foram transformadas para Índice da doença (ID) pela fórmula  $ID = \frac{\sum(\text{grau da escala} \times \text{frequência}) \times 100}{(\text{n}^\circ \text{ total de unidades} \times \text{grau máximo da escala})}$  (MCKINNEY, 1923).

Além da descoloração do rizoma, foram avaliadas as seguintes variáveis: altura (ALT) entre a base do pseudocaule até a última folha totalmente aberta; o diâmetro do pseudocaule (DIM), mensurado com o auxílio de um paquímetro; número de folhas (NF); fitomassa seca da parte aérea (FSPA) e do sistema radicular (FSSR). Para isso, as mudas foram mantidas em estufa a 60 °C por cinco dias, posteriormente, obteve-se fitomassa da parte aérea e raízes.

A análise estatística para verificação de severidade da doença foi realizada a partir de valores ID. Os dados foram tabulados e analisados por ANOVA e teste de médias (Tukey a 5% de probabilidade) utilizando o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando as interações no teste de pareamento de culturas (Tabela 1), no quarto dia de avaliação no tratamento T1, houve o crescimento micelial do isolado 81 sobrepondo parte do micélio do Foc, obtendo assim média 2, sendo que a nota 2 é atribuída quando o agente antagonico colonizou pelo menos 2/3 da superfície do meio, nos dias 8 e 12, as notas atribuídas em média foi 1, que caracteriza sobreposição do isolado 81 que colonizou a superfície total do meio, e reduziu a colônia do Foc. No tratamento T2, o isolado 82, com quatro dias, obteve nota média 2, porém com 8 dias a nota média atribuída foi 1,2, demonstrando assim que o T2 apresentou aos 8 dias uma velocidade de crescimento ligeiramente inferior em relação ao T1. Após 12 dias, o isolado obteve nota média 1, colonizou a superfície total do meio.

Os controles T3, T4 e T5 colonizaram aproximadamente 50% cada uma das duas colônias repicadas na placa, o equivalente a nota média 3, em todos isolados.

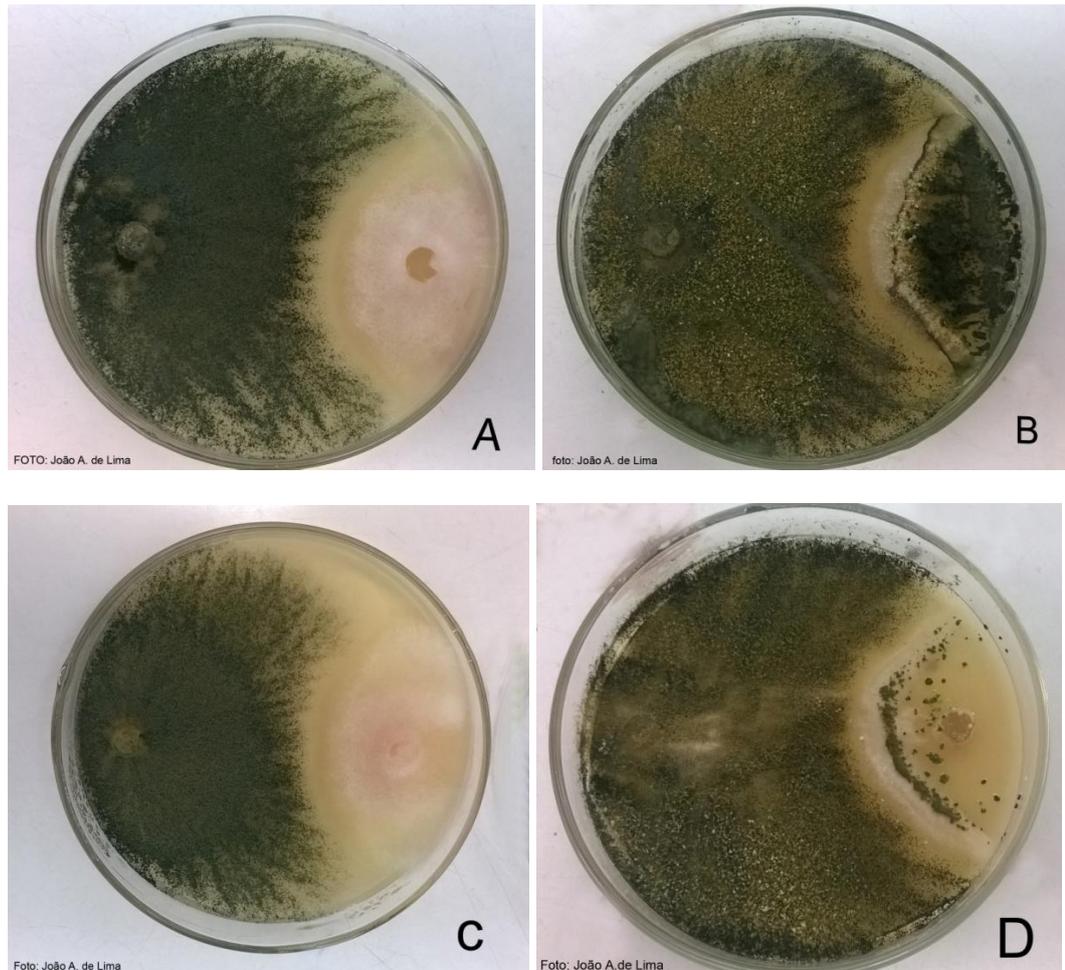
Tabela 1 - Médias obtidas por cada tratamento *Trichoderma* 81 e *Trichoderma* 82 após teste de confrontação direta com Foc, utilizando a escala de Bell\*.

<b>Tratamentos</b>	<b>4 dias</b>	<b>8 dias</b>	<b>12 dias</b>
T1 ( <i>Trichoderma</i> 81 + Foc)	2	1	1
T2 ( <i>Trichoderma</i> 82 + Foc)	2	1,2	1
T3 (controle Foc x Foc)	3	3	3
T4 (controle 81 x 81)	3	3	3
T5 (controle 82 x 82)	3	3	3

\* Escala de Bel et al., 1982. Nota 1- sobreposição de *Trichoderma* que colonizou a superfície total do meio, e reduziu a colônia do Foc; Nota 2- sobreposição de *Trichoderma* que colonizou pelo menos 2/3 da superfície do meio; Nota 3 - *Trichoderma* e Foc colonizaram mais que 1/3 e, menos que 2/3 da superfície do meio; Nota 4 - Foc colonizou ao menos 2/3 da superfície do meio e resistiu a invasão por *Trichoderma*; Nota 5- sobreposição do Foc, que colonizou toda a superfície do meio.

Os resultados obtidos nos tratamentos T1 e T2 foram semelhantes aos obtidos por LOUZADA et al. (2009). Neste trabalho, os autores verificaram que 50 isolados de

*Trichoderma* spp. inibiram o crescimento micelial de *Fusarium solani* e as notas obtidas no teste de pareamento de culturas foram menores que 3. Já CARVALHO et al. (2011) testaram seis isolados de *Trichoderma harzianum* para controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em sementes de feijão, os quais dois isolados de *Trichoderma* controlaram com eficiência o fungo patogênico nos testes *in vitro*.



**Figura 2 – Teste de pareamento de culturas com 4 e 8 dias de avaliação. *Trichoderma* 81 x Foc com 4 dias (A), e com 8 dias (B) de crescimento e *Trichoderma* 82 x Foc com 4 dias (C), e com 8 dias (D) de crescimento.**

Os testes de seleção de microrganismos com potencial antagonista podem ser realizados *in vitro* e *in vivo*. Neste caso, em condições controladas ou em condições naturais. Ambos os métodos são complementares (JÚNIOR, 2000). As avaliações *in vitro* servem como uma seleção preliminar para avaliar a capacidade antagonista, indicando o comportamento do antagonista, com relação à sua capacidade de crescimento, reprodução *in*

*vitro*, tornando possível uma melhor seleção entre os isolados observando os mais promissores para avaliações *in vivo*.

Os isolados de *Trichoderma* spp. demonstram variadas habilidades como agentes de biocontrole, segundo BETTIOL (1991), uma das características mais importantes é que o antagonista atue por meio de mais de um mecanismo, combinando antibiose, micoparasitismo, competição e estímulo à defesa do hospedeiro. A partir dos resultados é possível observar nas avaliações de confrontação direta, que o mecanismo predominante empregado pelos isolados de *Trichoderma* 81 e 82 foi o micoparasitismo, sendo verificado pela colonização micelial imposta pelos isolados de *Trichoderma* ao Foc (Figuras 1B e 1D).

Segundo RIBEIRO (2009) os eventos que levam ao micoparasitismo são complexos, primeiramente, linhagens de *Trichoderma* detectam outro fungo e crescem em direção a ele. O fungo hospedeiro é enrolado pelas hifas do parasita que libera as enzimas degradadoras da parede, penetrando no fungo patogênico, utilizando-se dele para obter alimento e por fim ocasionando sua morte (SANTOS, et al., 2012). Essa ação, que aqui ocorre, se deve a expressão de enzimas de degradação de parede celular. Diferentes linhagens podem seguir diferentes modelos de indução, mas aparentemente há a produção constante em baixos níveis de uma exoquitinase extracelular (RIBEIRO, 2009).

Inicialmente as avaliações *in vitro* tinham como objetivo a seleção entre os dois isolados de *Trichoderma*, para avaliações *in vivo*, porém, neste trabalho foi possível à visualização de emaranhados de hifas dos isolados 81 e 82 de *Trichoderma* spp. sobre Foc, evidenciando intensa atividade de micoparasitismo. Esse fato torna ambos os isolados promissores para avaliações posteriores em casa de vegetação em mudas de banana para bioensaio *in vivo*.

Analisando o índice de doença obtido por cada tratamento, de acordo a notas atribuídas a descoloração do rizoma (CORDEIRO et al., 1993), o tratamento T1 (*Trichoderma* 81 + Foc) demonstrou grande eficiência no controle da doença (figura 3). O índice da doença deste tratamento foi próximo aos índices obtidos pelas testemunhas T4, T5 e T6 (tratamentos sem inoculação com patógeno). O índice de doença do tratamento T2 (*Trichoderma* 82 + Foc) foi 26, bem próximo ao obtido pelo tratamento T3 (controle Foc) 34. Assim, pode-se afirmar que houve uma menor eficiência no controle de Foc para o isolado *Trichoderma* 82.

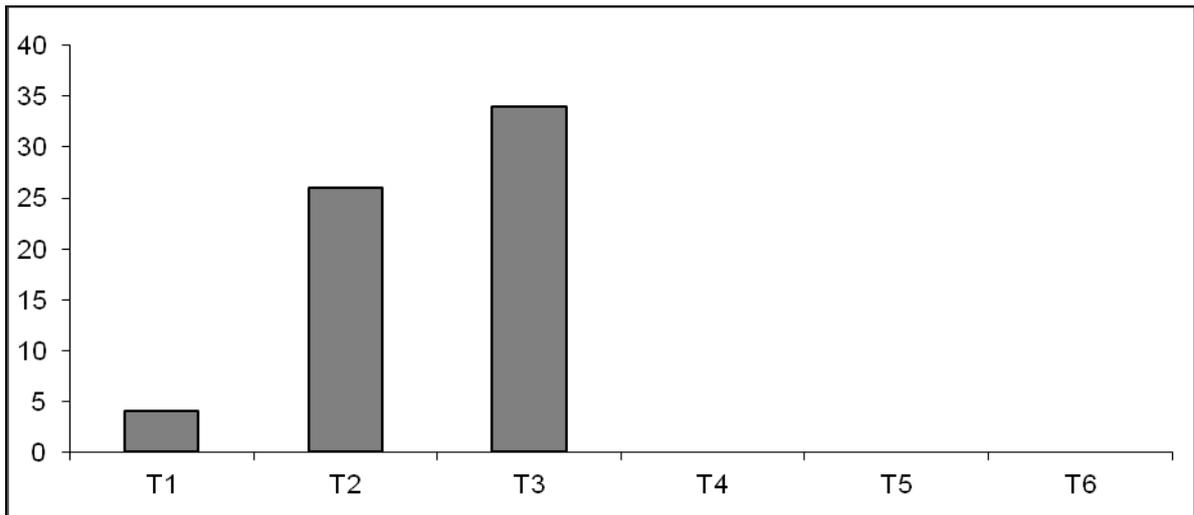


Figura 3 – O eixo Y do gráfico indica a porcentagem do índice de doença McKinney (1923), eixo X representa os tratamentos, T1 – *Trichoderma* 81 x Foc, T2 – *Trichoderma* 82 x Foc, T3 – Foc x Foc, T4 – mudas sem inoculação de Foc e *Trichoderma*, T5 – *Trichoderma* 81 x *Trichoderma* 81 e T6 - *Trichoderma* 82 x *Trichoderma* 82.

Os isolados de *Trichoderma* spp 81 e 82, segundo os resultados obtidos no bioensaio *in vitro* (Tabela 1), utilizam como principal mecanismo de ação o micoparasitismo, que possibilita a destruição das estruturas vegetativas e reprodutivas do Foc, conforme demonstrado por (BRAÚNA, 2011). Provavelmente, no bioensaio *in vivo* o isolado de *Trichoderma* spp 81 prevaleceu sobre o Foc, no substrato diminuindo assim a incidência de doença nas mudas de bananeira Prata-Anã. O mecanismo de micoparasitismo contribui para a diminuição da população do patógeno, o que pode reduzir a infecção e estabelecimento da doença nas mudas de bananeira. Em estudo realizado por BRAÚNA (2011) objetivando avaliar o mecanismo de parasitismo de *Trichoderma* sobre *Sclerotinia sclerotiorum*, verificou-se que as amostras examinadas em microscópio eletrônico de varredura apresentaram enrolamento de hifas e penetração. Esses achados evidenciam o micoparasitismo como mecanismo de ação desses isolados, com indicativo de que esta forma de atuação não apenas produz alterações nas hifas formadas, mas também inibe a formação de novas estruturas do patógeno. Já MILANESI (2013) em testes com isolados de *Trichoderma* spp. oriundos de solo compactado, tanto *in vitro* quanto *in vivo* verificou que todos os isolados de *Trichoderma* avaliados apresentaram potencial para controle de *Fusarium* spp. *oxysporum* e *proliferatum* em soja. Porém, no presente estudo, apenas o isolado 81 apresentou potencial antagônico *in vivo* como agente biocontrolador de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

Tabela 2 – Variáveis das mudas avaliadas após 90 dias do plantio; diâmetro do pseudocaule (DIM), número de folhas (NF), fitomassa seca da parte aérea (FSPA), fitomassa seca sistema radicular (FSSR), após 90 dias do plantio.

Tratamentos	cm planta <sup>-1</sup>		n°planta	g planta <sup>-1</sup>	
	DIM	ALT	NF	FSPA	FSSR
T1 ( <i>Trichoderma</i> 81 + Foc)	1,13 a*	26,60 c	5,1 a	4,48 abc	0,96 b
T2 ( <i>Trichoderma</i> 82 + Foc)	1,34 a	40,03 a	4,8 a	7,15 a	1,07 ab
T3 (Controle + Foc)	1,20 a	26,32 c	4,2 a	5,69 ab	0,93 b
T4 (Controle sem Foc )	1,30 a	32,38 bc	4,6 a	4,18 abc	0,82 b
T5 (Controle 81)	1,30 a	34,28 ab	5,2 a	2,29 c	1,85 a
T6 (Controle 82)	1,30 a	32,49 bc	4,6 a	3,79 bc	0,66 b
CV %	5,00	5,20	7,66	19,16	16,21

\* Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

Na avaliação do diâmetro das mudas de bananeira e do número de folhas (Tabela 3) não houve diferença entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ). Para a altura das mudas, os tratamentos que proporcionaram maior indução foram o T2 e T5, destacando o tratamento T2 que apresentou um crescimento 44% maior que os tratamentos T3 e T1, e de 20% aos tratamentos T4 e T6. Com relação à fitomassa da parte aérea seca, os tratamentos T1, T2, T3 e T4 foram os que obtiveram os melhores resultados, diferindo ( $p > 0,05$ ) dos tratamentos T5 e T6. O tratamento T2 destacou-se apresentando fitomassa 78% superior ao tratamento T5 e 48% superior ao tratamento T6, demonstrando que as interações entre patógeno, *Trichoderma* 82 e planta resultaram em um acréscimo de biomassa aérea.

Analisando os resultados de fitomassa seca do sistema radicular, os tratamentos T5 e T2 foram os melhores por proporcionarem maior crescimento do sistema radicular nas mudas. O tratamento T5 foi, em média, 60% superior aos tratamentos T1, T4 e T6. Em testes semelhantes, SANTOS et al. (2010) verificaram que os isolados de *Trichoderma* utilizados não promoveram o enraizamento de mudas de maracujazeiros, embora tenha incrementado a massa seca das mudas.

A partir das avaliações, podemos observar que os isolados de *Trichoderma* 81 e 82, quando aplicados de forma isolada, demonstraram resultados semelhantes ao controle, com exceção do desenvolvimento do sistema radicular proporcionado pelo isolado de *Trichoderma* 81. Segundo MILANESI (2013) a habilidade deste isolado poderia ser atribuída a sua

capacidade de associação simbiótica com as raízes da plântula que, aliada a sua ação decompositora, disponibilizaria nutrientes prontamente absorvíveis para o vegetal.

Após avaliações dos tratamentos T1(*Trichoderma* 81 + Foc) e T2 (*Trichoderma* 82 + Foc), foi possível observar que as interações entre o antagonista e o patógeno foram capazes de promover um melhor desenvolvimento das mudas, como observado nas médias obtidas pelo tratamento T2, em destaque para fitomassa da parte aérea fresca e seca. Resultados semelhantes também foram observados por MILANESI (2013), que em avaliações realizadas com isolados de *Trichoderma* spp., como agentes biocontroladores de *Fusarium* sp. em plântulas de soja, algumas combinações entre o antagonista e o patógeno foram capazes de promover um melhor desenvolvimento da plântula.

Avaliando os resultados em conjunto, é possível destacar as seguintes observações: Na avaliação *in vitro*, verificou-se que existe antagonismo dos isolados de *Trichoderma* spp. 81 e 82 à *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*; nas avaliações em condições de casa de vegetação, o isolado de *Trichoderma* spp. 81 controlou com eficiência a ação do *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* em casa de vegetação, demonstrando grande potencial biocontrolador para testes em condições naturais; o isolado de *Trichoderma* spp. 82 proporcionou maior crescimento de parte aérea nas mudas de bananeira, porém não demonstrou eficiência no biocontrole de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* em casa de vegetação.

Esses resultados não garantem sucesso na utilização dos isolados de *Trichoderma* 81 e 82 em condições naturais. Alguns fatores podem inviabilizar o pleno sucesso de microrganismos com potencial biocontrolador nestas condições. JÚNIOR et al. (2000), relatam que muitos microrganismos quando cultivados em grande escala e sucessivamente, podem perder ou reduzir sua capacidade patogênica, diminuindo a eficácia do controle. Os fatores edafo-climáticos também são limitantes, pois os antagonistas sofrem com as variações, não exarcebando todo seu potencial quando as condições se afastam do ótimo.

## 5. CONCLUSÕES

O isolado de *Trichoderma* 81 apresentou potencial para biocontrole de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* já que foi eficiente no antagonismo *in vivo*. Posteriormente a este estudo, é possível a realização de testes em condições naturais de produção com o uso deste isolado para controle do mal-do-Panamá.

O isolado de *Trichoderma* spp. 82 possui potencial como promotor de crescimento de bananeira da variedade Prata-Anã.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G. N. Losses caused by plant diseases. **Plant Pathology**. Elsevier, Oxford, p. 29-45, 2004.
- ALVES, E. J.; LIMA, M. B.; SANTOS-SEREJO, J. A.; TRINDADE, A. V. Propagação. **O cultivo da bananeira**. (Eds. A. L. BORGES E L. S. SOUZA). Embrapa Mandioca e Fruticultura, p. 279, 2004. GRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5th Edition. Academic Press, London, p.635, 2004.
- AUORE, G.; PARFAIT, B.; FAHRASMANE, L. Bananas, raw materials for making processed food products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 2, p. 78-91, 2009.
- ÁVILA, Z. R.; CARVALHO, S. S.; BRAÚNA, L. M.; GOMES, D. M. P. A.; SILVA, M. C. F.; MELLO, S. C. M. Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. antagonísticos a *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Brasília DF. Embrapa Recursos Genéticos. **Boletim Técnico**, n. 177, 2005.
- BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, p. 379-382, 1982.
- BETTIOL, W. Controle biológico de doenças do filoplano. In: **Controle biológico de doenças de plantas**. BETTIOL, W. (Org.) Jaguariúna: Embrapa-Cnpda, 1991. p.338, 1991. (EMBRAPA-CNPDA. Documentos, 15).
- BETTIOL, W.; GHINI, R.; MORANDI, M.A.B.; STADNIK, M.J.; KRAUS, U.; STEFANOVA, M.; PRADO, A.M.C. **Controle biológico de doenças de plantas na América Latina**. In: Alves, S.B. & Lopes, R.B. (Eds.) Controle Microbiano de Pragas na América Latina – Avanços e desafios. Piracicaba. FEALQ, p. 303-331, 2008.
- BLUMEI, L. Z. E. E; GEORGINA, M. F. B. M. M.; FLORESI, V. Seleção de antagonistas fúngicos a *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum* em substrato comercial para mudas. **Ciência rural**, v. 37, n. 6, 2007.
- BORGES, A. L.; SOUZA, L. da S. Exigências edafoclimáticas. In: BORGES, A. L.; SOUZA, L. da S. **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa-CNPMF, p.15-19, 2004.
- 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**. Sistema de Produção. Embrapa Semiárido, 2009. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/Banana/BananeiraIrrigada/tratos.htm>> Acesso em: 28 de Abril de 2015.
- BRAÚNA, L. M. **Controle biológico do mofo branco por isolados de *Trichoderma* nas culturas de soja e feijão comum**. 53f. Dissertação (Pós-Graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília) Brasília: Universidade de Brasília. 2011.

BRUNNER, K.; ZEILINGER, S.; CILIENTO, R.; WOO, S. L.; LORITO, M.; KUBICEK, C. P.; MACH, R. L. Improvement of the fungal biocontrol agent *Trichoderma atroviride* to enhance both antagonism and induction of plant systemic disease resistance. **Applied and environmental microbiology**, v. 71, n. 7, p. 3959-3965, 2005.

CARVALHO, D. D.; MELLO, S. C.; LOBO JÚNIOR, M.; SILVA, M. C. Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in vitro e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 36, n. 1, p. 28-34, 2011.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. American Phytopathological Society, p.120-170, 1983.

CORDEIRO Z. J. M.; KIMATI, H. Doenças da bananeira (*Musa* sp.) In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIM FILHO, A; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M.; (eds.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Ceres, p.112-136,1997.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P. **Doenças da bananeira**. In: FREIRE, F. C.; CARDOSO, J. E.; VIANA, F. M. P. (Eds). Doenças de fruteiras tropicais de interesse agroindustrial. Brasília, DF. Embrapa informação tecnológica, p. 323-390, 2003.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; MEISSNER FILHO, P. E. Doenças e Métodos de Controle. In: BORGES, A.L.; SOUZA, L.S. **O Cultivo da Bananeira**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 279p.

DANTAS, J. L. L.; KENNETH, S.; SOARES, W. S. F.; CORDEIRO, Z. J. M.; SILVA, S. O.; SOUZA, A. S. **Citogenética e melhoramento genético da bananeira (*Musa* spp.)**. EMBRAPA-CNPMP, p. 5-64, 1993.

DE SOUZA LOUZADA, G. A.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; JÚNIOR, M. L.; MARTINS, I.; BRAÚNA, L. M. Potencial antagônico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes agroecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biota neotropica**, p. 145-149, 2009.

DEMANT, C. A. R.; FURTADO, E. L.; ZANOTTO, M. D.; CHAGAS, A. A. Controle de mofo cinzento com o uso de *Trichoderma*. In: **Congresso Brasileiro de Mamona**. Embrapa Algodão, 2006.

ELAD, Y. *Trichoderma harzianum* T39 preparation for biocontrol of plant diseases-control of *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Cladosporium fulvum*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 10, n. 4, p. 499-507, 2000.

FAO. **Agricultural Database**. Disponível em: [www.fao.org](http://www.fao.org). Acesso em: 15 março. 2015.

FERNANDEZ, M. R. **Manual para laboratório de fitopatologia**. Passo Fundo: EMBRAPA/CNPCT, p.128, 1993.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. **Reunião anual da região brasileira da sociedade internacional de biometria**, v. 45, n.2000, p. 235, 2000.

FERREIRA, C. T.; BERNARDES, V. P.; DE SOUSA, B. C. M.; LUSTOSA, D. C.; VIEIRA, T. A. *Trichoderma* e óleo vegetal: alternativas para o controle de fitopatógenos de espécies florestais. **Cadernos de Agroecologia**, v. 8, n. 2, 2013.

GUERRA, A. A.; MEDEIROS, A. A.; MOREIRA, R. S; DANTAS, J. A; MEDEIROS, A. C. **Tecnologias para o cultivo da bananeira**. Rio Grande do Norte, p.18, 2010.

HARMAN, E. Seed treatments for biological control of plant disease. **Crop Protection**, p. 166-171, 1991.

HERNÁNDEZ, A. J. C.; ENAMORADO, L. E. P.; AVELIN, F. C. J.; FERNÁNDEZ, A. C. P.; ORTIZ, J. L. Uso de aislamientos endofíticos de *Trichoderma* spp., para el biocontrol del *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Mal de Panamá) raza 1 en vitroplantas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) en condiciones de invernadero. **Universitas (León): Revista Científica de la UNAN León**. v. 4, n. 1, p. 71-82, 2013.

IBGE análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. **Rio de Janeiro: IBGE**. 2011  
Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/>> Acesso em: 28 de Abril de 2015.

IBGE. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. **Rio de Janeiro: IBGE**. 2012  
Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/>. Acesso em: 28 abril 2015.

ISAIAS, C. O.; MARTINS, I.; SILVA, J. B. T. D.; SILVA, J. P. D.; MELLO, S. C. M. D. Antagonistic action and bioactive metabolites of *Trichoderma* spp. against the pathogens *Sclerotium rolfsii* and *Verticillium dahliae*. **Summa Phytopathologica**, v.40,n.1, p. 34-41, 2014.

JONES, D. R. Introduction to banana, abacá and enset. **Diseases of Banana, Abaca and Enset. CAB International, Wallingford, UK**, p. 1-36, 2000.

JÚNIOR, A. G; DOS SANTOS, Á. F; AUER, C G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, v. 30, n. 12, 2000.

JÚNIOR, A. G.; DOS SANTOS, Á. F.; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, v. 30, n. 12, 2000.

LOUZADA, G. A. S.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; LOBO JÚNIOR, M.; MARTINS, I.; BRAÚNA, L. M. **Potencial antagônico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes agroecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani***. *Biota Neotrop*, v. 9 n. 3, 2009

LUCON, C. M. M. Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma* spp. **São Paulo: Instituto Biológico/Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal**, 2009. Disponível em: < [http://www.infobibos.com/Artigos/2009\\_1/Trichoderma/Index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/Trichoderma/Index.htm)>. Acesso em: 05. Abril. 2015.

MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F. D.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.

MARTINS, A. N.; FURLANETO, F. P. B. Bananicultura: pesquisas voltadas para a agricultura familiar. **Revista Tecnologia e Inovação Agropecuária**, p. 77- 86, 2008.

MARTIS-CORDER, M. P.; MELO, I. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. sobre *Verticillium dahliae* KLEB. **Scientia Agricola**, São Paulo, v. 55, n.1, p. 1-7, 1998.

MASCARENHAS, G. **Análise do mercado brasileiro de banana**. Preços Agrícolas, v. 134, p. 4-12, 1997.

MATOS, A. P.; CORDEIRO, Z. J. M.; HADDAD, F. Fusários em frutíferas. In: **Embrapa Mandioca e Fruticultura-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 22., 2012, Bento Gonçalves. Anais... Bento Gonçalves: SBF, 2012., 2012.

McKINNEY, H. H. Influence of soil, temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v.26, p.195-217, 1923.

MENEZES, J. P. ***Trichoderma* spp - microrganismo utilizado no controle de fitopatógenos**. 2002. Disponível em: <<http://www.agronline.com.br/artigos/artigo.php?id=91>> Acesso em: 07 de abril de 2015.

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

MILANESI, P. M.; BLUME, E.; ANTONIOLI, Z. I.; MUNIZ, M. F. B.; SANTOS, R. F. D.; FINGER, G.; DURIGON, M. R. Biocontrole de *Fusarium* spp. com *Trichoderma* spp. e promoção de crescimento em plântulas de soja. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 347-356, 2013.

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

NOGUEIRA, E. M. C. Principais doenças da bananeira. **ANAIS VI Reunião Itinerante de Fitossanidade do instituto Biológico**, p. 9-20, 2002. Disponível em: <[www.biologico.sp.gov.br](http://www.biologico.sp.gov.br)>. Acesso em: 05. Fev. 2015.

PLOETZ, R. C. *Fusarium* wilt of banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 96, n. 6, p. 653-656, 2006.

RIBEIRO, T. S. **O fungo *Trichoderma* spp. no controle de fitopatógenos: dificuldades e perspectivas** 35f. Monografia (Pós-Graduação Tecnologias Inovadoras no Manejo Integrado

de Pragas e Doenças de Plantas) Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2009.

SÁ, J. O. **Patogênese de *Aspergillus niger* e biocontrole da podridão vermelha do sisal por *Trichoderma* spp.** 66f. Dissertação (Pós Graduação em Ciências Agrárias) Cruz das Almas: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. 2009.

SANTOS, C. C.; OLIVEIRA, F. A.; SANTOS, M. S.; TALAMINI, V.; FERREIRA, J. M. S.; SANTOS, F. J. Influência de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Thielaviopsis paradoxa*. **Scientia Plena**, v. 8, n. 4 (b), 2012.

SANTOS, H. A.; MELLO, S. C. M.; E PEIXOTO, J. R. Associação de isolados de *Trichoderma* spp. e Ácido Indol-3-Butírico (AIB) na promoção de enraizamento de estacas e crescimento de maracujazeiro. **Bioscience Journal**, v.26, n.6, p. 966-972, 2010.

SILVA NETO S. P.; GUIMARÃES T. G. **Evolução da cultura da banana no Brasil e no mundo.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2011. Disponível em: <<http://www.cpac.embrapa.br/noticias/artigosmidia/publicados/287/>>. Acesso 25 abril 2015.

SOUZA, M. L. Utilização de microrganismos na Agricultura: **Uso de agentes microbianos na agricultura brasileira.** Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento, n. 21, p. 28-31, 2001.

STEYAERT, J. M.; RIDGWAY, H. J.; ELAD, Y.; STEWART, A. Genetic basis of mycoparasitism: a mechanism of biological control by species of *Trichoderma*. **New Zeal J Crop Hortic Sci**, v.31, p.281-91, 2003.

## ANEXOS

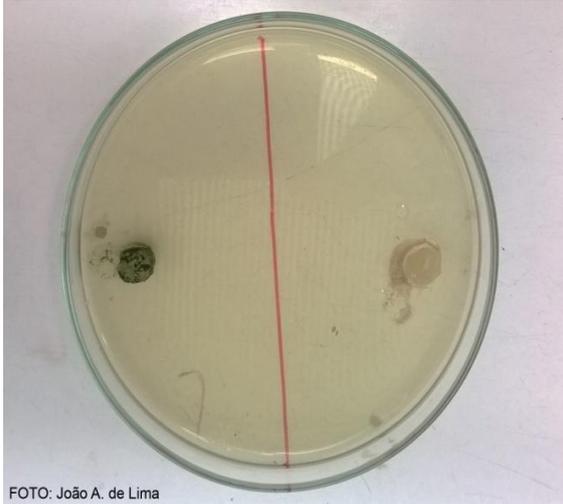


FOTO: João A. de Lima

Figura 4 - disposição dos discos de cultura de antagonista x patógeno.

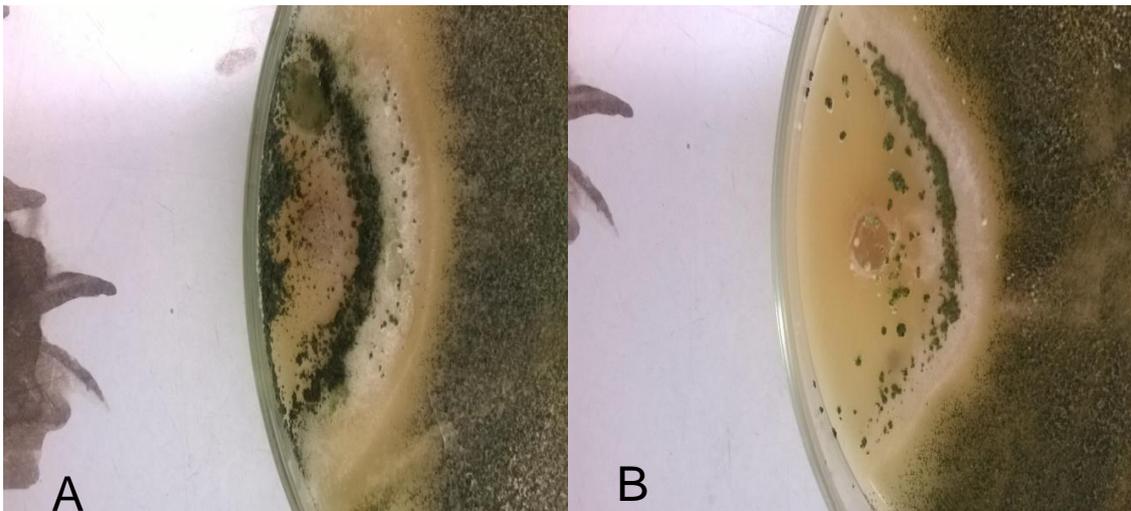


Figura 5 - imagem aproximada *Trichoderma* 81 x *Foc* com 8 dias (A) e *Trichoderma* 82 x *Foc* com 8 dias (B).



Figura 6 - Mudas separadas para avaliações das variáveis e corte do rizoma.



Figura 7 - Escala de notas proposta por CORDEIRO et al. 1993.



**Figura 8 - Rizoma de muda de bananeira cortada horizontalmente apresentando nota 1 segundo escala proposta por CORDEIRO et al.1993.**



**Figura 9 - Rizoma de muda de bananeira cortada horizontalmente apresentando nota 6 segundo escala proposta por CORDEIRO et al.1993.**