

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**

***Trichoderma* spp. E RESÍDUOS ORGÂNICOS NO CONTROLE
INTEGRADO DO MAL DO PANAMÁ**

LIANE SANTOS SALES SOUZA

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
JANEIRO - 2016**

***Trichoderma* spp. E RESÍDUOS ORGÂNICOS NO CONTROLE INTEGRADO DO MAL DO PANAMÁ**

LIANE SANTOS SALES SOUZA

Bióloga

Universidade Estadual de Feira de Santana, 2000

Tese submetida ao Colegiado de Curso do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Ciências Agrárias, Área de Concentração: Fitotecnia.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Ana Cristina Fermino Soares

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CRUZ DAS ALMAS - BAHIA – 2016

FICHA CATALOGRÁFICA

S729t

Souza, Liane Santos Sales.

Trichoderma spp. e resíduos orgânicos no controle integrado do mal do Panamá / Liane Santos Sales Souza / Cruz das Almas, BA, 2016.

175f.; il.

Orientadora: Ana Cristina Fermino Soares.

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

1.Banana – Doenças. 2.Banana – Mal-do-panamá – Controle biológico.
I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 634.772



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE
LIANE SANTOS SALES SOUZA

Membro Presidente: Profa. Dra. Ana Cristina Fermino Soares
Instituição: UFRB

Membro Externo à Instituição: Prof. Dr. Fernando Haddad
Instituição: Embrapa Mandioca e Fruticultura

Membro Externo à Instituição: Prof. Dr. Francisco Ferraz Laranjeira
Instituição: Embrapa Mandioca e Fruticultura

Membro Externo ao Programa: Profa. Dra. Cintia Armond
Instituição: UFRB

Membro Externo ao Programa: Prof. Dr. Thiago Alves Santos de Oliveira
Instituição: UFRB

Homologada em / / .

Aos meus filhos, Jullia, Juliana e Murilo, que mesmo com toda a minha ausência sempre me receberam com um sorriso no rosto.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, todo poderoso, dono do céu e da Terra, a ele somente toda honra e toda glória. Agradeço pelo dom da vida, a graça concedida do acordar a cada manhã e pela força de sempre seguir em frente em busca dos meus objetivos apesar de todas as dificuldades;

A Prof.^a Dr^a. Ana Cristina Fermino Soares, pelo apoio nos momentos difíceis, pela orientação, amizade, companheirismo e disponibilidade em contribuir na realização deste projeto e na confiança em minhas ideias;

Ao Prof. Dr. José Luiz Bezerra, pelo apoio e ajuda, além das grandes contribuições com os conhecimentos sobre a micologia.

Às laboratoristas Zozilene Nascimento Santos Teles e Carolina Yamamoto Santos Martins, por todo apoio, paciência em ensinar e ajudar, carinho e dedicação;

A pós-doutoranda Josilda Cavalcante A. Damasceno, pelas palavras amigas e apoio nos momentos difíceis, valeu por tudo mesmo;

Às futuras professoras de biologia Antônia Edina de Souza Silva e Quelli França Pimentel, pelo companheirismo, ajuda nos momentos difíceis e pela força que têm... As duas são exemplo para muitas pessoas e ainda irão bem longe com muito sucesso;

Aos futuros agrônomos Vanessa Ferreira e Gilcimar de Jesus, pela ajuda e colaboração na execução dos experimentos;

Aos amigos e colegas Lica, Cristiane, Jaqueline Maria, Jaqueline Macena, Juliana, Maria, Joseane, Ilana, Any Souza, Rafael, Cristiano, Leonardo, Fábio, Erasto, Maria Luiza, Giselle, Margarida, Nayara, a todos os companheiros do laboratório de microbiologia agrícola, pelo convívio e amizade;

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias da UFRB pelos ensinamentos;

Aos colegas do Curso de Doutorado em Ciências Agrárias (turma 2012.1) e do curso de Mestrado em Microbiologia Agrícola pelo convívio e amizade;

Aos colegas de trabalho e alunos do Colégio Estadual Luciano Passos pela torcida e palavras de ânimo nos momentos de dificuldades.

Enfim, a todos que sempre acreditaram em meus sonhos e que contribuíram de uma forma ou de outra para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

“É muito melhor arriscar coisas grandiosas, alcançar triunfos e glórias, mesmo expondo-se a derrota, do que formar fila com os pobres de espírito que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem nessa penumbra cinzenta que não conhece vitória nem derrota.”

Theodore Roosevelt

“As pessoas que vencem neste mundo são as que procuram as circunstâncias de que precisam e, quando não as encontram, as criam.”

Bernard Shaw

“Um ao outro ajudou e ao seu companheiro disse: esforça-te”...

Isaías 41:6

"Grandes mentes discutem ideias; Mentas medianas discutem eventos; Mentas pequenas discutem pessoas."

Eleanor Roosevelt

**“Você não sabe o quanto eu caminhei,
Pra chegar até aqui,
Percorri milhas e milhas antes de dormir...”**

Cidade Negra

SUMÁRIO

Página

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO..... 01

Capítulo 1

SELEÇÃO DE *Trichoderma* spp. PARA O CONTROLE INTEGRADO DE
Fusarium oxysporum f. sp. *cubense* 28

Capítulo 2

CONTROLE INTEGRADO DO MAL DO PANAMÁ COM *Trichoderma*..... 77

Capítulo 3

Trichoderma spp. E RESÍDUOS AGRÍCOLAS NO CONTROLE INTEGRADO DO
MAL DO PANAMÁ..... 113

CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 162

***Trichoderma* spp. E RESÍDUOS ORGÂNICOS NO CONTROLE INTEGRADO DO MAL DO PANAMÁ**

Autor: Liane Santos Sales Souza

Orientadora: Ana Cristina Fermino Soares

RESUMO: O mal do Panamá, doença provocada pelo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) na cultura da bananeira, causa prejuízos a esta cultura no mundo inteiro, inviabilizando o cultivo de algumas variedades de bananeira. O controle químico não tem sido eficiente para esta doença. O uso de variedades resistentes como a FHIA 01, o controle com *Trichoderma* spp., a rotação de culturas e adubação orgânica para a melhoria na qualidade do solo podem se constituir em alternativas para o manejo integrado do mal do Panamá. Estudos apontam a associação de *Trichoderma* com a adubação orgânica como estratégia no manejo de patógenos do solo. O objetivo deste estudo foi selecionar e avaliar isolados de *Trichoderma* spp. aliado à adubação orgânica, com variações na periodicidade e formas de aplicação, no manejo integrado do mal do Panamá em mudas de bananeira da cultivar FHIA 01 R*, um híbrido tetraplóide AAAB. Foram avaliados 48 isolados de *Trichoderma*, pertencentes a seis espécies. Vinte isolados foram eficientes, destacando-se *T. harzianum* (TCS 10, TCS 29 e TCS 40) e *T. longibrachiatum* (TCS 78). Foram avaliados quatro resíduos orgânicos: bagaço de cana, raspas de mandioca, palha de bananeira e parte aérea de gliricídia, de forma isolada e em combinação com os quatro isolados de *Trichoderma* selecionados. O tratamento de mudas com *Trichoderma*, apenas na fase de viveiro em tubetes pequenos, não promoveu o controle eficiente da doença em solo infestado com Foc. A inoculação de *T. harzianum* em solo, antes e após a inoculação de Foc, promoveu o controle da doença. A incorporação de bagaço de cana e gliricídia ao solo promoveram incrementos na biomassa das mudas. *T. harzianum* (isolado TCS 40) aplicado com bagaço de cana de açúcar e raspa de mandioca promoveu 100% de controle da doença. *T. harzianum* (isolado TCS 29) reduziu em até 90% a incidência e 81% a severidade da doença, em plantas com e sem a associação de adubação orgânica no solo. Estes isolados de *T. harzianum*, obtidos de solo de plantio de sisal (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm), apresentaram capacidade de colonização endofítica nas mudas de bananeira e bons resultados no controle do mal do Panamá.

Palavras-chave: Biocontrole, substratos orgânicos, bananeira, *Musa* sp.

USE OF *Trichoderma* spp. AND ORGANIC RESIDUES FOR INTEGRATED CONTROL OF PANAMA DISEASE.

Author: Liane Santos Souza Sales

Advisor: Ana Cristina Fermino Soares

ABSTRACT: Panama disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) in banana plantations causes damage to this crop worldwide, preventing the cultivation of certain varieties of banana. Chemical control has not been effective for this disease. The use of resistant varieties such as FHIA 01, biological control with *Trichoderma* spp., crop rotation and incorporation of organic matter for improvement of soil quality can be alternatives for the integrated management of Panama disease. Studies indicate the association of *Trichoderma* spp. with organic fertilizer as a strategy to control soil pathogens. The objective of this study was to select and evaluate *Trichoderma* spp. combined with organic matter, and different times and forms of its application, for controlling Panama disease in banana plants of FHIA 01 R*, a tetraploid AAAB hybrid. Forty-eight isolates of *Trichoderma*, belonging to six species, were evaluated. Twenty of them were efficient, specifically *T. harzianum* (TCS 10, TCS 29 and TCS 40) and *T. longibrachiatum* (TCS 78). Four organic residues were evaluated: sugar cane bagasse, cassava peeling residues, banana leaves and aerial parts of gliricidia (*Gliricidia sepium*), alone and combined with the four selected isolates of *Trichoderma*. Treatment of banana plants with *Trichoderma* in the nursery phase, in small plastic trays, did not promote efficient control of this disease in soil infested with Foc. Soil inoculation with *T. harzianum*, before and after inoculation with Foc, promoted disease control. However, the reapplication of the antagonist did not affect disease control. Soil incorporation of sugarcane bagasse and gliricidia promoted increases in plant biomass production. *T. harzianum* (isolate TCS 40) applied to soil with sugarcane bagasse and cassava peeling residue, promoted 100% disease control. *T. harzianum* (isolate TCS 29) reduced disease incidence by 90% and severity by 81% in plants with and without soil incorporation of organic residues. These *Trichoderma* isolates, obtained from soil of sisal (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm) plants presented the capacity for endophytic colonization of banana plants and also good results for Panama disease control.

Key words: Biocontrol, organic substrates, banana, *Musa* sp.

INTRODUÇÃO

A cultura da bananeira

A banana é a fruta mais consumida no mundo, rica em vitaminas, minerais, fibras, com baixos teores calóricos e de gordura, constituindo importante fonte de alimento (RIBEIRO et al., 2013).

É uma monocotiledônea pertencente ao gênero *Musa*, seção Eumusa, que inclui *M. balbisiana* e *M. acuminata*, que deram origem as espécies comestíveis de banana, originárias na Ásia, África Oriental e nas ilhas do Pacífico (SILVA et al., 2006).

Na safra de 2014, o continente asiático destacou-se como maior produtor mundial, seguido da Índia, China, China Continental, Filipinas e o Brasil, que produziu mais de 7 t ha⁻¹ (FAO, 2015).

A cultura da bananeira está presente em todos os estados brasileiros, do litoral ao interior desde a colonização do país, sendo os dois grupos genômicos mais comercializados, o Cavendish (AAA) (cvs 'Nanicão', 'Nanica' e 'Grande Naine') e 'Prata' (AAB) (SARAIVA et al., 2013).

Os estados de São Paulo, Bahia, Santa Catarina, Minas Gerais e Pará são importantes produtores, sendo que o Vale do Submédio São Francisco se destaca em produtividade na região nordeste, com o predomínio do cultivo de 'Pacovan' (ROLLEMBERG, 2013).

Na Bahia, as principais cidades produtoras são: Bom Jesus da Lapa, Juazeiro, Barreiras, Livramento de Nossa Senhora, Caraíbas, Guanambi, Urandi e Sebastião Laranjeiras (DONATO et al., 2009).

O plantio tradicional de cultivares mais aceitas comercialmente, a exemplo da 'Maçã', resultam em baixa produtividade e qualidade dos frutos, visto que são afetadas por doenças fúngicas (ROQUE et al., 2014).

Dentre os problemas fitossanitários, cita-se o mal do Panamá, que vem se destacando pelas perdas econômicas e dificuldade no controle. Esta doença vascular que causa a morte de plantas, com perdas de 100% dos cultivos, tem como agente etiológico, o fungo *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* (Foc), cujas estruturas de resistência, os clamidósporos, sobrevivem no solo por até 30 anos (PEREIRA et al., 2003).

O controle atualmente baseia-se em medidas integradas, práticas culturais e variedades resistentes, pois não existem fungicidas específicos e eficientes (CORDEIRO et al., 1993).

Dentre as cultivares resistentes pode-se citar a 'Prata Maravilha' (FHIA 01), criada na Fundação Hondurenha de Investigação Agrícola (FHIA), sendo introduzida no país, selecionada e avaliada pela EMBRAPA - Mandioca e Fruticultura, no município de Cruz das Almas-Bahia. Esta cultivar é um híbrido tetraplóide, do grupo AAAB, resultante do cruzamento da cultivar 'Pacovan' (AAB) com o híbrido diploide SH3142 (AA) (CAVALCANTE et al., 2003).

Esta cultivar apresenta importante característica de produtividade, aceitação sensorial e resistência às principais pragas e doenças que acometem a bananicultura brasileira (SILVA et al., 2004), com resistência quantitativa ao mal do Panamá.

Mal do Panamá

O primeiro registro da doença foi na Austrália, com a descrição de sintomas na cultivar 'Sugar', seguidos de relatos no Panamá e Costa Rica, onde ocorreram perdas de plantios de 'Gros Michel', principal cultivar de exportação, motivando a substituição por variedades do subgrupo 'Cavendish' (CORDEIRO; MATOS, 2003).

No Brasil, o primeiro relato foi em São Paulo e, em quatro anos, foram dizimados um milhão de pés da cultivar 'Maçã' (CORDEIRO et al., 2005), seguido

de Minas Gerais, Goiás e Espírito Santo, onde foram perdidas 20% das plantas do tipo 'Prata' (PLOETZ et al., 1990).

O *F. oxysporum* f. sp. *ubense* é um fungo mitospórico e cosmopolita pertencente a classe dos Deuteromicetos, ordem Moniliales e família Tuberculariaceae, cuja forma perfeita não é conhecida. Possui especialização fisiológica e patológica para bananeira e morfologia similar a outros *F. oxysporum* (PEREIRA et al., 2003). Este fungo possui *formae specialis* específicas aos hospedeiros, causando problemas vasculares e podridão da raiz. Também produzem substâncias tóxicas em alimentos, afetam indivíduos imuno comprometidos causando doenças dermatológicas (VARTIVARIAN et al., 1993).

Dentro das *formae specialis* (f. sp.), foram descritas e identificadas três raças que afetam a banana, sendo as mais importantes a 1, 2 e 4. No Brasil, presume-se a prevalência da raça 1 (GOES; MORETTO, 2001).

A raça 1 infecta plantas do subgrupo 'Gros Michel', 'Prata' e a cultivar 'Maçã' (PEREIRA et al., 2003); a raça 2 apenas o subgrupo 'Bluggoe'; e a raça 4 os subgrupos 'Gros Michel', 'Bluggoe' e 'Cavendish' (DIAS et al., 2014).

A presença da raça 4 em bananas 'Cavendish' é um dado preocupante, uma vez são as cultivares mais produzidas mundialmente. Essa raça foi dividida em raça 4 subtropical (ST4) encontrada em regiões subtropicais, em plantas expostas a estresses abióticos, e em raça 4 tropical (TR4) em condições tropicais e subtropicais, ambas associadas a plantas do subgrupo 'Cavendish' (MOLINA et al., 2008). A raça TR4 em países como Taiwan, Malásia, Filipinas, Vietnã, Indonésia, China, Jordânia e Austrália (GARCÍA-BASTIDAS et al., 2014) e Moçambique (IITA, 2013) tem devastado plantios comerciais do subgrupo Cavendish.

Este fungo possui três tipos de esporos assexuais: microconídios, macroconídios, e estruturas de resistência, os clamidósporos. O crescimento micelial caracteriza-se pela cor violeta da colônia em meio de Batata Dextrose-Ágar (BDA), células conidiogênicas do tipo monofiáides curtas que formam microconídios unicelulares de formas ovais, elípticas e reniformes. Os macroconídios são falcados, com 3 a 5 septos, que podem aparecer na superfície das plantas mortas pelo patógeno, formando agrupamentos semelhantes aos esporodóquios (FOURIE et al., 2011). Os clamidósporos têm uma ou duas células e são resultantes da transformação das hifas. Estes esporos têm paredes

espessas, duplas e rugosas, com formato globoso e podem ser formados isoladamente, nas extremidades de conidióforos, intercalados nas hifas, ou nos macroconídios, podendo permanecer ativos no solo por mais de 20 anos, o que exige que sejam utilizadas medidas de controle que impeçam a entrada do fungo em áreas livres da doença (COSTA et al., 2007).

O patógeno é introduzido nas áreas de produção agrícola por mudas infectadas e sua disseminação ocorre pelo transporte de esporos via água de irrigação ou drenagem, deslocamento de solo ou restos infectados da planta e contato de raízes sadias com inóculo liberado por restos de rizoma, raízes e pseudocaule doentes (CORDEIRO, 1999).

Os clamidósporos podem permanecer viáveis no solo por anos, sobrevivendo também através de heterocárions e a sua germinação é induzida pela proximidade das raízes de bananeiras, em resposta à secreção de exsudatos. As hifas aderem e penetram na epiderme, avançando pelo córtex e alcançando os vasos do xilema (LI et al., 2011). Além das estruturas de resistência, que favorecem a permanência do patógeno no ambiente, este também é capaz de sobreviver através da sua capacidade saprofítica em matéria orgânica (MENEZES et al., 2010).

Nos sintomas externos observa-se o amarelecimento progressivo das folhas mais velhas para as mais novas, com posterior murcha, seca e quebra junto ao pseudocaule, deixando-a com aparência de guarda-chuva fechado. Internamente, nos feixes da bainha do pseudocaule aparecem pontuações pardo-avermelhadas. Observa-se o estreitamento do limbo nas folhas mais novas, engrossamento das nervuras secundárias e necrose do cartucho. No feixe de bainhas próximo ao solo podem aparecer rachaduras em decorrência do crescimento aparentemente normal dos feixes de bainhas externas, em comparação ao crescimento dos feixes internos do pseudocaule (LOPES et al., 2014).

Os mecanismos de resistência nas bananeiras para a doença envolvem formação de gel no xilema e também de tiloses que impedem o avanço da colonização pelo patógeno (LI et al., 2011). Ocorre com o avanço da doença, a colonização do tecido parenquimatoso adjacente, com a produção de conídios e clamidósporos, obstruindo os vasos do xilema com acúmulo de micélio, esporos, gomas, toxinas e tiloses (DI PIETRO, et al., 2003; LI et al., 2011).

O controle da doença com aplicações de fungicidas aumenta os custos de produção e não é eficaz, sendo atualmente usado no controle desta doença, medidas de exclusão do patógeno de áreas livres, com a utilização de mudas saudáveis e o cultivo de variedades resistentes associadas a medidas preventivas integradas (DALY; WALDUCK, 2006).

Dentre as cultivares resistentes ao mal do Panamá, destacam-se as do subgrupo 'Cavendish' ('Nanica', 'Nanicão', 'Grande Naine' e 'Williams'), do subgrupo 'Terra' ('Terra', 'Terrinha' e 'D'Angola') e as cultivares 'Caipira', 'Thap Maeo', 'Pacovan Ken', 'Preciosa', 'Prata Maravilha' (FHIA 01), 'Vitória' e 'Japira'. A cultivar 'Tropical', que é um tipo 'Maçã', é considerada tolerante a doença (TRINDADE et al., 2010).

As medidas preventivas estão relacionadas com a modificação das condições do solo de maneira a reduzir a população do patógeno. Assim, em áreas de incidência da doença é indicado o controle da umidade e drenagem do solo, correção do pH, com manutenção próximo à neutralidade e adubação balanceada com relação ao potássio, cálcio e magnésio (BORGES et al., 1999). O aumento da matéria orgânica favorece ao estímulo da microflora antagonista e melhora as condições fisiológicas da planta favorecendo ao controle da doença (KUPPER, 2015).

Controle biológico e *Trichoderma* spp.

O controle biológico representa uma alternativa natural e ecológica para atender às demandas por controle de fitopatógenos. Este método promove a melhor manutenção do equilíbrio no agroecossistema, no qual o hospedeiro, na presença do patógeno, não sofre danos significativos, mediante a ação controladora dos organismos não patogênicos do sistema (BETTIOL, 2009).

Para aumentar a eficiência do controle biológico de doenças de plantas, combinam-se micro-organismos, ampliando o espectro de ação sobre diferentes patógenos e estabilizando o efeito controlador sob variadas condições de cultivo e de ambiente (BOER et al., 2003). Também merecem destaque, estudos que envolvem a associação do biocontrole e variedades resistentes, principalmente em doenças causadas por patógenos dos gêneros *Meloidogyne*, *Fusarium* e

Verticillium, que não possuem controle efetivo através de métodos convencionais (VIDA et al., 2004).

Dentre os fungos utilizados para biocontrole destacam-se os indivíduos do gênero *Trichoderma*, pelo seu comportamento antagônico aos fitopatógenos, atuando por vários mecanismos (BENÍTEZ, 2004). O gênero *Trichoderma* descrito como fase anamórfica do gênero *Hypocrea*, pertence à classe dos fungos mitospóricos, subclasse Hifomicetos, ordem Moniliales, família Moniliacea (SAMUEL; HADAVI, 1996; CHAVERRI et al., 2000). A taxonomia do gênero é baseada em caracteres morfológicos e existem 75 espécies de *Trichoderma* descritas (SAMUELS, 1996). O gênero *Trichoderma* é cosmopolita em solos, material vegetal e madeiras em decomposição. É dominante na microflora do solo e nos mais variados habitats pela ampla capacidade metabólica e agressiva competitividade (GAMS e BISSETT, 1998). Distinguem-se pelas características macroscópicas e microscópicas como, rede micelial aérea hialina, septada, bastante espalhada e ramificada com produção de pústulas conidiógenas diferenciadas, podendo ser brancas ou verdes e rápido crescimento em cultura. Possuem conídios abundantes, soltos ou compactados em tufo. A estrutura e tamanho dos conidióforos são utilizados para diferenciação de espécies. Estes podem se apresentar subglobosos, ovóides, elipsóides ou elíptico-cilíndricos, sendo produzidos em série e acumulados no ápice das fiáldes de formato globoso ou subgloboso com diâmetro inferior a 15µm, podendo ser lisos ou pouco rugoso, hialino ou variando coloração do amarelo ao verde-escuro (CORABI-ADELL, 2004). Os clamidósporos estão presentes em diversas espécies, com características uniformes, formas globosas ou elipsoidais, terminais ou intercalares, de parede lisa, sem cor, amarela ou esverdeada e com 6-15 µm de diâmetro na maioria das espécies (GAMS; BISSETT, 1998).

Estes fungos são saprofitos de crescimento rápido, capazes de atingir altas densidades populacionais no solo e em plantas espontâneas, apresentando conídios abundantes e com grande viabilidade. Também são decompositores, podendo ser encontrados colonizando raízes, ramos e folhas das plantas (SAMUELS, 1996; MOHAMED; HAGGAG, 2006).

Fungos do gênero *Trichoderma* são agentes de controle biológico contra patógenos de solo e fungos com estruturas de resistência e também como promotores de crescimento de plantas (MACHADO et al., 2015). Tem ação

antagônica a fungos fitopatogênicos, atuando tanto pela produção de metabólitos voláteis e não voláteis (CAMPOROTA, 1985), pelo hiperparasitismo (PAPAVIZAS, 1985), competição por nutrientes, espaço e oxigênio, indutores de resistência e ainda podem existir mecanismos que não foram descobertos (HARMAN, 2000; HOWELL, 2002). São produtores de antibióticos e compostos supressivos, que exercem efeitos indiretos devido à emissão de compostos voláteis tóxicos (CHAUBE et al., 2002) e também substâncias que envolvem a degradação da parede celular de fungos fitopatogênicos, de material orgânico e nutrientes secretados pelas raízes (VAZ, 2010), a exemplo de enzimas como β -1,3 e β -1,6 glucanases, quitinase, celulases, amilases, proteases e lipases, xilanases e glucanases (DENNIS; WEBSTER, 1971; RODRIGUEZ-KABANA, 1978; CHÉRIF; BENHAMOU, 1990; CORABI-ADELL, 2004).

Estes fungos são oligotróficos e colonizam substratos pobres em nutrientes em condições de laboratório (HJELJORD et al., 2001). Apresentam comportamento variável em relação a fungicidas, sobrevivem a captan, iprodione, etheridiazole, PCNB e thiram, mas não são tolerantes aos benzimidazóis (CASSIOLATO et al., 1996), que são indicados para o controle de doenças fúngicas em cultivos de bananeira (AGROFIT, 2015). A interação de espécies de *Trichoderma* com as plantas ocorre através de uma simbiose biotrófica mutualística não muito rigorosa, que promove melhorias significativas no rendimento e produtividade de culturas importantes economicamente, além do controle de patógenos de solo (MUKHERJEE et al., 2013).

O potencial de biocontrole de *Trichoderma* spp. foi descoberto em 1930, levando ao desenvolvimento de produtos comerciais como, Agroguard WG®, Trichodel®, Tricovab®, Agrot rich® e Trichodermil®, dentre outros que são utilizados através da incorporação ao solo ou por pulverizações no hospedeiro (BLUM, 2006). Este fungo possui vários mecanismos antagônicos que podem agir sinergicamente. Os processos de biocontrole dependem do antagonista, do ambiente onde foi isolado, do patógeno, da cultura, do solo, da microbiota nativa ou introduzida, de condições ambientais, como aeração, disponibilidade de nutrientes, pH, teor de matéria orgânica, temperatura e umidade, fatores que influenciam na sobrevivência deste antagonista (HOWELL, 2003). Mesmo com estas interferências nos resultados, ainda assim é indicada a utilização deste

antagonista em vista dos problemas ambientais causadas pelo uso de defensivos químicos.

O uso de várias espécies de *Trichoderma* tem sido relatado em muitos estudos, como sendo eficaz no combate a patógenos de raiz, como *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* (SHARON et al., 2001; FREITAS et al., 2012), *Pythium* spp. (NASEBY et al., 2000; THRANE et al., 2000), *Rhizoctonia* spp. (CÚNDOM et al., 2003), *Phytophthora* spp. (ETEBARIAN et al., 2000, EZZIYYANI et al., 2007), *Sclerotium rolfsii* Sacc., *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary e *Fusarium* spp. (CORABI-ADELL, 2004), além de patógenos da parte aérea, como *Cladosporium herbarum* (BARBOSA, 2001), *Venturia* spp., *Botrytis* spp. (SILVA et al., 1999; HJELJORD et al., 2001, LISBOA et al., 2007), *Crinipellis pernicioso* (SANOGO et al., 2002). Também são usados no controle de fitopatógenos em produtos de pós-colheita, como tubérculos (OKIGBO; IKEDIUGWU, 2000), frutos (BATTA, 2004) e na proteção de sementes (HARMAN et al., 1980; BURNS; BENSON, 2000).

A depender das cultivares e dos resultados se pretenda obter, existem várias formas na aplicação de *Trichoderma* nas culturas: por incorporação ao substrato antes do plantio de mudas, misturados ao solo em canteiros por meio de rega ou em forma de granulados, ou ainda através do tratamento de sementes e por pulverização de folhas (PEREIRA, 2012).

Em diferentes patossistemas, o efeito de biocontrole com o uso de *Trichoderma* spp. pode variar em decorrência da periodicidade de inoculações. De Meyer et al., (1998) e Abeysinghe, (2009) afirmaram que *T. harzianum* aplicado uma vez apenas e 7 dias antes da inoculação do patógeno reduziu doenças causadas por *Botrytis cinerea* e *Uromyces appendiculatus* em plantas de alface, tomate, pimentão, fumo e feijão.

Chagas Junior et al., (2014) avaliando a eficiência da associação de isolados de *Trichoderma* e rizóbio em feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), verificaram que a aplicação de *Trichoderma* 15 dias após o plantio, sem reaplicações, tanto diretamente no solo quanto nas sementes, proporcionou incrementos de biomassa nas plantas de feijão.

Longa et al., (2009) relataram a redução de $1,2 \times 10^8$ UFC g⁻¹ para $1,5 \times 10^6$ UFC g⁻¹, na população de *T. atroviridae* incorporado ao solo de vinhedo na 18ª semana, demonstrando a necessidade de várias aplicações de inóculo ou de formulados combinados, mesmo com população viável do antagonista no solo.

Trichoderma spp. também é responsável por solubilizar nutrientes na rizosfera, aumentando a disponibilidade desses elementos para as plantas, favorecendo o melhor desenvolvimento de características fisiológicas de plantas e promovendo o controle das doenças (ALTOMARE et al., 1999).

Resíduos agrícolas: interferência no crescimento de plantas e biocontrole

O cultivo agrícola sem práticas de reposição da matéria orgânica provoca perdas nas características físicas, químicas e biológicas dos solos (PEREZ-MARIN et al., 2006). Os fertilizantes minerais podem inibir a atividade de microorganismos benéficos presentes na microbiota do solo, principalmente os simbioses. Como alternativas para reposição de nutrientes ao solo, vêm sendo adotadas práticas de adubação verde, que consiste na incorporação de biomassa de plantas ou resíduos agroindustriais ao solo, na sua superfície ou nas camadas superficiais (TIESSEN et al., 1994; SANTOS et al., 2010).

No Brasil, uma grande variedade de resíduos agrícolas e agroindustriais podem ser bioprocessados trazendo benefícios sócio-econômicos, e o gerenciamento e reutilização desses materiais pode complementar a adubação mineral, evitando a poluição pelo descarte ou queima, quando estes não são coletados e/ou reciclados (DAMASCENO et al., 2003).

Resíduos de atividades rurais são restos ou sobras vegetais e/ou animais, e os resíduos industriais são provenientes da produção de bens e itens de consumo por madeireiras, serrarias/carpintarias, usinas de açúcar e álcool, indústrias de fertilizantes químicos e outros produtos (SOUZA, 2005).

Após decomposição, a matéria orgânica melhora os teores de carbono orgânico, fertilidade, textura, formação e estabilização de agregados, troca catiônica, aeração, disponibilidade e retenção de nutrientes, capacidade de infiltração e retenção de água, e diminui a amplitude de variação térmica (YADUVANSHI; SHARMA, 2008). A decomposição das frações da matéria orgânica caracteriza-se como fonte de energia, nutrientes e de carbono para o metabolismo microbiano, melhorando as características biológicas do solo (SANTOS; CAMARGO, 1999).

A incorporação de matéria orgânica influencia na supressividade de doenças e na redução da população dos patógenos no solo. Os mecanismos de ação estão relacionados às interações solo-patógeno-hospedeiro e esta dinâmica associa-se a composição físico-química e biológica de cada composto orgânico (PEREIRA et al., 1996).

Diversos estudos têm demonstrado a eficiência inibitória de resíduos orgânicos sobre *Fusarium* spp. Dentre estes se pode citar a gliricídia (*Gliricidia sepium*) (GINER et al., 2015), bagaço de cana (*Saccharum* spp.) (BONANOMI et al., 2007) e raspas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) (FERREIRA et al., 2011).

A cultura da bananeira produz vários resíduos, que geralmente são incorporados ao solo do próprio cultivo (ABIB, 2011). Desta forma, justifica-se a avaliação destes resíduos com relação ao seu efeito nas populações de Foc no solo, possibilitando o manejo adequado da doença.

Como o *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* sobrevive por vários anos no solo, através de atividade saprofítica em matéria orgânica (MENEZES et al., 2010), o conhecimento de resíduos orgânicos que proporcionem supressividade e redução das populações deste patógeno no solo, poderá contribuir para o desenvolvimento de estratégias de manejo integrado da doença.

Gliricídia

A gliricídia (*Gliricidia sepium*) é uma leguminosa muito utilizada na adubação verde em virtude da sua rusticidade (ARAÚJO; ALMEIDA, 1993), elevada produção de matéria seca em condições de baixa disponibilidade hídrica e elevada capacidade de fixação de N₂ atmosférico (PEREZ- MARIN et al., 2006). É usada na cobertura e proteção do solo, manutenção e/ou melhoria das condições físicas, químicas e biológicas do solo, manutenção da microfauna em profundidade, produção de forragem para alimentação animal com grande quantidade de biomassa, além de melhorar a fertilidade de áreas degradadas (EIRAS; COELHO, 2010).

Estudos realizados com a gliricídia demonstram o seu potencial como adubo verde (THANGATA; ALAVALPTI, 2003; PEREZ MARIN et al., 2006; PAULINO et al., 2009; SOLANGI et al., 2010; SILVA et al., 2011). A decomposição de resíduos

incorporados ao solo, principalmente dos adubos verdes, produz substâncias bioativas, a exemplo de compostos orgânicos voláteis que inibem o desenvolvimento da população de fitopatógenos (COSTA et al., 2001). Giner et al., (2015), analisando *in vitro* o efeito inibitório de extratos de folhas de gliricídia, verificaram que houve inibição e atraso no crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (TR4).

Bagaço de cana-de-açúcar

O bagaço da cana-de-açúcar é abundante e pouco explorado, pois apesar da sua utilização como combustível nas caldeiras das usinas, o excedente equivale a 20% do total gerado (BATTISTELLE et al., 2009). Este resíduo pode promover a proteção do solo contra erosão, melhorias nos teores de matéria orgânica do solo, o estímulo à atividade microbiana do solo, redução da poluição ambiental e melhoria da qualidade da matéria-prima para a indústria (SEDIYAMA et al., 2010).

A adição de bagaço de cana ao solo promoveu o controle da fusariose do quiabeiro, causada pelo fungo *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (VERAS, 2006). Este resíduo orgânico também foi citado como indutor de supressão do solo ao mal do Panamá, sendo verificada a redução na incidência da doença (SEQUEIRA, 1982, BONANOMI et al., 2007).

Raspas de mandioca

Não existem dados sobre a quantidade de resíduos gerados na produção de farinha de mandioca. Sabe-se apenas que cerca de 10% da raiz é eliminada na forma de casca, sendo rica em amido e utilizada na alimentação animal e adubação (ARAUJO; LOPES, 2008).

A incorporação de folhas de mandioca ao solo, associado à solarização, proporcionou a total inibição do desenvolvimento da raça 2 de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, sendo indicada para o controle efetivo do patógeno (WONG et al., 2011). Silva (2010) obteve um adubo com raspa de mandioca, serragem e esterco tratado por compostagem, que proporcionou melhorias nas propriedades

químicas e biológicas do solo. Amorim et al., (2006) obtiveram o controle da podridão radicular da mandioca, causada por *Pythium dreschleri*, com raspas de mandioca a 10 e 20%, solo de mangue (20%) e cama-de-frango (10%) e observaram que 20% do resíduo proporcionou o desenvolvimento das mudas. Santos (2015) incorporou raspa de mandioca ao solo, nas concentrações 0, 20, 40, 60, 80 e 100 g/L, em cinco épocas diferentes (0, 15, 30, 45 e 60 dias) e avaliou mudas de tomateiro inoculadas por corte e imersão do sistema radicular em suspensão bacteriana de 10^8 UFC/mL de *Ralstonia solanacearum*. Esta autor observou que houve eficiência no controle do patógeno com a incorporação de 20 g/kg do resíduo ao solo, aos 30 dias.

O extrato aquoso de casca de mandioca na concentração de 10% controlou *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* em maracujazeiro amarelo, em análises realizadas *in vitro* e na concentração de 60 g kg^{-1} em casa de vegetação, demonstrando o seu potencial supressor sobre a fusariose do maracujazeiro (FERREIRA et al., 2011). Estes estudos indicam que a raspa da mandioca, oriunda de casas de farinha pode ser aproveitada na agricultura com adubo e com ação no controle de fitopatógenos.

Palha das folhas de bananeira

Três tipos de resíduos vegetais são produzidos na colheita da banana: pseudocaule, folhas e engaço. Na industrialização, dois novos resíduos são gerados: rejeitos de frutas de má qualidade e cascas após o beneficiamento da polpa (GONÇALVES FILHO, 2011).

A permanência do pseudocaule e das folhas de bananeira no campo é uma prática muito comum, com intenção de formação de cobertura morta, manutenção da umidade, controle de erosão e plantas daninhas, devolvendo nutrientes ao solo reduzindo os custos na adubação (BAKRY et al., 1997). Devido a permanência do *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* no solo, na forma de clamidósporos e pela sua atividade saprofítica na matéria orgânica do solo (MENEZES et al., 2010), a avaliação deste resíduo com relação ao seu efeito na população do patógeno no solo se faz necessária, visto que a forma de descarte deste material pode interferir no manejo do mal do Panamá.

Manejo integrado de doenças na cultura da bananeira

O principal objetivo do manejo integrado de pragas é minimizar o uso de produtos químicos, sempre priorizando medidas biológicas, técnicas de cultivo e de melhoramento de plantas (BRECHELT, 2004). Segundo Cordeiro et al., (2004) o manejo integrado de pragas e doenças da bananeira constitui-se na principal forma de combate aos patógenos que afetam esta cultura, sempre dando prioridade as técnicas que diminuem custos e aumentam a produção sem agredir o ambiente. O controle biológico, o uso de variedades resistentes, a utilização de matéria orgânica, a solarização, a inundação, a rotação de culturas, o pousio, o uso de cultivos intercalares e a cobertura do solo são técnicas utilizadas no manejo integrado visando reduzir a população dos patógenos nos cultivos (RITZINGER; FANCELLI, 2006).

Destaca-se a importância mundial da cultura da bananeira e o uso de técnicas de manejo integrado no controle de doenças nesta cultura, uma vez que existem poucas alternativas eficientes para o controle do mal do Panamá. Desta forma, este trabalho teve como objetivo o preenchimento desta lacuna avaliando estratégias integradas de controle da fusariose da bananeira, utilizando uma variedade que apresenta resistência quantitativa ao mal do Panamá, isolados selecionados de *Trichoderma*, com diferentes formas e periodicidade de inoculação, combinados a diferentes fontes de matéria orgânica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEYSINGHE, S. Systemic resistance induced by *Trichoderma harzianum* RU01 against *Uromyces appendiculatus* on *Phaseolus vulgaris*. **Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka**. v.37, p. 203-207, 2009.

ABIB - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA INDÚSTRIAS BIOMASSA BRASIL BIOMASSA E ENERGIA RENOVÁVEL. Inventário Residual Brasil - WoodPellets - Briquete – Energia, 2011. E – book. Disponível em: <http://pt.calameo.com/read/000200968cc3a949579a0>. Acesso em 07/01/2016.

AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins. 2016.

ALTOMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJÖRKMAN, T.; HARMAN, G. E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. **Applied and Environmental Microbiology**. v.65, n.7, p. 2926-2933, 1999.

AMORIM, E.P.R.; JUNIOR, J. M. S.; SILVA, J. C.; SOBRAL, M. F.; SOARES, L. P. R.; ELOY, A.P. Efeito de resíduo orgânico sobre a incidência do Mal do Panamá em mudas de bananeira. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 31, p. 153, 2006.

ARAÚJO, A. P.; ALMEIDA, D. L. Adubação verde associada a fosfato de rocha na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.28, p.245-251, 1993.

ARAUJO, J. S. P.; LOPES, C. A. **Produção de Farinha de Mandioca na Agricultura Familiar**. Manual Técnico, 13. Niteroi, RJ: Programa Rio Rural, 15p. 2008.

BAKRY, F.; CARREL, F.; CARUANA, M. L.; COTE, F. X.; JENNY, C.; TEZENAS, D. H. Les Bananiers. Amelioration des Plantes Tropicales, **CIRAD-ORSTOM**, p. 109– 139, 1997.

BARBOSA, M. A. G., REHN, K. G., MENEZES, M.; MARIANO, R. L. R. Antagonism of *Trichoderma* Species on *Cladosporium herbarum* and their Enzymatic Characterization. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.32; p.98-104. 2001.

BATTA, Y. A. Postharvest Biological control of apple gray mold by *Trichoderma harzianum* Rifai formulated in an invert emulsion. **Crop Protec**. v. 23, p.19-26. 2004.

BATTISTELLE, R. A. G.; FRANCISCO, C. M.; LAHR, A. R. Emprego do bagaço da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) e das folhas caulinares do bambu da

espécie *Dendrocalamus giganteus* na produção de chapas de partículas. **Minerva**. v.5, n.3, p. 297-305. 2009.

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

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa- CNPMA, 341p. 2009.

BLUM, L. E. B. Controle biológico de fitopatógenos. In: BLUM, L. E. B.; CARES, J. E.; UESUGI, C. H. **Fitopatologia: o estudo das doenças de plantas**. 1. ed. Brasília: Otimismo, p. 196-205. 2006.

BOER, M. de; BOM, P.; KINDT, F.; KEURENTJES, J.J.B.; SLUIS, I. van der; LOON, L.C. van; BAKKER, P.A.H.M. Control of *Fusarium* wilt of radish by combining *Pseudomonas putida* strains that have different disease-suppressive mechanisms. **Phytopathology**. v.93, p.626-632, 2003.

BONANOMI, G.; ANTIGNANI, V.; PANE C.; SCALA, F. Suppression of soilborne fungal diseases with organic amendments. **Journal of Plant Pathology**. v.89. p.311-324. 2007.

BORGES, A. L.; OLIVEIRA, A. M. G.; SOUZA, L. da S. Solos, Nutrição e Adubação. IN: ALVES, E. J. (Ed.). **A cultura da banana: Aspectos técnicos**, 43 socioeconômicos e agroindustriais. Brasília: EMBRAPA- SPI / Cruz das Almas: Embrapa – CNPMF, p. 197 – 270. 1999.

BURNS, J. R.; BENSON, D. M. Biocontrol of damping-off *Catharanthus roseus* caused by *Pythium ultimum* with *Trichoderma virens* and binucleate *Rhizoctonia* fungi. **Plant Disease**. v.84, p.644-648. 2000.

BRECHELT, A. **O Manejo Ecológico de Pragas e Doenças**. RAP-AL. Santiago de Chile, Chile.v.1. p. 36,2004.

CAMPOROTA, P. Antagonism *in vitro* of *Trichoderma* spp. vis-a-vis *Rhizoctonia solani* Kuhn. **Agronomie**. v.5. p.613-620,1985.

CASSIOLATO, A. M. R.; BAKER, R.; MELO, I. S. Parasitismo de *Sclerotinia sclerotiorum* e *S. minor* por mutantes de *Trichoderma harzianum* em segmentos de aipo. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 21, p. 120-122, 1996.

CAVALCANTE, M. de J. B.; OLIVEIRA, T. K. de; SÁ, C. P. de; CORDEIRO, Z. J. M.; SILVA, S. de O. e; MATOS, A. P. de. **Novas Cultivares de Banana Resistentes à Sigatoka-negra no Acre**. Comunicado técnico. Rio Branco, AC. Dezembro, 2003

CHAGAS JUNIOR, A. F.; OLIVEIRA, A. G.; REIS, H. B.; SANTOS, G. R.; CHAGAS, L. F. B.; MILLER, L. O. Eficiência da inoculação combinada de rizóbio e *Trichoderma* spp. em diferentes cultivares de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) no cerrado (Savana Brasileira). **Revista de Ciências Agrárias**, v.37. n.1, p. 20-28. 2014.

CHAUBE, H.S.; MISHRA, D.S.; VARSHNEY, S.; SINGH, U.S Biological control of plant pathogens by fungal antagonistic: Historical background, present status and future prospects. **Annual Review of Phytopathology**. v.2, p. 1- 42 .2002.

CHAVERRI, P., SAMUELS, G. J.; STEWART, E. L. Convergent evolution of *Gliocladium* morphology in *Hypocrea*. Newsletter of the Mycological Society of America. **Mycologia**. v. 51. p. 24. 2000.

CHÉRIF, M.; BENHAMOU, N. Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of *Trichoderma* sp. on *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis lycopersici*. **Phytopathology**, v. 80, p. 1406-1414, 1990.

CORABI-ADELL, C. Biodiversidade do gênero *Trichoderma* (HYPOCREALES – FUNGI) mediante técnicas moleculares e análise ecofisiográfica. **Tese**. Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Brasil. 2004.

CORDEIRO, Z. J. M.; SHEPHERD, K.; SOARES FILHO, W. S; DANTAS, J. L. L. Avaliação de resistência ao mal do Panamá em híbridos tetraploides de bananeira. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, n.4, p.478-483, 1993.

CORDEIRO, Z. J. M. Doenças. In: ALVES, E. J. (Ed.). **A cultura da banana: Aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. Brasília: EMBRAPASPI/ Cruz das Almas: Embrapa – CNPMF, p. 353 – 407. 1999.

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**. EMBRAPA. 2004.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; KIMATI, H. Doenças da bananeira. IN: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M. BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; (Ed.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, p. 99-117. 2005.

COSTA, M. J. N.; CAMPOS, V. P.; OLIVEIRA, D. F.; PFENNING, L. H. Toxicidade de extratos vegetais e de esterco a *Meloidogyne incognita*. **Fitopatologia brasileira**, v. 27, p. 245-250, 2001.

COSTA, H.; ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A. Doenças de hortaliças que se constituem em desafio para o controle. In: ZAMBOLIM, L. et al. (Eds.). **Manejo integrado de doenças e pragas: hortaliças**. Viçosa: Editora UFV, v. 1. p.319-336. 2007.

CÚNDOM, M. A.; MAZZA, S. M.; GUTIÉRREZ, S. A. Selection of *Trichoderma* ssp. Isolates Against *Rhizoctonia solani*. **Spanish Journal of Agricultural**, v. 1, p. 79-81, 2003.

DAMASCENO, S.; CEREDA M. P.; PASTORE, G. M.; OLIVEIRA, J. G. Production of volatile compounds by *Geotrichum fragans* using cassava wastewater as substrate. **Process Biochemistry**, v.39, p.411-414, 2003.

DALY, A.; WALDUCK, G. *Fusarium* wilt of bananas (Panama Disease) (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*). Department of Primary Industry, Fisheries and Mines, **Agnote**. v.151, p.1-5. 2006.

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. 1. Production of non-volatile antibiotics. **Transactions of the British Mycological Society**. v. 57, p. 25-39, 1971.

DE MEYER, G.; BIGIRIMANA, J.; ELAD, Y.; HÖFTE, M. Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* T39 biocontrol of *Botrytis cinerea*. **European Journal of Plant Pathology**, v.104, p.279-286, 1998.

DI PIETRO, A., MADRID, M., CARACUEL, Z., DELGADO-JARANA, J.; RONCERO, M.I. *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of vascular wilt fungus. **Molecular Plant Pathology**. v.4, p. 321-325, 2003.

DIAS, J. S. A.; ABREU, M. S.; RESENDE, M. L. V. Caracterização de isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) quanto à compatibilidade vegetativa e à patogenicidade em cultivares de bananeira diferenciadoras de raças no Brasil. **Biota Amazônia**, v. 4, n. 4, p. 60-65, 2014.

DONATO, S. L. R.; ARANTES, A. de M.; SILVA, S. de O. e; CORDEIRO, Z. J. M. Comportamento fitotécnico da bananeira 'Prata-Anã' e de seus híbridos. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.44, n.12, p.1608-1615, dez. 2009.

EIRAS, P. P.; COELHO F. C. **Adubação verde na cultura do milho**. Niterói: PESAGRO-RIO, (Manual técnico, 28). 14 p. 2010.

ETEBARIAN, H. R.; SCOTT, E. S.; WICKS, T. J. *Trichoderma harzianum* T39 and *T. virens* DAR 74290 as potencial biological control agent for *Phytophthora erythroseptica*. **European Journal of Plant Pathology**, v.106, p. 329-37, 2000.

EZZIYYANI, M.; REQUENA, M. E.; EGEA-GILABERT, C.; CANDELA, M. E. Biological Control of *Phytophthora* Root Rot of Pepper Using *Trichoderma harzianum* and *Streptomyces rochei* in Combination. **Journal of Phytopathology**, v.155, p. 342-349, 2007.

FAO. **Food and agricultural organization**. 2014. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. Acesso em: 13 maio 2015.

FERREIRA, R.; RODRIGUE, A.; CATARINO, A. Utilização do resíduo orgânico da casca de mandioca no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* em maracujazeiro amarelo. **Cadernos de Agroecologia**. v. 6, n. 2, p. 1 - 5. 2011.

FOURIE, G., STEENKAMP, E.T., PLOETZ, R.C., GORDON, T.R. AND VILJOEN, A. Current status of the taxonomic position of *Fusarium oxysporum* formae speciale *cubense* within the *Fusarium oxysporum* complex. **Infection, Genetics and Evolution**, v.11, p. 533–542, 2011.

FREITAS, M. A.; PEDROSA, E. M. R.; MARIANO, R. L. R.; GUIMARÃES, L. M. P. Seleção de *Trichoderma* spp. como potenciais agentes de biocontrole para *Meloidogyne incognita* em cana-de-açúcar. **Nematropica**, v. 42, p.115-122, 2012.

GAMS, W.; BISSETT, J. Morphology and identification of *Trichoderma*. In: KUBICEK, C.P.; HARMAN, G.E. ***Trichoderma and Gliocladium: basic biology, taxonomy and genetics***. Taylor & Francis, London. 278 p. 1998.

GARCÍA-BASTIDAS, F.; ORDÓÑEZ, N.; KONKOL, J.; AL-QASIM, M.; NASER, Z.; ABDELWALI, M.; WAALWIJK, C.; PLOETZ, R.C.; KEMA, G. H. J. First Report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 associated with Panama Disease of banana outside Southeast Asia. **Plant Disease**, v. 98, n.5, p. 694. 2014.

GINER, G. O.; MABAYLAN, M. M., SISON, N. J. L. **Evaluation of *gliricidia sepium* (kakawate) leaf extract as a potential biocontrol agent against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 in cavendish banana.** Disponível em: https://www.academia.edu/15663950/EVALUATION_OF_GLIRICIDIA_SEPIUM_KAKAWATE_LEAF_EXTRACT_AS_A. Acesso em: 06 de janeiro de 2016.

GOES, A. de, MORETTO, K. C. K. Mal do Panamá. In: RUGGIEIRO, C. **Bananicultura**. FUNEP, Jaboticabal, v. 1. p. 419-435, 2001.

GONÇALVES FILHO, L. C. Utilização do pseudocaule de bananeira como substrato da fermentação alcoólica: avaliação de diferentes processos de despolimerização. **Dissertação**. Mestrado em Engenharia de Processos na Universidade da Região de Joinville – Univille. 98f. 2011.

HARMAN, G. E.; CHET, I.; BAKE, R. *Trichoderma hamatum* effects on seed and seedlings diseases induced in radish and peas by *Pythium* sp. or *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**. v. 70, p. 1167-1172, 1980.

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

HJELJORD, L. G.; STENSVAND, A.; TRONSMO, A. Antagonism of nutriente-activated conidia of *Trichoderma harzianum* (*atroviride*) P1 against *Botrytis cinerea*. **Phytopathology**, v.91, p.1172-1180, 2001.

HOWELL, C. R. Cotton seedling preemergence damping-off incited by *Rhizopus oryzae* and *Pythium* spp. and its biological control with *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 92, p.177-180, 2002.

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.

IITA, New banana disease to Africa found in Mozambique. Joint statement issued by the Mozambique Department of Agriculture, Matanuska, IITA, Stellenbosch University and Bioversity International. **Press release**. 2013. Disponível em: <http://www.iita.org/2013-press-releases>. Acesso em: 12 de setembro de 2015.

KUPPER, K. C. **Mal do Panamá**. Disponível em: www.biologico.sp.gov.br/rifib/XIII%20RIFIB/kupper.pdf. Acesso em: 16 de maio de 2015.

LI, C. Y.; YI, G. J.; CHEN, S.; SUN, Q. M.; ZUO, C. W.; HUANG, B. Z.; WEI, Y. R.; HUANG, Y. H.; WU, Y. L.; XU, L. B.; HU, C. H. Studies on some of the early events in the *Fusarium oxysporum*-*Musa* interaction. **Acta Horticulture**, v. 897, p. 305-312, 2011.

LISBOA, B. B.; BOCHESSE, C. C.; VARGAS, L. K.; SILVEIRA, J. R. P.; RADIN, B.; OLIVEIRA, A. M. R. Eficiência de *Trichoderma harzianum* e *Gliocladium viride* na redução incidência de *Botrytis cinerea* em tomateiro cultivado sob ambiente protegido. **Ciência Rural**, v.37, p.1255-1260, 2007.

LONGA, C. M. O.; SAVAZZINI, F.; PERTOT, I. Monitoramento de *Trichoderma atroviride* SC1 em um vinhedo no nordeste da Itália: considerações sobre impacto ambiental e controle biológico de *Armillaria mellea*. In: BETTIOL, W. ; MORANDI, M. A. B. (Eds.). Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. **Embrapa Meio Ambiente**, Jaguariúna, cap. 11. p. 173-186. 341p. 2009.

LOPES, O. P., MAIA, V. M., XAVIER, A. A., COSTA, M. R. da., RODRIGUES, M. G. V. Diversidade genética, crescimento e produção de genótipos de bananeira 'Prata-Anã' em área com mal do Panamá. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.36, n. 4, p. 924-939, 2014.

MACHADO, D. F. M.; TAVARES, A. P.; LOPES, S. J.; SILVA, A. C. F. *Trichoderma* spp. na emergência e crescimento de mudas de cambará (*Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera). **Revista Árvore**, v.39, n.1, p.167-176, 2015.

MENEZES, J.P.; LUPATINI, M.; ANTONIOLLI, Z.I.; BLUME, E.; JUNGES, E.; MANZONI, C.G.; Variabilidade Genética na região ITS do rDNA de isolados de *Trichoderma* spp. (Biocontrolador) e *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi*. **Ciências Agrotécnica**, Lavras, v. 34, n. 1, p. 132-139, 2010.

MOHAMED, H. A. A.; HAGGAG, W. M. Biocontrol potential of salinity tolerant mutants of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, n. 2, p. 181-191, 2006.

MOLINA, A. B.; FABREGAR, E. G.; SINOHIN, V.; FOURIE, G.; VILJOEN, A. Tropical race 4 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* causing new Panama wilt epidemics in Cavendish varieties in the Philippines. **Phytopathology**, v. 98, n. 6, p.108, 2008.

MUKHERJEE, P. K.; SINGH, U. S.; HORWITZ, B. A.; SCHMOLL, M.; AUSTRIA, A.I.T.; MUKHERJEE, M. ***Trichoderma: Biology and Applications***. Central Institute for Cotton Research, India 344 p. 2013.

NASEBY, D. C.; PASCUAL, J. A.; LYNCH, J, M. Effect of biocontrol strains of *Trichoderma* on plant growth, *Pythium ultimum* population, soil microbial communities and soil enzyme activities. **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, p. 161-169, 2000.

OKIGBO, R. N.; IKEDIUGWU, F. E. O. Studies on biological control of postharvest rot in yams (*Dioscorea* spp.) using *Trichoderma viride*. **Phytopathology**, v. 148, p. 351-355, 2000.

PAPAVIZAS, G.C. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. **Annual Review of Phytopathology**, v.23, p.23-54, 1985.

PAULINO, G. M.; ALVES, B. J. R.; BARROSO, D.G.; URQUIAGA, S.; ESPINDOLA, J. A. A.. Fixação biológica e transferência de nitrogênio por leguminosas em pomar orgânico de mangueira e gravioleira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.12, p.1598-1607, 2009.

PEREIRA, J. C. R.; ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; CHAVES, G. M. Compostos orgânicos no controle de doenças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.4, p. 353-379, 1996.

PEREIRA, J. C. R.; GASPAROTTO, L.; COELHO, A. F. S.; VERAS, S. M. **Doenças da bananeira no Estado do Amazonas**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 12 p. Embrapa Amazônia Ocidental. Circular Técnica, 20. 2003.

PEREIRA, G. V. N. Promoção do crescimento de mudas de maracujazeiro inoculadas com *Trichoderma* spp. **Dissertação**. Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Vitória da Conquista. 67p. 2012.

PEREZ-MARIN, A. M.; MENEZES, R. S. C.; SILVA, E. D.; SAMPAIO E. V. S. B. Efeito da *Gliricídia sepium* sobre nutrientes do solo, microclima e produtividade do milho em sistemas agroflorestal no agreste paraibano. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, p.555-564, 2006.

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, v.1. p.9-26.1990.

RIBEIRO, L. R., OLIVEIRA, L. M.de, SILVA, S. de O. e.;BORGES, A. L. Avaliação de cultivares de bananeira em sistema de cultivo convencional e orgânico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n.2, p. 508-517, 2013.

RITZINGER, C. H. S. P.; FANCELLI, M. Manejo integrado de nematóides na cultura da bananeira **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 2, p. 331-338, 2006.

RODRIGUEZ-KABANA, R.; KELLEY, W.D.; CURL, E.A. Proteolytic activity of *Trichoderma viride* in mixed culture with *Sclerotium rolfsii* n soil. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 24, p. 487- 490, 1978.

ROLLEMBERG, C. L. Uso do silício na micropropagação visando o manejo da murcha-de-fusário e do moko da bananeira **Tese**. Doutorado em Fitopatologia Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, Recife, 2013. 103 f.

ROQUE, R. de L.; AMORIM, T. B. do; FERREIRA, C. F.; LEDO, C. A. da S.; AMORIM, E. P. Desempenho agrônômico de genótipos de bananeira no recôncavo da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n.3, p. 598-609, 2014.

SANOGO, S.; POMELLIA, A.; HEBBAR, P.K.; BAILEY, B.; COSTA, J. C. B.; SAMUELS, G. J.; LUMSDEN, R.D. Production and germination of conidia of *Trichoderma stromaticum*, a mycoparasite of *Crinipelis perniciosus* on cacao. **Phytopathology**, v. 92, p. 1032-1037, 2002.

SAMUEL, N.; HADAVI, N. *Trichoderma*: review of biology and systematics of de genus. **Journal of General Microbiology**, v. 100, p. 923-935, 1996.

SAMUELS, G.J. *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. **Mycological Research**, v.100, p.923-935, 1996.

SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais. **Gênese**. 491p. 1999.

SANTOS, A. F. dos; MENEZES, R. S. C.; FRAGA, V. S.; PÉREZ-MARIN, A. M. Efeito residual da adubação orgânica sobre a produtividade de milho em sistema agroflorestal. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, n.12, p.1267–1272, 2010.

SANTOS, F. N. dos; NASCIMENTO, A. S.; BRINGEL, J. M. M.; CARVALHO PONTES, N. de; COSTA, A. C. **Controle da Murcha Bacteriana em Tomateiro com Incorporação de Raspa de Mandioca ao Solo**. 2015. Disponível em: www.abhorticultura.com.br/biblioteca/arquivos/download/.../44_706.pdf. Acesso em: 19 de maio de 2015.

SARAIVA, L. de A.; CASTELAN, F. P.; SHITAKUBO, R.; HASSIMOTO, N. M. A.; PURGATO, E.; CHILLET, M.; CORDENUNSI, B. R. Black leaf streak disease affects starch metabolism in banana fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 61, n. 23, p. 5582–5589. 2013.

SHARON, E.; BAR-EYAL, M.; CHET, I.; HERRA- ESTRELLA, A.; KLEIFELD, O.; SPIEGEL, Y. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**, v. 91, p. 687-693, 2001.

SEDIYAMA, M. A. N, SANTOS, M. R.; VIDIGAL, S. M.; SANTOS, I. C.; SALGADO, L. T. Ocorrência de plantas daninhas no cultivo de beterraba com cobertura morta e adubação orgânica. **Planta Daninha**, v. 28, p. 717-725, 2010.

SEQUEIRA, L. Influence of organic Amendments on Survival of *Fusarium oxysporum* f. *cubense* in the soil, USA. **Phytopathology**, v. 52, n. 10, p. 976-982, 1982.

SILVA, A. C. F. da; ROSA, C. R. E.; MELO, I. S. Sensibilidade de isolados de *Trichoderma* spp. a benomil e iprodione. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 29, n. 3, set. 1999.

SILVA, O. S., SANTOS-SEREJO J. A., CORDEIRO, Z. J. M. In: BORGES A. L.; SOUZA, L. S. **O cultivo da bananeira**. Variedades. 21. ed. Cruz das Almas: Embrapa, p. 45-58. 2004.

SILVA, S. de O. e; PIRES, E. T.; PESTANA R. K. N.; ALVES, J. da S. ; SILVEIRA, D. de C. Avaliação de clones de banana Cavendish. **Ciências agrotécnica**. Lavras, v. 30, n. 5, p. 832-837, 2006.

SILVA, A. L. F. Atributos químicos e biológicos no solo do uso da compostagem da casca de mandioca. **Dissertação**. Universidade Federal do Acre. Rio Branco, p. 99. 2010.

SILVA, D. R. G.; COSTA, K. A. de P.; FAQUIN, V., OLIVEIRA, I. P. de, SOUZA, M. R. F. de; SOUZA, M. A. S. Eficiência nutricional e aproveitamento do nitrogênio pelo capim-marandu de pastagem em estágio moderado de degradação sob doses e fontes de nitrogênio. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 35, n. 2, p. 242-249, 2011.

SOLANGI, A. H.; MAL, B.; KAZMI, A. R.; IQBAL, M. Z. Preliminary studies on the major characteristic, agronomic feature and nutrient value of *gliricidia sepium* in coconut plantations of Pakistan. **Pakistan Journal of Botany**, v. 42, n. 2, p. 825-832, 2010.

SOUZA, J. A de. Impactos ambientais da deposição de lixo e resíduos na superfície do solo In: EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUARIA DE MINAS GERAIS. Informe agropecuário. **Aproveitamento de resíduos na agropecuária**. Belo Horizonte: EPAMIG, v. 26, n. 224, 81 p. 2005.

THANGATA, P. H.; ALAVALAPTI, J. R. R. Agroforestry adoption in southern Malawi: the case of mixed intercropping of *Gliricidia sepium* and maize. **Agricultural Systems**. v. 78, p. 57–71, 2003.

THRANE, C.; FUNCK JENSEN, D.; TRONSMO, A. Substrate colonization, strains competition, enzyme production in vitro, and biocontrol of *Pythium ultimum* by *Trichoderma* ssp. isolate P1 and T3. **European Journal of Plant Pathology**, v.106, p. 215-220, 2000.

TIESSEN, H.; CUEVAS, E.; CHACON, P. The role of soil organic matter in sustaining soil fertility. **Nature**, v. 371, n. 6500, p. 783-785, 1994.

TRINDADE, A. V.; BORGES, A. L.; MATOS, A. P.; RITZINGER, C. H. S. P.; CARVALHO, J. E. B.; CABRAL, J. R. S.; SOUZA, L. S; FANCELLI, M.; CORDEIRO, Z. J. M. Produção orgânica de fruteiras tropicais – ênfase nas culturas de abacaxi e banana: perguntas & respostas. **EMBRAPA (recurso eletrônico)**, 2010.

VARTIVARIAN, S.E.; ANAISSIE, E. J. E.; BODEY, G.P. Emerging fungal pathogens in immunocompromised patients: classification, diagnosis and management. **Clinical Infectious Diseases**, v.17, n.2, p.487-491, 1993.

VAZ, M. S. S. Caracterização do gene lip2 de *Trichoderma harzianum*. Bragança: ESA. Mestrado em Biotecnologia. **Dissertação**. 2010. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10198/5816>. Acesso em: 16 de maio de 2015.

VERAS, M.S. Resíduos orgânicos: uma alternativa sustentável na supressividade de *Fusarium* em quiabeiro para a agricultura familiar maranhense. **Dissertação**. Mestrado em Agroecologia. Universidade Estadual do Maranhão, São Luis. 67f. 2006.

VIDA, J. B.; ZAMBOLIM, L.; TESSMANN, D. J.; BRANDÃO FILHO, J. U. T.; VERZIGNASSI, J.R.; CAIXETA, M. P. Manejo de Doenças de Plantas em Cultivo Protegido. **Fitopatologia brasileira**, v. 29, n.4, p. 355-372. 2004.

YADUVANSHI, N. P. S.; SHARMA, D. R. Tillage and residual organic manures/chemical amendment effects on soil organic matter and yield of wheat under sodic water irrigation. **Soil & Tillage Research**, v. 98, n. 01, p.11-16, 2008.

WONG, L. C.; AMBRÓSIO, M. M. Q.; SOUZA, N. L. Sobrevivência de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Raça 2 submetido à técnica da solarização associada à incorporação de folhas de mandioca. **Summa Phytopathologica**, v.37, n. 2, p. 129-133, 2011.

CAPÍTULO 1

**SELEÇÃO DE *Trichoderma* spp. PARA O CONTROLE INTEGRADO DE
Fusarium oxysporum f. sp. *cubense***

SELEÇÃO DE *Trichoderma* spp. PARA O CONTROLE INTEGRADO DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Autores: Liane Santos Sales Souza; Ana Cristina Fermino Soares.

RESUMO

O mal do Panamá é causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) e ataca as cultivares de bananeira mais apreciadas no Brasil. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de *Trichoderma* spp. para uma estratégia integrada do manejo do mal do Panamá em plantas da cultivar 'Prata Maravilha' (FHIA 01), um híbrido tetraplóide do grupo AAAB. Foram avaliadas a incidência e severidade da doença, a sobrevivência do antagonista e a produção de massa fresca e seca das mudas de bananeira. Foram testados 20 isolados de *Trichoderma*, pertencentes às espécies *T. harzianum*, *T. atroviride*, *T. erinaceum*, *T. longibrachiatum*, *T. virens* e *T. konilangbra*. Todos os isolados de *Trichoderma* apresentaram antagonismo *in vitro contra* Foc. Os isolados TCS10, TCS12, TCS 29 de *T. harzianum* e TCS 15 de *T. longibrachiatum* causaram reduções de até 50% na incidência e até 80% na severidade da doença, em condições de casa de vegetação. Todos os isolados apresentaram capacidade de colonização das raízes da bananeira; os isolados TCS 37 de *T. virens* e TCS 71 de *T. harzianum* não colonizaram o pseudocaule e 11 isolados dos 20 avaliados, colonizaram também as folhas das mudas de bananeira. O isolado TCS 29 de *T. harzianum* promoveu incrementos na massa fresca e seca da parte aérea das mudas de bananeira, sendo considerado um potencial agente de promoção de crescimento. Foi observada alteração da coloração do meio de cultura com o crescimento de *T. longibrachiatum* (TCS 78) e *T. harzianum* (TCS 76), evidenciando a produção de metabólitos secundários, os quais podem estar envolvidos nos mecanismos de ação antagonista destes isolados de *Trichoderma* sobre Foc.

Palavras chave: bananicultura, *Musa* sp., mal do Panamá.

SELECTION OF *Trichoderma* FOR INTEGRATED CONTROL OF *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Authors: Liane Santos Sales Souza; Ana Cristina Fermino Soares.

ABSTRACT

Panama disease is caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) and affects the most appreciated banana cultivars in Brazil. This study aimed to evaluate the potential of *Trichoderma* for an integrated approach to manage the Panama disease in banana plants (FHIA 01), a hybrid of the tetraploid AAAB group. The incidence and severity of the disease, survival of the antagonist and fresh and dry weight production of banana plants were evaluated. Twenty isolates of *Trichoderma*, belonging to the species *T. harzianum*, *T. atroviride*, *T. erinaceum*, *T. longibrachiatum*, *T. virens* and *T. konilangbra* were tested. All *Trichoderma* isolates showed *in vitro* antagonism against Foc. The isolates TCS10, TCS12, TCS 29 of *T. harzianum* and TCS 15 of *T. longibrachiatum* caused 50% reduction in the incidence and up to 80% reduction in the severity of the disease under greenhouse conditions. All isolates colonized banana roots. Isolates TCS 37 (*T. virens*) and TCS 71 (*T. harzianum*) did not colonize the pseudostem, and 11 isolates of the 20 isolates tested, colonized the leaf tissue of banana plants. Isolate TCS 29 of *T. harzianum* promoted fresh and dry weight increase of plant aerial parts, showing the potential for growth promotion. There was a change in the color of the culture media with the growth of isolate TCS 78 of *T. longibrachiatum* and TCS 76 of *T. harzianum*, showing the production of secondary metabolites, which may be involved with the mechanisms of antagonism of *Trichoderma* against Foc.

Key-words: *Musa* sp., antagonism, Panama Disease.

INTRODUÇÃO

A banana apresenta destaque na economia mundial por ser a segunda fruta mais consumida. O Brasil é o quinto maior produtor mundial, com cultivos na maioria dos estados brasileiros, pois as condições climáticas permitem uma produção o ano todo. A Bahia é o maior produtor nacional com 88.147 hectares de área plantada (IBGE/CEPAGRO, 2015).

A cultura da bananeira (*Musa* spp.) é afetada por diversos patógenos que causam perdas na produtividade e comprometem a viabilidade econômica dos plantios. Dentre as doenças destaca-se o mal do Panamá, causado pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, que apresenta raças fisiológicas, sendo as mais importantes para a cultura a 1, 2 e 4 (LIN et al., 2009). No Brasil, presume-se a prevalência da raça 1 (GOES; MORETTO, 2001).

O fungo infecta as raízes, coloniza e obstrui os vasos do xilema, provocando uma descoloração marrom-avermelhada do rizoma e pseudocaule (PEREIRA et al., 2005), impedindo a absorção de nutrientes e água, causando danos irreversíveis como a murcha vascular e a morte prematura das plantas (LI et al., 2012).

O desenvolvimento do mal do Panamá está intimamente relacionado à interação patógeno e genótipo da planta e é fortemente influenciado pelas condições ambientais (GROENEWALD et al., 2006). O plantio de variedades resistentes associado a medidas culturais preventivas tem sido recomendado para o controle da doença (FURTADO et al., 2009).

A pouca aceitação pelo consumidor de algumas variedades resistentes (GARRUTI et al., 2012), o surgimento de linhagens de Foc (raça 4 subtropical - ST4 e tropical - TR4), a formação de estruturas de resistência e a fase de vida saprofítica do patógeno, são entraves para o controle e prevenção da doença e o controle biológico vem sendo estudado como uma alternativa de controle (SILVA; BETTIOL, 2005).

Vida et al., (2004) indicam que estudos que envolvem a associação de técnicas de biocontrole e variedades resistentes, em doenças causadas *Fusarium* spp., que não possuem controle efetivo pelos métodos convencionais merecem destaque.

Os fungos agentes de controle biológico contra fitopatógenos que mais se destacam pertencem ao gênero *Trichoderma* (RAKHOLIYA, 2010), por serem saprófitas e habitantes do solo, com importante função ecológica e participação na decomposição de resíduos vegetais (DRUZHININA et al., 2011).

Estes fungos atuam parasiticamente e simbioticamente com diferentes organismos vivos, incluindo plantas e micro-organismos. Também utilizam várias fontes de nutrientes, são eficientes antagonistas contra micro-organismos, além de serem resistentes e degradarem toxinas e substâncias químicas (WOO et al., 2006).

Espécies de *Trichoderma* são antagonistas eficientes contra vários fungos fitopatogênicos, atuando pela produção de metabólitos voláteis e não voláteis, com ampla ação antimicrobiana (REINO et al., 2008; ISAIAS et al., 2014). Os mecanismos de antagonismo deste fungo incluem antibiose, parasitismo, competição e indução de resistência (PEDRO et al., 2012). Entretanto, os principais são a antibiose e eventualmente, parasitismo e competição (KUPPER et al., 2009; DRUZHININA et al., 2011).

Em testes realizados *in vitro*, espécies de *Trichoderma* inibiram em 45% o crescimento micelial de *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal da Sigatoka negra (ARZATE-VEGA et al., 2006). Em ensaios em casa de vegetação, isolados endofíticos de *Trichoderma* proporcionaram uma redução de 74% na severidade dos sintomas internos e 63% na descoloração dos tecidos de mudas de bananeira 'Gros Michel' (AAA) (HERNÁNDEZ et al., 2011).

Este trabalho teve o objetivo avaliar a associação de isolados de *Trichoderma* e a cultivar 'Prata Maravilha' (FHIA 01) que apresenta resistência quantitativa a *F. oxysporum* f. sp. *cubense* como estratégia para o controle integrado do mal do Panamá.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos isolados de *Trichoderma* spp.

Os isolados de *Trichoderma* pertencem à coleção do Laboratório de Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, campus

de Cruz das Almas – BA e foram obtidos de solo de áreas de plantio de sisal da região sisaleira da Bahia (Tabela 1).

Tabela 1. Isolados de *Trichoderma*, com os respectivos códigos, local de origem e identificação, utilizadas nos testes preliminares de pareamento de cultura preliminares.

Isolados	Município na Bahia	Tipo de identificação Trichokey (ITS)	Identificação pela árvore filogenética utilizando EF
TCS 02	Campo	<i>T. harzianum</i>	<i>T. harzianum</i>
TCS 03	Campo	<i>T. harzianum</i>	<i>T. harzianum</i>
TCS 04	Campo	<i>T. harzianum</i>	<i>T. harzianum</i>
TCS 05	Campo	<i>T. harzianum</i>	<i>T. harzianum</i>
TCS 06	Campo	<i>T. harzianum</i>	
TCS 07	Campo	<i>T. harzianum</i>	<i>T. harzianum</i>
TCS 08	Campo	<i>T. atroviride</i>	<i>T. atroviride</i>
TCS 09	Campo	<i>T. erinaceum</i>	próximo a <i>T. viride</i>
TCS 10	Campo	<i>T. harzianum</i>	
TCS 11	Campo	<i>T. harzianum</i>	<i>T. harzianum</i>
TCS 12	Campo	<i>T. harzianum</i>	<i>T. harzianum</i>
TCS 13	Campo	<i>T. erinaceum</i>	próximo a <i>T. viride</i>
TCS 14	Campo	<i>T. erinaceum</i>	<i>T. viride</i>
TCS 15	Campo	<i>T. longibrachiatum</i>	
TCS 16	Campo	<i>T. virens</i>	<i>T. virens</i>
TCS 18	Campo	<i>T. longibrachiatum</i>	<i>T. longibrachiatum</i>
TCS 19	Campo	<i>T. erinaceum</i>	
TCS 20	Campo	<i>T. harzianum</i>	
TCS 21	Campo	<i>T. erinaceum</i>	
TCS 22	Campo	<i>T. erinaceum</i>	
TCS 23	Campo	<i>T. erinaceum</i>	<i>T. viride</i>
TCS 24	Campo	<i>T. harzianum</i>	
TCS 25	Campo	<i>T. erinaceum</i>	<i>T. viride</i>
TCS 26	Campo	<i>T. harzianum</i>	
TCS 29	Campo	<i>T. harzianum</i>	
TCS 30	Araci	<i>T. harzianum</i>	<i>T. harzianum</i>
TCS 31	Araci	<i>T. harzianum</i>	<i>T. harzianum</i>
TCS 32	Araci	<i>T. harzianum</i>	
TCS 33	Araci	<i>T. harzianum</i>	
TCS 34	Araci	<i>T. harzianum</i>	
TCS 35	Araci	<i>T. harzianum</i>	
TCS 36	Retirolândia	<i>T. harzianum</i>	

TCS 37	Retirolândia	<i>T. virens</i>	
TCS 39	Retirolândia	<i>T. virens</i>	
TCS 40	Retirolândia	<i>T. harzianum</i>	
TCS 41	Retirolândia	<i>T. harzianum</i>	
TCS 42	Retirolândia	<i>T. harzianum</i>	
TCS 43	Retirolândia	<i>T. virens</i>	
TCS 70	Ourolândia	<i>T. konilangbra</i>	<i>T. saturnisporum</i>
TCS 71	Ourolândia	<i>T. harzianum</i>	<i>T. harzianum</i>
TCS 72	Ourolândia	<i>T. konilangbra</i>	<i>T. saturnisporum</i>
TCS 73	Jacobina	<i>T. erinaceum</i>	<i>T. erinaceum</i>
TCS 74	Jacobina	<i>T. erinaceum</i>	
TCS 75	Jacobina	<i>T. erinaceum</i>	
TCS 76	Valente	<i>T. harzianum</i>	
TCS 77	Retirolândia	<i>T. harzianum</i>	
TCS 78	Miguel Calmon	<i>T. longibrachiatum</i>	<i>T. longibrachiatum</i>
TCS 79	Miguel Calmon	<i>T. longibrachiatum</i>	

Identificação molecular dos isolados de *Trichoderma* por sequenciamento de duas regiões distintas: ITS (Internal Transcribed Spacer) 570 pb e EF (*translation-elongation factor*), com 930 pb (SÁ, 2013).

Obtenção do isolado de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc)

O isolado de Foc, raça 1 (código 0801), obtido de pseudocaule de plantas de bananeira com sintomas do mal do Panamá, pertence à coleção de culturas do Laboratório de Fitopatologia da EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, na cidade de Cruz das Almas, Bahia. Para estes estudos, o isolado de Foc foi repicado em placas de Petri contendo meio de cultura BDA, incubados a temperatura ambiente ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), por sete dias.

Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Foram realizados testes de pareamento das culturas, conforme metodologia descrita por Campanile et al., (2007) com os 20 isolados de *Trichoderma* selecionados através dos testes preliminares e Foc. Os fungos foram repicados, separadamente, em placas de Petri contendo meio de cultura BDA. Após sete

dias de incubação à temperatura ambiente ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), discos de micélio (5 mm de \varnothing), retirados das bordas da colônia de *Foc*, foram transferidos para uma das extremidades, a 1 cm da borda, de placas de Petri contendo meio BDA. Quarenta e oito horas após a incubação do patógeno foi transferido um disco de micélio (5 mm de \varnothing), da cultura de *Trichoderma* para o lado oposto da placa. As culturas foram incubadas a temperatura ambiente ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) por cinco dias. O delineamento foi inteiramente casualizado com três repetições para cada tratamento. As culturas foram analisadas ao final do período de incubação, com relação ao crescimento de cada fungo, de acordo com a escala proposta por Bell et al. (1982) (Tabela 2). Foram consideradas as culturas que obtiveram a nota mais alta em cada repetição, de acordo com a escala avaliativa, caracterizando como antagonístico ao patógeno, o isolado de *Trichoderma* que obteve a nota menor ou igual a 3,0.

Tabela 2. Escala de notas para avaliação de crescimento micelial de *Trichoderma* em ação antagonística a patógenos (BELL et al. 1982).

Nota	Característica do crescimento micelial de <i>Trichoderma</i>
Nota 1	Crescimento de <i>Trichoderma</i> sobre o patógeno, ocupando toda superfície do meio.
Nota 2	Crescimento de <i>Trichoderma</i> ocupando mais de 2/3 da superfície do meio.
Nota 3	Crescimento de <i>Trichoderma</i> ocupando aproximadamente metade da superfície do meio.
Nota 4	Crescimento do patógeno ocupando 2/3 da superfície do meio.
Nota 5	Ausência de crescimento de <i>Trichoderma</i> e o patógeno ocupando toda a superfície do meio.

Avaliação *in vitro* do crescimento de *Trichoderma* e *Foc* em substrato

Em tubos de vidro, com dimensões de 25 cm de comprimento x 3 cm de diâmetro e abertura nas duas extremidades, foram colocados 90g de substrato constituído de areia, flocos de milho e água na proporção de 2,5:1,25:1 (p:p:v), na região central do tubo, ocupando 10 cm da parte mediana interna destes (Figura 1). As extremidades dos tubos foram vedadas com algodão e folha de papel

laminado e estes foram esterilizados em autoclave a 120° C por 1h. Discos de micélio (1 cm ø) das culturas de *Trichoderma* spp. e Foc foram transferidos para a superfície do substrato em uma das extremidades dos tubos e estes foram incubados em BOD a temperatura de 25 ± 1°C. A colonização do substrato pelos fungos foi avaliada com medições do crescimento micelial ao longo do comprimento do tubo, com uma régua milimétrica, em dias consecutivos, até o crescimento micelial atingir todo o substrato no tubo, período final do experimento. Foi considerado como sendo o melhor isolado aquele cujo crescimento micelial atingiu todo o substrato primeiro. Foi calculada a taxa absoluta de crescimento dos isolados no substrato, levando-se em consideração o comprimento final atingido pelo crescimento no substrato de cada um dos isolados do antagonista e do patógeno, dividido pelo número de dias do experimento. Foram avaliados 20 isolados de *Trichoderma* e um de Foc, com duas repetições, totalizando 42 tubos.

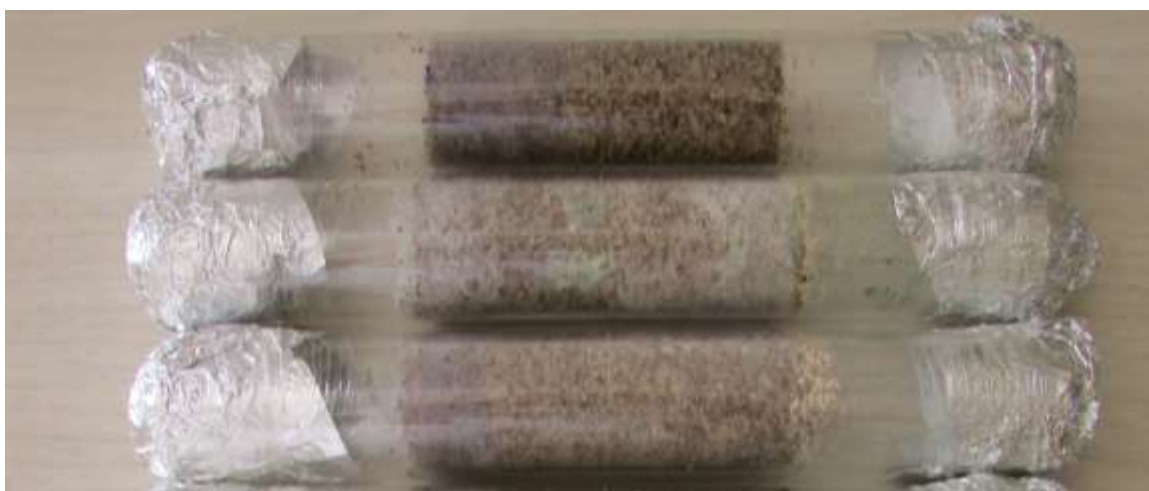


Figura 1: Tubos de vidro com dimensões de 25 cm de comprimento x 3 cm de diâmetro, e abertura nas duas extremidades, com 90g de substrato areia, flocos de milho e água na proporção de 2,5:1,25:1 (p:p:v), para o crescimento dos isolados antagônicos.

Após a avaliação do crescimento micelial, determinou-se o número de unidades formadoras de colônias (UFCs) de *Trichoderma* e Foc no substrato, pela técnica de diluição seriada e plaqueamento em meio de cultura. Para tal, preparou-se uma suspensão de 10 g (peso úmido) de cada amostra do substrato colonizado pelo fungo, em 90 mL de solução salina esterilizada, em frascos de Erlenmeyer com capacidade para 250 mL. Os frascos foram colocados em agitador orbital por 30 minutos. Em seguida, uma alíquota de 1 mL da suspensão

foi transferida para tubo de ensaio contendo 9 mL de solução salina (0,85 % de NaCl) esterilizada e foram feitas sucessivas diluições (1- 9) até alcançar a diluição de 10^{-6} . Alíquotas de 0,1 mL das diluições 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} foram transferidas para placas de Petri contendo meio seletivo TSM (0,2 g L⁻¹ de MgSO₄.7H₂O; 0,9 g L⁻¹ de KH₂PO₄; 0,15 g L⁻¹ de KCl; 1 g L⁻¹ de NH₄NO₃; 3 g L⁻¹ de dextrose; 0,15 g L⁻¹ de rosa de Bengala; 3 mL L⁻¹ de Tritom X100 e 2 mL L⁻¹ de Carbendazin) adaptado para identificação das UFC de *Trichoderma* e o meio BDA com 1 mL L⁻¹ de Tormicina[®], para identificação de UFC do patógeno, com triplicata para cada diluição. As alíquotas foram espalhadas sobre o meio de cultura com uma alça de Drigalski esterilizada e as placas foram incubadas em BOD a temperatura de 25 ± 1°C, por três dias. Após incubação fez-se a contagem das colônias de cada fungo. A população do fungo, em unidades formadoras de colônia (UFC) por grama de substrato, foi calculada com base na equação: $UFC/g = N \times F \times Y$, sendo: N - o número de colônias, F = 10 (fator de correção do plaqueamento de 100 µL de suspensão por placa para 1 mL), Y - fator de diluição da amostra. Para a análise estatística, os dados foram transformados em $\log(x + 1)$, em que x corresponde ao número de UFC. Os dados foram agrupados pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Potencial antagônico *in vitro* dos isolados de *Trichoderma* sobre *Foc*

Nos tubos de 25 cm de comprimento x 3 cm de diâmetro, foram colocados 90g de substrato constituído de areia, flocos de milho e água na proporção de 2,5:1,25:1 (p:p:v), conforme descrito acima. Um disco de micélio (1 cm de \varnothing) do micélio do patógeno foi transferido para uma das extremidades do tubo e após 72 horas de incubação a temperatura de 25 ± 1 °C, um disco de micélio (1 cm de \varnothing) da cultura de *Trichoderma* foi transferido para a extremidade oposta. Os tubos foram incubados em BOD a 25°C, até o crescimento micelial atingir todo o substrato do tubo. Foram feitas três repetições por tratamento e os controles com tubos contendo apenas o patógeno e apenas os isolados de *Trichoderma*, num total de 66 tubos.

O crescimento do patógeno e do *Trichoderma* foi avaliado com medições do crescimento micelial ao longo do tubo, utilizando uma régua milimétrica, em dias

consecutivos, desde o dia da inoculação dos isolados antagonistas, até o crescimento micelial atingir todo o substrato no tubo, observando-se as características de desenvolvimento de Foc na presença do *Trichoderma*.

Controle do mal do Panamá com *Trichoderma* em mudas de bananeira

Os isolados que promoveram os melhores resultados em termos de inibição do crescimento de Foc nos testes *in vitro* foram selecionados para os testes em plantas de bananeira, em condições de casa de vegetação.

Mudas micropropagadas e aclimatadas de bananeira da cultivar 'Prata Maravilha' (FHIA 01), um híbrido tetraplóide AAAB que apresenta resistência quantitativa à doença, foram obtidas da biofábrica da empresa Campo Biotecnologia Vegetal, localizada na Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, Bahia. Optou-se por esta cultivar como sugestão de integração de técnicas que sirvam de modelo para implantação de estratégias para o manejo integrado do mal do Panamá. As mudas com altura de aproximadamente 15 cm foram transplantadas para vasos com capacidade de 5L, contendo solo esterilizado. O solo foi coletado em área de pastagem do campus UFRB, na camada de 0 a 20 cm de profundidade e foi peneirado e esterilizado quimicamente com Basamid[®], seguindo as recomendações do fabricante. As características químicas e físicas do solo utilizado estão descritas na tabela 3. O plantio das mudas ocorreu 90 dias após a esterilização do solo, para que não houvesse nenhum resíduo do tratamento químico.

Tabela 3. Características químicas do solo coletado na profundidade entre 0 a 20 cm, em área de pastagem do campus de Cruz das Almas da UFRB, e utilizado para os experimentos com mudas de bananeira em casa de vegetação.

Macronutrientes													
pH (H ₂ O)	pH (CaCl ₂)	P	K	Ca	Mg	Ca+Mg	Al	Na	H+Al	SB	CTC	V	M.O
5,4	-	15	0,14	1,11	0,75	1,86	0,1	0,04	2,20	2,04	4,24	48	11,0
Micronutrientes													
Cu			Fe			Zn			Mn				
0,39			110,37			2,11			21,25				

Unidades: M.O. (g /kg); P (mg.dm⁻³); K, Ca, Mg, Ca+ Mg, Al, H+Al, SB e Na (cmolc.dm⁻³); V (%) Cu, Fe, Mn, Zn, (mg.dm⁻³). Métodos: pH em CaCl₂ (acidez ativa) - CaCl₂ 0,01 mol.L⁻¹; M.O.-Dicromato/Colorimétrico; Fósforo, Potássio, Cálcio e Magnésio - Resina trocadora de íons; H+Al (acidez potencial) - pH SMP; Cu, Fe, Mn e Zn - extração DTPA – TEA em pH 7,3; Na - extração duplo ácido.

O experimento foi conduzido em estufa agrícola na área experimental do campus de Cruz das Almas da UFRB. No momento do plantio, as mudas foram inoculadas com 10 mL de suspensão de *Trichoderma*, na concentração de 10^6 conídios mL^{-1} , sendo o inóculo colocado no solo próximo às raízes. A suspensão de *Trichoderma* foi preparada com culturas reativadas em meio de cultura BDA (batata dextrose ágar), com incubação a temperatura ambiente ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), por sete dias. Após esse período, foram acrescentados 20 mL de água destilada esterilizada e duas gotas de Tween 20 e a colônia foi raspada com alça de Drigalsk. A suspensão foi filtrada com duas camadas de gaze esterilizada e os conídios foram contados em câmara de Neubauer, em microscópio óptico binocular LEICA®, modelo DM750, sendo ajustada a concentração de 10^6 conídios mL^{-1} com acréscimo de água destilada estéril. Após 15 dias da primeira aplicação do *Trichoderma*, fez-se a inoculação do patógeno no solo próximo às raízes, com uma suspensão aquosa de 10 mL com 10^6 conídios mL^{-1} de Foc. Para obtenção da suspensão deste patógeno, foram utilizadas 100 g de substrato colonizado por Foc. Para preparo do inóculo de Foc, substrato constituído por 500g de flocos de milho e 50g de areia na proporção de 10:1 (p:p) foi umedecido com 100 mL de água, homogeneizado, distribuído em frascos de Erlenmeyer de 250 mL, e esterilizado em autoclave a 120°C , durante 1 h (SILVA, 2010). O substrato foi infestado com quatro discos de micélio (5 mm de \varnothing) de Foc, crescido previamente por sete dias em BDA a temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Os frascos foram incubados a temperatura $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 20 dias. Após a incubação, todo o substrato colonizado foi diluído em 500 mL água destilada esterilizada, filtrado em peneira e dupla camada de gaze esterilizada e a suspensão foi ajustada a concentração de 10^6 conídios mL^{-1} com acréscimo de água destilada estéril.

A cada 15 dias, fez-se a reinoculação com *Trichoderma*, na mesma concentração de inóculo, totalizando cinco inoculações em 75 dias. O controle negativo constou do plantio da muda de bananeira, sem inoculação do patógeno e nem de *Trichoderma*, e o controle positivo foi constituído do plantio da muda de bananeira e inoculação apenas com o patógeno, nas mesmas condições. As mudas foram irrigadas diariamente com água potável não esterilizada e receberam adubação foliar a cada oito dias, até a data da coleta, com 1 mL L^{-1} de Niphokam® (10-08-08) diluído em água potável, através de pulverizações

realizadas sempre no final da tarde, com a cobertura total da face adaxial das folhas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 22 tratamentos (20 isolados de *Trichoderma*; o controle negativo - somente água e o controle positivo - inoculação com Foc) e 20 repetições, sendo uma planta por vaso a unidade amostral.

Após 75 dias do plantio das mudas de bananeira, as plantas foram coletadas, sendo analisadas a incidência e severidade da doença, utilizando-se a escala de notas proposta por Cordeiro e Dantas, (1993) (Figura 2) e a produção de matéria fresca e seca da parte aérea e raízes.

O índice de severidade da doença foi calculado com base na equação proposta por Cirulli e Alexander (1966), atribuindo-se notas de 1 a 6, de acordo com escala de avaliação de sintomas proposta por Cordeiro e Dantas (1993).

Equação:

$$\text{Índice de severidade da doença} = \frac{100 \times \sum (\text{nota da escala} \times \text{frequência})}{(\text{nota máxima da escala} \times \text{n}^\circ \text{ de repetições})}$$

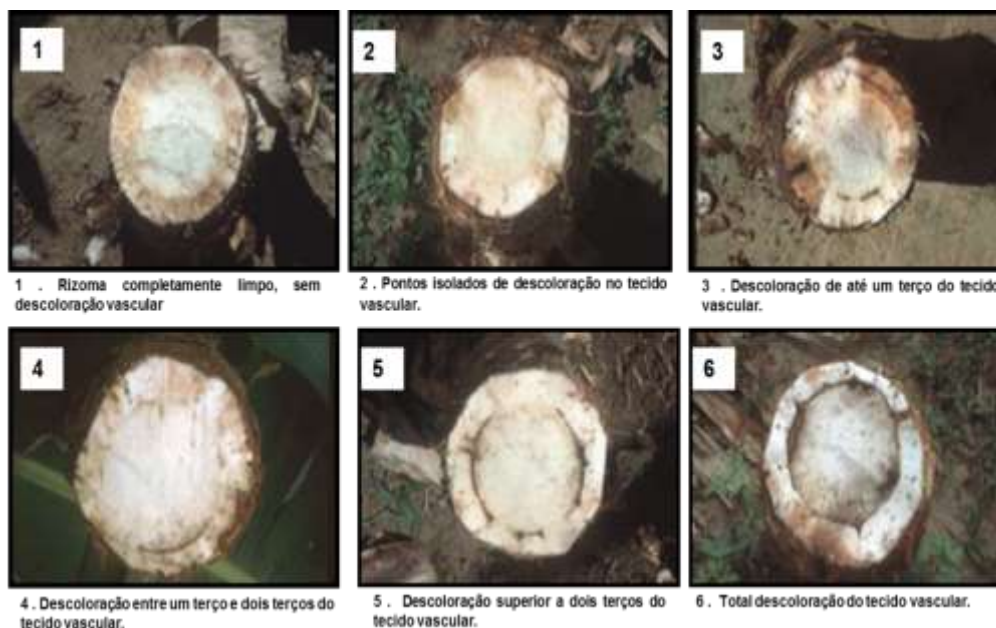


Figura 2. Escala de notas para avaliação de incidência e severidade do mal do Panamá desenvolvida por CORDEIRO e DANTAS (1993).

Realizou-se a análise de agrupamento para incidência e severidade baseado em distância Euclidiana, utilizando o método UPGMA com 10000 permutações pelo programa estatístico R. As análises estatísticas para as variáveis de massa fresca, massa seca da parte aérea e radicular foram feitas por análise de variância (ANOVA) e teste de agrupamentos de médias de Scott-Knott ($p \leq 0,05$) utilizando o programa estatístico SISVAR v. 4.0 (FERREIRA, 2000). A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk ($p < 0,05$).

Colonização de mudas de bananeira por *Trichoderma* spp.

A avaliação da colonização das mudas de bananeira (raízes, pseudocaule e folhas) por *Trichoderma* foi realizada imediatamente após a coleta das plantas. Fragmentos de 5 mm de tecidos de folha, pseudocaule e raízes de cinco plantas de cada tratamento foram cortados e desinfestados pela imersão em soluções de álcool 70% (1 minuto), hipoclorito de sódio 1% (30 segundos), novamente álcool 70% (30 segundos) seguido de três lavagens consecutivas em água destilada esterilizada. Em seguida, em câmara de fluxo laminar, os tecidos foram cortados em fragmentos de 5 mm com bisturi esterilizado e dez fragmentos de cada tecido foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultivo TSM adaptado e incubados em BOD a temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ por três dias, para observação do crescimento de *Trichoderma*. A colonização foi avaliada pela contagem do número de fragmentos de raiz, de pseudocaule e folha das mudas de bananeira com crescimento micelial de *Trichoderma*, sendo determinada a frequência de fragmentos colonizados pelo fungo (fragmentos colonizados em relação ao número total de fragmentos semeados em meio TSM adaptado). Os dados foram transformados pela fórmula $\log(x+1)$, para normalização dos dados, e submetidos a análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de agrupamentos de médias de Scott-Knott ($p \leq 0,05$) utilizando o programa estatístico SISVAR v. 4.0 (FERREIRA, 2000).

População de *Trichoderma* spp. no solo

A avaliação da população de *Trichoderma* no solo foi determinada ao final do experimento. Cada amostra foi composta de sub-amostras de solo de quatro

vasos escolhidos aleatoriamente dentro das 20 repetições de cada tratamento com *Trichoderma*. As sub-amostras de solo foram homogeneizadas, totalizando cinco amostras compostas de solo de cada tratamento (5 amostras compostas do total de vinte repetições para cada tratamento), com um total de 100 amostras de solo para análise (20 tratamentos x cinco repetições de amostras compostas). Para as diluições seriadas dessas amostras foram preparadas suspensões de 10 g de cada amostra composta de solo em 90 mL de solução salina (0,85% NaCl) esterilizada, utilizando-se frascos do tipo Erlenmeyer com capacidade para 250 mL. Os frascos foram colocados em agitador orbital por 30 minutos para agitação. A partir dessa suspensão de solo foram preparadas diluições até 10^{-6} . Das diluições 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} , uma alíquota de 0,1 mL foi transferida para placas de Petri contendo meio seletivo TSM adaptado (para quantificação da população de *Trichoderma* no solo). Para cada diluição fez-se o plaqueamento em meio TSM adaptado, em triplicata. A alíquota foi espalhada nas placas com uma alça de Drigalski. As placas foram incubadas em BOD a 25 ° C, por três dias e fez-se a contagem das colônias. A população de *Trichoderma* foi determinada pela contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) e o cálculo feito com a equação $UFC/g = N \times F \times Y$ sendo: N - o número de colônias, F = 10 (fator de correção do plaqueamento de 100 µL de suspensão por placa para 1 mL), Y - fator de diluição da amostra. Os dados foram transformados pela fórmula $\log(x+1)$ em que x corresponde ao número de UFC, para normalização dos dados, sendo as médias analisadas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$) utilizando o programa estatístico SISVAR v. 4.0 (FERREIRA, 2000).

RESULTADOS

Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Nos testes de pareamento de culturas realizados com os 48 isolados de *Trichoderma* da coleção do Laboratório de Microbiologia Agrícola da UFRB, 41,6% dos isolados foram classificados como sendo eficientes no controle do patógeno, de acordo com a escala de Bell et al., (1982), apresentando notas iguais ou inferiores a 3 (Tabela 4).

Tabela 4. Potencial antagônico de diferentes isolados de *Trichoderma* sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, em testes de pareamento *in vitro*, segundo a escala proposta por BELL et al., (1982).

Notas atribuídas aos isolados de <i>Trichoderma</i> quanto ao antagonismo	Número de isolados de <i>Trichoderma</i>
Menor do que 3	11
3	9
Maior que 3	28

De acordo com esta escala de notas, isolados que obtiveram valores iguais ou inferiores a 3 são considerados muito eficientes para serem usados em estudos de controle biológico. Os 20 isolados que apresentaram notas iguais ou inferiores a 3, foram selecionados para os estudos com o substrato *in vitro* e *in vivo* em condições de casa de vegetação, por serem classificados como sendo eficientes no controle do patógeno (Tabela 5).

Tabela 5. Isolados de *Trichoderma* selecionados para os testes *in vitro* no substrato de crescimento do patógeno e em casa de vegetação com mudas de bananeira e a nota máxima obtida por estes isolados no teste de pareamento com o patógeno, de acordo com a escala proposta por Bell et al., (1982).

Isolados	Identificação	Nota máxima obtida nos testes de pareamento
TCS 07	<i>T. harzianum</i>	2
TCS 08	<i>T. atroviride</i>	2
TCS 10	<i>T. harzianum</i>	2
TCS 12	<i>T. harzianum</i>	3
TCS 13	<i>T. erinaceum</i>	2
TCS 15	<i>T. longibrachiatum</i>	2
TCS 20	<i>T. harzianum</i>	2
TCS 24	<i>T. harzianum</i>	2
TCS 29	<i>T. harzianum</i>	2
TCS 30	<i>T. harzianum</i>	3
TCS 31	<i>T. harzianum</i>	2
TCS 37	<i>T. virens</i>	3
TCS 40	<i>T. harzianum</i>	3
TCS 42	<i>T. harzianum</i>	2
TCS 43	<i>T. virens</i>	3
TCS 71	<i>T. harzianum</i>	3
TCS 72	<i>T. konilangbra</i>	2
TCS 75	<i>T. erinaceum</i>	3
TCS 76	<i>T. harzianum</i>	3
TCS 78	<i>T. longibrachiatum</i>	3

Identificação molecular dos isolados de *Trichoderma* por do sequenciamento ITS (Internal Transcribed Spacer), com 570 pb (SÁ, 2013).

Avaliação *in vitro* do desenvolvimento de *Trichoderma* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* em substrato

Todos os isolados apresentaram crescimento micelial em substrato de areia e flocos de milho, com características específicas, a exemplo da alteração de coloração do substrato, produção de micélio e conídios.

O isolado *T. longibrachiatum* (TCS 78) causou alteração na coloração do substrato areia + flocos de milho, indicando possível produção de metabólitos secundários, aspecto também visualizado no crescimento da colônia em placas de Petri com meio de cultura (Figura 3).

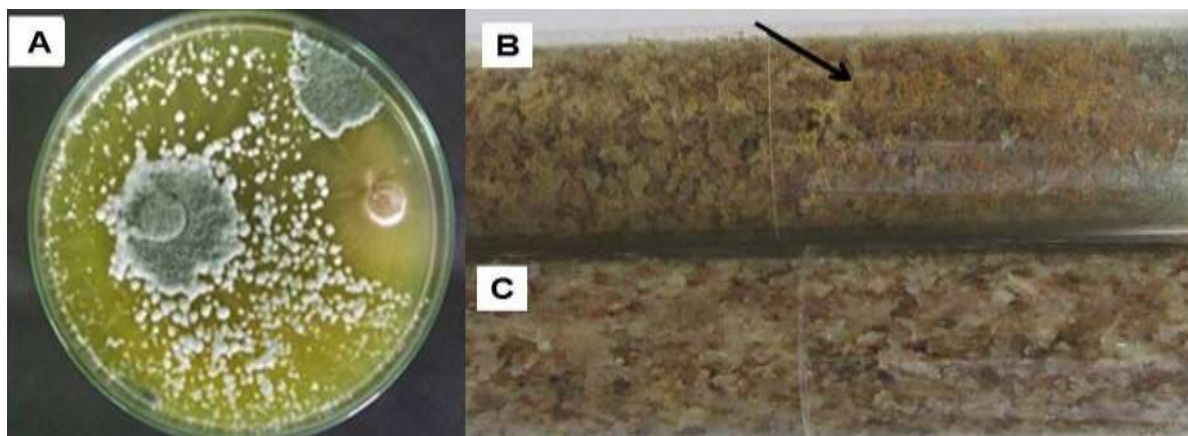


Figura 3. Aspecto do crescimento micelial e esporulação do isolado de *T. longibrachiatum* (TCS 78), com alteração na coloração do meio de cultura e inibição do crescimento de *Foc* (A); em substrato areia + flocos de milho (B); aspecto do meio de cultivo areia + flocos de milho sem inoculações (C).

Os isolados de *T. harzianum* (TCS 10, TCS 20, TCS 24, TCS 30, TCS 31 e TCS 42), *T. longibrachiatum* (TCS 15), e *T. virens* (TCS 43) apresentam simultaneamente crescimento micelial e formação de conídios, com população em UFC g⁻¹ de substrato, variando de 4 x 10⁷ à 16 x 10⁷.

Os isolados *T. atroviride* (TCS 08), *T. erinaceum* (TCS 13 e TCS 75), *T. harzianum* (TCS 29 e TCS 40), *T. virens* (TCS 37), *T. konilangbra* (TCS 72), e *T. longibrachiatum* (TCS 78), colonizam todo o substrato em cinco dias, com crescimento micelial e posterior formação de conídios, com população variando de 3 x 10⁷ à 14 x 10⁷ UFC g⁻¹ de substrato.

Os isolados de *T. harzianum* (TCS 07, TCS 12, TCS 71 e TCS 76) colonizaram o substrato em cinco dias, inicialmente com a produção de micélio e posteriormente com a formação de conídios, em menor quantidade, e com a população variando de 7×10^7 à 21×10^7 UFC g⁻¹ de substrato (Tabela 6).

Tabela 6. População e crescimento micelial (cm/dia), em valores absolutos, de diferentes isolados de *Trichoderma* e *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* (UFC g⁻¹) em substrato de cultivo areia + flocos de milho, após cinco dias de incubação em tubos de ensaio, a 25°C.

Isolado	Identificação	UFC g ⁻¹ de substrato	Crescimento micelial (cm/dia)
Foc	-	-	0,4
TCS 71	<i>T. harzianum</i>	$21,0 \times 10^7$ a	2
TCS 43	<i>T. virens</i>	$17,0 \times 10^7$ a	1,96
TCS 12	<i>T. harzianum</i>	$15,7 \times 10^7$ a	1,7
TCS 78	<i>T. longibrachiatum</i>	$14,5 \times 10^7$ a	2
TCS 24	<i>T. harzianum</i>	$14,5 \times 10^7$ a	1,6
TCS 31	<i>T. harzianum</i>	$13,5 \times 10^7$ a	2
TCS 30	<i>T. harzianum</i>	$11,0 \times 10^7$ b	1,8
TCS 37	<i>T. virens</i>	$11,0 \times 10^7$ b	1,8
TCS 07	<i>T. harzianum</i>	$10,4 \times 10^7$ b	1,96
TCS 15	<i>T. longibrachiatum</i>	$10,0 \times 10^7$ b	2
TCS 10	<i>T. harzianum</i>	$8,9 \times 10^7$ b	1,6
TCS 42	<i>T. harzianum</i>	$8,5 \times 10^7$ b	2
TCS 75	<i>T. erinaceum</i>	$8,0 \times 10^7$ c	1
TCS 76	<i>T. harzianum</i>	$7,0 \times 10^7$ c	1,7
TCS 40	<i>T. harzianum</i>	$6,5 \times 10^7$ c	2
TCS 13	<i>T. erinaceum</i>	$6,0 \times 10^7$ c	1,2
TCS 72	<i>T. konilangbra</i>	$5,0 \times 10^7$ d	1,6
TCS 08	<i>T. atroviride</i>	$4,5 \times 10^7$ d	1
TCS 20	<i>T. harzianum</i>	$4,0 \times 10^7$ d	1,6
TCS 29	<i>T. harzianum</i>	$3,0 \times 10^7$ d	1,8

Identificação molecular dos isolados de *Trichoderma* por do sequenciamento ITS (Internal Transcribed Spacer), com 570 pb (SÁ, 2013). Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Scott & Knott ($p \leq 0,05$).

Os isolados de *T. harzianum* (TCS 12, TCS 24, TCS 31 e TCS 71), *T. virens* (TCS 43) e *T. longibrachiatum* (TCS 78) se destacaram no substrato de cultivo areia + flocos de milho, em relação à população destes em UFC g⁻¹ de substrato,

diferindo significativamente dos demais isolados (Tabela 6). Dos 20 isolados avaliados em substrato de areia + flocos de milho, apenas quatro obtiveram menor representatividade em termos de formação de UFC g⁻¹ de substrato, quando comparados com os demais, sendo estes: *T. atroviride* (TCS 08), *T. harzianum* (TCS 20 e TCS 29) e *T. konilangbra* (TCS 72).

A quantificação da população de Foc no substrato de cultivo não foi possível, visto que não houve crescimento de colônias em nenhuma das diluições utilizadas para plaqueamento, inferindo-se que a população do patógeno estava abaixo de 10⁴ UFC g⁻¹ de substrato, considerando a diluição do substrato plaqueada para o crescimento de colônias de Foc. Os isolados de *Trichoderma* foram muito mais agressivos em termos de crescimento micelial nas condições avaliadas.

Dentre os isolados de *Trichoderma* analisados, os que apresentaram melhor capacidade de colonização do substrato e crescimento micelial, após cinco dias de inoculação, foram respectivamente, *T. harzianum* (TCS 71, TCS 31, TCS 42 e TCS 40) e *T. longibrachiatum* (TCS 15 e TCS 78), com crescimento médio de 2 cm/dia.

Todos os isolados de *Trichoderma* avaliados neste trabalho obtiveram crescimento micelial superior ao de *F. oxysporum* f. sp. *ubense*, que apresentou desenvolvimento de 0,4 cm/dia e, após 20 dias de incubação, o mesmo não havia atingido a metade do comprimento de 10 cm de extensão do substrato no tubo de ensaio.

Avaliação do potencial antagônico *in vitro* dos isolados de *Trichoderma* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*

Todos os isolados de *Trichoderma* apresentaram crescimento micelial nos tubos de ensaio com substrato, 72 horas após a inoculação do patógeno, com características similares às encontradas em avaliações feitas anteriormente com relação ao crescimento micelial desses isolados nos tubos de ensaio, sem o patógeno.

As hifas de todos os isolados de *Trichoderma* colonizaram o substrato de cultivo areia + flocos de milho, num período de cinco dias, alcançando o crescimento micelial de Foc e inibindo o seu desenvolvimento. Entretanto, esta

característica não foi observada nos testes com os isolados de *T. harzianum* (TCS 71 e TCS76) e *T. longibrachiatum* (TCS 78), pois estes apresentaram indícios de produção de metabólitos, com alteração da coloração do meio de cultivo e paralisação do crescimento do patógeno, sem que as hifas de *Trichoderma* alcançassem o patógeno (visualização a olho nu do crescimento micelial dos fungos e alteração da coloração do substrato), indicando outro(s) mecanismo(s) de biocontrole.

O isolado TCS 07 de *T. harzianum*, além do rápido crescimento, colonizando todo o substrato em cinco dias, também apresentou crescimento micelial por entre o isolado de Foc, atingindo a extremidade oposta do substrato no tubo de ensaio (Figura 4).



Figura 4. A – Crescimento micelial de Foc; B - Crescimento micelial de *Trichoderma* (lado direito) e Foc (lado esquerdo). Crescimento em tubos de vidro com ambas as extremidades abertas, contendo substrato de cultivo areia + flocos de milho. Foram colocados discos da cultura dos fungos na superfície do substrato.

Todos os isolados de *Trichoderma* avaliados proporcionaram inibição do desenvolvimento de Foc nos tubos de ensaio contendo o substrato areia + flocos de milho. Este método demonstra ser eficiente para o estudo da atividade antifúngica e seleção *in vitro* de isolados antagônicos ao agente causal do mal do Panamá.

Foram observados dois mecanismos de inibição ao patógeno: competição, a exemplo dos isolados de *T. harzianum* (TCS 29 e TCS 12) e de *T. virens* (TCS 43), sendo observado o rápido crescimento micelial destes fungos, quando comparados ao crescimento do patógeno no substrato e antibiose com *T. harzianum* (TCS 71 e TCS76) e *T. longibrachiatum* (TCS 78), pela produção de metabólitos secundários.

Controle do mal do Panamá em plantas de bananeira, por isolados de *Trichoderma*, em casa de vegetação

Após 15 dias da inoculação com a suspensão de conídios de Foc, apareceram os primeiros sintomas de amarelecimento e rachaduras na base das folhas, característicos do mal do Panamá, nas mudas do tratamento controle positivo (inoculação apenas com Foc) e aquelas tratadas com *T. harzianum* (TCS 31) e *T. erinaceum* (TCS 13) (Figura 5).

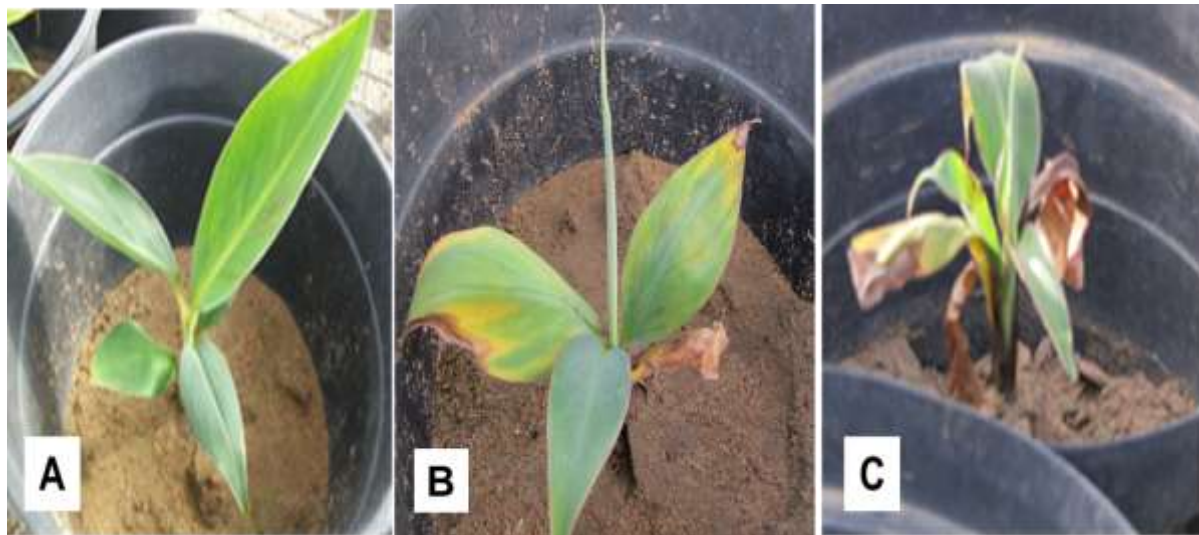


Figura 5. Sintomas de mal do Panamá em mudas de bananeira após 15 dias de inoculação com isolado de Foc (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) em condições de casa de vegetação. A - Muda sem sintomas; B - Folhas com nervuras amareladas; C - Folhas com rachaduras e tombamento.

Na primeira avaliação, 30 dias após a inoculação com o patógeno, foram verificados sintomas característicos da doença em alguns tratamentos como no

controle positivo (inoculação apenas com Foc) e naqueles com os isolados *T. harzianum* (TCS 07, TCS 24, TCS 31, TCS 40, TCS 71 e TCS 76), *T. erinaceum* (TCS 13) e *T. virens* (TCS 43), nos quais 10% das mudas já apresentavam sintomas de murcha severa ou estavam mortas.

Os isolados de *Trichoderma* avaliados proporcionaram a diminuição na incidência do mal do Panamá nas mudas de bananeira, com um atraso no aparecimento dos sintomas. As plantas tratadas com a aplicação dos isolados *T. harzianum* (TCS12, TCS 10, TCS 29) e *T. longibrachiatum* (TCS 15) apresentaram valores inferiores a 50% de incidência do mal do Panamá.

Nas avaliações dos sintomas internos nas mudas de bananeira foram obtidas notas variando de 1 a 6 (Figura 6), de acordo com a escala proposta por Cordeiro e Dantas (1993).

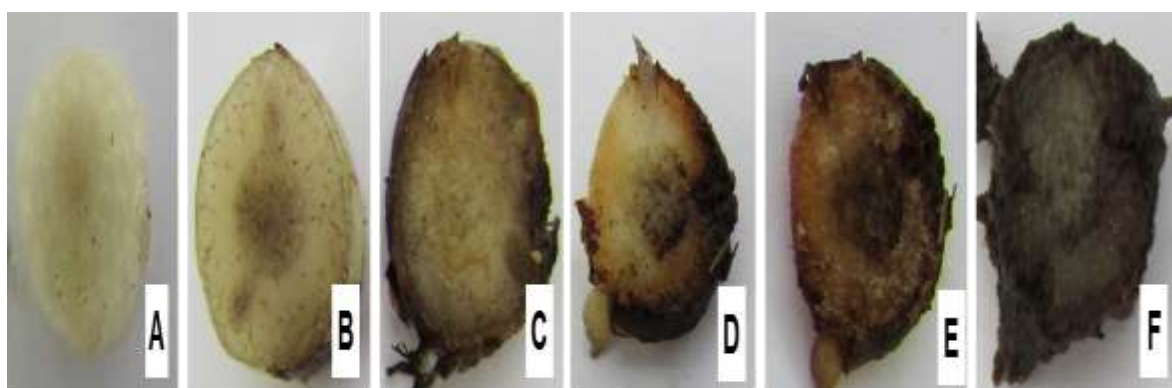


Figura 6. Observação de sintomas internos do mal do Panamá com base na escala de notas para avaliação de incidência e severidade desenvolvida por CORDEIRO e DANTAS (1993). A - Nota 1 - controle negativo, sem inoculação do patógeno e antagonista; B - Nota 2 - *T. harzianum* (TCS 31); C- Nota 3 - *T. longibrachiatum* (TCS 78); D – Nota 4 - *T. harzianum* (TCS 42); E - Nota 5 - *T. harzianum* (TCS 71) e F – Nota 6 - *T. erinaceum* (TCS 13).

Com relação ao índice de infecção e severidade da doença, observou-se que *T. atroviride* (TCS 08) *T. harzianum* (TCS 10, TCS 12, TCS 29, TCS 31 e TCS 71) e *T. longibrachiatum* (TCS 15) foram os isolados que promoveram os melhores resultados com índices inferiores a 13%, com um maior número de plantas sem lesões características nos tecidos internos, ou com maiores frequências e notas do tipo 2 ou 3 (Tabela 7).

Tabela 7. Incidência e severidade do mal do Panamá em mudas de bananeira inoculadas com isolados de *Trichoderma* e Foc (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*), após 75 dias da inoculação e as notas mais altas, de acordo com a escala de Cordeiro e Dantas, (1993), obtidas na avaliação dos sintomas internos nas mudas de bananeira, para os diferentes tratamentos. Controle negativo (C-) corresponde ao tratamento sem inoculação dos isolados de *Trichoderma* e do patógeno. Controle positivo (C+) corresponde ao tratamento com inoculação apenas do patógeno.

Tratamento	Isolados de <i>Trichoderma</i> *	Incidência (%)	Severidade (%)	Maior nota observada
C -	-	0	0	1
C +	-	95	34,2	5
TCS 07	<i>T. harzianum</i>	85	23,3	5
TCS 08	<i>T. atroviride</i>	55	10	3
TCS 10	<i>T. harzianum</i>	30	7,5	5
TCS 12	<i>T. harzianum</i>	45	10,8	4
TCS 13	<i>T. erinaceum</i>	95	34,2	6
TCS 15	<i>T. longibrachiatum</i>	20	3,3	2
TCS 20	<i>T. harzianum</i>	70	17,5	5
TCS 24	<i>T. harzianum</i>	60	16,7	6
TCS 29	<i>T. harzianum</i>	25	6,7	4
TCS 30	<i>T. harzianum</i>	85	16,7	3
TCS 31	<i>T. harzianum</i>	50	8,3	2
TCS 37	<i>T. virens</i>	85	20,8	2
TCS 40	<i>T. harzianum</i>	95	31,7	5
TCS 42	<i>T. harzianum</i>	95	24,2	4
TCS 43	<i>T. virens</i>	95	25	6
TCS 71	<i>T. harzianum</i>	60	12,5	5
TCS 72	<i>T. konilangbra</i>	65	19,2	6
TCS 75	<i>T. erinaceum</i>	100	22,5	3
TCS 76	<i>T. harzianum</i>	100	27,5	5
TCS 78	<i>T. longibrachiatum</i>	80	16,7	3

*Identificação molecular dos isolados de *Trichoderma* por sequenciamento ITS (Internal Transcribed Spacer), com 570 pb (SÁ, 2013).

Os isolados de *T. harzianum* (TCS10, TCS 12 e TCS 29) e de *T. longibrachiatum* (TCS 15) promoveram a redução na incidência e severidade do mal do Panamá, sendo que este dado condiz com os resultados obtidos para o crescimento micelial, controle *in vitro* e produção de UFC em substrato areia + flocos de milho, demonstrando a eficiência dos testes *in vitro* no substrato em tubos de ensaio, na seleção de isolados antagônicos a Foc (Figuras 7 e 8).

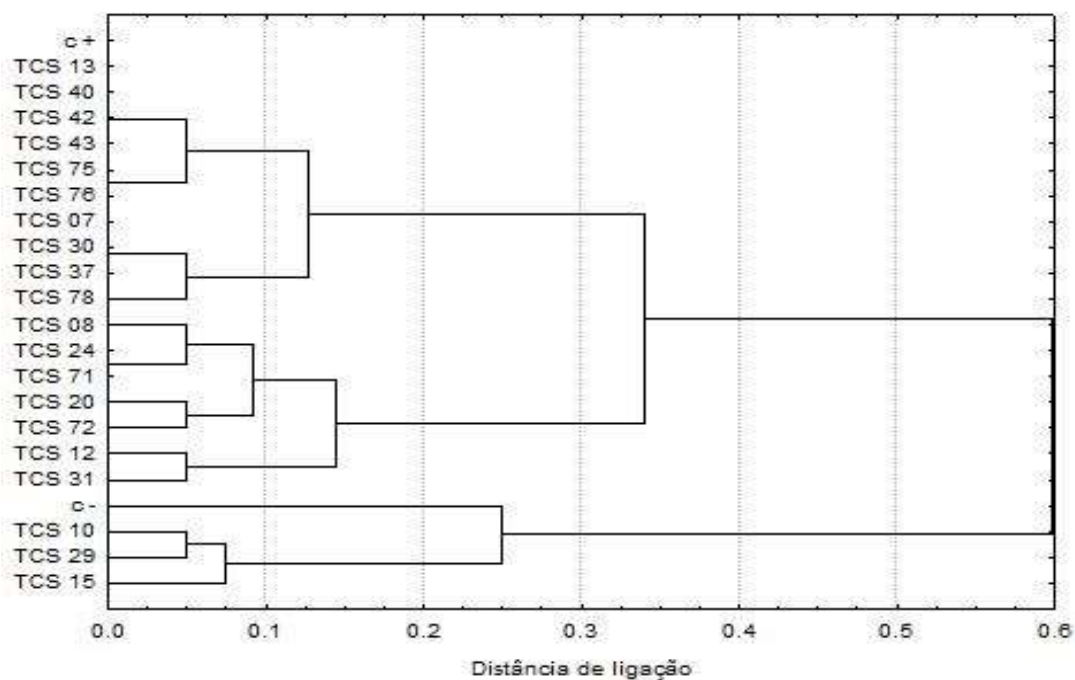


Figura 7. Representação gráfica da análise de agrupamento em função da incidência mal do Panamá em mudas de bananeira inoculadas com isolados de *Trichoderma*. Controle negativo (C-) – mudas sem inoculação dos isolados de *Trichoderma* e do patógeno e Controle positivo (C+) – mudas inoculadas apenas com o patógeno. Análise de agrupamento baseado em distância Euclidiana, utilizando o método UPGMA com 10000 permutações.

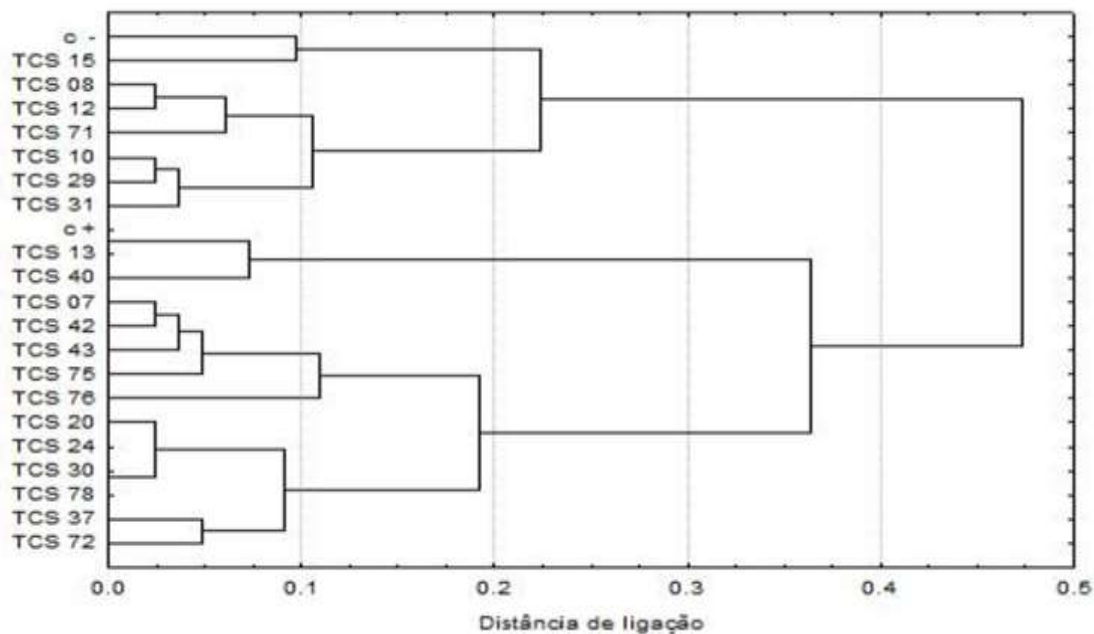


Figura 8. Representação gráfica da análise de agrupamento em função do índice de severidade do mal do Panamá em mudas inoculadas com isolados de *Trichoderma*. Controle negativo (C-) sem inoculação dos isolados de antagonista e patógeno e Controle positivo (C+) inoculado apenas o patógeno. Análise de agrupamento baseado em distância Euclidiana, utilizando o método UPGMA com 10000 permutações.

Avaliação da colonização de mudas de bananeira por isolados de *Trichoderma*

Os isolados de *Trichoderma* colonizaram a raiz, o pseudocaule e as folhas das mudas de bananeira (Figura 9). O sistema radicular das mudas foi colonizado por 100% dos isolados testados, com destaque para *T. harzianum* (TCS 40) e *T. longibrachiatum* (TCS 78). Este dado condiz com os resultados da população de *T. longibrachiatum* (TCS 78) no meio de cultivo areia + flocos de milho e também com o resultados positivos do controle *in vitro* sobre Foc, com a produção de metabólitos secundários, que causaram alterações na coloração do substrato e do meio de cultura batata dextrose ágar e inibiram o crescimento do patógeno

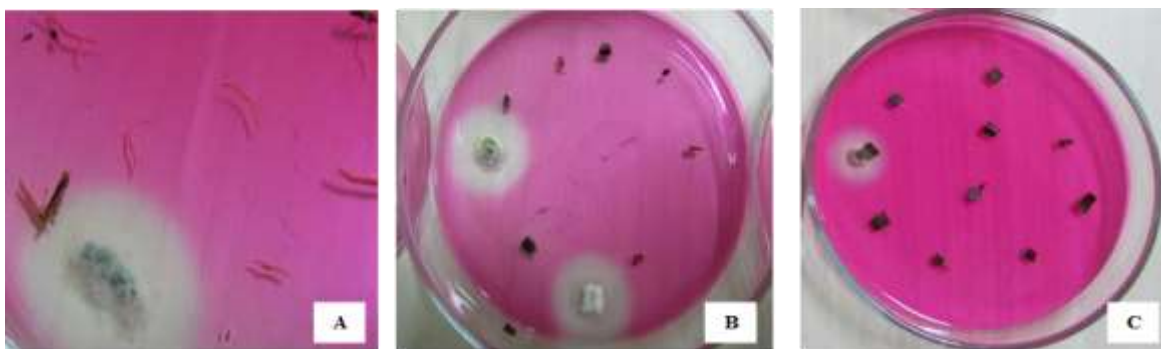


Figura 9. Colonização *in vitro* da raiz (A), do pseudocaule (B) e folhas (C) de mudas de bananeira por isolados de *Trichoderma*. Avaliação do crescimento de *Trichoderma* dos tecidos internos da planta, após desinfestação superficial desses tecidos, em meio de cultivo TSM adaptado.

Os isolados de *T. erinaceum* (TCS 13) e de *T. harzianum* (TCS 24 e TCS 40) apresentaram as maiores frequências de colonização do pseudocaule, quando comparados aos outros isolados, com exceção de *T. virens* (TCS 37) e *T. harzianum* (TCS 71) que não colonizaram o pseudocaule, perfazendo um total de 90% de colonização pelos isolados avaliados.

As folhas foram colonizadas apenas por 11 isolados dos 20 testados, e *T. harzianum* (TCS 31) e *T. virens* (TCS 43) apresentaram as maiores frequência de colonização, quando comparado aos outros isolados (Figura 10).

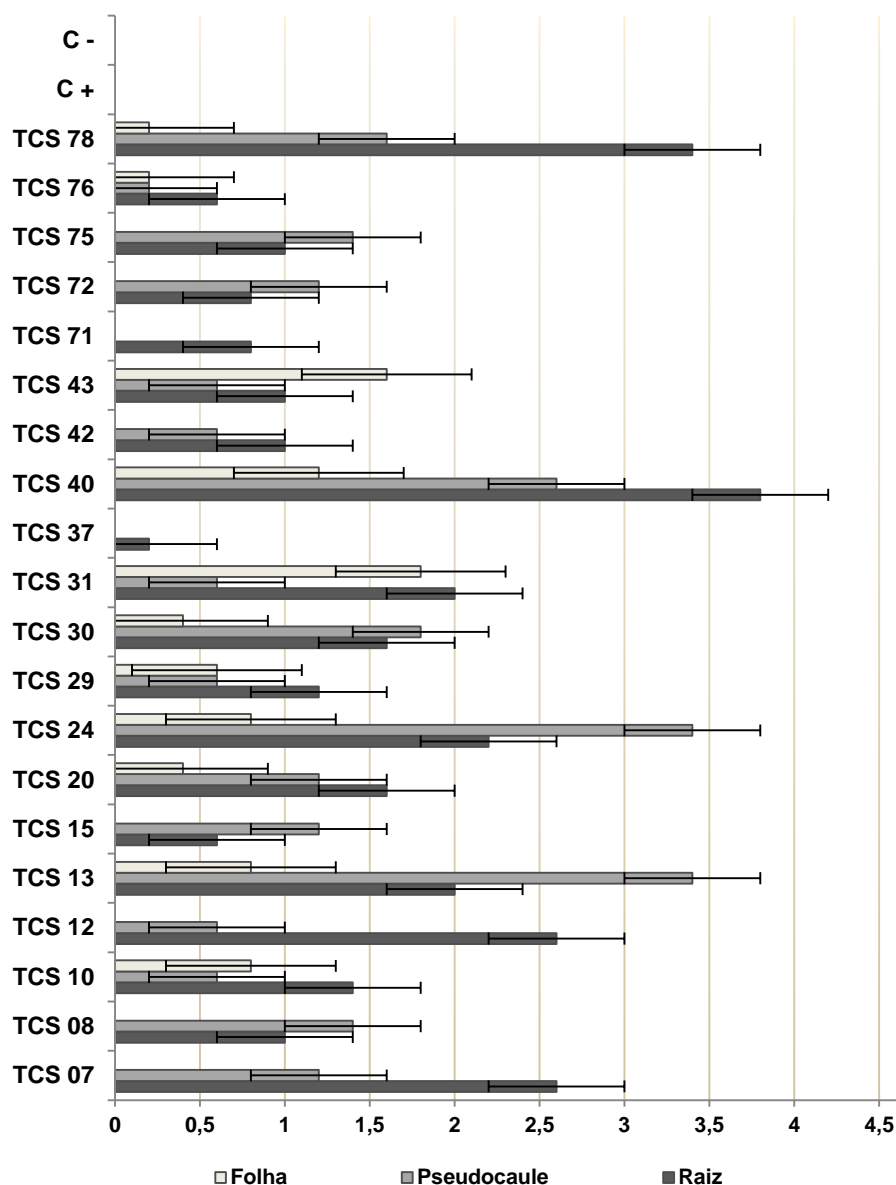


Figura 10. Frequência de colonização histológica *in vitro* de mudas de bananeira por isolados de *Trichoderma* (Controle positivo – plantas inoculadas apenas com o patógeno e Controle negativo – plantas sem inoculação do patógeno e nem do antagonista).

Quantificação da população de *Trichoderma* no solo

Os isolados de *T. atroviride* (TCS 08), *T. erinaceum* (TCS 13) e *T. harzianum* (TCS 20, TCS 24 e TCS 71) apresentaram a maior população no solo, durante o período de avaliação, diferindo significativamente dos demais isolados (Tabela 8).

Tabela 8. População de *Trichoderma* (UFC g⁻¹ de solo), após 75 dias de aplicação no solo com o plantio de mudas de bananeira da variedade ‘Prata Maravilha’ com inoculações a cada 15 dias do *Trichoderma* e uma inoculação do patógeno, em condições de casa de vegetação.

Isolado	Identificação da espécie de <i>Trichoderma</i>	UFC g ⁻¹ de solo
TCS 13	<i>T. erinaceum</i>	4,0 x 10 ⁸ a
TCS 20	<i>T. harzianum</i>	3,0 x 10 ⁸ a
TCS 71	<i>T. harzianum</i>	2,0 x 10 ⁸ a
TCS 24	<i>T. harzianum</i>	1,3 x 10 ⁸ a
TCS 08	<i>T. atroviride</i>	1,0 x 10 ⁸ a
TCS 75	<i>T. erinaceum</i>	7,0 x 10 ⁷ b
TCS 42	<i>T. harzianum</i>	6,0 x 10 ⁷ b
TCS 29	<i>T. harzianum</i>	4,7 x 10 ⁷ b
TCS 78	<i>T. longibrachiatum</i>	2,6 x 10 ⁷ b
TCS 31	<i>T. harzianum</i>	2,0 x 10 ⁷ b
TCS 37	<i>T. virens</i>	2,0 x 10 ⁷ b
TCS 76	<i>T. harzianum</i>	1,4 x 10 ⁷ c
TCS 40	<i>T. harzianum</i>	7,0 x 10 ⁶ c
TCS 43	<i>T. virens</i>	5,0 x 10 ⁶ c
TCS 10	<i>T. harzianum</i>	4,0 x 10 ⁶ c
TCS 30	<i>T. harzianum</i>	3,0 x 10 ⁶ c
TCS 07	<i>T. harzianum</i>	1,1 x 10 ⁶ d
TCS 72	<i>T. konilangbra</i>	0,9 x 10 ⁶ d
TCS 12	<i>T. harzianum</i>	0,6 x 10 ⁶ d
TCS 15	<i>T. longibrachiatum</i>	0,4 x 10 ⁶ d

Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Scott & Knott 5% (p≤0,05)

Os isolados que obtiveram um menor número de UFC g⁻¹ de solo foram *T. harzianum* (TCS 07 e TCS 12), *T. longibrachiatum* (TCS 15) e *T. konilangbra* (TCS 72), não diferindo significativamente entre si.

Avaliação da produção de massa fresca e seca de mudas de bananeira inoculadas com *Trichoderma* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

O tratamento com *T. harzianum* (TCS 29) apresentou o melhor resultado para produção de massa fresca da parte aérea e radicular em mudas de bananeira da variedade ‘Prata Maravilha’, quando comparado aos demais isolados de *Trichoderma* (Figura 11).

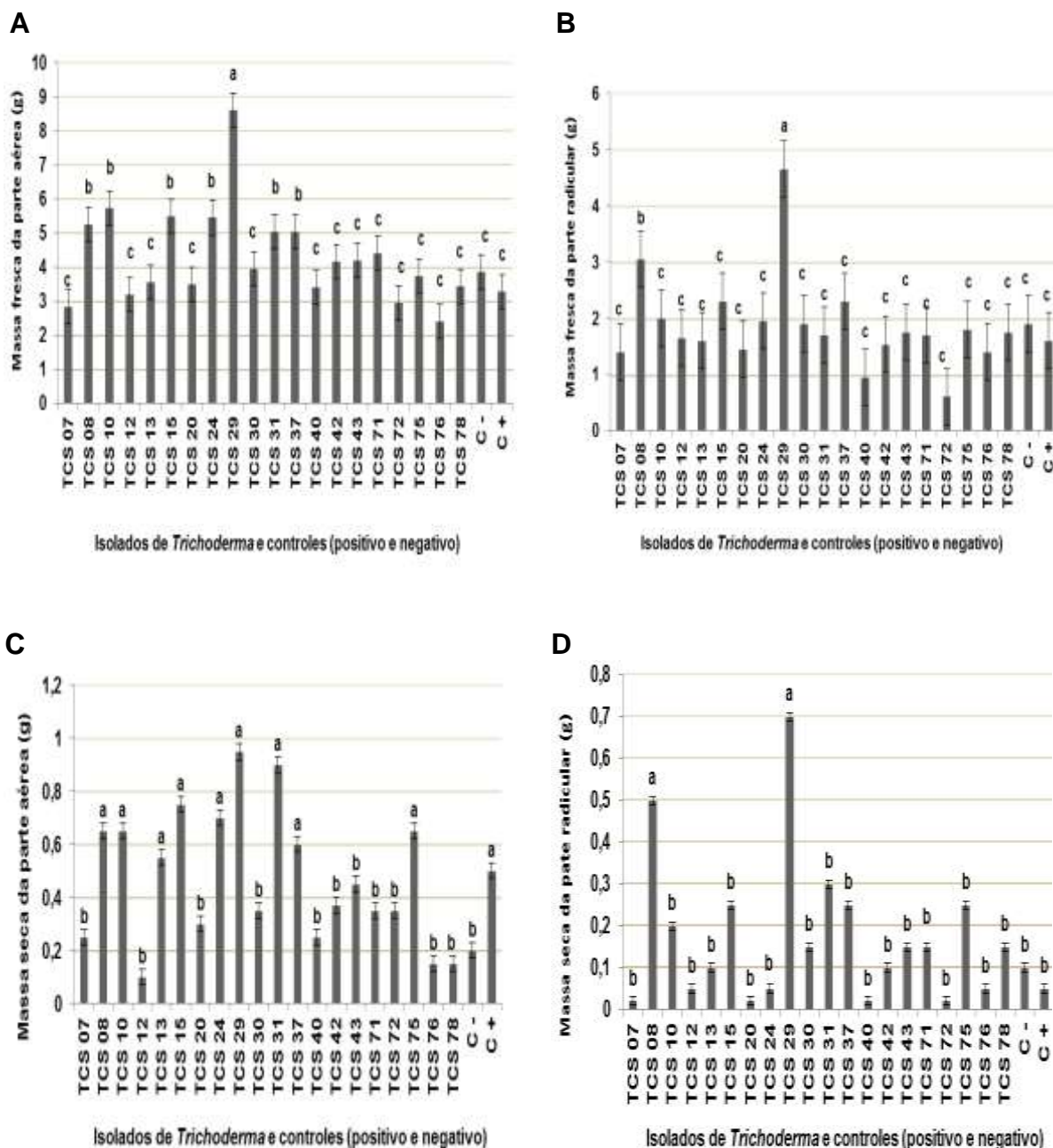


Figura 11. Massa fresca (A e B) e massa seca (C e D) da parte aérea e radicular de mudas de bananeira, após 75 dias de inoculação com os isolados de *Trichoderma* e *Foc* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*), em condições de casa de vegetação. Controle negativo (C-) – plantas sem inoculação com os isolados de *Trichoderma* e o patógeno e Controle positivo (C+) – plantas inoculadas apenas com o patógeno.

Com relação à produção de massa seca da parte aérea, os melhores resultados foram obtidos com *T. atroviride* (TCS 08), *T. harzianum* (TCS 10, TCS 24, TCS 29, TCS 31), *T. erinaceum* (TCS 13 e TCS 75), *T. longibrachiatum* (TCS 15) e *T. virens* (TCS 37), sendo que estes não diferiram significativamente do

controle positivo. Os isolados de *T. atroviride* (TCS 08) e *T. harzianum* (TCS 29) proporcionaram os melhores resultados com relação à produção de massa seca da raiz, quando comparado aos outros tratamentos. Os isolados de *T. harzianum* (TCS10 e TCS 29) e *T. longibrachiatum* (TCS 15), além de promoverem a redução na incidência e severidade do mal do Panamá, também favorecem ao desenvolvimento da massa seca total das mudas de bananeira.

DISCUSSÃO

No presente trabalho, todos os isolados de *Trichoderma* avaliados nos testes de pareamento *in vitro* apresentaram ação antagônica ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*, sendo que 41,6% foram considerados eficientes, apresentando notas iguais ou inferiores a 3, de acordo com a escala de notas proposta por Bell et al., (1982).

Testes de pareamento *in vitro* também foram utilizados com eficiência para seleção de isolados de *Trichoderma* no controle de *Fusarium* spp. (ETHUR, 2006), *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (REIS et al., 1995), *F. solani* (LOUZADA et al., 2009) e *Sclerotinia sclerotiorum* (SANTOS et al., 2015).

Os fungos do gênero *Trichoderma* spp. são eficientes agentes de controle biológico contra fitopatógenos (RAKHOLIYA, 2010), inclusive sobre os que causam doenças em bananeira (ARZATE-VEGA et al., 2006; HERNÁNDEZ et al., 2011). Os testes antagônicos *in vitro* são importantes, pois possibilitam a análise de um número elevado de isolados como potenciais antagonistas, permitindo a avaliação de mecanismos de ação e das interações antagonista - patógeno (SILVA et al., 2008).

Assim como neste estudo, no qual os isolados de *Trichoderma* foram eficientes no controle *in vitro* ao Foc, diferentes trabalhos apontam que isolados de *T. harzianum* e *T. viride* possuem efeito inibitório ao crescimento micelial de diferentes fungos fitopatogênicos, tais como: *Rhizopus stolonifer* (BONFIM et al., 2010), *Rhizoctonia solani* (MELO;FAULL, 2000), *Phytophthora citrophthora* (SILVA et al., 2008), *Alternaria alternata*, *F. solani* (ABD-EL-KAREEM, 2007), *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* (CARVALHO et al., 2011), *F. moniliforme*

(MACHADO,1999) e *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (GRIGOLETTI JUNIOR et al., 2000) .

Foi demonstrado que isolados de *Trichoderma* obtidos de solo de plantios de sisal, em diversos municípios na região semiárida da Bahia, e avaliados quanto a ação antagônica ao fungo *Aspergillus niger*, agente causal da podridão vermelha, com resultados positivos no controle desta doença no sisal (SÁ, 2013), também apresentaram ação antagônica *in vitro* a *F. oxysporum* f. sp. *cubense* e na planta, com reduções na incidência e severidade do mal do Panamá em mudas de bananeira. Isso demonstra que a origem e a forma de obtenção do fungo não interferiram no seu potencial antagônico e de biocontrole em outro patossistema.

Os diversos mecanismos de ação antagônica observados nos isolados de *Trichoderma* avaliados neste estudo estão de acordo com os relatos encontrados na literatura (HARMAN, 2000). Para o isolado TCS 78 de *T. longibrachiatum*, a ação por antibiose ficou bastante evidente mediante a produção de metabólitos secundários que alteraram a coloração do meio de cultura em placa de Petri e nos tubos de ensaio com substrato areia + flocos de milho. A antibiose é um dos mais eficientes mecanismos de ação antagônica de *Trichoderma* spp. contra fitopatógenos, diferenciando-se de outras formas de antagonismo observadas nestes micro-organismos (Reino et al., 2008). Diversos autores também relataram a produção de metabólitos secundários por isolados de *T. longibrachiatum* (ESCANDE et al., 2002) com ação inibitória contra patógenos, tais como: nematoides (ZHANG et al., 2015), bactérias (LECLERC et al., 2001; DEGENKOLB et al., 2006) e fungos (YI; CHI, 2011; SMITH et al., 2013).

A produção de metabólitos não é exclusiva para os isolados de *T. longibrachiatum*. O isolado TCS 76 de *T. harzianum*, neste estudo também apresentou indícios de produção de metabólitos pela alteração da coloração do meio de cultura BDA, com o seu crescimento. Na literatura há relatos de produção destes compostos por isolados de *T. harzianum* (MARFORI et al.,2002; KAWADA et al., 2004; COMBET et al., 2006; VINALE et al., 2006; VINALE et al., 2009 a, b). Além disso, estudos apontam que metabólitos produzidos por *T. harzianum* e *T. atroviride* apresentaram diferentes níveis de antibiose sobre *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* e *Pythium ultimum* (MELLO et. al., 2007; VINALE et al., 2008 b).

Segundo Xiao-Yan et al., (2006) os metabólitos secundários produzidos por *Trichoderma*, quando difundidos no meio de cultura BDA, inibiram o desenvolvimento de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *F. oxysporum* f. sp. *niveum*, *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Curvularia lunata*, *Bipolaris sorokiniana* e *Colletotrichum lagenarium*. Este efeito de inibição foi observado neste estudo com *F. oxysporum* f. sp. *ubense* e os isolados TCS 78 de *T. longibrachiatum* e TCS 76 de *T. harzianum*.

Outro isolado de *T. longibrachiatum* que obteve destaque nos testes de pareamento e velocidade de crescimento micelial no meio de cultivo areia + flocos de milho foi o TCS 15, evidenciando o seu potencial como agente antagônico contra Foc. Estudos apontam a ação antagônica eficiente de *T. longibrachiatum* contra *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de girassol, com produção de metabólitos em associação ao micoparasitismo (ESCANDE et al., 2002) e também contra *F. sambucinum*, causador de podridão seca da batata, demonstrando o controle *in vitro*, com inibição de crescimento micelial do patógeno em até 83,4% (RU;DI, 2012).

O isolado TCS 07 de *T. harzianum*, além do rápido desenvolvimento, colonizando todo o substrato em cinco dias, apresentou crescimento micelial por entre e sobre o isolado de Foc, atingindo a extremidade oposta do substrato no tubo de ensaio. Esta característica apresentada por este isolado pode ser um indício de mecanismo de micoparasitismo, sendo necessária uma avaliação microscópica mais detalhada, para comprovação deste dado. Sabe-se que ao crescer em direção à hifa hospedeira, este tipo de antagonista enrola-se formando apressórios, que penetram na parede celular e interior da hifa do hospedeiro (HERRERA-ESTRELLA; CHET, 1998).

Nos testes *in vitro* avaliando o crescimento micelial e colonização do substrato areia + flocos de milho, os isolado de *T. harzianum* se destacaram com relação aos demais avaliados. Fato que pode estar associado à presença dos flocos de milho no substrato que são ricos em carboidratos (GIACOMELLI et al., 2012) ou pela capacidade de sobrevivência e desenvolvimento do fungo, evidenciando seu sucesso como colonizador e alta eficiência na utilização dos substratos disponíveis (SCHUSTER; SCHMOLL, 2010).

As populações dos isolados de *Trichoderma* apresentadas nos testes *in vitro* nos tubos de ensaio, em termos de UFC.g⁻¹ de substrato, são consideradas

satisfatórias para a utilização destes isolados em ações de biocontrole. Segundo Leandro et al., (2007) populações de 10^5 a 10^7 UFC g^{-1} crescidas em meio controlado são consideradas eficientes na ação contra patógenos.

Com base em todos os dados obtidos nos testes *in vitro* realizados com o meio de cultivo areia + flocos de milho que é indicado para a multiplicação de fungos do gênero *Fusarium*, pode se afirmar que este também favorece o crescimento e esporulação de *Trichoderma*, permitindo a diferenciação do comportamento dos isolados, em termos de crescimento micelial, esporulação e ação antagônica a Foc.

Todos os isolados de *Trichoderma* avaliados nos testes *in vitro*, pareados com o patógeno em tubos de ensaio contendo meio areia + flocos de milho, proporcionaram inibição do crescimento de Foc. Este dado demonstra que este método é eficiente no estudo da atividade antifúngica e seleção *in vitro* de isolados antagônicos ao agente causal do mal do Panamá.

Sintomas externos de mal do Panamá foram observados na cultivar 'Prata Maravilha' (FHIA 01), que apresenta resistência quantitativa à doença, 15 dias após a aplicação de inóculo de Foc no solo na concentração de 10^6 conídios. Os tratamentos do controle positivo (apenas com Foc) e aqueles com inoculações de *T. harzianum* (TCS 31) e *T. erinaceum* (TCS 13), neste período começaram a apresentar sintomas externos de murcha e amarelecimento progressivo das folhas, com a quebra do pecíolo e tombamento, dando o aspecto de guarda chuva fechado (PLOETZ, 2006; PÉREZ-VICENTE et al., 2014). Este dado indica que o isolado da raça 1 de Foc (código 0801) é muito agressivo e patogênico, mesmo em presença de uma variedade descrita como resistente à doença.

Quando o cultivo da bananeira encontra-se em condições de manejo que favorecem ao desenvolvimento do patógeno, tais como solos pobres em matéria orgânica (KUPPER, 2015) e pH ácido (BORGES et al., 1999) como as encontradas no solo deste experimento, até mesmo variedades de bananeira resistentes ao patógeno podem ser afetadas por este patógeno.

Segundo Pérez-Vicente et al., (2014), o período para o aparecimento dos sintomas característicos do mal do Panamá em mudas varia, a depender das formas de inoculação, genótipos de bananeira utilizados, agressividade do isolado de Foc ou das condições ambientais. No presente trabalho, foram mantidas as mesmas condições para todos os tratamentos.

Os isolados de *Trichoderma* avaliados neste estudo promoveram a redução na incidência do mal do Panamá em mudas de bananeira 'Prata Maravilha'. Os melhores resultados com reduções variando entre 55 a 80% foram obtidos com a aplicação dos isolados de *T. harzianum* e *T. longibrachiatum*. Pérez-Vicente et al.,(2009) também observaram reduções de 60% na incidência da doença, em mudas de bananeira CEMSA Bluggoe-ABB, FHIA 03 e FHIA 23, com aplicação de outro isolado de *T. harzianum* no dia do plantio e em 100%, quando a aplicação foi feita sete dias antes do plantio.

Nas condições avaliadas neste trabalho, os isolados de *Trichoderma* promoveram a redução na severidade do mal do Panamá, com os melhores resultados obtidos com os isolados de *T. atroviride*, *T. harzianum* e *T. Longibrachiatum*, com índices inferiores a 13%. Percentuais inibitórios próximos a estes foram observados em condições de campo com a aplicação de *T. viride*, com redução dos sintomas externos de até 78% e dos internos de até 80% (THANGAVELU; MUSTAFFA, 2010). Nos estudos de Hernández et al., (2011), isolados endofíticos de *Trichoderma* promoveram redução na severidade da doença de 74% a 63%, quando comparados aos tratamentos controle.

Os isolados de *T. harzianum* e *T. longibrachiatum* promoveram a redução na incidência e severidade do mal do Panamá, sendo que este dado condiz com os resultados obtidos para crescimento micelial e controle *in vitro* e a população destes no substrato areia + flocos de milho. Os isolados *T. harzianum* (TCS 12 e TCS 29) se destacaram em relação aos demais avaliados, demonstrando a eficiência dos testes *in vitro* na seleção de isolados antagônicos a Foc. Entretanto, mesmo *T. longibrachiatum* (TCS 15) apresentando resultados significativos no controle *in vitro* e *in vivo* sobre Foc, não é aconselhável a utilização deste em larga escala, em condições de campo, pois isolados desta espécie podem causar micose em pessoas imunocomprometidas, ressaltando-se a necessidade de estudos com relação a este isolado sobre a forma de dispersão de esporos como fonte de micoses invasivas (DRUZHININA, et al., 2008).

O fato de todos os isolados de *Trichoderma* avaliados apresentarem frequência com relação à colonização dos tecidos internos das mudas de bananeira indica que, além de decompositores e habitantes do solo, estes indivíduos são encontrados colonizando o interior de raízes, ramos e folhas das plantas (METCALF; WILSON, 2001).

Esta é uma característica importante observada nos isolados avaliados, pois durante a colonização das raízes, estes fungos produzem compostos que estimulam o crescimento das plantas (BENÍTEZ et al., 2004), ativando vias de sinalização desencadeando respostas de defesa (SHORESH et al., 2010), indução de resistência a patógenos (YEDIDIA et al., 1999) e promovendo alterações fisiológicas benéficas (HARMAN et al., 2012; BROTMAN et al., 2013). Mecanismos de indução de resistência não foram avaliados neste trabalho.

Estudos relatam a colonização de folhas de diversas espécies de plantas por *Trichoderma*. Entretanto, neste estudo apenas 55% dos isolados testados colonizaram as folhas das mudas de bananeira. Evans et al., (2003), em estudos realizados no Equador, não conseguiram o re-isolamento de espécies de *T. harzianum* e *T. spirale* de folhas, embora o fungo tenha sido isolado em galhos e frutos de *Theobromae gibereli*, o que indica que estes isolados não possuem habilidade para colonizar as folhas do vegetal analisado.

Na avaliação da população dos antagonistas no solo de plantio das mudas de bananeira em casa de vegetação, verificou-se que a população dos isolados inoculados com periodicidade quinzenal permaneceu viável. As concentrações permaneceram favoráveis para a utilização em estudos de biocontrole mesmo após 15 dias da última aplicação, sendo necessários outros estudos para determinação do período máximo de viabilidade dos conídios em solo e a necessidade de novas reaplicações. Os resultados obtidos estão de acordo com as frequências das populações de *Trichoderma* encontradas em solo de regiões de clima temperado e tropical que são de no mínimo de 10^1 a 10^3 (HARMAN et al., 2004). Também em solo rizosférico de $5,1 \times 10^6$ UFC g^{-1} e não rizosférico de $2,0 \times 10^6$ UFC g^{-1} (SIVAN; CHET, 1989), sendo satisfatórias para a atividade de biocontrole, para a qual se fazem necessárias populações de 10^5 a 10^7 UFC g^{-1} em ambientes controlados (LEANDRO et al., 2007).

A mesma viabilidade e sobrevivência de conídios de *T. harzianum* foi observada por Fontenelle (2011) e Silva et al., (2011), 12 dias após a incorporação em substrato de plantio de mudas de tomateiro e pepineiro, apresentando 214×10^9 e 179×10^9 UFC g^{-1} , respectivamente.

Os isolados *T. harzianum* (TCS 12) e *T. longibrachiatum* (TCS 15), mesmo apresentando reduzidas populações no solo de plantio das mudas, quando comparados aos outros tratamentos, foram responsáveis pela redução em torno

de 80% na incidência e severidade do mal do Panamá. Este dado pode ser explicado, pois segundo Bae e Knudsen, 2005, isolados de *Trichoderma* podem sofrer redução no crescimento da população devido a interferências de fatores bióticos e abióticos, entretanto a ação antagônica eficiente sobre patógenos permanece através da competição e produção de antibióticos. Nos estudos de Longa et al.,(2009), foi verificado a redução na população de *T. atroviridae* incorporado ao solo de vinhedo, de $1,2 \times 10^8$ UFC. g^{-1} para $1,5 \times 10^6$ UFC. g^{-1} na 18ª semana após aplicação, fazendo indicações da necessidade de várias aplicações de inóculo durante o ciclo das culturas. Desta forma, justifica-se a indicação de estudos para avaliação do período de viabilidade das populações dos antagonistas no solo para verificação do período máximo de sobrevivência do inóculo sem a necessidade de reaplicações.

Com relação aos dados obtidos na avaliação realizada para a produção de massa nas mudas de bananeira da cultivar 'Prata Maravilha' em alguns tratamentos não houve diferença significativa com relação ao controle positivo (onde houve a inoculação apenas do patógeno). Acredita-se que, pelo fato da cultivar apresentar resistência quantitativa ao patógeno e o curto período de avaliação tenham interferido nos resultados nas condições avaliadas.

Os isolados de *T. atroviride* (TCS 08), *T. harzianum* (TCS 10, TCS 24, TCS 29 e TCS 31), *T. erinaceum* (TCS 13 e TSC 75), *T. longibrachiatum* (TCS 15) e *T. virens* (TCS 37) se destacaram por proporcionarem aumento de massa seca nas mudas de bananeira. Brotman et al., (2010) apontam isolados de *Trichoderma* como promotores de crescimento de plantas de importância econômica, favorecendo no desenvolvimento e aumentando os rendimentos. Esta influência dos isolados de *Trichoderma* sobre o crescimento vegetal deve-se a produção de substâncias com ação análoga a auxina (VINALE et al., 2008 a) e metabólitos secundários (VINALE et al. 2008 b; VINALE et al. 2009 b; KESWANI et al., 2014). Além disso, fatores como a proteção contra patógenos da rizosfera, capacidade de colonização de raízes, produção de hormônios, aumento da absorção e translocação de nutrientes minerais e o aumento da solubilidade e disponibilidade micronutrientes, favorecem ao crescimento das plantas (YEDIDIA et al., 2000; HARMAN et al., 2004).

Estudos indicam que *T. harzianum* é a espécie mais utilizada com biofertilizante (VINALE et al., 2008 a; LORITO et al., 2010). Neste estudo, o

isolado de *T. harzianum* (TCS 29) se destacou em relação aos demais avaliados, pois promoveu resultados significativos com relação ao aumento de matéria seca e fresca, tanto da parte aérea quanto radicular de mudas de bananeira, assim como nos testes *in vitro*, pois este se destacou em crescimento micelial, inibição do patógeno em testes de paramento em placa de Petri e em tubos de ensaio, mantendo altas concentrações de sua população (10^7 UFC) no substrato de cultivo e em solo, além de promover reduções de até 70% na incidência e severidade da doença nas mudas de bananeira. Silva et al., (2011) relataram 19 isolados de *Trichoderma* que se destacaram como agentes promotores de crescimento e proteção do pepineiro contra a antracnose, sendo 11 deles identificados como pertencentes a espécie *T. harzianum*. Esta espécie também promoveu aumento no comprimento e volume da raiz de soja e milho (HARMAN, 2000), neste último favorecendo ao acúmulo de matéria seca nas raízes (RESENDE et al., 2004) e, em plantas como feijão, rabanete, tomate, pimenta e pepino proporcionou aumento na massa total, quando comparado aos tratamentos controles (CHANG et al., 1986).

O isolado de *T. atroviride* (TCS 08) neste trabalho favoreceu ao aumento da massa seca da parte aérea e radicular das mudas de bananeira. O mesmo resultado foi observado por Salas-Marina et al., (2011), que com aplicações de *T. atroviride* em raiz de *Arabidopsis*, verificou o crescimento e aumento na massa da parte aérea, sendo demonstrando em testes *in vitro* que o isolado produziu compostos indólicos que estimularam o desenvolvimento de plantas.

Estes resultados indicam que a associação de isolados de *Trichoderma* com uma variedade resistente ao mal do Panamá pode ser indicada como metodologia para serem acrescentadas as existentes no manejo integrado do mal do Panamá nesta cultura.

CONCLUSÕES

Os isolados de *Trichoderma* obtidos de plantio de sisal demonstraram eficiência antagônica no controle ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, nos testes realizados *in vitro* e *in vivo*, com apresentação de bons resultados nos testes de pareamento, com níveis expressivos de sua população, tanto em

substrato de cultivo quanto em solo, além de elevada frequência de colonização dos tecidos internos das mudas de bananeira. A associação destes isolados de *Trichoderma* com mudas de bananeira do tipo 'Prata Maravilha' favorece a redução da incidência e severidade do mal do Panamá e promove o incremento de biomassa total das plantas, demonstrando resultados eficientes em condições de casa de vegetação. Desta forma, se faz necessário a continuação dos estudos sobre metodologias que possam ser agregadas às técnicas de manejo integrado do mal do Panamá já existentes, utilizando esta variedade de bananeira e variedades que são mais aceites comercialmente, para o controle desta doença que ocasiona perdas e inviabiliza o plantio de determinadas variedades de bananeira no mundo inteiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD-EL-KAREEM, F. Induced resistance in bean plants against root and *Alternaria* leaf spot diseases using biotic and abiotic inducers under field conditions. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, v. 3, p. 767 - 774, 2007.

ARZATE-VEGA, J.; MICHEL-ACEVES, A. C.; DOMÍNGUEZ-MÁRQUEZ, V. M. Y.; 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, p.98 - 104. 2006.

BAE, Y. S.; KNUDSEN, G. R. Soil microbial biomass influence on growth and biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum*. **Biological Control**, v. 32, n. 2, p. 236 - 242, 2005.

BELL, D. K., WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**. v.72. n.4. p. 379 - 382. 1982.

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

BONFIM, M. P.; SÃO JOSÉ, A. R.; REBOUÇAS, T. N. H., ALMEIDA, S. S.; SOUZA, I. V. B.; DIAS, N. O. Avaliação antagônica in vitro e in vivo de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 1, p.61 - 67. 2010.

BORGES, A. L.; OLIVEIRA, A. M. G.; SOUZA, L. da S. Solos, Nutrição e Adubação. IN: ALVES, E. J. (Ed.). **A cultura da banana: Aspectos técnicos**, 43 socioeconômicos e agroindustriais. Brasília: EMBRAPA- SPI / Cruz das Almas: Embrapa – CNPMF, p. 197 – 270. 1999.

BROTMAN, Y.; GUPTA, K.J.; VITERBO, A. *Trichoderma*. **Current Biology**, v.20, p. 390 - 391, 2010.

BROTMAN, Y.; LANDAU, U.; CUADROS-INOSTROZA, A.; TAKAYUKI, T; FERNIE, A. R.; CHET, I.; VITERBO, A.; WILLMITZER, L. *Trichoderma*-Plant Root Colonization: Escaping Early Plant Defense Responses and Activation of the Antioxidant Machinery for Saline Stress Tolerance. **PLOS Pathogens**, v. 9, n. 3. p. 10 -13. 2013.

CAMPANILE, G., RUSCELLI, A., & LUISI, N. Antagonistic activity fo endophytic fungi towards *Diplodia corticola* assessed by in vitro and in plant tests. **European Journal of Plant Pathology**, v.117, p. 237 - 246. 2007.

CHANG, Y. C.; BAKER R; KLEFIELD, O.; CHET I. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. **Plant Disease**. v.70, p. 145 -147, 1986.

CIRULLI, M.; ALEXANDER, L. J. A. Comparison of pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* f. *licopersici* and different sources of resistance in tomato. **Phytopathology**, v. 56, p. 1301 - 1304, 1966.

COMBET, E.; HENDERSON, J.; EASTWOOD, D. C.; BURTON, K. S. Eight-carbon volatiles in mushrooms and fungi: properties, analysis, and biosynthesis. **Mycoscience**. v.47, p.317 – 326. 2006.

CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; 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**. v.36. n.1. p. 28 - 34. 2011.

CORDEIRO, Z. J. M.; SHEPHERD, K.; DANTAS, J. L. L. Rating bananas for reaction to *Fusarium* wilt in Brazil. Proceeding International Symposium on Recent Developments in Banana Cultivation Technology. **INIBAP**,v.1. p.84 - 88. 1993.

DEGENKOLB, T.; GRÄFENHAN, T.; NIRENBERG, H. I.; GAMS, W.; BRÜCKNER, H. *Trichoderma brevicompactum* Complex: rich source of novel and recurrent plant-protective polypeptide antibiotics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.54, p. 7047 – 7061. 2006.

DRUZHININA, I. S.; KOMOŃ-ZELAZOWSKA, M.; KREDICS, L.; HATVANI, L.; ANTAL, Z.; BELAYNEH, T.; KUBICEK, C.P. Alternative reproductive strategies of *Hypocrea orientalis* and genetically close but clonal *Trichoderma longibrachiatum*, both capable of causing invasive mycoses of humans. **Microbiology**. v.154, p.3447 – 3459. 2008.

DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ B. A.; KENERLEY C. M.; MONTE, E.; MUKHERJEE, P. K.; ZEILINGER, S.; GRIGORIEV, I. V.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma* : the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**. v.16, p.749 – 759. 2011.

ESCANDE, A. R.; LAICH, F. S. PEDRAZA, M. V. Field testing of honeybee-dispersed *Trichoderma* spp. to manage sunflower head rot (*Sclerotinia sclerotiorum*). **Plant Pathology**. v. 51.n 3, p. 346 – 351, 2002.

ETHUR, L. Z. Dinâmica populacional e ação de *Trichoderma* no controle de fusariose em mudas de tomateiro e pepineiro. **Tese** (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 154 f. 2006.

EVANS, H. C.; HOLMS, K. A.; THOMAS, S. E. Endophytes and mycoparasites associated with an indigenous forest tree, *Theobromae gibereli*, in Ecuador and a preliminary assessment of their potential as biocontrol agents of cocoa diseases. **Mycological Progress**, v. 2, p. 149 - 160, 2003.

FERREIRA, D. F. Análises Estatísticas por meio do Sisvar para Windows 4.0. In: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, 45, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, p. 255 - 258. 2000.

FONTENELLE, A. D. B.; GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M.; HAKAKAVA, R. Growth promotion and induction of resistance in tomato plant against *Xanthomonas euvesicatoria* and *Alternaria solani* by *Trichoderma* spp. **Crop Protection**, v.30, p.1492 - 1500, 2011.

FURTADO, E. L.; BUENO, C. J.; OLIVEIRA, A. L.; MENTEN, J. O. M.; MALAVOLTA, E. Relações entre ocorrência do mal do Panamá em bananeira da cv. Nanicão e nutrientes no solo e nas folhas. **Tropical Plant Pathology**. v.34. n.4, p. 211 - 215. 2009.

GARRUTI, D. S.; MATIAS, MELISSA L.; FACUNDO, H. V. V.; SILVA, E. O.; COSTA, J. N.; SILVA, M. A. A. P. Aceitação de cultivares de bananas resistentes à Sigatoka Negra junto ao consumidor da região Nordeste do Brasil. **Ciência Rural**, v.42, n.5, p. 948 - 954. 2012.

GIACOMELLI, D.; MONEGO, B.; DELAGUSTIN, M. G.; BORBA, M. M.; RICALDE, S. R.; FACCO, E.M. P.; SIVIERO, J. Composição nutricional das farinhas de milho e da polenta. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 23, n. 3, p. 415 - 420, 2012.

GOES, A. de, MORETTO, K. C. K. Mal do Panamá. In: RUGGIEIRO, C. **Bananicultura**. FUNEP, Jaboticabal, p. 419 - 435, 2001.

GRIGOLETTI JUNIOR, A.; SANTOS, A. F.; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Revista Floresta**. v. 30, p. 155 - 165. 2000.

GROENEWALD, S.; VAN DEN BERG, N.; MARASAS, W. F. O.; VILJOEN, A. The application of high-throughput, AFLPs in assessing genetic diversity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Mycological Research**, v. 110, p.297 - 305, 2006.

HARMAN, G. E. Myth and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T 22. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 84, p. 377 - 393. 2000.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C.R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**. v. 2, p. 4356, 2004.

HARMAN, G. E.; HERRERA-ESTRELLA.; BENJAMIN, A.; HORWITZ.; LORITO, M. Special issue: *Trichoderma* – from Basic Biology to Biotechnology **.Microbiology**, v. 158, p.1 - 2, 2012.

HERNÁNDEZ, A. J. C.; ENAMORADO, L. E. P.; CASANOVES, F.; AVELINO, J.; T.FERNÁNDEZ, A. C.; ORTIZ, J. L. Using Isolates Endophytic *Trichoderma* spp., for the Panamá Disease biocontrole (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) race 1 in *Gros Michel* (AAA) cropper of banana vitro-plants with greenhouse conditions. **RCASAE WORKI G PAPER**.v.1. p. 4 – 17. 2011.

HERRERA-ESTRELLA, A. E; CHET, I. Biocontrol of bacteria and phitopathogenic fungi. In **Agriculture Biotecnology**. Ed. Arien Altman. Marcel Dekker, Inc. New York, v. 1. p. 263 - 282, 1998.

IBGE/CEPAGRO. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. MARÇO/2015.Disponívelem:[http://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Fasciculo/Ispa_201503.pdf](http://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/Ispa_201503.pdf). Acesso em 10/05/2015.

ISAIAS, C. O.; MARTINS, I.; DA SILVA, J. B. T.; DA SILVA, J. P.; DE MELLO, S. C. M.. Ação antagonica e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp. contra os patógenos *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae*. **Summa Phytopathologica**, v.40, n.1, p.34 - 41, 2014.

KAWADA, M.; YOSHIMOTO, Y.; KUMAGAI, H.; SOMENO, T.; MOMOSE, I.; KAWAMURA, N.; ISSHIKI, K.; IKEDA, D. PP2A inhibitors, harzianic acid and related compounds produced by fungal strain F-1531. **Journal of Antibiotics**. v. 57, p. 235 – 237. 2004.

KESWANI, C.; MISHRA, S.; SARMA, B. K.; SINGH, H. B. Unraveling the efficient applications of secondary metabolites of various *Trichoderma* spp. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, p. 533 – 544, 2014.

KUPPER, K. C.; BELLOTTE, J. A. M.; GOES, A. Controle alternativo de *Colletotrichum acutatum* agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 31,n. 4, p. 1004 - 1015 . 2009.

LECLERC, G.; GOULARD, C.; PRIGENT. Y.; BODO, B.; WROBLEWSKI, H.; REBUFFAT, S. Sequences and antimycoplasmic properties of longibrachins LGB II and LGB III, two novel 20-residue peptaibols from *Trichoderma longibrachiatum*. **Journal of Natural Products**, v.64, p.164 – 170. 2001.

LEANDRO, L. F. S.; GUZMAN, T.; FERGUSON, L. M.; FERNANDEZ, G. E.; LOUWS, F. J. Population dynamics of *Trichoderma* in fumigated and compost-amended soil and on strawberry roots. **Applied Soil Ecology**, v. 35, p.237 - 246, 2007.

LI, C.Y.; DENG, G. M.; YANG, J.; VILJOEN, A.; JIN, Y.; KUANG, R. B.; ZUO, C. W., LV, Z. C.; YANG, Q. S.; SHENG, O.; WEI, Y. R.; HU, C. H.; DONG, T.; YI, G. J. Transcriptome profiling of resistant and susceptible Cavendish banana roots following inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4. **BMC Genomics**, v.13. p. 374. 2012.

LIN, Y.; CHANG, J.; LIU E.; CHAO, C.; HUANG, J.; CHANG, P. Development of a molecular marker for specific detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4. **European Journal of Plant Pathology**, v.123.n.3, p. 353 - 365. 2009.

LONGA, C. M. O.; SAVAZZINI, F.; PERTOT, I. Monitoramento de *Trichoderma atroviride* SC1 em um vinhedo no nordeste da Itália: considerações sobre impacto ambiental e controle biológico de *Armillaria mellea*. In: BETTIOL, W. ; MORANDI, M. A. B. (Eds.). Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. **Embrapa Meio Ambiente**, Jaguariúna, cap. 11. p. 173 - 186. 341p. 2009.

LORITO, M.; WOO, S. L.; HARMAN, G. E.; MONTE, E. Translational research on *Trichoderma*: from omics to the field. **Annual Review of Phytopathology**. v. 48, p. 395 - 418. 2010.

LOUZADA, G. A. S.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.S, LOBO JÚNIOR, M.; MARTINS, I.; BRAÚNA, L. M. Potencial antagônico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes agroecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biota Neotropica**, v.9, n.3, p. 145 - 149. 2009.

MACHADO, R. S. S. Efeito de *Trichoderma viride* associado a sementes de milho (*Zea mays* L.) sobre micro-organismos fitopatogênicos. Mato Grosso. Cuiabá, **Dissertação** (Mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso. 47p. 1999.

MARFORI, E. C.; KAJIYAMA, S.; FUKUSAKI, E.; KOBAYASHI, A. Trichosetin, a novel tetramic acid antibiotic produced in dual culture of *Trichoderma harzianum* and *Catharanthus roseus* callus. Z Naturforsch. **Journal of Biosciences**. v. 57: p. 465 – 470. 2002.

MELO, I. S.; FAULL, J. L. Parasitism of *Rhizoctonia solani* by strains of *Trichoderma* spp. **Scientia agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 1, p. 55 - 59, 2000.

MELLO, S. C. M.; ÁVILA, Z. R.; BRAÚNA, L. M.; PÁDUA, R. R.; GOMES, D. Cepas de *Trichoderma* spp., para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* SACC. **Fitosanidade**, v. 11, p. 3 - 9. 2007.

METCALF, D. A.; WILSON, C. R, T. The process of antagonism of *Sclerotium cepivorum* in white rot affected onion roots by *Trichoderma koningii*. **Plant Pathology**, London, v. 50, p. 249 - 257, 2001.

PEDRO, E. A. de S.; HAKAKAVA, R.; LUCON, C. M. M.; GUZZO, S. Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n.11, p. 1589 - 1595. 2012.

PEREIRA, J. C. R.; PEREIRA, J. R.; CASTRO, M. E. A.; GASPAROTTO, L. Ocorrência do mal do Panamá em Bananeira do Subgrupo Figo, em Piau, Minas Gerais. **Fitopatologia brasileira**. v. 30, n. 5, p. 554, 2005.

PÉREZ-VICENTE, L., BATLLE-VIERA, A., CHACÓN-BENAZET, J. Y MONTENEGRO-MORACÉN, V. Eficacia de *Trichoderma harzianum* A34 en el biocontrol de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* agente causal de la marchitez por *Fusarium* o Mal de Panamá de los bananos en Cuba. **Fitosanidad**. v.13 , n.4, p. 259 - 264. 2009.

PÉREZ-VICENTE, L.; DITA, M.; MARTINEZ DE LA PARTE, E. Technical Manual: Prevention and diagnostic of *Fusarium* Wilt (Panama disease) of banana caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* Tropical Race 4 (TR4). In: **Regional Workshop on the Diagnosis of *Fusarium* Wilt (Panama disease) caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4: Mitigating the Threat and Preventing its Spread in the Caribbean**, St. Augustine, Trinidad and Tobago, 05-09/05/2014.FAO, Rome, Italy. v. 1, p.74. 2014.

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

RAKHOLIYA, K. B. Efficacy of fungicides against *Trichoderma harzianum* and *Sclerotium rolfsii*. **International Journal of Plant Protection**, v. 3, p. 406 - 407, 2010.

REINO, J. L.; GUERRERO, R. F.; HERNÁNDEZ-GALA, R.; COLLADO, I. G. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. **Phytochemistry Reviews**. v.7, p.89 - 123. 2008.

REIS, A.; OLIVEIRA, S. M. A.; MENEZES, M.; MARIANO, R. L. R. Potential of *Trichoderma* isolates on biocontrol of bean's *Fusarium* wilt. **Summa Phytopathologica**, v.21, p.16 - 20, 1995.

RESENDE, M. L.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M.; PINHO, R. G. V.; VIEIRA, A. R. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, n.4, p.793 - 798, 2004.

RU, Z.; DI, W. *Trichoderma* spp. from rhizosphere soil and their antagonism against *Fusarium sambucinum*. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 18, p. 4180 - 4186, 2012.

SÁ, J. O. de. Controle biológico da podridão vermelha do sisal (*Agave sisalana* Perrine) com *Trichoderma* e actinobactérias. **Tese** (Doutorado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, 133 f. 2013.

SALAS-MARINA, M. A.; SILVA-FLORES, M. A.; URESTI-RIVERA, E. E.; CASTROLONGORIA, E.; HERRERA-ESTRELLA, A.; CASAS-FLORES, S. Colonization of Arabidopsis roots by *Trichoderma atroviride* promotes growth and enhances systemic disease resistance through jasmonic acid/ethylene and salicylic acid pathways. **European Journal of Plant Pathology**. v. 131, p. 15 – 26. 2011.

SANTOS, R. F.; HECKLER, L. I. ; SILVA, G. B. P.; SCHEEREN, L. E. ; FÍNGER, G.; MULLER, J.; DURIGON, M. R.; BLUME, E . **Atividade antagônica *in vitro* de isolados de *Trichoderma* spp. contra isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*.**

Disponível em: <http://www.unifra.br/eventos/sepe2012/Trabalhos/6621.pdf>. Acesso em: 15 de maio de 2015.

SCHUSTER, A.; SCHMOLL, M. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v. 87, p. 787–799, 2010.

SHORESH, M.; MASTOURI, F.; HARMAN, G. H. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. **Annual Review of Phytopathology**. v.48, p. 21 - 43. 2010.

SILVA, J. C. da; BETTIOL, W. Potential of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* isolates for control of *Fusarium* wilt of tomato. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, p.409 - 412, 2005.

SILVA, K. S.; REBOUÇAS, T. N. H.; BOMFIM, M. P.; SILVA, D. S.; SÃO JOSÉ, A. R.; BENETT, C. G. S. Atividade antagônica *in vitro* de isolados de *Trichoderma* spp. ao fungo *Phytophthora citrophthora*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina – PR, v. 29, n. 4, p.749 - 754, 2008.

SILVA, L. S. Efeito de extratos foliares de nim em *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* e na intensidade do mal do Panamá em mudas de bananeira cv. maçã. **Dissertação**. Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, Universidade Estadual de Montes Claros, 2010.

SILVA, V. N.; GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M.; HAKAKAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n.12, p.1609 - 1618, dez. 2011.

SIVAN, A.; CHET I. The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. **Phytopathology**, v.79, p.198 - 203, 1989.

SMITH, A.; BELTRÁN, C.; KUSUNOKI, M.; COTES, A.; MOTOHASHI, K. ; KONDO, T.; DEGUCHI, M. Diversity of soil-dwelling *Trichoderma* in Colombia and their potential as biocontrol agents against the phytopathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. **Journal of General Plant Pathology**, v. 79, n.1, p.74-85, 2013.

THANGAVELU, R.; MUSTAFFA M. M., A Potential isolate of *Trichoderma viride* NRCB1 and its mass production for the effective management of *Fusarium* wilt disease in banana. **Tree and Forestry Science and Biotechnology**. v.4, n. 2, p. 76 - 84. 2010.

VIDA, J. B.; ZAMBOLIM, L.; TESSMANN, D. J.; BRANDÃO FILHO, J. U. T.; VERZIGNASSI, J.R.; CAIXETA, M. P. Manejo de Doenças de Plantas em Cultivo Protegido. **Fitopatologia brasileira**. v.29, n.4. p. 355 - 372. 2004.

VINALE, F.; MARRA, R.; SCALA, F.; GHISALBERTI, E. L.; LORITO, M.; SIVASITHAMPARAM, K. Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different phytopathogens. **Letters in Applied Microbiology**. v.43, p.143 – 148. 2006.

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

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; BARBETTI, M. J.; LI, H.; WOO, S. L.; LORITO, M. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 72, p. 80 - 86, 2008 b.

VINALE, F.; FLEMATTI, G.; SIVASITHAMPARAM, K.; LORITO, M.; MARRA, R.; SKELTON, B. W.; GHISALBERTI, E. L. Harzianic acid, an antifungal and plant growth promoting metabolite from *Trichoderma harzianum*. **Journal of Natural Products**. v.72, p.2032 – 2035. 2009 a.

VINALE, F.;, GHISALBERTI, E. L.; SIVASITHAMPARAM, K.; MARRA, R.; RITIENI, A.; FERRACANE, R.; WOO, S.; LORITO, M. Factors affecting the production of *Trichoderma harzianum* secondary metabolites during the interaction with different plant pathogens. **Letters in Applied Microbiology**. v.48. p.705–711. 2009 b.

YEDIDIA, I., BENHAMOU, N., CHET, I., Induction of defence responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. **Applied Environmental Microbiology**. v. 65, p.1061–1070. 1999.

YEDIDIA, I.; BENHAMOU, N.; KAPULNEK, Y.; CHET, I. Induction and accumulation of PR proteins activity during early stages of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203. **Plant Physiology Biochemistry**, v.38, p. 863-873, 2000.

YI, H. W. ; CHI, Y. J. Biocontrol of *Cytospora canker* of poplar in north-east China with *Trichoderma longibrachiatum*. **Forest Pathology**, v.41,n.4, p.299 - 307. 2011.

XIAO-YAN, S.; QING-TAO, S.; SHU-TAO, X.; XIU-LAN, C.; CAI-YUN, S.; YUZHONG, Z. Broad-spectrum antimicrobial activity and high stability of trichokonins from *Trichoderma koningii* SMF2 against plant pathogens. **FEMS Microbiol Lett**. v.260, p.119–125. 2006.

WOO, S.L.; SCALA, F.; RUOCCO, M.; LORITO, M. The molecular biology of the interactions, between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. **Phytopathology**. v.96. p. 181- 185. 2006.

ZHANG, S.; GAN, Y. ; XU, B. Biocontrol potential of a native species of *Trichoderma longibrachiatum* against *Meloidogyne incognita*. **Applied Soil Ecology**, v.94, p.21-29. 2015.

CAPÍTULO 2**CONTROLE INTEGRADO DO MAL DO PANAMÁ COM *Trichoderma***

CONTROLE INTEGRADO DO MAL DO PANAMÁ COM *Trichoderma*

Autores: Liane Santos Sales Souza; Ana Cristina Fermino Soares.

RESUMO

A produção mundial de banana vem sendo afetada pelo mal do Panamá, doença causada pelo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), caracterizada pela murcha e morte precoce da planta. O controle deste patógeno é dificultado pelos clamidósporos que permanecem no solo por décadas e os fungicidas também são ineficientes e causam danos ao ambiente. Os custos elevados e períodos longos para obtenção de variedades resistentes ao patógeno e a quebra de resistência tem gerado a demanda pelo desenvolvimento de métodos alternativos de controle, destacando-se o controle biológico com *Trichoderma* e o manejo integrado. O objetivo deste estudo foi avaliar o controle do mal do Panamá por isolados de *Trichoderma*, em bananeira da cultivar 'Prata Maravilha', com diferentes estratégias de inoculação do antagonista, na fase de muda em viveiro e no solo logo após o transplântio das mudas, antes da infestação do patógeno. Foram utilizados três isolados de *Trichoderma harzianum* (TCS 10, TCS 29 e TCS 40) e um de *T. longibrachiatum* (TCS 78). Avaliou-se a incidência e severidade da doença, colonização dos tecidos da planta, população do antagonista e do patógeno no solo e produção de biomassa da planta. O tratamento das mudas em tubetes pequenos, na fase de viveiro, não promoveu o controle eficiente da doença e a frequência de inoculação do *Trichoderma* não influenciou o controle. Dois isolados de *T. harzianum* (TCS 10 e TCS 29) promoveram o controle da incidência e severidade da doença quando aplicados no solo antes da infestação do *Fusarium*. Os isolados de *Trichoderma* colonizaram os tecidos da planta e a sua população no solo se manteve dentro de níveis considerados aceitáveis para o controle biológico (10^5 a 10^8). O *Fusarium* também se manteve no solo. Não foi observado efeito de promoção de crescimento nas mudas pelos isolados de *Trichoderma*.

Palavras chave: banana, biocontrole, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

INTEGRATED CONTROL OF PANAMA DISEASE WITH *Trichoderma*

Authors: Liane Sales Santos Souza; Ana Cristina Soares Fermino.

ABSTRACT

The world's banana production, has been seriously affected by the Panama disease, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), which is characterized by plant wilting and premature death. The control of this pathogen is held back by the chlamydospores that can remain in the soil for decades, and the fungicides are also ineffective and can cause environmental damage. The high costs and long periods needed to obtain resistant varieties and the breakage of disease resistance have created a demand for the development of alternative control methods, such as biological control with *Trichoderma* and integrated management. The objective of this study was to evaluate the control of Panama disease with *Trichoderma* in banana plants 'FHIA 01', with different inoculation strategies of the antagonist, at the initial nursery phase and in the soil, soon after transplantation, prior to pathogen infestation. Three isolates of *Trichoderma harzianum* (10 TCS, TCS and TCS 40 29) and one of *T. longibrachiatum* (TCS 78) were tested. We evaluated the incidence and severity of disease, colonization of the plant tissues, antagonist and pathogen population in the soil and plant biomass production. Treatment of seedlings in small plastic pots in the nursery phase did not promote the efficient control of the disease, and the frequency of *Trichoderma* inoculation did not affect disease control either. Two isolates of *T. harzianum* (TCS 10 and TCS 29) promoted the control of disease incidence and severity, when applied to the soil before infestation with Foc. Isolates of *Trichoderma* colonized the internal plant tissues and their population in the soil remained within levels considered acceptable for biological control (10^5 - 10^8). *Fusarium* also remained in the soil. There was no plant growth promoting effect by these isolates of *Trichoderma*.

Key words: banana, biocontrol, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

INTRODUÇÃO

O mal do Panamá, também conhecido como fusariose da bananeira ou murcha-de-fusário é uma doença causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E. F. Smith) (Foc). Caracteriza-se como um dos principais problemas fitossanitários da cultura da bananeira no mundo, inviabilizando a produção de algumas cultivares de importância econômica (PLOETZ, 2015).

Segundo Borges et al., (2007) este fungo distribui-se em diferentes condições edafoclimáticas e apresenta alto potencial destrutivo causando prejuízos econômicos, pois infecta variedades de bananeira, provocando a morte das plantas e não existem medidas efetivas de controle.

O uso de variedades resistentes associado ao manejo integrado constitui-se no método mais indicado no controle da doença (PLOETZ, 2006), considerando que produtos químicos, como os benzimidazóis (AGROFIT, 2015) e tratamentos culturais não são eficientes. Entretanto, a seleção destes genótipos é demorada e complexa, além de utilizar grandes áreas experimentais, mão-de-obra e insumos, sendo ainda uma solução temporária, pela habilidade adaptativa do patógeno e/ou o surgimento de novos genótipos patogênicos (SUTTON, 2000).

As condições físico-químicas dos solos influenciam no controle do mal do Panamá, uma vez que solos férteis e com elevados índices de matéria orgânica favorecem a redução da doença (CORDEIRO et al., 2005). Uma alternativa também viável seria o uso de métodos que favoreçam o controle biológico (LUCON et al., 2015).

A utilização de micro-organismos antagonistas proporciona a redução da população de patógenos no solo, e fungos do gênero *Trichoderma* vem sendo muito estudados, por se encontrarem em todos os tipos de solo, serem facilmente isolados em laboratório, além de não causarem danos ao meio ambiente e não serem considerados patogênicos para as plantas (AMORIM et al., 2002).

Estes fungos são eficientes competidores por espaço e nutrientes (HARMAN, 2006), produtores de compostos antifúngicos (ALMEIDA, 2009) e de metabólitos voláteis e não voláteis, com ampla ação microbiana (ISAIAS et al., 2014).

Trichoderma possui significativa importância na agricultura, atuando no controle de doenças, na promoção de crescimento e indução de resistência em plantas (HARMAN, 2012), além de colonizar a superfície e o córtex da raiz,

promovendo melhorias fisiológicas para várias espécies vegetais (MOHAMED; HAGGAG, 2006; FORTES et al., 2007).

Trichoderma tem ação eficaz na redução do inóculo de fungos fitopatógenos no ambiente e na severidade de doenças causadas por fungos, como por exemplo, *Fusarium* sp., *Phytophthora* sp., *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Sclerotium* sp., *Sclerotinia* sp., *Botrytis* sp., *Rosellinia* sp. (POMELLA; RIBEIRO, 2009). As espécies do gênero *Trichoderma* mais avaliadas em estudos de controle biológico são *T. harzianum*, *T. hamatum*, *T. viride*, *T. aureoviride*, *T. pseudokoningii*, *T. polysporum* e *T. glaucum* (BETTIOL; GHINI, 2005).

Isolados endofíticos de *Trichoderma* avaliados para o controle do mal do Panamá em mudas de bananeira da variedade 'Gros Michel' (AAA), colonizadas através da imersão das raízes em suspensão na concentração de 1×10^6 conídios de Foc, promoveram a redução da severidade dos sintomas internos da doença em 74% e 63% (HERNÁNDEZ et al., 2011). No trabalho realizado por Perez et al., (2009) observou-se que inoculações de 20g de arroz colonizado por *T. harzianum* (8×10^9 conídios) por planta, promoveu a redução de 95% na incidência e nos sintomas externos da doença nas cultivares CEMSA Bluggoe - ABB, FHIA 03 - AABB e FHIA 23 - AAAB, mantendo sua produção através do manejo integrado, por mais cinco anos em solos propensos ao mal do Panamá.

As aplicações de *Trichoderma* podem ser realizadas de várias maneiras, no tratamento do solo e/ou sementes ou ainda por pulverizações nas folhas (PEREIRA, 2012). A periodicidade necessária de inoculações para o sucesso do controle das doenças ainda não foi estabelecido, sendo indicadas desde apenas uma aplicação no momento do plantio (PAULA JÚNIOR et al., 2009) ou sete dias antes (PEREZ et al., 2009), ou ainda 15 dias após o plantio e sem a necessidade de reaplicações (CHAGAS JUNIOR et al., 2014).

Este trabalho teve o objetivo de avaliar o controle do mal do Panamá de forma integrada com isolados de *Trichoderma* e períodos e modos diferenciados de inoculação em mudas de bananeira da cultivar Prata Maravilha (FHIA 01) que apresenta resistência quantitativa a *F. oxysporum* f. sp. *cubense*.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos isolados de *Trichoderma* spp.

Os isolados de *Trichoderma* pertencem à coleção do Laboratório de Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, campus de Cruz das Almas – BA e foram obtidos de solo de áreas de plantio de sisal da região sisaleira da Bahia (Tabela 1).

Tabela 1. Município de origem e identificação molecular dos isolados de *Trichoderma* avaliados (SÁ, 2013).

Código do isolado	Município de origem	Identificação pelo Trichokey utilizando ITS
TCS 10	Campo Formoso	<i>T. harzianum</i>
TCS 29	Campo Formoso	<i>T. harzianum</i>
TCS 40	Retirolândia	<i>T. harzianum</i>
TCS 78	Miguel Calmon	<i>T. longibrachiatum</i>

ITS (Internal Transcribed Spacer), com 570 pb (SÁ, 2013).

Obtenção do isolado de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc)

O isolado de Foc, raça 1 (código 0801), obtido de pseudocaule de plantas de bananeira com sintomas do mal do Panamá, pertence à coleção de culturas do Laboratório de Fitopatologia da EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, na cidade de Cruz das Almas, Bahia. Para estes estudos, o isolado de Foc foi repicado em placas de Petri contendo meio de cultura BDA e incubado a temperatura ambiente ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), por sete dias.

Avaliação de diferentes periodicidades e modos de aplicação dos isolados de *Trichoderma* em mudas de bananeira

Foram conduzidos dois experimentos em condições de estufa agrícola na área experimental do campus de Cruz das Almas da UFRB, utilizando solo com e sem infestação e incubação do patógeno, e com variações na periodicidade e forma de

inoculação do *Trichoderma*. Para a realização dos estudos foram utilizadas mudas micropropagadas e aclimatadas de bananeira da cultivar ‘Prata Maravilha’ obtidas da biofábrica da empresa Campo Biotecnologia Vegetal, localizada na Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, Bahia. Optou-se por esta cultivar, devido ao fato dela apresentar resistência quantitativa ao mal do Panamá e também como sugestão de integração de técnicas que sirvam de modelo para o desenvolvimento de estratégias para o manejo integrado desta doença.

O solo utilizado foi coletado em área de pastagem do campus UFRB, na camada de 0 a 20 cm de profundidade, peneirado e esterilizado quimicamente com Basamid[®], seguindo as recomendações do fabricante. As características químicas e físicas do solo estão descritas na tabela 2. O plantio das mudas, inoculação do patógeno e dos isolados de *Trichoderma* ocorreram 90 dias após a esterilização química do solo, para que não houvesse nenhum resíduo do tratamento químico.

Tabela 2. Características químicas do solo coletado em área de pastagem do campus de Cruz das Almas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), na camada de 0 a 20 cm de profundidade e utilizado para o plantio das mudas de bananeira em casa de vegetação.

Macronutrientes													
pH (H ₂ O)	pH (CaCl ₂)	P	K	Ca	Mg	Ca+Mg	Al	Na	H+Al	SB	CTC	V	M.O
5,4	-	15	0,14	1,11	0,75	1,86	0,1	0,04	2,20	2,04	4,24	48	11,0
Micronutrientes													
Cu				Fe				Zn				Mn	
0,39				110,37				2,11				21,25	

Unidades: M.O. (g /kg); P (mg.dm⁻³); K, Ca, Mg, Ca+ Mg, Al, H+Al, SB e Na (cmolc.dm⁻³); V (%) Cu, Fe, Mn, Zn, (mg.dm⁻³). Métodos: pH em CaCl₂ (acidez ativa) - CaCl₂ 0,01 mol.L⁻¹; M.O.-Dicromato/Colorimétrico; Fósforo, Potássio, Cálcio e Magnésio - Resina trocadora de íons; H+Al (acidez potencial) - pH SMP; Cu, Fe, Mn e Zn - extração DTPA – TEA em pH 7,3; Na - extração duplo ácido.

Experimento I

Controle de Foc com *Trichoderma* inoculado em mudas de bananeira em bandejas de plástico com células individuais (tipo tubetes), antes do transplante para solo infestado com o patógeno

No solo do primeiro experimento foi feita a infestação com Foc, 90 dias após a sua esterilização, com 10 mL de suspensão contendo 10⁶ conídios/mL em cada um dos sacos de muda contendo 2kg de solo, sendo estes homogêneos por

agitação manual revolvendo o solo dentro de cada saco. Para obtenção da suspensão do patógeno, foram utilizadas 100 g de substrato constituído por 500g de flocos de milho e 50g de areia (proporção de 10:1), umedecido com 100 mL de água, sendo homogeneizado e distribuído em frascos de Erlenmeyer de 250 mL, e esterilizado em autoclave a 120 °C, durante 1 h (SILVA, 2010). O substrato foi infestado com quatro discos de micélio (5 mm de \varnothing) de Foc, crescido previamente por sete dias em BDA a temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Os frascos foram incubados a temperatura $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 20 dias. Após a incubação, todo o substrato colonizado foi diluído em 500 mL água destilada esterilizada, essa suspensão foi filtrada em peneira e dupla gaze estéril e a concentração ajustada para 10^6 conídios mL^{-1} , com o acréscimo de água destilada estéril. O solo infestado com Foc foi incubado por 30 dias, em temperatura ambiente e umedecido semanalmente. Ao final desse período, a população do patógeno no solo infestado e incubado foi quantificada pela metodologia de diluição seriada e contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) no solo. De cada saco contendo solo infestado e incubado, foi retirada uma alíquota de 5g, sendo que a cada 20 sacos com solo infestado, as sub-amostras eram homogeneizadas, totalizando 14 amostras. Para as diluições seriadas dessas amostras foram preparadas suspensões de 10 g de cada amostra composta de solo em 90 mL de solução salina (0,85% NaCl) esterilizada, utilizando-se frascos do tipo Erlenmeyer com capacidade para 250 mL. Os frascos foram colocados em agitador orbital por 30 minutos para agitação. A partir dessa suspensão de solo foram preparadas diluições até 10^{-6} . Das diluições 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} , uma alíquota de 0,1 mL foi transferida para placas de Petri contendo meio BDA com 1 mL L^{-1} de Tormicina[®], em triplicata. A alíquota foi espalhada nas placas com uma alça de Drigalski. As placas foram incubadas em BOD a 25°C , por três dias e fez-se a contagem das colônias. A população de Foc foi calculada com base na equação: $\text{UFC/g} = N \times F \times Y$. Sendo: N - o número de colônias, F = 10 (fator de correção do plaqueamento de 100 μL de suspensão por placa para 1 mL), Y fator de diluição da amostra.

O experimento foi instalado com 280 mudas em bandejas de plástico tipo com células tipo tubete, inoculadas com diferentes isolados de *Trichoderma*, variando a frequência de inoculação. As mudas de bananeira foram mantidas nas bandejas tipo tubete (128 células de 20 cm^3 , 4,6 cm de altura e 3,1 cm de largura na superfície), contendo fibra de coco. Fez-se a inoculação dos isolados de

Trichoderma, com 1mL de suspensão de 10^6 conídios/mL diretamente no substrato, em cada célula da bandeja, com três periodicidades de aplicação (apenas uma inoculação, inoculações semanais e quinzenais), durante um mês. Dessa forma, a periodicidade de inoculações do antagonista foi de uma, duas e quatro aplicações durante 30 dias. A suspensão de *Trichoderma* foi preparada com culturas crescidas em meio de cultura BDA (batata dextrose ágar), com incubação a temperatura ambiente ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), por sete dias. Após esse período, foram acrescentados à cultura na placa de Petri, 20 mL de água destilada esterilizada e duas gotas de Tween 20 e a colônia foi raspada com alça de Drigalsk. A suspensão foi filtrada com duas camadas de gaze esterilizada e os conídios foram contados em câmara de Neubauer, em microscópio óptico binocular LEICA®, modelo DM750, sendo a concentração ajustada para 10^6 conídios mL^{-1} , com o acréscimo de água destilada estéril. Após sete dias da última inoculação com *Trichoderma* nas mudas em bandejas, estas foram transferidas para sacos plásticos com capacidade para 2 kg, contendo solo infestado com Foc. As mudas foram irrigadas utilizando água potável não esterilizada, em dias alternados até o final do experimento.

A população do patógeno e de *Trichoderma* no solo ao final do experimento, também foi avaliada. Amostras compostas de solo foram obtidas de sub amostras de 5g retiradas de cada um dos sacos das 20 repetições de cada tratamento, sendo homogeneizadas totalizando 14 amostras. Foi utilizada a mesma metodologia descrita acima para realização de diluição seriada e contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) no solo. Entretanto, para quantificação da população de *Trichoderma* foi utilizado o meio seletivo TSM adaptado (0,2 g L^{-1} de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,9 g L^{-1} de KH_2PO_4 ; 0,15 g L^{-1} de KCl; 1 g L^{-1} de NH_4NO_3 ; 3 g L^{-1} de dextrose; 0,15 g L^{-1} de rosa de Bengala; 3 mL L^{-1} de Tritom X100 e 2 mL L^{-1} de Carbendazin).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 14 tratamentos, distribuídos no esquema fatorial $4 \times 3 + 2$ (quatro isolados de *Trichoderma* codificados como TCS 10, TCS 29, TCS 40 e TCS 78 x 3 períodos de inoculação—uma aplicação no plantio e aplicações semanais e quinzenais e 2 controles, sendo um negativo com apenas água e o outro positivo com solo infestado com Foc), com 20 repetições.

Após 75 dias do plantio das mudas de bananeira no solo infestado com Foc, as plantas foram coletadas, sendo avaliadas a massa fresca e seca da parte aérea e radicular e a incidência e severidade da doença. O índice de severidade da doença causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* foi calculado com a equação proposta por Cirulli e Alexander (1966), $ID = 100[\sum (\text{nota} \times n^\circ \text{ de mudas}) / (\text{nota máxima} \times n^\circ \text{ de repetições})]$, atribuindo-se notas de 1 a 6, de acordo com escala de avaliação de sintomas proposta por Cordeiro e Dantas (1993) (Tabela 3).

Tabela 3. Escala de notas para avaliação de incidência e severidade de mal do Panamá causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* em plantas de bananeira, segundo Cordeiro e Dantas, (1993).

Nota	Característica
1	Sem descoloração do tecido vascular, apresentando-se totalmente claro;
2	Pontos isolados de descoloração no tecido vascular;
3	Descoloração em 1/3 do tecido vascular;
4	Descoloração entre 1/3 e 2/3 do tecido vascular;
5	Descoloração maior que 2/3 do tecido vascular;
6	Descoloração total do tecido vascular.

Realizou-se a análise de agrupamento para incidência e severidade, baseada em distância Euclidiana, utilizando o método UPGMA com 10000 permutações pelo programa estatístico R.

Experimento II

Controle de Foc com *Trichoderma* inoculado em solo do plantio das mudas de bananeira e posterior infestação do patógeno no solo

O segundo experimento foi desenvolvido nas mesmas condições de estufa agrícola, com 280 mudas de bananeira da mesma cultivar, com solo coletado e esterilizado da mesma forma que no experimento I. Foram utilizados os mesmos isolados de *Trichoderma*, variando apenas a frequência e modo de inoculação. A infestação do solo com Foc foi feita conforme descrito abaixo.

As mudas de bananeira foram transplantadas para sacos plásticos com capacidade de 2 kg contendo solo esterilizado como descrito acima. Em seguida foram inoculadas por meio da transferência de 10mL de suspensão de 10^6 conídios/mL dos isolados de *Trichoderma* para o solo próximo as raízes. A inoculação foi realizada em três períodos distintos: apenas uma inoculação no momento do plantio no início do experimento, inoculações semanais e quinzenais, durante dois meses, constituindo-se em uma, quatro e oito aplicações de *Trichoderma* durante 60 dias.

Após 30 dias do início da primeira inoculação com *Trichoderma*, as mudas foram inoculadas com 10mL de suspensão de Foc com 10^6 conídios/mL, no solo próximo as raízes, sendo mantidas as inoculações apenas com *Trichoderma* até a avaliação final do experimento. As mudas foram irrigadas utilizando água potável não esterilizada, em dias alternados.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 14 tratamentos, distribuídos no esquema fatorial $4 \times 3 + 2$ (quatro isolados de *Trichoderma* codificados como TCS 10, TCS 29, TCS 40 e TCS 78 \times 3 períodos de inoculação-uma aplicação no plantio e aplicações semanais e quinzenais e 2 controles, sendo um negativo com apenas água e o outro positivo com solo infestado com Foc), com 20 repetições.

O experimento foi coletado e avaliado 75 dias após o plantio das mudas de bananeira, sendo analisados os mesmos parâmetros do experimento anterior, com as mesmas metodologias. As populações de *Trichoderma* e do patógeno no solo também foram quantificadas ao final do experimento, conforme descrito no experimento I.

Avaliação da colonização das mudas de bananeira por isolados de *Trichoderma*

A avaliação da colonização das plantas de bananeira (raízes, pseudocaule e folhas) por *Trichoderma* foi realizada imediatamente após a coleta das plantas. Fragmentos de 0,5 mm de tecidos de folha, pseudocaule e raízes de cinco plantas de cada tratamento foram cortados e desinfestados pela imersão em soluções de álcool 70% (1 minuto), hipoclorito de sódio 1% (30 segundos), novamente álcool 70% (30 segundos) seguido de três lavagens consecutivas em água destilada

esterilizada. Em seguida, em câmara de fluxo laminar, os tecidos foram cortados em fragmentos de 5 mm com bisturi esterilizado e dez fragmentos de cada tecido foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultivo TSM adaptado e foram incubados em BOD a temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ por três dias, para observação do crescimento de *Trichoderma*. A colonização foi avaliada pela contagem do número de fragmentos de raiz, de pseudocaule e folha de bananeira com crescimento micelial de *Trichoderma*, sendo determinada a frequência de fragmentos colonizados pelo fungo (fragmentos colonizados em relação ao número total de fragmentos semeados em meio TSM adaptado).

Análises estatísticas

Para a análise estatística de UFC, os dados foram transformados em $\log(x + 1)$, em que x corresponde ao número de UFC. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Nos dois experimentos, as análises estatísticas referentes às variáveis de massa fresca e seca da parte aérea e radicular foram realizadas por testes de modelos lineares generalizados com distribuição gama e função de ligação log, sendo as médias analisadas pelo teste Bonferroni ($p < 0,05$) pelo programa estatístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk ($p < 0,05$).

Nas análises estatísticas referentes à colonização das mudas, os dados foram transformados pela fórmula $\log(x+1)$ para normalização e submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida pela comparação das médias pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) utilizando o programa estatístico SISVAR v. 4.0 (FERREIRA, 2000).

RESULTADOS

Controle do mal do Panamá em mudas tratadas com *Trichoderma*, por diferentes formas e intervalos de inoculação

O primeiro experimento representou uma simulação do que ocorre no campo, para verificação do potencial de controle da fusariose quando a muda é tratada

com *Trichoderma* na fase de viveiro e é transplantada para áreas infestadas com Foc, sem reinoculação de *Trichoderma* no campo.

Após 10 dias do transplântio das mudas de bananeira tratadas com *Trichoderma* nas bandejas tipo tubete, em intervalos de tempos diferenciados, para solo infestado e incubado com Foc, começaram a aparecer os primeiros sintomas de amarelecimento e rachaduras nas folhas, característicos do mal do Panamá.

Com relação à incidência dos sintomas da doença em mudas plantadas em solo incubado com Foc, o isolado *T. harzianum* (TCS 10) promoveu o menor percentual, com 50% de plantas apresentando sintomas da doença.

No segundo experimento em que as mudas foram plantadas em solo estéril, com inoculações iniciais de *Trichoderma* e, após 30 dias do transplântio das mudas, fez-se a inoculação de Foc no solo, os primeiros sintomas da doença apareceram 23 dias após a inoculação do patógeno, ficando evidenciado o amarelecimento das folhas sem constatação de rachaduras na base das folhas.

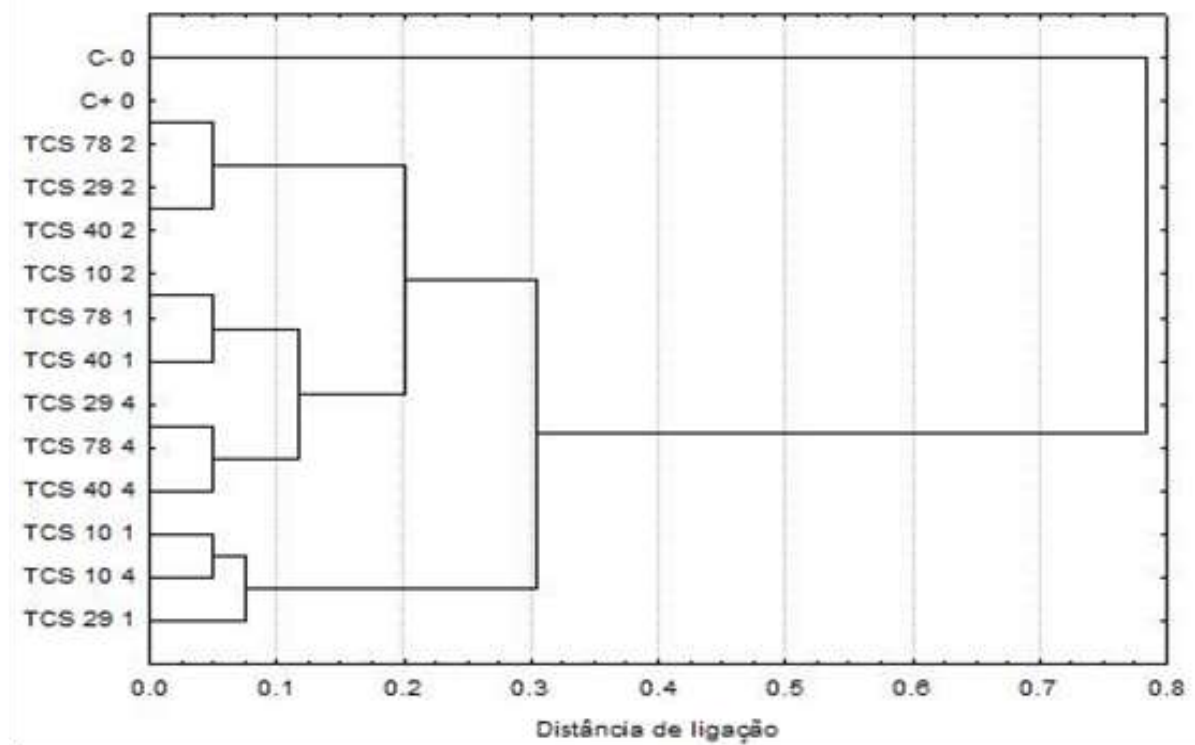
Com apenas uma aplicação do antagonista neste experimento, as plantas tratadas com o isolado TCS 29 de *T. harzianum* apresentaram redução de 90% nos valores de incidência da doença.

Os tratamentos com inoculação de *Trichoderma* nas mudas pequenas ainda na fase de bandejas tipo tubete, com periodicidade semanal de inoculação e posterior transplântio para solo infestado anteriormente com Foc, apresentaram os maiores percentuais de incidência do mal do Panamá (Tabela 4 e Figura 1).

Tabela 4. Incidência do mal do Panamá em mudas de bananeira inoculadas com *Trichoderma*, com variação de periodicidade e forma de aplicação, plantadas em solo com e sem a infestação e incubação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (Única- uma inoculação no momento do plantio; Quinzenal: duas inoculações para solo incubado e quatro inoculações para solo sem incubação; Semanal- quatro inoculações para solo incubado e oito inoculações para solo sem incubação). Experimento I - solo com a infestação e incubação de Foc antes do plantio das mudas; Experimento II – solo sem a infestação de Foc antes do plantio das mudas.

Tratamento	Frequência de aplicações	Incidência (%) Experimento I	Incidência (%) Experimento II
Controle negativo		0	0
Controle positivo		100	95
	Única	55	45
TCS 10	Semanal	85	45
	Quinzenal	50	45
	Única	60	10
TCS 29	Semanal	95	40
	Quinzenal	70	30
	Única	80	70
TCS 40	Semanal	95	65
	Quinzenal	75	35
	Única	85	65
TCS 78	Semanal	100	40
	Quinzenal	70	40

A



B

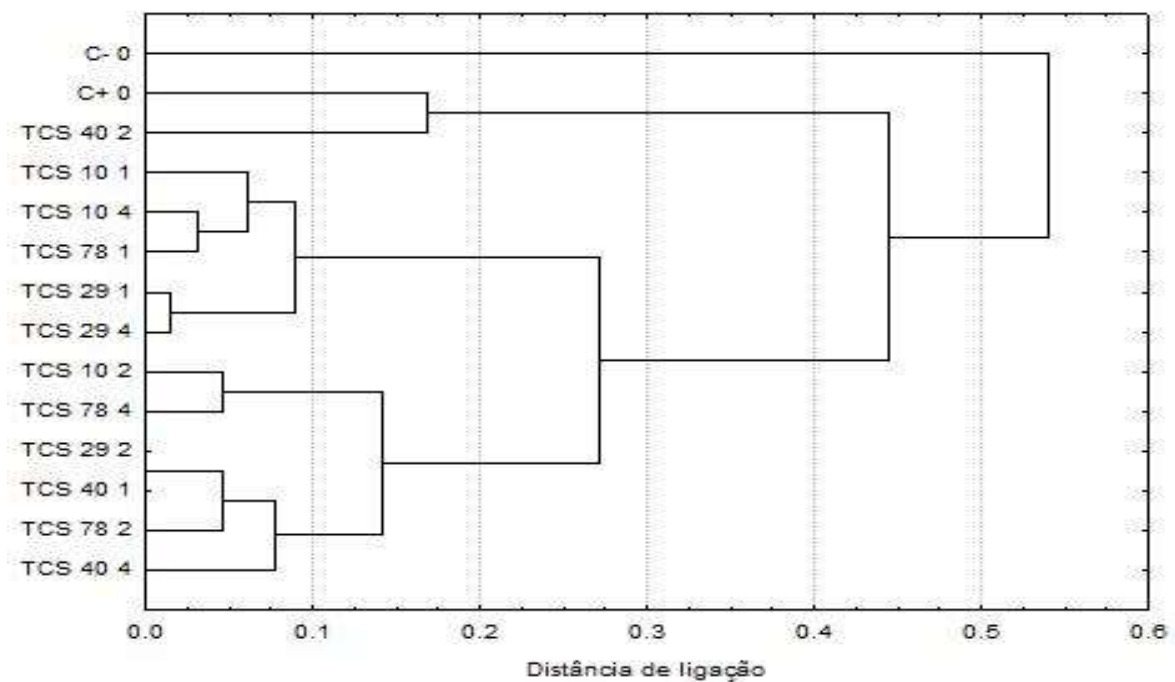


Figura 1. Representação gráfica da análise de agrupamento em função do índice de severidade (A) e da incidência (B) do mal do Panamá em mudas de bananeira inoculadas com isolados de *Trichoderma* (Experimento I). Controle negativo (C-) sem inoculação dos isolados de antagonista e do patógeno e Controle positivo (C+) inoculado apenas com o patógeno. Análise de agrupamento baseado em distância Euclidiana, utilizando o método UPGMA com 10000 permutações.

Os valores de incidência do mal do Panamá nas mudas de bananeira plantadas em solo infestado e incubado com Foc, antes do plantio da muda tratada com *Trichoderma* (Experimento I), foram menores nos tratamentos com aplicação de *T. harzianum* (TCS 10, TCS 29 e TCS 40) (Figura 1).

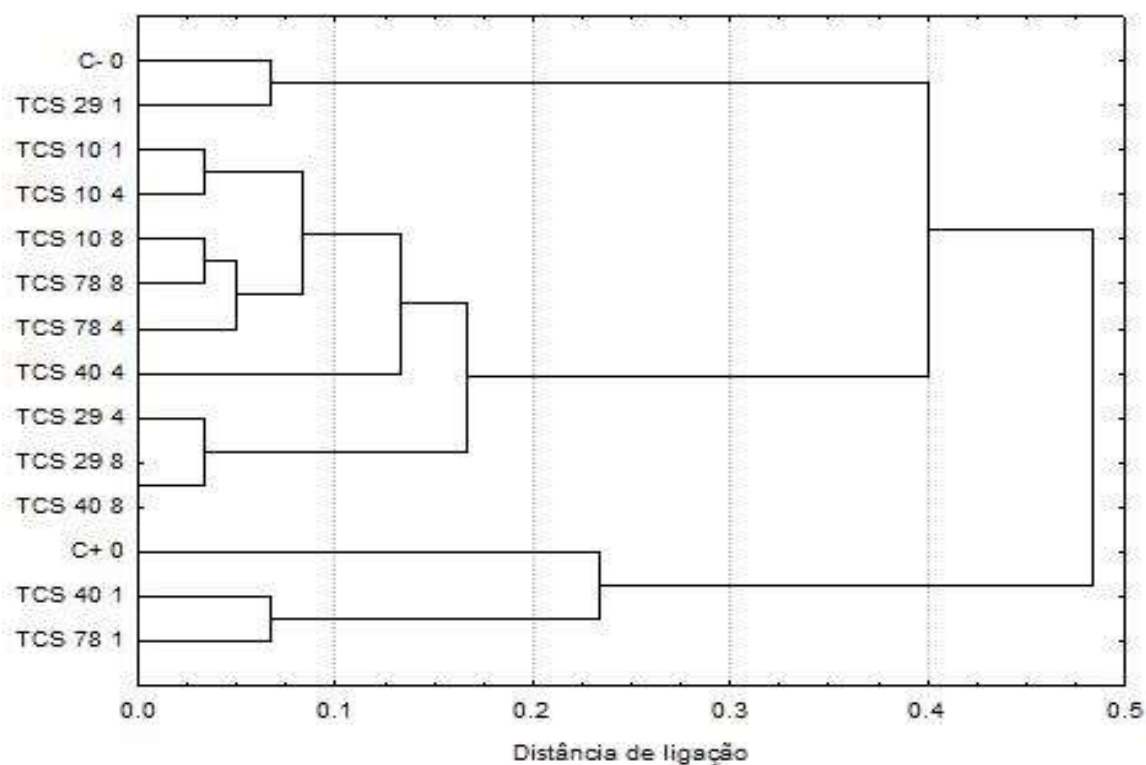
As plantas do controle positivo neste experimento apresentaram valores de 45% de severidade da doença e as plantas tratadas com *T. harzianum* (TCS 40) apresentaram os maiores índices de severidade da doença em todos os tempos e intervalos de aplicações, com índice de 54,2% nas plantas do tratamento com aplicações semanais, com um maior número de plantas com notas 3 e 4 na escala utilizada para avaliação de severidade da doença.

No experimento II em que as mudas foram plantadas em solo infestado com Foc após do plantio da muda tratada com *Trichoderma*, nas bandejas tipo tubete, aplicações semanais do isolado *T. harzianum* (TCS 10) foram eficientes na redução dos índices de severidade do mal do Panamá, com reduções em até 98% (Tabela 5 e Figura 2).

Tabela 5. Índice de severidade do mal do Panamá em mudas de bananeira inoculadas com *Trichoderma*, com variação da periodicidade e forma de aplicação, plantadas em solo com e sem a incubação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. (Única- uma inoculação no momento do plantio; Quinzenal: duas inoculações no solo incubado e quatro inoculações no solo sem incubação; Semanal- quatro inoculações no solo incubado e oito inoculações no solo sem incubação). Experimento I - solo com infestação e incubação de Foc antes do plantio das mudas; Experimento II – solo sem a infestação de Foc antes do plantio das mudas.

Tratamento	Frequência de aplicações	Severidade (%) Experimento I	Severidade (%) Experimento II
Controle negativo		0	0
Controle positivo		54	30
TCS 10	Única	16	12
	Semanal	34	13
	Quinzenal	19	14
TCS 29	Única	25	2
	Semanal	42	9
	Quinzenal	24	10
TCS 40	Única	42	24
	Semanal	65	18
	Quinzenal	38	10
TCS 78	Única	21	22
	Semanal	45	16
	Quinzenal	31	15

A



B

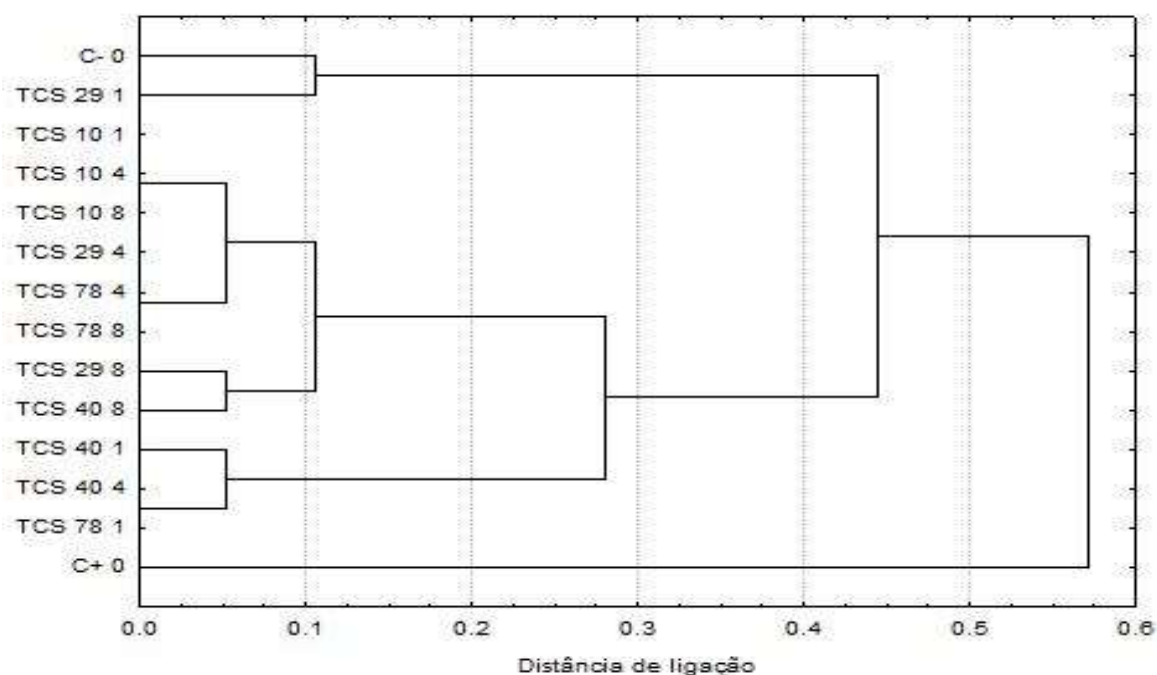


Figura 2. Representação gráfica da análise de agrupamento em função do índice de severidade (A) e da incidência (B) mal do Panamá em mudas de bananeira inoculadas com isolados de *Trichoderma* (Experimento II). Controle negativo (C-) sem inoculação dos isolados de antagonista e patógeno e Controle positivo (C+) inoculado apenas o patógeno. Análise de agrupamento baseado em distância Euclidiana, utilizando o método UPGMA com 10000 permutações.

Quantificação da população de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* no solo

Houve uma redução na população de Foc no solo depois do plantio das mudas de bananeira. Trinta dias após a infestação do solo, a população de Foc estava em $9,4 \times 10^7$ UFC g⁻¹ de solo. A maior população do patógeno no solo, após 75 dias da inoculação com *Trichoderma* no solo foi de $2,3 \times 10^7$ UFC g⁻¹ para o tratamento com *T. longibrachiatum* (TCS 78), aplicado quinzenalmente em solo infestado e incubado com Foc (experimento I).

Com relação à quantificação de Foc no solo com o plantio de mudas de bananeira inoculadas com *Trichoderma* em períodos e modos diferenciados, foi observado efeito significativo ($p \leq 0,05$) da interação entre os isolados de *Trichoderma* e a periodicidade de inoculação sobre a população do patógeno.

Analisando a eficiência dos isolados de *Trichoderma* sobre o desenvolvimento da população de Foc no solo, observa-se que em solo infestado e incubado com o patógeno, antes do plantio das mudas (Experimento I), *T. harzianum* (TCS 10) com aplicações quinzenais proporcionou maior inibição do crescimento do patógeno no solo ($2,4 \times 10^5$ UFC g⁻¹). Entretanto, esse resultado não diferiu significativamente dos valores observados para os isolados de *T. harzianum* (TCS 29), com $5,2 \times 10^5$ UFC g⁻¹ e (TCS 40), com 2×10^6 UFC g⁻¹, para a mesma periodicidade de inoculações (Tabela 6).

O isolado *T. harzianum* (TCS 40) em solo infestado com Foc, após o plantio da muda e o tratamento com *Trichoderma* (Experimento II), foi o que mais proporcionou a inibição da população de Foc ($6,1 \times 10^5$ UFC g⁻¹) com aplicações em periodicidade semanal, quando comparados aos outros tratamentos. Entretanto, não houve diferença estatística entre os tratamentos com *T. harzianum* (TCS 10 com $1,5 \times 10^6$ UFC g⁻¹) e *T. harzianum* (TCS 29 com $1,2 \times 10^6$ UFC g⁻¹), com o mesmo intervalo de inoculações e de *T. harzianum* (TCS 10 com 2×10^7 UFC g⁻¹) e *T. longibrachiatum* (TCS 78 com 1×10^7 UFC g⁻¹), com apenas uma inoculação no momento do plantio (Tabela 6).

Tabela 6. População de *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* (Foc) (UFC g⁻¹ de solo), após 75 dias de infestação do solo. Experimento I - solo com infestação e incubação de Foc antes do plantio das mudas; Experimento II – solo sem a infestação de Foc antes do plantio das mudas.

Periodicidade de inoculações com <i>Trichoderma</i>	Isolados de <i>Trichoderma</i>	UFC g ⁻¹ de Foc	
		Experimento I	Experimento II
Uma aplicação	TCS 10	6,7 x 10 ⁵ b	2,0 x 10 ⁷ c
	TCS 29	4,0 x 10 ⁶ a	3,6 x 10 ⁸ a
	TCS 40	7,6 x 10 ⁶ a	1,0 x 10 ⁸ b
	TCS 78	3,3 x 10 ⁵ b	1,0 x 10 ⁷ c
Aplicações semanais	TCS 10	1,4 x 10 ⁷ a	1,2 x 10 ⁶ c
	TCS 29	4,3 x 10 ⁵ c	1,5 x 10 ⁶ c
	TCS 40	9,0 x 10 ⁵ bc	6,1 x 10 ⁵ c
	TCS 78	1,4 x 10 ⁶ b	3,0 x 10 ⁸ a
Aplicações quinzenais	TCS 10	2,4 x 10 ⁵ b	1,4 x 10 ⁶ c
	TCS 29	5,2 x 10 ⁵ b	2,4 x 10 ⁶ bc
	TCS 40	2,0 x 10 ⁶ b	5,0 x 10 ⁸ a
	TCS 78	2,3 x 10 ⁷ a	3,5 x 10 ⁶ b

Médias seguidas das mesmas letras, na coluna, não diferem estatisticamente entre si de acordo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Quantificação da população dos isolados de *Trichoderma* no solo

Para o desenvolvimento da população de *Trichoderma* no solo dos dois experimentos, com o plantio das mudas de bananeira e a inoculação dos isolados antagonísticos em formas e periodicidades diferenciados, foi observada diferença significativa sobre a interação entre os tratamentos com o antagonista e a periodicidade de inoculações, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) (Tabela 7).

Em solo com a infestação e incubação de Foc durante 30 dias antes do plantio das mudas inoculadas em bandeja tipo tubete com os isolados antagonísticos (Experimento I), 2,3 x 10⁶ UFC g⁻¹ foi o maior valor observado para a população de *Trichoderma* no solo que recebeu apenas uma aplicação de *T. longibrachiatum* (TCS 78).

Tabela 7. População de *Trichoderma* (UFC g⁻¹ de solo), após 75 dias de aplicação no solo. Experimento I - solo com infestação e incubação de Foc antes do plantio das mudas; Experimento II – solo sem a infestação de Foc antes do plantio das mudas.

Periodicidade de inoculações do <i>Trichoderma</i>	Isolados de <i>Trichoderma</i>	UFC g ⁻¹ de <i>Trichoderma</i>	
		Experimento I	Experimento II
Uma aplicação	TCS 10	4,4 x 10 ⁵ b	1,5 x 10 ⁶ ab
	TCS 29	2,9 x 10 ⁵ b	2,5 x 10 ⁷ a
	TCS 40	5,3 x 10 ⁵ b	7,0 x 10 ⁶ b
	TCS 78	2,3 x 10 ⁶ a	7,3 x 10 ⁵ b
Aplicações semanais	TCS 10	1,0 x 10 ⁶ a	8,3 x 10 ⁴ ab
	TCS 29	3,0 x 10 ⁴ b	1,1 x 10 ⁵ ab
	TCS 40	6,3 x 10 ⁴ ab	4,3 x 10 ⁵ b
	TCS 78	1,0 x 10 ⁵ a	2,3 x 10 ⁷ a
Aplicações quinzenais	TCS 10	1,6 x 10 ⁶ a	9,6 x 10 ⁴ ab
	TCS 29	3,6 x 10 ⁵ b	1,7 x 10 ⁵ ab
	TCS 40	1,6 x 10 ⁶ a	3,8 x 10 ⁵ b
	TCS 78	1,6 x 10 ⁶ a	2,4 x 10 ⁵ a

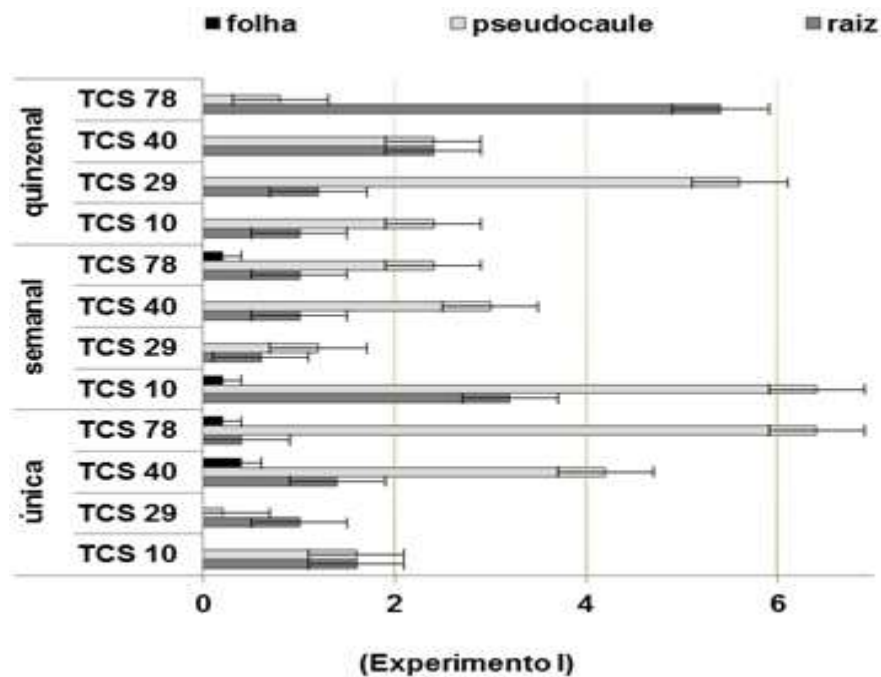
Médias seguidas das mesmas letras, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

No solo com introdução de *Trichoderma* e plantio da muda, com posterior infestação com o isolado de Foc (Experimento II), a maior população foi de 2,5 x 10⁷ UFC g⁻¹, em solo que recebeu apenas uma aplicação de *T. harzianum* (TCS 29). Entretanto, sem diferença significativa para *T. harzianum* (TCS 10) com a mesma quantidade de aplicações.

Colonização de mudas de bananeira por isolados de *Trichoderma*

Os isolados de *Trichoderma* colonizaram os tecidos das plantas de bananeira, com diferenças significativas na frequência de colonização dos tecidos, em ambos os experimentos (Figura 1).

A



B

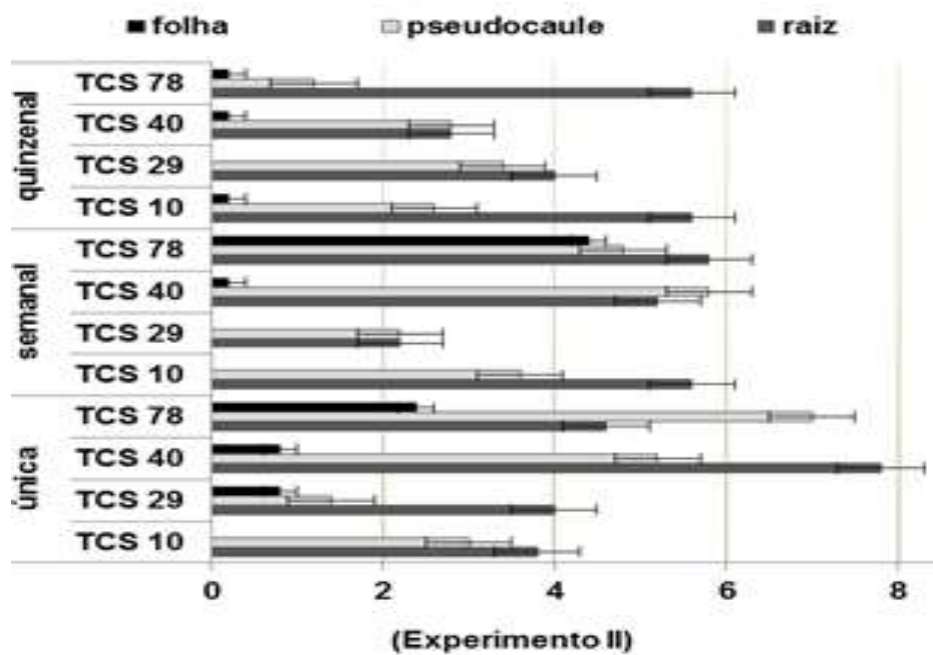


Figura 1. Frequência de colonização endofítica de *Trichoderma* em mudas de bananeira. A (Experimento I- Solo com infestação e incubação de Foc antes do plantio das mudas); B (Experimento II- Solo com infestação de Foc após o plantio das mudas).

Em solo previamente infestado com Foc (Experimento I), nos tratamentos com apenas uma aplicação do antagonista nas mudas em tubetes, não houve diferença significativa nos percentuais de colonização da raiz entre os isolados de

Trichoderma, sendo os maiores percentuais observados para *T. harzianum* (TCS 10) e *T. longibrachiatum* (TCS 78).

Mudas tratadas com aplicações quinzenais apresentaram maior frequência de colonização das raízes quando tratadas com *T. longibrachiatum* (TCS 78). Este isolado promoveu as melhores porcentagens de colonização das raízes (Figura 1), mas não promoveu o controle do mal do Panamá nessas plantas (Tabela 4 e 5).

No pseudocaule, foram observadas as maiores frequências para *T. longibrachiatum* (TCS 78) com apenas uma aplicação do antagonista, sem diferença significativa de *T. harzianum* (TCS 40). O isolado *T. harzianum* (TCS 10), quando aplicado semanalmente e *T. harzianum* (TCS 29), com aplicações quinzenais também apresentaram resultados significativos.

A frequência de colonização nas folhas de mudas de bananeira foi baixa e não se observaram melhores resultados nos tratamentos com melhor controle do patógeno. Estes resultados indicam que o *Trichoderma* penetra pelas raízes e consegue colonizar diferentes tecidos da planta.

Em solo sem a infestação prévia de Foc, mas com aplicação de *Trichoderma* (Experimento II), a frequência de colonização das raízes de mudas de bananeira foi maior com *T. harzianum* (TCS 40) e apenas uma aplicação, *T. longibrachiatum* (TCS 78) e *T. harzianum* (TCS 10) com aplicações semanais.

No pseudocaule das mudas foram observadas as maiores frequências de colonização para *T. longibrachiatum* (TCS 78) quando realizada apenas uma aplicação do antagonista, *T. harzianum* (TCS 40), com aplicações semanais e *T. harzianum* (TCS 29) com aplicações quinzenais, sendo que estes resultados não diferiram estatisticamente de outros tratamentos avaliados.

Nas folhas, os melhores resultados foram observados para *T. longibrachiatum* (TCS 78) com aplicações no plantio e semanais, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos avaliados.

Os isolados *T. harzianum* (TCS 10) e *T. longibrachiatum* (TCS 78) apresentaram os maiores percentuais de frequências de colonização dos tecidos internos (raiz, pseudocaule e folhas) de mudas de bananeira plantadas em solo com e sem infestação prévia de Foc, apresentando resultados significativos quando comparados aos outros tratamentos avaliados.

Produção de massa fresca e seca de mudas de bananeira

No experimento I, não foi observada diferença significativa para a produção de massa fresca das mudas entre os tratamentos com *T. harzianum* (TCS 10, TCS 29 e TCS 40) e *T. longibrachiatum* (TCS 78), quando comparados ao controle positivo inoculado apenas com o patógeno, quando analisado somente a ação dos antagonistas, sem a variação da periodicidade de aplicações (Tabela 8).

Para massa seca da parte aérea também não houve diferença significativa entre os tratamentos com os antagonistas e o controle positivo. Entretanto, quando analisada a massa seca da raiz, *T. longibrachiatum* (TCS 78) promoveu o melhor resultado quando comparado aos demais tratamentos, sendo estatisticamente semelhante ao controle negativo, sem o patógeno e sem *Trichoderma*, que apresentou 2,7g. Entretanto, este resultado não refletiu na melhor produção da parte aérea da planta.

Tabela 8. Massa fresca (MF) e seca (MS) da parte aérea (PA) e raízes (PR) de mudas de bananeira após inoculação de *Trichoderma* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*, em condições de casa de vegetação, em solo infestado e incubado com Foc durante 30 dias antes do plantio das mudas já tratadas com *Trichoderma*. (Controle negativo- sem inoculação de antagonista e patógeno e Controle positivo – com inoculação apenas do patógeno).

Isolados	MF (g)		MS (g)	
	PA(g)	PR(g)	PA(g)	PR(g)
TCS 10	3,60 b	5,80 b	0,45 b	1,08 b
TCS 29	2,60 b	4,30 b	0,42 b	0,79 b
TCS 40	3,00 b	3,70 b	0,38 b	0,65 b
TCS 78	3,00 b	4,50 b	0,39 b	2,71 a
Controle Negativo	6,50 a	9,80 a	0,72 a	2,70 a
Controle Positivo	3,10 b	6,40 b	0,49 b	1,80 b

Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si de acordo teste de Bonferroni ($p < 0,05$).

Não houve influência do número de aplicações e intervalos de tempos diferenciados das inoculações de *Trichoderma* no solo, em relação à produção de massa fresca e seca da parte aérea de mudas de bananeira tratadas na fase inicial de bandeja com *Trichoderma* e transplantadas para o solo infestado e incubado com Foc.

Em relação à produção de massa fresca e seca da parte aérea e raízes de mudas de bananeira plantadas em solo com infestação de Foc após o tratamento com o antagonista e inoculadas com *Trichoderma* durante 60 dias (Experimento II) foi observado o melhor resultado para massa seca da parte aérea com inoculações quinzenais de *T. harzianum* (TCS 40) e raízes para *T. harzianum* (TCS 29), entretanto sem diferença estatística significativa quando comparado aos controles (Tabela 9). Com relação à influência do número de aplicações e intervalos de tempo diferenciados na inoculação de isolados de *Trichoderma*, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos.

Tabela 9. Massa fresca (MF) e seca (MS) da parte aérea (PA) e raízes (PR) de mudas de bananeira após inoculação de *Trichoderma* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, em condições de casa de vegetação, em solo infestado e incubado com Foc após o plantio das mudas tratadas com *Trichoderma*. (Controle negativo - sem inoculação do antagonista e do patógeno e Controle positivo - inoculado apenas com o patógeno).

Número de inoculações	Isolados e controles	MF (g)		MS(g)	
		PA	R	PA	R
Uma aplicação	TCS 10	12,07 a	7,24 a	1,73 a	0,98 a
	TCS 29	10,57 a	6,43 a	1,57 a	0,89 a
	TCS 40	12,04 a	6,95 a	1,49 a	0,96 a
	TCS 78	10,38 a	6,07 a	1,41 a	0,84 a
Aplicações semanais	TCS 10	11,64 ab	5,72 a	1,78 a	0,97 a
	TCS 29	13,29 a	7,08 a	1,68 a	0,85 a
	TCS 40	12,33 ab	6,72 a	1,80 a	0,96 a
	TCS 78	10,12 b	5,78 a	1,20 b	0,81 a
Aplicações quinzenais	TCS 10	8,70 b	5,25 b	1,50 b	0,77 ab
	TCS 29	11,73 ab	7,51 a	1,50 b	0,95 a
	TCS 40	14,48 a	6,28 ab	1,95 a	0,90 ab
	TCS 78	11,33 b	5,37 b	1,43 b	0,60 b
-	Negativo	14,14 a	8,49 a	1,90 a	0,93 a
-	Positivo	12,59 a	6,33 a	2,02 a	0,89 b

* Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Bonferroni ($p < 0,05$).

Não foi verificada a influência dos isolados de *Trichoderma* na produção de massa seca das mudas de bananeira, mesmo tendo sido observada a concentração e manutenção da população do antagonista no solo e colonização dos tecidos das mudas, principalmente por *T. harzianum* (TCS 10 e TCS 29) que apresentaram os melhores valores. Além disso, estes mesmos isolados

proporcionaram reduções de até 90% na incidência da doença e 81% na severidade da doença.

DISCUSSÃO

Os fungos do gênero *Trichoderma* são eficientes no controle de fitopatógenos que afetam a cultura da bananeira (HERNÁNDEZ et al., 2011). Este agente de biocontrole pode ser aplicado de várias maneiras, desde o tratamento do solo e/ou sementes ou ainda por pulverizações nas folhas (PEREIRA, 2012). Neste trabalho foram testados a inoculação de isolados de *Trichoderma* no substrato (fibra de coco) e em solo de plantio de mudas de bananeira da cultivar 'Prata Maravilha' (FHIA 01). Ficou evidente que a aplicação do inóculo de *Trichoderma* no solo é mais eficiente no controle do mal do Panamá, nas condições avaliadas. As diferentes periodicidades de aplicação dos isolados antagônicos não influenciaram no controle da doença. Os tratamentos com apenas uma aplicação de *T. harzianum* (TCS 29) foram eficientes para a redução da incidência e da severidade da doença nas mudas de bananeira, conforme foi observado também por PAULA JÚNIOR et al., (2009).

Os percentuais de incidência e índices de severidade do mal do Panamá foram maiores nas mudas que foram plantadas em solo infestado e incubado com Foc antes do plantio das mudas já tratadas com *Trichoderma* na fase de crescimento em bandejas tipo tubete (Experimento I). Estes resultados podem ser explicados pelo curto período entre as inoculações e o tamanho dos tubetes com as mudas de bananeira. Sabe-se que fungos do gênero *Trichoderma* produzem enzimas que degradam a parede celular de plantas e fitohormônios que regulam o seu crescimento (HARMAN, 2000). Dentre os fitohormônios há destaque para o ácido indol-acético (AIA), produzido por *T. harzianum* (OLIVEIRA et al., 2012). Trata-se de uma auxina muito relevante e concentrações em excesso causam efeitos negativos no desenvolvimento das raízes, prejudicando o desenvolvimento das plantas (XIE et al., 1996). Nas condições experimentais avaliadas, a pouca quantidade de substrato nas bandejas e o curto período entre as aplicações do antagonista podem ter favorecido ao aparecimento de efeitos deletérios nas

raízes devido à ação destas substâncias que podem ser produzidas por fungos deste gênero prejudicando o efeito de biocontrole nas mudas de bananeira.

Quando os isolados antagônicos foram aplicados no solo de plantio das mudas houve reduções de até 90% na incidência e 98,3% na severidade da doença. Perez et al., (2009) obtiveram respostas semelhantes com *Trichoderma* em plantas CEMSA Bluggoe - ABB, FHIA 03 - AABB e FHIA 23 – AAAB. Resultados similares foram observados em condições de campo com uma aplicação no solo próximo às raízes de formulados granulados de *T. viride*, com redução dos sintomas externos de até 78% e dos internos de até 80% (THANGAVELU; MUSTAFFA, 2010). Hernández et al., (2011), afirma que em mudas inoculadas com *Trichoderma* através de imersão das raízes antes do plantio, ocorre uma redução da severidade da doença de 74% a 63% quando comparados aos tratamentos controle sem a adição do antagonista.

Ficou evidenciado nas condições avaliadas, que o tratamento das mudas de bananeira 'Prata Maravilha' (FHIA 01) com *Trichoderma* na fase de viveiro e em bandejas tipo tubete não promove o controle eficiente de *Fusarium* após o transplântio destas para solo infestado. Possivelmente, após o transplântio das mudas, as raízes colonizadas (HARMAN, 2000) cresceram rapidamente sendo infectadas pelo patógeno presente no solo, que apresentava alta concentração de sua populacional, cerca de $9,4 \times 10^7$ conídios por grama de solo.

Este estudo indica que apenas a inoculação das mudas na fase de viveiro não é suficiente para a proteção da planta, pois possivelmente as raízes não se desenvolvem satisfatoriamente de forma a permitir a colonização do *Trichoderma* em toda a sua extensão, não impedindo desta forma a infecção por Foc.

Além disso, as características do solo deste experimento, com pouca matéria orgânica (KUPPER, 2015) e pH ácido (BORGES et al., 1999) podem ter favorecido a instalação da doença, mesmo com a utilização de uma cultivar que apresenta resistência quantitativa ao patógeno.

Nos estudos avaliando a população de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* foi observado um declínio no solo infestado após o plantio das mudas de bananeira. Houve redução na população de Foc nos tratamentos com a inoculação de isolados de *T. harzianum* (TCS 10, TCS 29 e TCS 40). Toyota et al., (1996) observaram a redução da população de *F. oxysporum* f. sp. *raphani* em

agregados de solo, quando inoculado com *T. viridae*, comparando-se aos demais tratamentos avaliados.

Os dados observados sobre a população de *Fusarium* no solo não evidenciaram que os tratamentos com as menores populações, são também aqueles que proporcionaram o melhor controle da doença.

A população de *Trichoderma* no solo, observada nos dois experimentos apresentou-se dentro dos limites considerados adequados para estudos de biocontrole, visto que populações de 10^5 a 10^7 UFC g⁻¹ são eficientes em ambientes controlados (HARMAN, 2000) cresceram rapidamente sendo infectadas pelo patógeno presente no solo, que apresentava alta concentração de sua populacional, cerca de $9,4 \times 10^7$ conídios por grama de solo.

Este estudo indica que apenas a inoculação das mudas na fase de viveiro não é suficiente para a proteção da planta, pois possivelmente as raízes não se desenvolvem satisfatoriamente de forma a permitir a colonização do *Trichoderma* em toda a sua extensão, não impedindo desta forma a infecção por Foc.

Além disso, as características do solo deste experimento, com pouca matéria orgânica (KUPPER, 2015) e pH ácido (BORGES et al., 1999) podem ter favorecido a instalação da doença, mesmo com a utilização de uma cultivar que apresenta resistência quantitativa ao patógeno.

A população de *Trichoderma* no solo, observada nos dois experimentos apresentou-se dentro dos limites considerados adequados para estudos de biocontrole, visto que populações de 10^5 a 10^7 UFC g⁻¹ são eficientes em ambientes controlados (HARMAN et al., 2004; LEANDRO et al., 2007). Em concentrações de 10^8 a 10^{10} UFC g⁻¹ de solo, os isolados de *Trichoderma* não proporcionaram aumento significativo de atividade antagônica o que não justifica a utilização de densidades maiores (AL-HAZMI; TARIQJAVEED, 2015; ZHANG et al., 2015).

O isolado TCS 29 de *T. harzianum*, com apenas uma aplicação obteve maior densidade populacional e promoveu a redução na população de *Fusarium* no solo. Entretanto, a população de *Trichoderma* e de *Fusarium* no solo não parece influenciar os resultados de controle da doença, pois as menores populações do patógeno e as maiores populações do antagonista não foram encontradas apenas nos tratamentos que promoveram o melhor controle da doença, que foram aqueles com a aplicação de *T. harzianum* (TSC10 e TSC 29).

Fontenelle (2011) e Silva et al., (2011), observaram após 12 dias da incorporação de *T. harzianum* em substrato de plantio de mudas de tomateiro e pepineiro, a população de 214×10^9 e 179×10^9 UFC g⁻¹, respectivamente. Ethur (2006) também observou que *T. harzianum* adicionado em substrato de cultivo de tomateiro e pepineiro reduziu a população de *F. oxysporum* e *F. solani* e foi eficiente na redução da fusariose nestas culturas. Ethur et al., (2007) em experimentos de seleção de isolados antagônicos a *F. solani* e *F. oxysporum* em substrato comercial para crescimento de mudas observaram a redução máxima na população dos patógenos na presença de *Trichoderma*, em detrimento à *Penicillium*, *Aspergillus* e *Cladosporium* que também foram avaliados.

Todos os isolados de *Trichoderma* avaliados foram capazes de colonizar os tecidos internos das mudas de bananeira. Gava e Menezes, (2012) afirmaram que estes fungos têm elevada capacidade saprofítica e são capazes de colonizar as raízes proporcionando proteção, eliminando propágulos de patógenos, ou reduzindo o seu desenvolvimento, além de competir por nutrientes. Esta característica observada nos isolados avaliados é muito importante, pois quando coloniza as raízes, *Trichoderma* provoca alterações no metabolismo da planta, promovendo a ativação de mecanismos de defesa e aumentando a disponibilidade de nutrientes e tolerância ao estresse, (NACHTIGAL, 2012). A colonização das raízes ocorre através de feridas provocadas pela abrasão com o solo e/ou substrato, e em pontos de emergência de raízes secundárias e protege as plantas contra a infecção de patógenos (GREEN; JENSEN, 1995).

As variações na frequência de colonização dos tecidos internos observadas nos dois experimentos não interferiram no controle da doença. Ressalta-se que os tratamentos com *T. harzianum* (TCS 10 e TCS 29) apresentaram elevadas frequências de colonização pelos antagonistas e promoveram o melhor controle da doença em ambos os experimentos.

Nas condições avaliadas, o crescimento das mudas de bananeira não foi influenciado pelas características específicas encontradas em isolados de *Trichoderma*, como a capacidade de colonização de raízes, aumento da absorção e translocação de nutrientes minerais, aumento da solubilidade e disponibilidade micronutrientes, além da produção de hormônios (HARMAN et al., 2004).

No experimento I, o período que as mudas permaneceram nas bandejas tipo tubete recebendo a inoculação dos isolados de *Trichoderma* no substrato em

intervalos de tempo diferenciados, pode ter favorecido na inibição do desenvolvimento das raízes através da ação de fitohormônios (OLIVEIRA et al., 2012) que produzidos em excesso pelo antagonista (XIE et al., 1996) podem interferir na produção de massa fresca e seca da parte aérea e radicular, quando comparada ao controle negativo (sem aplicação de antagonista) e assemelhando-se ao controle positivo que foi inoculado apenas o patógeno.

Ezziyyani et al., (2004), utilizando filtrado de *T. harzianum* em sementes de pimentão, observaram efeito negativo no desenvolvimento das radículas e nenhum efeito na germinação nas sementes, em meio de cultura quando comparados ao controle sem a inoculação dos isolados. Entretanto, o mesmo autor observou efeito positivo no desenvolvimento das plantas, quando o micélio e esporos foram aplicados no solo, aumentando a taxa de germinação e o peso da massa seca, quando comparadas ao controle positivo sem a inoculação do patógeno.

No experimento II, o período de avaliação final do experimento (75 dias) pode ter interferido nos resultados, não havendo diferença significativa entre os tratamentos com os antagonistas e os controles positivos e negativos para produção de massa fresca da parte aérea e radicular. Podendo ainda ressaltar, que a cultivar 'Prata Maravilha' apresenta resistência quantitativa ao patógeno. As mudas podem ter apresentado um atraso no desenvolvimento dos sintomas mais severos da doença, não comprometendo a produção de biomassa no período de avaliação experimental.

CONCLUSÕES

O tratamento de mudas de bananeira 'Prata Maravilha' com os isolados de *Trichoderma* na fase de viveiro em tubetes não promove o controle eficiente do mal do Panamá em solo infestado com o patógeno. Apenas uma aplicação do antagonista no solo com *T. harzianum* (TCS 10 e TCS 29) é eficiente no controle da doença reduzindo sua incidência e a severidade nas condições avaliadas. Ficou evidenciado que não são necessárias reaplicações do antagonista no solo após o plantio, visto que não houve diferença significativa nos parâmetros avaliados. Portanto, a continuidade de estudos de manejo integrado é necessária

com períodos de avaliação mais prolongados, pois os isolados de *T. harzianum* avaliados, apesar de não favorecerem a produção de biomassa na mudas, promoveram a redução da incidência e severidade da doença. Estes dados podem servir de subsídios para o uso de metodologias que visem o controle desta doença em áreas de cultivo que estão sendo devastadas por este patógeno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins. 2016.

AL-HAZMI, A. S., TARIQJAVEED, M. Effects of different inoculum densities of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* against *Meloidogyne javanica* on tomato. **Saudi Journal of Biological Sciences**.v.23. n. 2. p. 288 – 292. 2015.

ALMEIDA, W. K. D. da S. Antagonismo de *Trichoderma viride* sobre fungos fitopatogênicos *Colletotrichum spp.* *Cercospora musae* e *Asperisporium caricae* em fruteiras tropicais. **Revista Brasileira de Agroecologia**. v.4, n.2, p. 1374 – 1378. 2009.

AMORIM, E. P. R.; MELO, I. S. Ação antagônica de rizobactérias contra *Phytophthora parasítica* e *P. citrophthora* e seu efeito no desenvolvimento de plântulas de citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, p.565 - 568, 2002.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Solos supressivos. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D.E.G.T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, v.1. p. 125 - 152. 2005.

BORGES, A. L.; OLIVEIRA, A. M. G.; SOUZA, L. da S. Solos, Nutrição e Adubação. IN: ALVES, E. J. (Ed.). **A cultura da banana: Aspectos técnicos**, 43 socioeconômicos e agroindustriais. Brasília: EMBRAPA- SPI / Cruz das Almas: Embrapa – CNPMF, p. 197 – 270. 1999.

BORGES, A. J. S.; TRINDADE, A. V.; MATOS, A. P.; PEIXOTO, M. F. S. Redução do Mal do Panamá em bananeira-maçã por inoculação de fungo micorrízico arbuscular. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.42, n.1, p.35 - 41, 2007.

CHAGAS JUNIOR, A. F.; OLIVEIRA, A. G.; REIS, H. B.; SANTOS, G. R.; CHAGAS, L. F. B.; MILLER, L. O. Eficiência da inoculação combinada de rizóbio e *Trichoderma* spp. em diferentes cultivares de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) no cerrado (Savana Brasileira). **Revista de Ciências Agrárias**, v.37. n.1, p. 20 - 28. 2014.

CIRULLI, M.; ALEXANDER, L. J. A comparison of pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* f. *licopersici* and different sources of resistance in tomato. **Phytopathology**, v.56, p.1301 - 1304, 1966.

CORDEIRO, Z. J. M.; SHEPHERD, K.; DANTAS, J. L. L. Rating bananas for reaction to *Fusarium* wilt in Brazil. Proceeding International Symposium on Recent Developments in Banana Cultivation Technology. **INIBAP**, p.84 - 88. 1993.

CORDEIRO, Z. J. M., MATOS, A. P., KIMATI, H. Doenças da bananeira (*Musa* spp.). In: KIMATI, H., AMORIN, L., REZENDE, J.A.M., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L.E.A. (Eds.). **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v. 2. p. 99 - 117. 2005.

ETHUR, L. Z. Dinâmica populacional e ação de *Trichoderma* no controle de fusariose em mudas de tomateiro e pepineiro. **Tese**. Doutorado em Agronomia. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 154 f. 2006.

ETHUR, L. Z.; BLUMEL, E.; MUNIZ, M. F. B.; FLORES, M. G. V. Seleção de antagonistas fúngicos a *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum* em substrato comercial para mudas. **Ciência Rural**, v.37, n.6, p.1794 -1797, nov-dez, 2007.

EZZIYYANI, M.; SÁNCHEZ, C. P.; AHMED, A. S.; REQUENA, M. E.; CANDELA, M. E. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de

Phytophthora capsici en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). **Anales de Biología**, Murcia, v. 26, p. 35 - 45, 2004.

FERREIRA, D. F. Análises Estatísticas por meio do Sisvar para Windows 4.0. In: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, 45, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, p. 255 - 258. 2000.

FONTENELLE, A. D. B.; GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M.; HARAKAVA, R. Growth promotion and induction of resistance in tomato plant against *Xanthomonas euvesicatoria* and *Alternaria solani* by *Trichoderma* spp. **Crop Protection**, v.30, p.1492 - 1500, 2011.

FORTES, F. O., SILVA, A. C. F., ALMANÇA, M. A. K.; TEDESCO, S. B. Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. por *Trichoderma* spp. **Revista Árvore**. v. 31, n. 2. p. 221 - 228. 2007.

GAVA, C. A. T.; MENEZES, M. E. L. Eficiência de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo. **Revista Ciência Agronômica**. v. 43. p. 633 - 640. 2012.

GREEN, H.; JENSEN, D. F. A tool for monitoring *Trichoderma harzianum*: II. The use of a GUS transformant for ecological studies in the rhizosphere. **Phytopathology**, v. 85, n. 11, p. 1436 - 1440, 1995.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**. v.84, n.4, p. 376 – 393, 2000.

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

HARMAN, G.E. The Nature and Application of Biocontrol Microbes II: *Trichoderma* spp. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp.. **Phytopathology**, v. 96. p.190 - 194, 2006.

HARMAN, G. E.; HERRERA-ESTRELLA.; BENJAMIN, A.; HORWITZ.; LORITO, M. Special issue: *Trichoderma* – from Basic Biology to Biotechnology **.Microbiology**, v. 158, p.1 - 2, 2012.

HERNÁNDEZ, A. J. C.; ENAMORADO, L. E. P.; CASANOVES, F.; AVELINO, J.; T.FERNÁNDEZ, A. C.; ORTIZ, J. L. Using Isolates Endophytic *Trichoderma* spp., for the Panamá Disease biocontrol (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) race 1 in *Gros Michel* (AAA) cropper of banana vitro-plants with greenhouse conditions. **RCASAE WORKING PAPER**. v.1. p. 4 – 17. 2011.

ISAIAS, C. O.; MARTINS, I.; DA SILVA, J. B. T.; DA SILVA, J. P.; DE MELLO, S. C. M.. Ação antagônica e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp. contra os patógenos *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae*. **Summa Phytopathologica**, v.40, n.1, p.34 - 41, 2014.

KUPPER, K. C.; BELLOTTE, J. A. M.; GOES, A. Controle alternativo de *Colletotrichum acutatum* agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 31,n. 4, p. 1004 - 1015. 2009.

LEANDRO, L. F. S.; GUZMAN, T.; FERGUSON, L. M.; FERNANDEZ, G. E.; LOUWS, F. J. Population dynamics of *Trichoderma* in fumigated and compost-amended soil and on strawberry roots. **Applied Soil Ecology**, v. 35, p. 237 - 246, 2007.

LUCON, C. M. M.; PEDRO, E. A. S.; ANTUNES, K. R.; NOGUEIRA, E. M. C. **Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. para o controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense***. 2015. Disponível em: <http://www.seb.org.br/eventos/siconbiol/XISICONBIOL/04-MICROORGANISMOS-FITOPATOGENICOS-E-ENDOFITICOS.pdf>. Acesso em: 25 de maio de 2015.

MOHAMED, H. A. L. A.; HAGGAG, W. M. Biocontrol potential of salinity tolerant mutants of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum*. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.37. n.-2. p. 181 - 191. 2006.

NACHTIGAL, G. F. **Espécies de *Trichoderma*: fungos benéficos a serem favorecidos por práticas adequadas de manejo**. 2012. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2012_1/Trichoderma/index.htm>. Acesso em: 19 de julho de 2015.

OLIVEIRA, A. G.; JUNIOR, A. F. C.; DOS SANTOS, G. R.; MILLER, L. O.; CHAGAS, L. F. B. Potencial de solubilização de fosfato e produção de AIA por *Trichoderma* spp. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. v. 7, n. 3, p. 149-155, 2012.

PAULA JÚNIOR, T. J. de; VIEIRA, R. F.; ROCHA, P. R. R.; BERNARDES, A.; COSTA, É. L.; CARNEIRO, J. E. S.; VALE, F. X. R. do, ; ZAMBOLIM, L. White mold intensity on common bean in response to plant density, irrigation frequency, grass mulching, *Trichoderma* spp., and fungicide. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 35, n. 1, p. 44 - 48, 2009.

PEREIRA, G. V. N. Promoção do crescimento de mudas de maracujazeiro inoculadas com *Trichoderma* spp. **Dissertação**. Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Vitória da Conquista. 67p. 2012.

PEREZ, L., BATLLE, A., CHACON, J., MONTENEGRO, V. Eficácia de *Trichoderma harzianum* A34 en el biocontrol de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, agente causal de la marchitez por *Fusarium* o Mal de Panamá de los bananos en Cuba. **Fitosanidad**. v.13, n.4, p. 259 - 263. 2009.

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

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.

POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle Biológico com *Trichoderma* em Grandes Culturas – Uma Visão Empresarial. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Org.). **Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna-SP: Embrapa Meio Ambiente, v. 1, p. 239 - 244. 2009.

SÁ, J. O de. Controle biológico da podridão vermelha do sisal (*Agave sisalana* Perrine) com *Trichoderma* e actinobactérias. **Tese** (Doutorado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, 133 f. 2013.

SILVA, L. S. Efeito de extratos foliares de nim em *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* e na intensidade do mal do Panamá em mudas de bananeira cv. maçã. **Dissertação**. Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, Universidade Estadual de Montes Claros, 54f. 2010.

SILVA, V. N.; GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M.; HARA KAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n.12, p.1609 - 1618, dez. 2011.

SUTTON, J. C. Strategies for biological control of necrotropic pathogens in perennial crops. **Fitopatologia Brasileira**, v.25, p.235 - 238, 2000.

THANGAVELU, R.; MUSTAFFA M. M., A Potential isolate of *Trichoderma viride* NRCB1 and its mass production for the effective management of *Fusarium* wilt disease in banana. **Tree and Forestry Science and Biotechnology**. v. 4. n. 2, p. 76 - 84. 2010.

TOYOTA, K.; RITZ, K.; YOUNG, I. M. Microbiological factors affecting the colonisation of soil aggregates by *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*. **Soil Biology & Biochemistry**, v.28, n.10, p.1513 - 1521, 1996.

XIE, H.; PASTERNAK, J.J.; GLICK, B.R. Isolation and characterization of mutants of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 that overproduce indoleacetic acid. **Current Microbiology**, v.32, p. 67 - 71, 1996.

ZHANG, S.; GAN, Y.; XU, B. Biocontrol potential of a native species of *Trichoderma longibrachiatum* against *Meloidogyne incognita*. **Applied Soil Ecology**. v. 94, p . 21 – 29. 2015.

CAPÍTULO 3

***Trichoderma* spp. E RESÍDUOS ORGÂNICOS NO CONTROLE INTEGRADO
DO MAL DO PANAMÁ**

***Trichoderma* spp. E RESÍDUOS ORGÂNICOS NO CONTROLE INTEGRADO DO MAL DO PANAMÁ**

Autor: Liane Santos Sales Souza

Orientadora: Ana Cristina Fermino Soares

RESUMO

O mal do Panamá, causado pelo fungo habitante de solo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, gera significativos prejuízos econômicos aos produtores de banana no mundo inteiro. O controle desta doença envolve o uso de variedades resistentes, rotação de culturas e melhoria nas características físicas e químicas do solo. O uso de defensivos agrícolas, como os benzimidazóis, não tem sido eficiente. O controle biológico com *Trichoderma* e adubação orgânica vêm sendo apontado como alternativa para o controle de patógenos que afetam culturas de importância econômica. O objetivo deste trabalho foi avaliar a integração do potencial de *Trichoderma* aliado à adubação orgânica e periodicidade de inoculação, no controle do mal do Panamá em mudas de bananeira cultivar FHIA 01 R*, um híbrido tetraplóide do grupo AAAB que apresenta resistência quantitativa à doença. Os isolados TCS 10, TCS 29 e TCS 40 de *Trichoderma harzianum* e o isolado TCS 78 de *T. longibrachiatum* foram avaliados, associados a quatro resíduos orgânicos: bagaço de cana, raspas de mandioca, palha de bananeira e parte aérea de gliricídia. Os tratamentos com a incorporação no solo de bagaço de cana e de gliricídia foram os que mais se destacaram na promoção do crescimento com aumento da biomassa total da planta em até 255%, em relação aos demais tratamentos. A associação de *Trichoderma* com os resíduos orgânicos promoveu bons resultados no controle da doença. *T. harzianum* (TCS 29) proporcionou a redução em até 90% na incidência e severidade do mal do Panamá em todos os tratamentos com resíduos orgânicos incorporados no solo. A aplicação de *T. harzianum* (TCS 40) associado a incorporação de bagaço de cana de açúcar e raspa de mandioca no solo promoveu 100% de controle do mal do Panamá para este híbrido de bananeira. A periodicidade de aplicação do *Trichoderma* spp. não influenciou no controle da doença.

Palavras-chave: banana, mal do Panamá, antagonismo.

***Trichoderma* spp. AND ORGANIC RESIDUES FOR THE INTEGRATED CONTROL OF PANAMA DISEASE**

Author: Liane Santos Souza Sales

Advisor: Ana Cristina Soares Fermino

ABSTRACT

Panama disease, caused by the soil-born fungi *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, generates significant economic losses for banana producers worldwide. The control of this disease involves the use of resistant varieties, crop rotation and improvement of soils physical and chemical properties. The use of pesticides, such as benzimidazoles has not been efficient. Biological control with *Trichoderma* and organic fertilizer have been pointed out as alternatives for the control of pathogens that affect economically important crops. The objective of this study was to evaluate the integrated potential of *Trichoderma* combined with organic matter and inoculation frequencies for Panama disease control with banana plants FHIA 01 R*, a hybrid of tetraploid AAAB group with quantitative resistance to this disease. Isolates TCS 10, TCS 29 and TCS 40 of *Trichoderma harzianum* and isolate TCS 78 of *T. longibrachiatum* were evaluated, associated with four organic residues: sugar cane bagasse, cassava peeling residues, banana leaves and aerial parts of gliricidia (*Gliricidia sepium*). The treatments with soil incorporation of sugarcane bagasse and gliricidia were the most outstanding ones in promoting plant growth with an increase in total plant biomass of up to 255%, compared to the other treatments. The association of *Trichoderma* with organic residues promoted good results for disease control. *T. harzianum* (TCS 29) caused up to 90% reduction in the incidence and severity of Panama disease in all evaluated treatments with the organic residues incorporated into the soil. The application of *T. harzianum* (TCS 40) associated with soil incorporation of sugarcane bagasse and peeling residues, promoted 100% control of Panama disease for this banana hybrid. The frequency of *Trichoderma* applications had no effect on disease control.

Key-words: banana, Panama disease, antagonism.

INTRODUÇÃO

O mal do Panamá é uma doença vascular destrutiva que afeta a produção de banana (*Musa* spp.), principalmente nas regiões tropicais, causando a morte prematura de plantas adultas, próximo ou durante o florescimento, com perdas na cultura de até 100% da produção, a depender do grau de incidência e severidade (PEREIRA et al., 2005; PLOETZ, 2015).

O impacto desta doença é extremamente severo, podendo causar o colapso dessa atividade agrícola, refletindo gravemente na economia local (SANTOS et al., 2011; WANG et al., 2013).

O agente etiológico da doença é o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, que possui três raças que afetam a bananeira. Destacam-se em importância as raças 1, 2 e 4, as quais não são distinguidas morfológicamente, sendo que a 4 se subdivide em tropical e subtropical, a depender da capacidade de infectar plantas do subgrupo Cavendish (PLOETZ, 2006; SILVA, 2009).

Várias estratégias são apontadas para o controle do mal do Panamá, tais como a melhoria da qualidade de solo e uso de variedades resistentes respeitando as demandas de mercado (SILVA et al., 2004). Cita-se ainda a rotação de culturas (WANG et al., 2015) e o controle biológico podendo ser usadas de forma integrada, visto que defensivos químicos, como os benzimidazóis, não são eficientes (SHEN et al., 2013).

Fungos do gênero *Trichoderma* estão entre os mais estudados como agentes de biocontrole, podendo atuar por mecanismos de antibiose, competição, hiperparasitismo e indução de resistência no hospedeiro (HARMAN, 2000). Estes favorecem a planta na tolerância a estresses ambientais e atuam na solubilização e sequestro de nutrientes inorgânicos (MUKHERJEE et al., 2013) e inativação de enzimas dos patógenos (MENEZES et al., 2010).

A depender dos resultados que se pretende obter e das cultivares a serem utilizadas, existem várias formas para aplicação de *Trichoderma*, tais como: incorporação ao substrato ou solo antes do plantio, misturado ao solo em canteiros, por meio de rega ou adição de granulados, ou ainda pelo tratamento de sementes e pulverização de folhas (PEREIRA, 2012).

A depender do ambiente e manejo do patossistema, são relatadas várias formas de aplicação de *Trichoderma* spp. para um manejo eficiente de doenças

em diversas culturas. Paula Júnior et al., (2009) afirmaram que apenas uma aplicação seria eficaz, 10 a 25 dias após a germinação das sementes. Outros autores como De Meyer et al., (1998) e Abeysinghe, (2009) indicam aplicações sete dias após a inoculação do patógeno. Entretanto, Chagas Junior et al., (2014) relataram que aplicações de *Trichoderma* 15 dias após o plantio são eficazes, sem a necessidade de reaplicações.

As práticas agrícolas com a incorporação de matéria orgânica no solo estimulam a atividade de populações microbianas que podem ter ação antagônica a patógenos (RODRIGUEZ-KÁBANA et al., 1994; HALBRENDT; LAMONDIA, 2004). Neste processo são disponibilizados compostos orgânicos que inibem agentes fitopatogênicos, induzem a resistência de plantas a doenças (BAREJA et al., 2010) e promovem melhorias na fertilidade e qualidade do solo (YIN et al., 2010; SHEN et al., 2013; REARDON et al., 2014).

Grandes quantidades de materiais orgânicos provenientes de resíduos de atividades agropecuárias podem ser agregados ao solo (GONZÁLEZ;CANTO-SÁENZ, 1993). Estes resíduos favorecem o aumento dos teores de carbono orgânico, a melhoria da textura, aeração, nutrição, retenção de água e diminuição da variação térmica no solo (SHINMURA, 2002; MOMMA et al., 2011; NÚÑEZ-ZOFÍO et al., 2011).

Este trabalho teve o objetivo de avaliar o controle do mal do Panamá de forma integrada através da inoculação de isolados de *Trichoderma*, em períodos diferenciados, associados a resíduos orgânicos, em mudas de bananeira da cultivar Prata Maravilha (FHIA 01) que apresenta resistência quantitativa a *F. oxysporum* f. sp. *cubense*.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos isolados de *Trichoderma*

Os isolados de *Trichoderma* pertencem à coleção do Laboratório de Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, campus de Cruz das Almas – BA e foram obtidos de solo de áreas de plantio de sisal da região sisaleira da Bahia. De acordo as características de crescimento e

antagonismo contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), observadas em testes preliminares, foram selecionados quatro isolados: *Trichoderma harzianum* (isolados TCS 10 e TCS 29) provenientes da cidade de Campo Formoso, *T. harzianum* (isolado TCS 40), proveniente da cidade de Retirolândia e *T. longibrachiatum* (isolado TCS 78), proveniente da cidade de Miguel Calmon, todas no estado da Bahia. As culturas foram reativadas em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) e incubadas a temperatura $25 \pm 1^\circ\text{C}$, por sete dias para a realização dos testes *in vitro* e *in vivo*.

Obtenção do isolado de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc)

O isolado de Foc, raça 1 (código 0801), obtido de pseudocaule de plantas de bananeira com sintomas do mal do Panamá, pertence à coleção de culturas do Laboratório de Fitopatologia da EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, na cidade de Cruz das Almas, Bahia. Para estes estudos, o isolado de Foc foi repicado em placas de Petri contendo meio de cultura BDA e incubado a temperatura ambiente ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), por sete dias.

Resíduos orgânicos para incorporação ao solo

Foram utilizados quatro resíduos orgânicos: parte aérea de gliricídia, raspas de casca de mandioca, palha de bananeira e bagaço de cana. A parte aérea de gliricídia (*Gliricidia sepium*) foi coletada de árvores da área experimental de zootecnia da UFRB (Universidade Federal do Recôncavo da Bahia), campus da cidade de Cruz das Almas – Bahia. As raspas de casca de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) e folhas de bananeira (*Musa* spp.) foram obtidas de uma propriedade rural, nas proximidades do campus da UFRB na cidade de Cruz das Almas, Bahia. O material foi deixado em local ventilado, secando ao sol por quatro dias para redução do teor de umidade, evitando a fermentação. Em seguida, o material passou por secagem em estufa de circulação forçada de ar, por um período de quatro dias a 45°C . O bagaço de cana (*Saccharum* spp.) foi obtido de estabelecimentos comerciais na cidade de Cruz das Almas, Bahia, após a retirada

do caldo de cana de açúcar e foi seco em estufa por um período de quatro dias a 45 °C. Após a secagem, todos os materiais orgânicos foram triturados em moinho do tipo Wiley, com peneira de 20 malhas por polegada e uma sub-amostra de cada resíduo foi enviada ao laboratório para a determinação dos teores de nutrientes (Tabela 1). Os materiais moídos foram armazenados em sacos plásticos hermeticamente fechados, a temperatura ambiente, até o momento de sua incorporação ao solo para os trabalhos com mudas de bananeira em casa de vegetação.

Tabela 1. Características químicas das amostras de bagaço de cana (BC), palha de bananeira (PB), raspas de mandioca (RM) e parte aérea de gliricídia (G), utilizados para incorporação ao solo de plantio de mudas de bananeira em casa de vegetação, associado a isolados de *Trichoderma*.

Substratos orgânicos	Macronutrientes (%)						Micronutrientes (ppm)					
	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Mn	Cu	Zn	B	Na
BC	0,4	0,1	1,5	0,1	0,1	1,28	900	15	1,1	8,5	1,6	400
PB	0,4	0,2	11,8	0,8	0,2	1,85	859	245	1,0	35,5	38,2	665
RM	0,6	0,1	0,6	0,3	0,1	1,13	970	85	1,3	26,5	34,8	410
G	0,6	0,2	2,0	0,8	0,3	2,14	335	40	1,0	28,5	73,4	115

Métodos: P, K, Ca e Mg - Digestão Úmida - H₂SO₄ + H₂O₂; B - espectrofotometria; Cu, N, S, Fe, Mn e Zn - Digestão Úmida - HNO₃ + HClO₄; Na - extração duplo ácido.

Crescimento *in vitro* de *Trichoderma* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* em areia + resíduos orgânicos

Em tubos de ensaio de vidro com dimensões de 25 cm de comprimento x 3 cm de diâmetro, e abertura nas duas extremidades, foram colocados 90g de substrato constituído de areia, resíduo orgânico e água na proporção de 2,5:1,25:1,0 (p:p:v), na região central do tubo, ocupando 10 cm da parte mediana interna destes. As extremidades dos tubos foram vedadas com algodão e papel laminado e estes foram esterilizados em autoclave a 120° C por 1h. Discos de micélio (1 cm ø) das culturas de *Trichoderma* spp. e de *Foc* foram transferidos para a superfície do substrato em cada uma das extremidades dos tubos e estes foram incubados em BOD a temperatura de 25 ± 1°C. A colonização do substrato pelo fungo foi avaliada por medições do crescimento micelial ao longo do

comprimento do tubo, com uma régua milimétrica, em dias consecutivos, até o crescimento micelial atingir todo o substrato no tubo. Foi considerado como sendo o melhor isolado aquele que colonizou todo o substrato em menor período. Foram utilizados quatro isolados de *Trichoderma*: *T. harzianum* (TCS 10, TCS 29 e TCS 40) e *T. longibrachiatum* (TCS 78), um isolado de Foc e quatro tipos de substrato, todos na mesma proporção (p:p:v). Os substratos foram constituídos por areia + glicíndia; areia + raspa de mandioca; areia + palha de bananeira e areia + bagaço de cana. Foram realizadas duas repetições por tratamento, totalizando 40 tubos. Foi calculada a taxa absoluta de crescimento dos isolados no substrato levando-se em consideração o comprimento final de cada um dos isolados do antagonista e do patógeno, dividido pelo número de dias do experimento.

Após a avaliação do crescimento micelial, determinou-se o número de unidades formadoras de colônias (UFCs) de *Trichoderma* e Foc no substrato pela técnica de diluição seriada e plaqueamento em meio de cultura. Para tal, preparou-se a suspensão de 10 g (peso úmido) de cada amostra do substrato colonizado pelo fungo em 90 mL de solução salina esterilizada, em frascos de Erlenmeyer com capacidade para 250 mL. Os frascos foram colocados em agitador orbital por 30 minutos. Em seguida, uma alíquota de 1 mL da suspensão foi transferida para tubo de ensaio contendo 9 mL de solução salina (0,85 % de NaCl) esterilizada e foram feitas diluições seriadas até alcançar a diluição de 10^{-6} . Alíquotas de 0,1 mL das diluições 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} foram transferidas para placas de Petri contendo meio seletivo TSM (0,2 g L⁻¹ de MgSO₄.7H₂O; 0,9 g L⁻¹ de KH₂PO₄; 0,15 g L⁻¹ de KCl; 1 g L⁻¹ de NH₄NO₃; 3 g L⁻¹ de dextrose; 0,15 g L⁻¹ de rosa de Bengala; 3 mL L⁻¹ de Tritom X100 e 2 mL L⁻¹ de Carbendazin) adaptado para o crescimento das UFC de *Trichoderma* e o meio BDA com 1 mL L⁻¹ de Tormicina[®], para quantificação das UFC do patógeno, com triplicata para cada diluição. As alíquotas foram espalhadas sobre o meio de cultura com uma alça de Drigalski esterilizada e as placas foram incubadas em BOD a temperatura de 25 ± 1°C, por três dias. Após incubação fez-se a contagem das colônias de cada fungo. A população do fungo, em unidades formadoras de colônia (UFC) por grama de substrato, foi calculada com base na equação: $UFC/g = N \times F \times Y$, sendo: N - o número de colônias, F = 10 (fator de correção do plaqueamento de 100 µL de suspensão por placa para 1 mL), Y - fator de diluição da amostra. Para a análise estatística, os dados foram transformados em $\log(x + 1)$, em que x corresponde

ao número de UFC. Os dados foram agrupados pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Potencial antagônico *in vitro* dos isolados de *Trichoderma* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Em tubos de 25 cm de comprimento x 3 cm de diâmetro, foram colocados 90g de substrato constituído de areia, flocos de milho e água na proporção de 2,5:1,25:1,0 (p:p:v), conforme descrito acima. Um disco (1 cm de \varnothing) de micélio do patógeno foi transferido para uma das extremidades do tubo e após 72 horas de incubação a temperatura de 25 ± 1 °C, um disco (1 cm de \varnothing) de micélio da cultura de *Trichoderma* foi transferido para a extremidade oposta. Os tubos foram incubados em BOD a 25°C, até o crescimento micelial atingir todo o substrato do tubo. Foram feitas três repetições por tratamento (antagonista x patógeno) e os controles com tubos contendo apenas o patógeno e apenas os isolados de *Trichoderma*, num total de 66 tubos.

O crescimento do patógeno e do *Trichoderma* foi avaliado por medições do crescimento micelial ao longo do tubo, com uma régua milimétrica, em dias consecutivos, desde a inoculação dos isolados antagonistas até o crescimento micelial atingir todo o substrato no tubo, observando-se as características de desenvolvimento de Foc na presença do *Trichoderma*.

Controle do mal do Panamá com *Trichoderma* spp.

Mudas micropropagadas e aclimatadas de bananeira da cultivar 'Prata Maravilha' (FHIA 01), um híbrido tetraplóide AAAB que apresenta resistência quantitativa à doença, foram obtidas da biofábrica da empresa Campo Biotecnologia Vegetal, localizada na Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, Bahia. Optou-se por esta cultivar como sugestão de integração de técnicas que sirvam de modelo para o manejo integrado do mal do Panamá. As mudas com altura de aproximadamente 15 cm foram transplantadas para sacos plásticos com capacidade de 2 kg contendo solo esterilizado e 10 g de resíduo

orgânico (dose equivalente a 10 t ha⁻¹), obtido conforme descrito acima. O solo foi coletado em área de pastagem do campus UFRB, na camada de 0 a 20 cm de profundidade e foi peneirado e esterilizado quimicamente com Basamid®, seguindo as recomendações do fabricante. As características químicas e físicas do solo utilizado estão descritas na tabela 2. O plantio das mudas ocorreu 90 dias após a esterilização do solo, para que não houvesse nenhum resíduo do tratamento químico.

Tabela 2. Características químicas do solo coletado em área de pastagem do campus de Cruz das Almas da UFRB (Universidade Federal do Recôncavo da Bahia), na profundidade de 0 a 20 cm, e utilizado para plantio das mudas de bananeira em casa de vegetação.

Macronutrientes													
pH (H ₂ O)	pH (CaCl ₂)	P	K	Ca	Mg	Ca+Mg	Al	Na	H+Al	SB	CTC	V	M.O
5,4	-	15	0,14	1,11	0,75	1,86	0,1	0,04	2,20	2,04	4,24	48	11,0
Micronutrientes													
Cu			Fe			Zn			Mn				
0,39			110,37			2,11			21,25				

Unidades: M.O. (g /kg); P (mg.dm⁻³); K, Ca, Mg, Ca+ Mg, Al, H+Al, SB e Na (cmolc.dm⁻³); V (%) Cu, Fe, Mn, Zn, (mg.dm⁻³). Métodos: pH em CaCl₂ (acidez ativa) - CaCl₂ 0,01 mol.L⁻¹; M.O.-Dicromato/Colorimétrico; Fósforo, Potássio, Cálcio e Magnésio - Resina trocadora de íons; H+Al (acidez potencial) - pH SMP; Cu, Fe, Mn e Zn - extração DTPA – TEA em pH 7,3; Na - extração duplo ácido.

O experimento foi conduzido em estufa agrícola na área experimental do campus de Cruz das Almas da UFRB. No momento do plantio, as mudas foram inoculadas com 10 mL de suspensão de *Trichoderma*, na concentração de 10⁶ conídios mL⁻¹, sendo o inóculo colocado no solo próximo às raízes. A suspensão de *Trichoderma* foi preparada com culturas crescidas em meio de cultura BDA (batata dextrose ágar), com incubação a temperatura ambiente (25 ± 1°C), por sete dias. Após esse período foram adicionados às culturas nas placas de Petri, 20 mL de água destilada esterilizada e duas gotas de Tween 20 e as colônias foram raspadas com alça de Drigalski. A suspensão foi filtrada com duas camadas de gaze esterilizada e os conídios foram contados em câmara de Neubauer, em microscópio óptico binocular LEICA®, modelo DM750. As suspensões de conídios foram ajustadas para 10⁶ conídios mL⁻¹ com acréscimo de água destilada estéril. Após 15 dias da primeira aplicação do *Trichoderma*, fez-se a inoculação do patógeno, no solo próximo às raízes, com 10 mL de uma suspensão aquosa de Foc, contendo 10⁶ conídios mL⁻¹. Esta suspensão de

conídios do patógeno foi preparada da seguinte forma: o substrato constituído por 500g de flocos de milho e 50g de areia na proporção de 10:1 (p:p) foi umedecido com 100 mL de água, homogeneizado, distribuído em frascos de Erlenmeyer de 250 mL e esterilizado em autoclave a 120 °C, durante 1 h (SILVA, 2010). O substrato foi infestado com quatro discos (5 mm de \varnothing) de micélio de *Foc*, crescido previamente por sete dias em BDA a temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Os frascos foram incubados a temperatura $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 20 dias. Após a incubação, todo o substrato colonizado foi diluído em 500 mL água destilada esterilizada, filtrado em peneira e dupla gaze estéril e a concentração de conídios na suspensão foi ajustada para 10^6 conídios mL^{-1} com acréscimo de água destilada estéril.

A cada 15 dias, fez-se a reinoculação com *Trichoderma*, na mesma concentração descrita acima, nas parcelas dos tratamentos com reinoculação do antagonista, até o momento da avaliação final do experimento, totalizando nestas parcelas, seis inoculações com *Trichoderma* durante 75 dias. O controle negativo constou da muda de bananeira plantada em solo esterilizado sem inoculação e o controle positivo foi constituído da muda em solo com o patógeno, nas mesmas condições, mas sem a inoculação do antagonista. As mudas foram irrigadas diariamente com água potável não esterilizada.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com 50 tratamentos, em esquema fatorial $4 \times 5 \times 2 + 10$ (quatro isolados de *Trichoderma*, codificados como TCS 10, TCS 29, TCS 40 e TCS 78 x cinco substratos diferenciados (solo; solo + glicíndia; solo + raspa de mandioca; solo + palha de bananeira e solo + bagaço de cana) x dois períodos de inoculação dos possíveis antagonistas (uma aplicação no plantio e aplicações quinzenais) mais os dez controles, com 10 repetições.

Após 75 dias do plantio das mudas de bananeira, as plantas foram coletadas, sendo analisadas a incidência e severidade da doença, utilizando-se a escala de notas proposta por Cordeiro e Dantas, (1993) (Tabela 3) e a produção de matéria fresca e seca da parte aérea e raízes.

Tabela 3. Escala de notas para avaliação de incidência e severidade de mal do Panamá em mudas de bananeira (Cordeiro e Dantas, 1993).

Nota	Característica
1	Sem descoloração do tecido vascular, apresentando-se totalmente claro;
2	Pontos isolados de descoloração no tecido vascular;
3	Descoloração em 1/3 do tecido vascular;
4	Descoloração entre 1/3 e 2/3 do tecido vascular;
5	Descoloração maior que 2/3 do tecido vascular;
6	Descoloração total do tecido vascular.

O índice de severidade da doença foi calculado com a equação proposta por Cirulli e Alexander (1966), atribuindo-se notas de 1 a 6, de acordo com escala de avaliação de sintomas proposta por Cordeiro e Dantas (1993).

Equação:

$$\text{Índice de severidade da doença} = \frac{100 \times \sum (\text{nota da escala} \times \text{frequência})}{(\text{nota máxima da escala} \times \text{n}^\circ \text{ de repetições})}$$

Realizou-se a análise de agrupamento para incidência e severidade da doença baseado em distância Euclidiana, utilizando o método UPGMA com 10000 permutações pelo programa estatístico R.

As análises estatísticas para as variáveis de massa fresca, massa seca da parte aérea e radicular foram feitas com testes de modelos lineares generalizados com distribuição gama e função de ligação log, sendo as médias analisadas através do teste Bonferroni ($p < 0,05$) pelo programa estatístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk ($p < 0,05$).

População de *Trichoderma* spp. e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* no solo com resíduos orgânicos

As populações do antagonista e do patógeno no solo foram quantificadas ao final do experimento. Cada amostra foi constituída da junção de sub-amostras de solo das 10 parcelas de cada tratamento, as quais foram homogeneizadas, totalizando 50 amostras de solo. As diluições seriadas e o plaqueamento para contagem da UFC foram realizadas conforme descrito acima. Das diluições 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} , uma alíquota de 0,1 mL foi transferida para placas de Petri contendo meio seletivo TSM adaptado para o crescimento de *Trichoderma* e o meio BDA com 1 mL L^{-1} de Tormicina[®] para o crescimento do patógeno. As placas foram incubadas em BOD a 25° C, por três dias e fez-se a contagem das colônias. As populações de *Trichoderma* e Foc foram determinadas pela contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) e o cálculo com a equação $\text{UFC/g} = N \times F \times Y$ sendo: N - o número de colônias, F = 10 (fator de correção do plaqueamento de 100 μL de suspensão por placa para 1 mL), Y - fator de diluição da amostra. As análises estatísticas foram realizadas por testes de modelos lineares generalizados com distribuição gama e função de ligação log, sendo as médias analisadas através do teste Bonferroni ($p < 0,05$) pelo programa estatístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciencies). A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk ($p < 0,05$).

Colonização de mudas de bananeira por *Trichoderma* em solo com resíduos orgânicos

A avaliação da colonização das plantas de bananeira (raízes, pseudocaule e folhas) por *Trichoderma* foi realizada imediatamente após a coleta das plantas. Fragmentos de 1 cm de tecidos de folha, pseudocaule e raízes de cinco plantas de cada tratamento foram cortados e desinfestados pela imersão em soluções de álcool 70% (1 minuto), hipoclorito de sódio 1% (30 segundos), novamente álcool 70% (30 segundos) seguido de três lavagens consecutivas em água destilada esterilizada. Em seguida, em câmara de fluxo laminar, os tecidos foram cortados em fragmentos de 5 mm com bisturi esterilizado e dez fragmentos de cada tecido

foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultivo TSM adaptado e incubados em BOD a temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ por três dias, para observação do crescimento de *Trichoderma*. A colonização foi avaliada pela contagem do número de fragmentos de raiz, de pseudocaule e folha de bananeira com crescimento micelial de *Trichoderma*, sendo determinada a frequência de fragmentos colonizados pelo fungo (fragmentos colonizados em relação ao número total de fragmentos semeados em meio TSM adaptado). Os dados foram transformados pela fórmula $\log(x+1)$, para normalização dos dados, e submetidos a análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de agrupamentos de médias de Scott-Knott ($p\leq 0,05$) utilizando o programa estatístico SISVAR v. 4.0 (FERREIRA, 2000).

RESULTADOS

Avaliação do desenvolvimento *in vitro* de *Trichoderma* spp. e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* em areia + resíduos orgânicos

O *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* apresentou crescimento micelial lento, comparado ao crescimento dos isolados de *Trichoderma*, com menos de 0,3 cm por dia, ao longo do substrato composto por areia e resíduos orgânicos, com maior taxa de crescimento no substrato com gliricídia (0,4 cm/dia) e raspas de mandioca (0,5 cm/dia) (Figura 1 e Tabela 4).

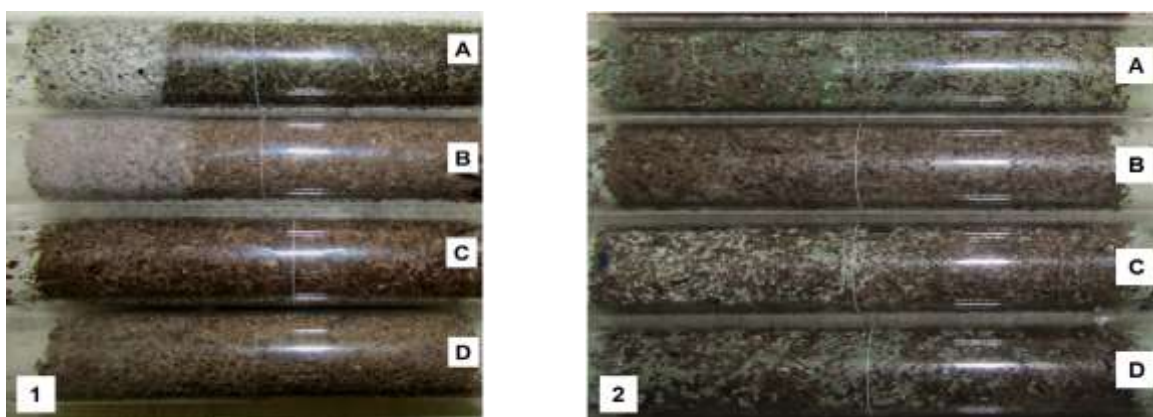


Figura 1. (1) Crescimento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* no substrato composto por areia e resíduos orgânicos: A – areia + gliricídia; B – areia + raspas de Mandioca; C – areia + palha de bananeira; D – areia + bagaço de cana. (2) Crescimento de *Trichoderma* spp. no substrato de areia com palha de bananeira: A- TCS 29; B- TCS 10; C- TCS 40 e D- TCS 78. Crescimento após 10 dias de incubação a temperatura ambiente.

O isolado *T. harzianum* (TCS 10) apresentou os maiores índices de velocidade de crescimento micelial nos substratos avaliados, quando comparado com Foc, com crescimento médio de 2 cm/dia (Tabela 4) e, após seis dias de inoculação, já apresentava colonização em toda extensão do substrato, com destaque para os substratos com palha de bananeira, bagaço de cana e raspas de mandioca. No substrato contendo gliricídia, *T. harzianum* (TCS 10) apresentou 0,8 cm/dia de crescimento micelial, menor valor comparado aos outros substratos.

Tabela 4. Valores absolutos de crescimento micelial (após seis dias de incubação) e unidades formadoras de colônias (UFC. g⁻¹)(após 10 dias de incubação) dos isolados de *Trichoderma* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* em substrato formado por areia e resíduos orgânicos.

Substratos	Isolado	Crescimento micelial (cm/dia)	UFC g ⁻¹ de substrato
Areia + Bagaço de cana	Foc	0,1	1,2 x 10 ⁷ c
	TCS 10	1,3	3,0 x 10 ⁷ c
	TCS 29	1,3	5,0 x 10 ⁵ c
	TCS 40	1,5	2,0 x 10 ⁷ c
	TCS 78	1,5	5,0 x 10 ⁸ a
Areia + Palha de bananeira	Foc	0,1	1,0 x 10 ⁶ c
	TCS 10	1,5	5,5 x 10 ⁸ a
	TCS 29	1,7	3,6 x 10 ⁸ b
	TCS 40	1,7	9,0 x 10 ⁸ a
	TCS 78	1,7	3,2 x 10 ⁷ c
Areia + Gliricídia	Foc	0,4	1,6 x 10 ⁷ c
	TCS 10	0,8	6,0 x 10 ⁷ c
	TCS 29	0,9	3,7 x 10 ⁸ b
	TCS 40	0,9	1,6 x 10 ⁶ c
	TCS 78	0,9	1,8 x 10 ⁶ c
Areia + Raspa de mandioca	Foc	0,5	1,0 x 10 ⁷ c
	TCS 10	1,3	7,0 x 10 ⁸ a
	TCS 29	1,4	3,0 x 10 ⁸ c
	TCS 40	1,3	7,0 x 10 ⁸ a
	TCS 78	1,7	2,6 x 10 ⁸ b

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Scott & Knott ($p \leq 0,05$).

O substrato com palha de bananeira proporcionou o melhor desenvolvimento de *Trichoderma*, no qual, *T. harzianum* (TCS 29 e TCS 40) e *T. longibrachiatum* (TCS 78) apresentaram crescimento micelial diário de 1,7 cm.

O substrato de bagaço de cana favoreceu ao desenvolvimento dos isolados de *Trichoderma* e inibiu o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

O substrato com gliricídia não favoreceu ao antagonista, mas favoreceu o *Fusarium*, não sendo recomendado para a produção de mudas de bananeira. De maneira geral, observou-se que o *Fusarium* apresentou os menores índices de crescimento em todos os substratos testados. Foi verificado também que no substrato com palha de bananeira, o *Fusarium* apresentou 1×10^6 UFC g⁻¹ de substrato, uma diminuição em relação aos demais substratos com resíduos orgânicos.

Com relação à população do *Trichoderma*, os substratos com palha de bananeira e raspas de mandioca proporcionaram os melhores resultados, com os maiores índices de crescimento e diferença significativa quando comparado aos demais avaliados. Os isolados de *T. harzianum* (TCS 10 e TCS 40) apresentaram melhor colonização no substrato com a adição de raspas de mandioca, obtendo 7×10^8 UFC g⁻¹ para ambos os isolados e no substrato com a adição de palha de bananeira, atingindo a população de $5,5 \times 10^8$ e 9×10^8 UFC g⁻¹ respectivamente, com destaque para *T. harzianum* (TCS 40) que apresentou os maiores índices de colonização no substrato com palha de bananeira com 9×10^8 UFC g⁻¹ de substrato.

Avaliação do potencial antagônico *in vitro* dos isolados de *Trichoderma* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* em substrato com resíduos orgânicos

Em todos os tratamentos dos testes de pareamento realizados com *Trichoderma* e Foc em tubos de ensaio contendo o substrato areia + resíduos orgânicos, após seis dias de incubação observou-se inibição do crescimento do patógeno, com observação de evidências de competição e micoparasitismo, com o micélio do antagonista crescendo e entrelaçando-se na área de desenvolvimento do patógeno.

Analisando os substratos separadamente, observa-se que nos tratamentos com adição de palha de bananeira, todos os isolados de *Trichoderma* cresceram

mais que o *Fusarium*, que apresentou crescimento micelial médio em torno de 3 cm da extensão dos tubos, indicando que o substrato favorece ao desenvolvimento do antagonista.

No substrato com raspas de mandioca, os isolados de *Trichoderma* cresceram em sobreposição, entrelaçados e na mesma proporção do patógeno, que apresentou crescimento micelial médio de 5 cm da extensão dos tubos de ensaio, indicando uma possível ação de micoparasitismo.

Em substrato com bagaço de cana o crescimento médio do patógeno foi de 4,3 cm ao longo do tubo e apenas os isolados TCS 29, TCS 40 e TCS 10 de *T. harzianum* cresceram em sobreposição e entrelaçados ao patógeno.

O substrato com gliricídia favoreceu o patógeno (5,5 cm da extensão dos tubos), comparando-se aos outros avaliados. Também foi verificado que o crescimento micelial dos isolados de *Trichoderma* não sobrepôs o micélio do patógeno. *T. harzianum* (TCS 40) foi o primeiro a alcançar o micélio de Foc, seguido de *T. harzianum* (TCS 29 e TCS 10) e *T. longibrachiatum* (TCS 78) que produziu alterações na coloração do meio de cultivo, evidenciando a produção de metabólitos.

Controle do mal do Panamá em plantas de bananeira, por isolados de *Trichoderma* e resíduos orgânicos

Após 12 dias da inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* nas mudas de bananeira, começaram a aparecer os primeiros sintomas de amarelecimento e rachaduras na base das folhas, nas plantas do controle positivo, tratamento que só recebeu a inoculação do patógeno. Nas mudas tratadas com *Trichoderma*, sem a adição ao solo dos resíduos orgânicos, o início dos sintomas foi aos 16 dias após a inoculação do patógeno. Nos tratamentos com a combinação de *Trichoderma* e solo com resíduos orgânicos, os sintomas de amarelecimentos das folhas tiveram início 22 dias após a inoculação do patógeno. As mudas plantadas em solo sem adição de resíduos orgânicos, com aplicações de *Trichoderma* apresentaram incidência do mal do Panamá acima de 40%. Destaca-se o tratamento com o isolado *T. harzianum* (TCS 29) que, nas mesmas condições do solo, promoveu a redução na incidência da doença em 90%, com apenas uma

inoculação no momento do plantio e em 70%, com seis inoculações (Tabela 5 e Figuras 2 e 3).

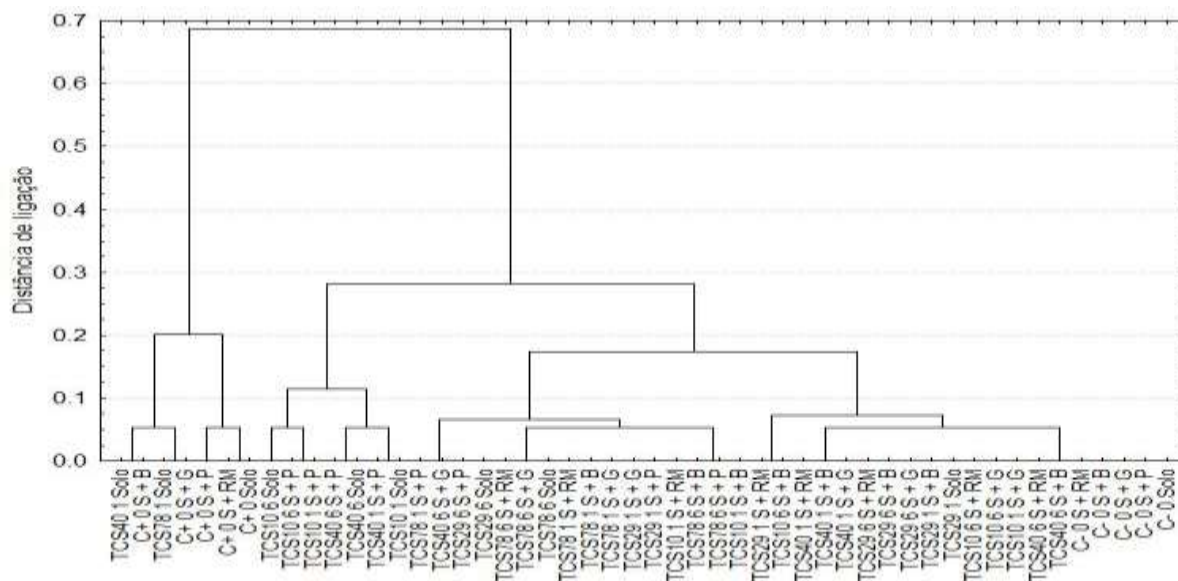


Figura 2. Representação gráfica da análise de agrupamento em função da incidência do mal do Panamá em mudas de bananeira inoculadas com isolados de *Trichoderma*. Controle negativo (C-) sem inoculação com os isolados de antagonista e do patógeno e Controle positivo (C+) inoculação apenas com o patógeno. Análise de agrupamento baseado em distância Euclidiana, utilizando o método UPGMA com 10000 permutações.

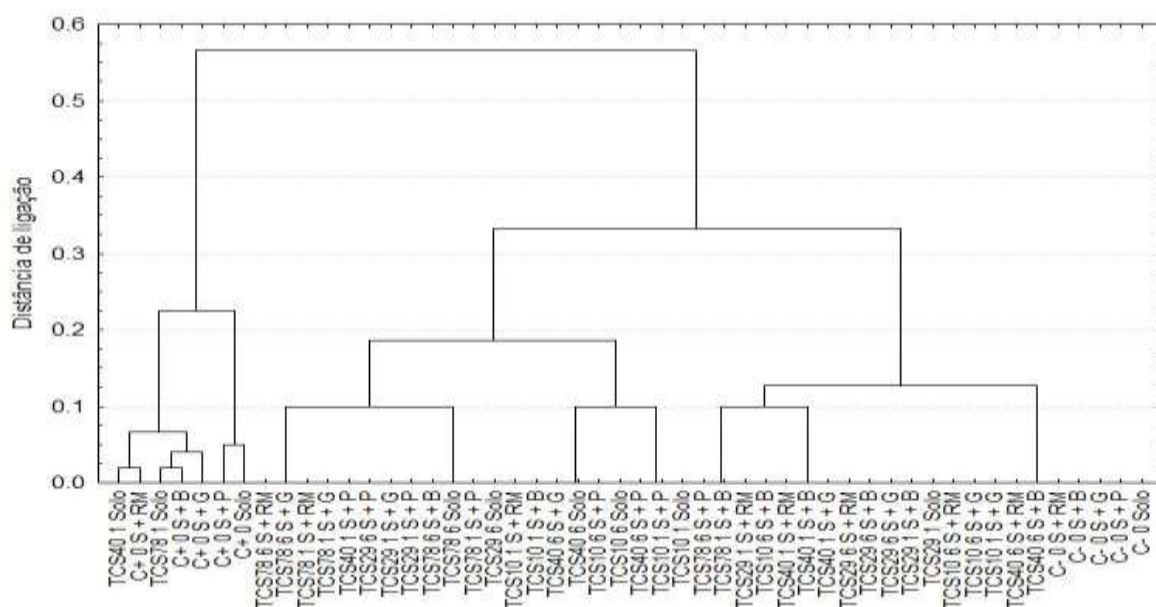


Figura 3. Representação gráfica da análise de agrupamento em função da incidência mal do Panamá em mudas de bananeira inoculadas com isolados de *Trichoderma*. Controle negativo (C-) sem inoculação dos isolados de antagonista e patógeno e Controle positivo (C+) inoculado apenas o patógeno. Análise de agrupamento baseado em distância Euclidiana, utilizando o método UPGMA com 10000 permutações.

Tabela 5. Incidência e severidade do mal do Panamá e notas mais altas obtidas de acordo com escala proposta por Cordeiro e Dantas (1993), em mudas de bananeira com 75 dias de cultivo, inoculadas com periodicidades distintas com isolados de *Trichoderma* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*. Controle negativo - sem inoculação do antagonista e do patógeno e Controle positivo - inoculado apenas com o patógeno. (1 – uma aplicação dos antagonistas no momento do plantio; 6 – total de aplicações dos antagonistas feitas quinzenalmente; S - solo; SC - solo + bagaço de cana; SG - solo + gliricídia; SM - solo + raspas de mandioca; SP - solo + palha de bananeira).

Isolado	Número de inoculações	Substrato	Incidência (%)	Severidade (%)	Nota mais alta observada
Controle negativo		Solo	0	0	1
		S + P	0	0	1
		S + G	0	0	1
		S + B	0	0	1
		S + RM	0	0	1
Controle positivo		Solo	100	36	5
		S + P	95	38	5
		S + G	75	30	5
		S + B	72	28	5
		S + RM	78	36	5
TCS 10	1	Solo	60	18	3
		S + P	60	12	2
		S + G	10	2	2
		S + B	30	6	2
		S + RM	30	8	3
	6	Solo	50	14	4
		S + P	50	12	3
		S + G	10	2	2
		S + B	20	4	2
		S + RM	10	2	2
TCS 29	1	Solo	10	2	2
		S + P	40	8	2
		S + G	40	8	2
		S + B	10	2	2
		S + RM	20	4	2
	6	Solo	30	10	3
		S + P	40	10	3
		S + G	10	2	2
		S + B	10	2	2
		S + RM	10	2	2
TCS 40	1	Solo	80	28	5
		S + P	40	18	6
		S + G	10	2	2
		S + B	10	2	2
		S + RM	10	2	2
	6	Solo	50	16	3
		S + P	60	16	3
		S + G	50	10	2
		S + B	0	0	1
		S + RM	0	0	1
TCS 78	1	Solo	70	30	5
		S + P	30	10	4
		S + G	40	8	2
		S + B	20	8	4
		S + RM	40	8	2
	6	Solo	30	8	3
		S + P	20	6	3
		S + G	40	8	2
		S + B	30	6	2
		S + RM	40	8	2

Nos tratamentos onde não ocorreu a inoculação de *Trichoderma*, (controles positivos) foram observados percentuais de incidência do mal do Panamá acima de 70%. A periodicidade de inoculações não interferiu nos percentuais de incidência da doença nas mudas produzidas no solo com resíduos orgânicos.

Nos tratamentos com adição de resíduos orgânicos ao solo, os maiores percentuais de incidência da doença foram observados nos tratamentos com adição de palha de bananeira, com valores acima de 40%, para os tratamentos com os isolados *T. harzianum* (TCS 10, TCS 29 e TCS 40), e exceção para *T. longibrachiatum* (TCS 78) que proporcionou redução na incidência de plantas doentes com índices menores que 30%.

A doença não foi observada nas mudas plantadas em solo com adição de bagaço de cana e raspa de mandioca e inoculações de *T. harzianum* (TCS 40) feitas quinzenalmente. A associação de *T. harzianum* (TCS 29) com os substratos avaliados proporcionou a diminuição da incidência da doença, quando comparado aos demais tratamentos, com reduções de até 90%.

Os maiores índices de severidade foram observados nas plantas do controle positivo (tratamento apenas com o patógeno e substratos orgânicos) e nos tratamentos com *T. harzianum* (TCS 40) e *T. longibrachiatum* (TCS 78) com apenas uma aplicação em solo sem resíduo orgânico, que não apresentaram efeito de biocontrole (Tabela 5).

A periodicidade de inoculações do antagonista interferiu na incidência da doença, no tratamento com *T. harzianum* (TCS 40) com raspa de mandioca e bagaço de cana, mas não houve influência na severidade da doença, nas mudas plantadas em solo com os resíduos orgânicos.

O isolado de *T. harzianum* (TCS 29) promoveu os maiores índices de redução da severidade da doença com a adição dos resíduos orgânicos, com diminuição de até 90% dos sintomas internos do mal do Panamá, para todos os resíduos orgânicos avaliados.

Avaliação da colonização de mudas de bananeira por *Trichoderma*

Todos os isolados de *Trichoderma* avaliados neste estudo colonizaram as raízes e o pseudocaule das mudas de bananeira.

O isolado de *T. longibrachiatum* (TCS 78) proporcionou o melhor resultado para frequência de colonização das raízes das mudas de bananeira com apenas uma aplicação, em solo com adição de gliricídia. Entretanto, este resultado não diferiu estatisticamente de *T. harzianum* (TCS 10 e TCS 40) que também promoveram resultados satisfatórios para este tipo de substrato (Tabela 6).

A periodicidade de inoculação do antagonista não interferiu nos percentuais de colonização dos tecidos internos das plantas produzidas no solo com resíduos orgânicos, não havendo diferença significativa para a periodicidade de aplicação dos isolados antagonísticos no solo.

T. longibrachiatum (TCS 78), também se destacou na colonização do pseudocaule, sem a adição de substrato orgânico e com apenas uma aplicação, mas sem diferença estatística em relação a *T. harzianum* (TCS 40), nas mesmas condições e também para os tratamentos do mesmo isolado, com aplicações quinzenais e os resíduos de raspas de mandioca, bagaço de cana e palha de bananeira. *T. harzianum* (TCS 10) apresentou os melhores resultados para colonização dos tecidos internos das folhas, no tratamento com adição de bagaço de cana e apenas uma aplicação. Entretanto, sem diferença significativa para *T. longibrachiatum* (TCS 78), em aplicações quinzenais e o mesmo tipo de substrato.

Não foi observada colonização interna das folhas com *T. harzianum* (TCS 10, com uma aplicação e TCS 29, com aplicações quinzenais) em solo sem adição de matéria orgânica e com *T. harzianum* (TCS 40) em solo com adição de bagaço de cana (Tabela 6).

Tabela 6. Frequência de colonização histológica *in vitro* de mudas de bananeira por isolados de *Trichoderma* inoculadas com periodicidades distintas e 75 dias de cultivo. Controle negativo - sem inoculação do antagonista e do patógeno e Controle positivo - inoculado apenas com o patógeno. (1 – uma aplicação dos antagonistas no momento do plantio; 6 – total de aplicações dos antagonistas feitas quinzenalmente; S - solo; SC - solo + bagaço de cana; SG - solo + glicírdia; SM - solo + raspas de mandioca; SP - solo + palha de bananeira).

Tratamento	Número de inoculações	Tipo de Substrato	Frequência de colonização (%)		
			Raiz	Pseudocaule	Folha
Controle negativo		S	0,0 c	0,0 c	0,0 c
		S + P.B.	0,0 c	0,0 c	0,0 c
		S + G	0,0 c	0,0 c	0,0 c
		S + B.C.	0,0 c	0,0 c	0,0 c
		S + R.M.	0,0 c	0,0 c	0,0 c
Controle positivo		S	0,0 c	0,0 c	0,0 c
		S + P.B.	0,0 c	0,0 c	0,0 c
		S + G	0,0 c	0,0 c	0,0 c
		S + B.C.	0,0 c	0,0 c	0,0 c
		S + R.M.	0,0 c	0,0 c	0,0 c
TCS 10	1	S	3,8 b	3,0 b	0,0 c
		S + P.B.	1,8 c	2,6 b	2,2 b
		S + G	8,0 a	4,0 b	2,2 b
		S + B.C.	5,4 b	2,8 b	4,4 a
		S + R.M.	5,4 b	1,8 b	0,4 c
	6	S	5,6 b	2,6 b	0,2 c
		S + P.B.	4,8 b	5,2 a	0,4 c
		S + G	6,0 a	2,6 b	2,0 b
		S + B.C.	6,2 a	2,8 b	2,0 b
		S + R.M.	6,0 a	2,6 b	0,2 c
TCS 29	1	S	4,0 b	1,4 b	0,8 c
		S + P.B.	5,0 b	1,6 b	0,4 c
		S + G	6,4 b	4,4 b	0,2 c
		S + B.C.	7,6 a	2,4 b	0,8 c
		S + R.M.	5,4 b	4,0 b	0,6 c
	6	S	4,0 b	3,4 b	0,0 c
		S + P.B.	6,4 a	4,2 b	0,4 c
		S + G	5,4 b	2,6 b	2,0 b
		S + B.C.	5,0 b	2,4 b	0,4 c
		S + R.M.	6,4 a	2,6 b	1,4 c
TCS 40	1	S	7,8 a	5,2 a	0,6 b
		S + P.B.	6,0 a	3,0 b	0,4 b
		S + G	7,4 a	4,0 b	1,0 c
		S + B.C.	4,6 b	3,2 b	0,2 c
		S + R.M.	3,8 b	2,8 b	1,2 c
	6	S	2,8 c	2,8 b	0,2 c
		S + P.B.	5,8 b	5,4 a	0,2 c
		S + G	6,6 a	2,8 b	1,0 c
		S + B.C.	3,4 b	1,2 b	0,0 c
		S + R.M.	6,6 a	2,4 b	0,2 c
TCS 78	1	S	4,6 b	7,0 a	2,4 b
		S + P.B.	4,6 b	2,2 b	1,6 c
		S + G	9,2 a	3,4 b	1,4 c
		S + B.C.	5,8 b	1,2 b	1,4 c
		S + R.M.	8,6 a	3,8 b	0,8 c
	6	S	5,6 b	1,2 b	0,2 c
		S + P.B.	4,4 b	5,2 a	0,4 c
		S + G	7,6 a	4,2 b	1,6 c
		S + B.C.	6,0 a	6,0 a	3,4 a
		S + R.M.	8,0 a	6,2 a	0,2 c

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Scott- Knott ($p \leq 0,05$).

Quantificação da população de *Trichoderma* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* no solo

Reaplicações do antagonista não interferiram no desenvolvimento das populações (em UFC g⁻¹) tanto de *Trichoderma* quanto de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* no solo, não havendo diferença significativa entre os períodos de inoculação avaliados. Os maiores valores foram de $1,5 \times 10^8$ UFC g⁻¹ de solo apresentados por *T. longibrachiatum* (TCS 78), aplicado quinzenalmente em solo com a adição de bagaço de cana. Entretanto, sem diferença significativa para *T. harzianum* (TCS 10) que apresentou $2,4 \times 10^7$ UFC g⁻¹ de solo com a adição de raspas de mandioca e apenas uma aplicação no momento do plantio (Tabela 7).

Os tratamentos sem adição de substratos orgânicos, mas com diferentes periodicidades de inoculação dos isolados de *Trichoderma* no solo não apresentaram população elevada de *Trichoderma*, com diferença apenas para *T. longibrachiatum* (TCS 78) com aplicações quinzenais. A adição de resíduos orgânicos ao solo favoreceu o desenvolvimento do fungo antagonista e interferiu negativamente no desenvolvimento da população do patógeno no solo.

A adição do bagaço de cana e gliricídia favoreceu o crescimento da população do patógeno no solo. Os tratamentos com *T. harzianum* (TCS 10) e uma inoculação e com bagaço de cana (2×10^6 UFC g⁻¹); aplicações quinzenais de *T. harzianum* (TCS 29) com gliricídia ($4,8 \times 10^5$ UFC g⁻¹) e palha de bananeira (2×10^6 UFC g⁻¹); uma aplicação de *T. harzianum* (TCS 40) com palha de bananeira e bagaço de cana ($9,5 \times 10^5$ UFC g⁻¹ para ambos) e uma aplicação de *T. longibrachiatum* (TCS 78) com palha de bananeira ($9,5 \times 10^5$ UFC g⁻¹), foram os que mais inibiram o crescimento da população de Foc em solo (Tabela 7).

Tabela 7. Populações de *Trichoderma* e Foc (UFC g⁻¹) em solo após 75 dias de plantio de mudas de bananeira inoculadas com periodicidades distintas. Controle negativo - sem inoculação do antagonista e do patógeno e Controle positivo - inoculado apenas com o patógeno. (1 – uma aplicação dos antagonistas no momento do plantio; 6 – total de aplicações dos antagonistas feitas quinzenalmente; S - solo; SC - solo + bagaço de cana; SG - solo + gliricídia; SM - solo + raspas de mandioca; SP - solo + palha de bananeira).

Tratamento	Número de inoculações	Tipo de resíduo	UFC g ⁻¹ de <i>Trichoderma</i>	UFC g ⁻¹ de Foc
Solo do controle negativo		S	0,0 d	0,0 d
		S + P.B.	0,0 d	0,0 d
		S + G.	0,0 d	0,0 d
		S + B.C.	0,0 d	0,0 d
		S + R.M.	0,0 d	0,0 d
Solo do controle positivo		S	0,0 d	9,0 x 10 ⁶ a
		S + P.B.	0,0 d	5,6 x 10 ⁶ b
		S + G.	0,0 d	1,2 x 10 ⁷ a
		S + B.C.	0,0 d	1,3 x 10 ⁷ a
		S + R.M.	0,0 d	1,6 x 10 ⁷ a
TCS 10	1	S	2,2 x 10 ⁶ c	3,4 x 10 ⁶ b
		S + P.B.	3,3 x 10 ⁶ b	2,0 x 10 ⁶ c
		S + G.	1,6 x 10 ⁶ c	2,8 x 10 ⁶ b
		S + B.C.	1,0 x 10 ⁶ c	2,3 x 10 ⁶ b
		S + R.M.	2,4 x 10 ⁷ a	4,2 x 10 ⁶ b
	6	S	1,3 x 10 ⁶ c	1,2 x 10 ⁶ c
		S + P.B.	1,0 x 10 ⁶ c	1,4 x 10 ⁶ c
		S + G.	1,6 x 10 ⁶ c	3,3 x 10 ⁶ b
		S + B.C.	1,2 x 10 ⁶ c	9,5 x 10 ⁵ c
		S + R.M.	8,0 x 10 ⁵ c	3,3 x 10 ⁶ b
TCS 29	1	S	3,6 x 10 ⁵ c	1,3 x 10 ⁷ a
		S + P.B.	9,0 x 10 ⁵ c	2,8 x 10 ⁶ b
		S + G.	3,7 x 10 ⁶ b	2,3 x 10 ⁶ b
		S + B.C.	1,1 x 10 ⁶ c	2,3 x 10 ⁶ b
		S + R.M.	9,0 x 10 ⁶ b	1,4 x 10 ⁶ c
	6	S	2,4 x 10 ⁵ c	9,5 x 10 ⁶ a
		S + P.B.	1,7 x 10 ⁶ c	2,0 x 10 ⁶ c
		S + G.	8,0 x 10 ⁵ c	4,8 x 10 ⁵ c
		S + B.C.	9,0 x 10 ⁵ c	2,3 x 10 ⁶ b
		S + R.M.	1,6 x 10 ⁶ c	6,1 x 10 ⁶ b
TCS 40	1	S	1,0 x 10 ⁶ c	3,8 x 10 ⁶ b
		S + P.B.	1,2 x 10 ⁶ c	9,5 x 10 ⁵ c
		S + G.	1,0 x 10 ⁶ c	2,3 x 10 ⁶ b
		S + B.C.	1,3 x 10 ⁶ c	9,5 x 10 ⁵ c
		S + R.M.	1,5 x 10 ⁶ c	7,6 x 10 ⁶ b
	6	S	5,4 x 10 ⁵ c	4,5 x 10 ⁶ b
		S + P.B.	1,0 x 10 ⁶ c	2,3 x 10 ⁶ b
		S + G.	1,0 x 10 ⁶ c	1,4 x 10 ⁶ c
		S + B.C.	5,0 x 10 ⁶ b	2,3 x 10 ⁶ b
		S + R.M.	2,0 x 10 ⁶ b	1,9 x 10 ⁶ c
TCS 78	1	S	1,0 x 10 ⁶ c	9,5 x 10 ⁶ a
		S + P.B.	1,0 x 10 ⁶ c	9,5 x 10 ⁵ c
		S + G.	7,6 x 10 ⁵ c	3,8 x 10 ⁶ b
		S + B.C.	6,2 x 10 ⁵ c	1,9 x 10 ⁶ c
		S + R.M.	3,0 x 10 ⁶ b	5,2 x 10 ⁶ b
	6	S	3,4 x 10 ⁶ b	1,4 x 10 ⁷ a
		S + P.B.	1,4 x 10 ⁶ c	1,9 x 10 ⁶ c
		S + G.	9,0 x 10 ⁵ c	5,2 x 10 ⁶ b
		S + B.C.	1,5 x 10 ⁸ a	3,8 x 10 ⁷ a
		S + R.M.	9,0 x 10 ⁵ c	1,9 x 10 ⁶ c

*Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Bonferroni (p≤0,05).

T. longibrachiatum (TCS 78) com aplicações quinzenais e bagaço de cana ($3,8 \times 10^7$ UFC g⁻¹) foi o tratamento que mais favoreceu ao desenvolvimento do patógeno, sem diferenças significativas entre aqueles sem a adição de substratos e com variação de periodicidade nas inoculações de *T. harzianum* (TCS 29) e *T. longibrachiatum* (TCS 78) que também apresentaram números elevados de UFC g⁻¹ do patógeno.

Avaliação da produção de massa seca de mudas de bananeira plantadas em solo com resíduos orgânicos e inoculadas em tempos diferenciados com *Trichoderma* spp. e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

A periodicidade de inoculações do antagonista não interferiu na produção de massa seca da parte aérea, radicular e total das mudas de bananeira plantadas em solo com adição de resíduos orgânicos, não havendo diferença significativa entre os diferentes tempos de inoculação avaliados.

Os menores resultados para massa seca da parte aérea de mudas foram observados nos tratamentos sem adição dos resíduos orgânicos.

Quando feita apenas uma inoculação do antagonista no momento do plantio das mudas, os melhores resultados para a produção de massa seca da parte aérea foram observados com a adição de bagaço de cana, acrescido de *T. harzianum* (TCS 10, TCS 29 e TCS 40) e *T. longibrachiatum* (TCS 78), e também adição de gliricídia com os mesmos isolados antagônicos, exceto *T. harzianum* (TCS 10), não havendo diferença significativa entre estes resultados e o controle negativo com os mesmos tipos de substratos orgânicos.

Quando realizadas inoculações quinzenais do antagonista nas mudas, os melhores resultados foram para a adição de bagaço de cana, acrescido dos isolados antagônicos, com exceção para *T. harzianum* (TCS 29) e também para adição de gliricídia e todos os isolados antagônicos, sendo que estes resultados não diferiram estatisticamente entre si e nem do controle negativo que recebeu os mesmos tipos de substratos orgânicos (Figura 4).

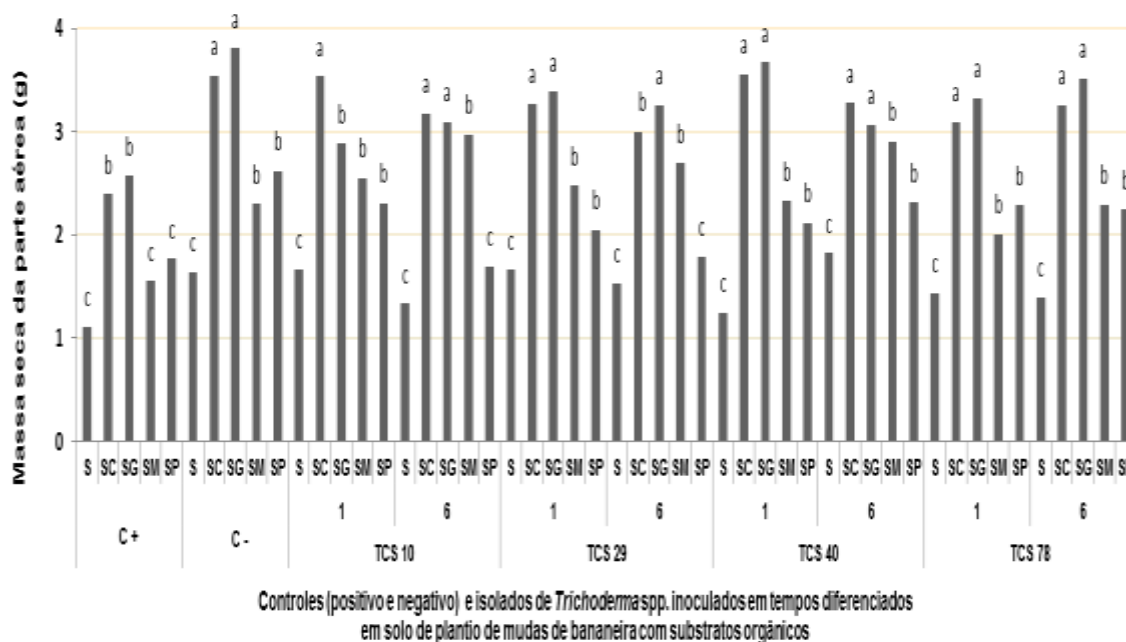


Figura 4. Produção de massa seca da parte aérea de mudas de banana, inoculadas em periodicidades distintas com *Trichoderma* spp. e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* e com 75 dias de cultivo. Controle negativo (C-) sem inoculação dos isolados de antagonista e patógeno e Controle positivo (C+) inoculado apenas com o patógeno. (1 – uma aplicação no momento do plantio; 6 – total de aplicações feitas quinzenalmente; S - solo; SC - solo + bagaço de cana; SG - solo + gliricídia; SM - solo + raspas de mandioca; SP - solo + palha de banana). Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si de acordo teste de Bonferroni a 5% de significância.

Os resultados para massa seca da parte radicular de mudas plantadas em solo sem a adição dos resíduos orgânicos não foram satisfatórios quando comparados aos demais tratamentos com resíduos, sendo que os dados não diferiram significativamente do controle negativo onde houve a inoculação do patógeno. Os melhores resultados para a produção de massa seca da parte radicular com apenas uma inoculação do antagonista em solo foram observados com *T. harzianum* (TCS 10 e TCS 40) e adição de gliricídia, além do solo com raspas de mandioca e *T. harzianum* (TCS 40), sendo que os valores apresentados não diferiram estatisticamente.

Com a realização de inoculações quinzenais do antagonista, os maiores valores foram observados nos tratamentos com adição de raspas de mandioca e *T. harzianum* (TCS 40), e adição de bagaço de cana e raspas de mandioca associado a *T. longibrachiatum* (TCS 78), sendo que os valores apresentados não diferiram estatisticamente (Figura 5).

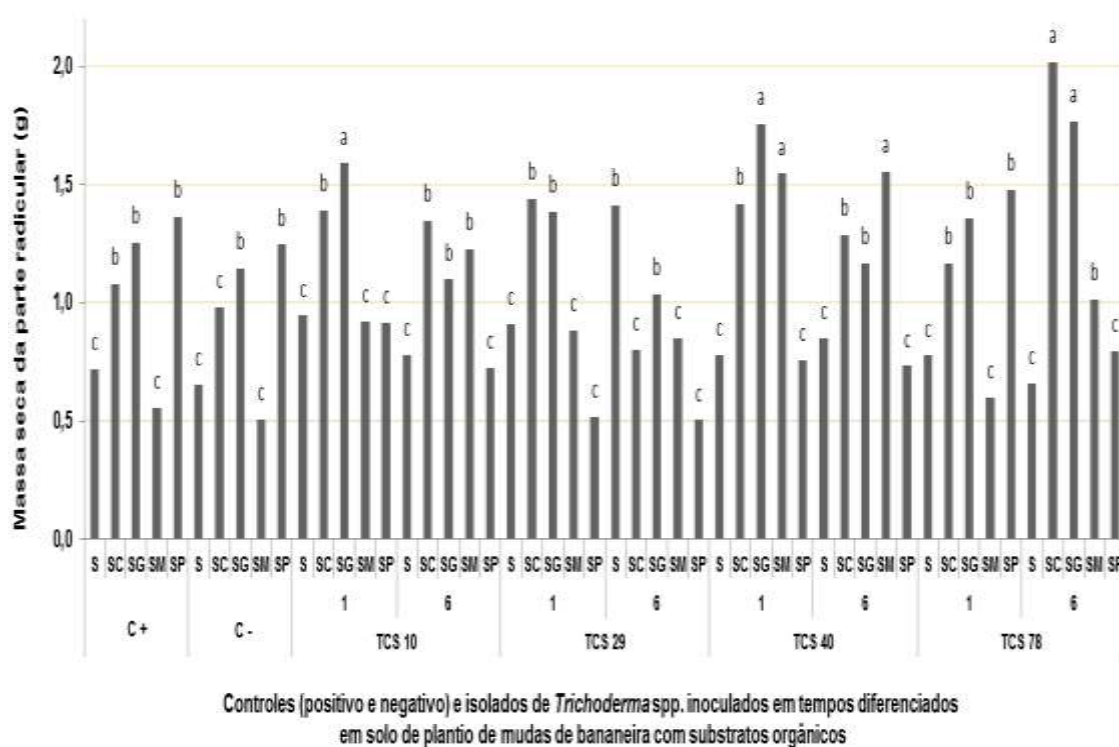


Figura 5. Produção de massa seca da parte radicular de mudas de bananeira, inoculadas em periodicidades distintas por *Trichoderma* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* e com 75 dias de cultivo. Controle negativo (C-) sem inoculação dos isolados de antagonista e do patógeno e Controle positivo (C+) inoculado apenas com o patógeno. (1 – uma aplicação no momento do plantio; 6 – total de aplicações feitas quinzenalmente; S - solo; SC - solo + bagaço de cana; SG - solo + gliricídia; SM - solo + raspas de mandioca; SP - solo + palha de bananeira). Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si de acordo teste de Bonferroni a 5% de significância.

Os resultados para massa seca total de mudas plantadas em solo sem a adição dos resíduos orgânicos não foram satisfatórios obtendo os menores percentuais, quando comparados aos outros com resíduos orgânicos, com exceção para *T. harzianum* (TCS 29). Entretanto, os valores apresentados não diferiram significativamente dos outros tratamentos, nem do controle positivo onde houve a inoculação do patógeno. Os melhores resultados foram observados para os tratamentos com a adição de bagaço de cana e gliricídia, para todos os isolados de *Trichoderma*. Os melhores resultados para a produção de massa seca total foram obtidos com apenas uma inoculação do antagonista em solo com adição de gliricídia acrescido de *T. harzianum* (TCS 29 e TCS 40) e *T. longibrachiatum* (TCS 78), além do solo com adição de bagaço de cana e *T. harzianum* (TCS 10, TCS 29 e TCS 40). Ocorreram incrementos de até 255% em comparação com o tratamento controle sem adição de isolados antagônicos ou de

substratos, sendo que os valores apresentados não diferiram estatisticamente entre si (Figura 6).

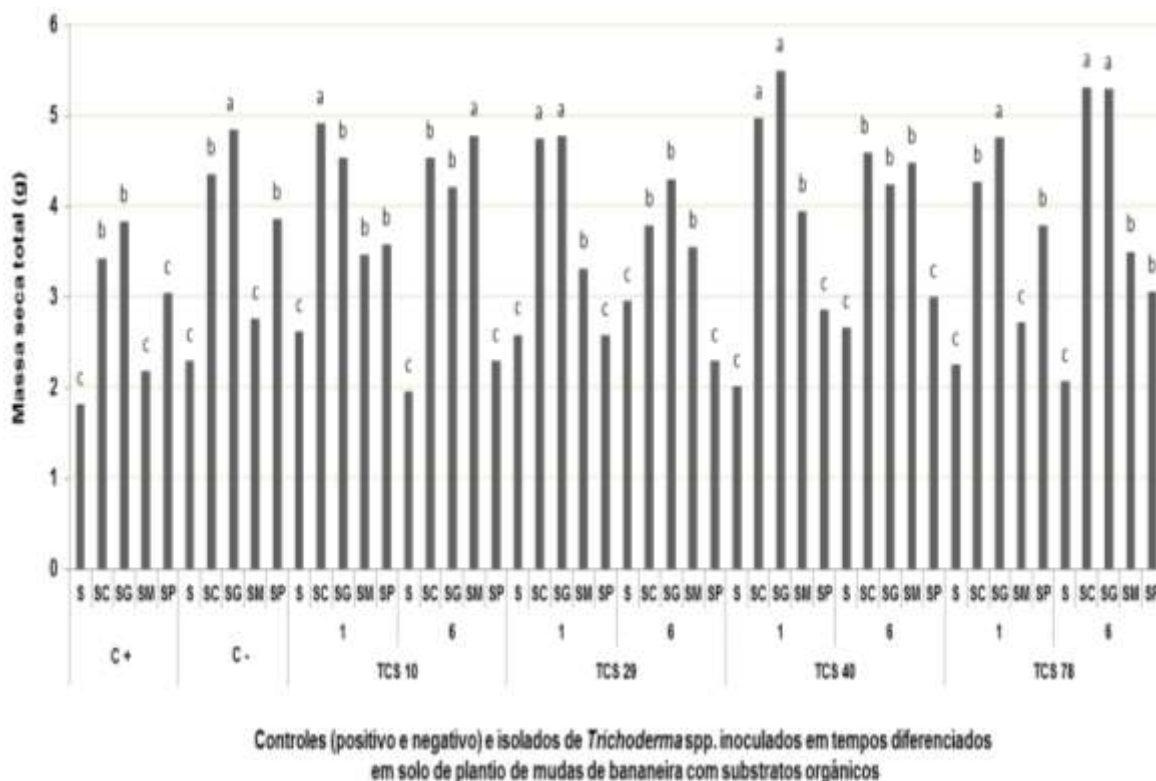


Figura 6. Produção de massa seca total de mudas de bananeira, inoculadas em periodicidades distintas com *Trichoderma* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* e com 75 dias de cultivo. Controle negativo (C-) sem inoculação dos isolados de antagonista e do patógeno e Controle positivo (C+) inoculado apenas com o patógeno. (1 – uma aplicação no momento do plantio; 6 – total de aplicações feitas quinzenalmente; S - solo; SC - solo + bagaço de cana; SG - solo + glicíndia; SM - solo + raspas de mandioca; SP - solo + palha de bananeira). Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si de acordo teste de Bonferroni a 5% de significância.

DISCUSSÃO

Fungos do gênero *Trichoderma* são saprófitos e crescem facilmente, atingindo altas densidades populacionais no solo e em plantas espontâneas, apresentando conídios abundantes e com grande viabilidade (SAMUELS, 1996). Estes também são decompositores, podendo ser encontrados colonizando raízes, ramos e folhas das plantas (MOHAMED; HAGGAG, 2006).

Estas características foram observadas nos isolados avaliados neste estudo, pois estes apresentaram populações consideradas satisfatórias para o controle

biológico e significativa frequência de colonização dos tecidos internos das mudas de bananeira.

Fungos do gênero *Trichoderma*, além de apresentarem ampla distribuição, podem utilizar uma variedade de fontes nutricionais, tolerar uma ampla gama de pH e temperatura, sem muitas interferências para o seu crescimento e esporulação, favorecendo a sua ação como antagonista a diversos patógenos e beneficiando o desenvolvimento das plantas (HASANZADEH et al., 2012). No presente estudo, em todos os resíduos orgânicos avaliados foi observado o crescimento micelial dos isolados de *Trichoderma*. Howel, (2003) afirma que além da composição química dos substratos, outros fatores como disponibilidade de água, tipo de solo, temperatura, umidade, nutrientes, matéria orgânica e pH interferem no crescimento deste antagonista.

Os substratos com palha de bananeira, raspa de mandioca e bagaço de cana foram os que mais favoreceram ao desenvolvimento de *Trichoderma* spp.. Estudos apontam que entre os teores de nutrientes que podem interferir no desenvolvimento das populações de *Trichoderma* estão os níveis de potássio, ferro e zinco, sendo que enxofre, cobre, zinco, estanho, fósforo e manganês possuem potencial fungistático (SZEWCZUK; MICHALOJC, 2003). Teores elevados de potássio foram encontrados no substrato de palha de bananeira (11,8%) e este elemento favorece o crescimento de fungos antagônicos (KOWALSKI et al., 1984). Estes autores relataram o aumento da população de *Trichoderma* em áreas de plantio com a aplicação de ureia e cloreto de potássio. Silva et al., (2014) observaram que a adição de fosfito de potássio ao meio de cultivo e solo inibiu significativamente o crescimento micelial de *F. solani*, mas não interferiu no desenvolvimento de *T. longibrachiatum*, *T. harzianum* e *T. viride*. Resultados semelhantes foram observados neste estudo, com a adição de palha de bananeira, rica em potássio, favoreceu ao desenvolvimento do antagonista e inibiu o desenvolvimento do patógeno.

Elevados teores de ferro como encontrados nos resíduos de bagaço de cana (900 ppm), palhas de bananeira (859 ppm) e raspas de mandioca (970 ppm), também podem favorecer ao desenvolvimento do antagonista. Hubrard et al., (1983), afirmam que teores reduzidos de ferro no solo prejudicam o estabelecimento e a eficiência antagônica de *Trichoderma*. Segundo García-López et al., (2013) a inoculação e ação eficaz de *T. asperellum* em cultivo de

pepineiro ocorre apenas quando os teores deste micronutriente encontra-se em valores acima de 65 mg kg^{-1} . Sabe-se que a quantidade de ferro presente no solo, além de favorecer ao desenvolvimento de antagonistas, influencia também na atividade e densidade microbiana do solo (ROBIN et al., 2008). A manipulação deste micronutriente favorece ao controle biológico e auxilia na melhoria da nutrição das plantas (LEMANCEAU et al., 2009).

O substrato com bagaço de cana neste estudo proporcionou um maior desenvolvimento de *Trichoderma* nos testes *in vitro*, no qual, *T. harzianum* (TCS 10 e TCS 40) e *T. longibrachiatum* (TCS 78) apresentaram crescimento micelial diário de 1,5 cm. Possivelmente, a elevada concentração de ferro na sua composição e também o alto potencial para colonização microbiana, quando comparados a outros substratos de menor degradabilidade, tenha favorecido ao crescimento destes isolados (UMESH et al., 1999; LEMANCEAU et al., 2009).

O substrato com gliricídia favoreceu ao desenvolvimento do *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, enquanto que nos substratos com bagaço de cana e palha de bananeira houve uma inibição quando comparado ao antagonista. Toledo-Souza et al., (2008) relataram um aumento da população de patógenos como *Rhizoctonia* spp. e de *Fusarium* spp. em áreas infestadas, quando houve o plantio prévio de leguminosas e concluíram ainda que ocorre o oposto com o plantio de gramíneas que favorecem a supressão destes patógenos.

A utilização do resíduo de bagaço de cana promoveu a inibição do desenvolvimento do patógeno no solo e o incremento de massa seca das mudas de bananeira, dados que são de extrema importância. Pois além das estruturas de resistência de Foc, este também é capaz de sobreviver através da sua capacidade saprofítica em matéria orgânica (MENEZES et al., 2010). Desta forma, a agregação deste resíduo orgânico ao solo de plantio desta cultura poderá promover o controle da população do patógeno, com a diminuição da incidência e severidade do mal do Panamá. Em estudos realizados por Bonanomi et al., (2007) foi observada a redução de *Fusarium* spp. com a adição deste substrato ao solo.

O processo de esterilização em autoclave é um fator que deve ser levado em consideração, pois promove a lise das células e a mineralização de nutrientes dos resíduos orgânicos, disponibilizando macro e micronutrientes na areia que podem favorecer o crescimento e esporulação do antagonista (ETHUR et al., 2005).

Entretanto, neste estudo este processo não influenciou na característica de biocontrole dos substratos orgânicos sobre o patógeno, visto que quando adicionados ao solo sem passar por autoclavagem também apresentaram resultados semelhantes aos obtidos nos testes *in vitro*.

Todos os isolados de *Trichoderma* avaliados nos testes de confronto direto nos tubos de ensaio e em conjunto com os substratos orgânicos proporcionaram a inibição do desenvolvimento de *Foc* após seis dias de inoculação. Em estudos realizados por Prabhakaran et al., (2015) isolados de *T. harzianum* também inibiram em 86,6% o crescimento micelial de *Bipolaris oryzae* causador da mancha parda em arroz e *T. longibrachiatum* inibiram em 93,3% *Sclerotinia sclerotiorum*, causador do mofo branco e em 87,6% *Alternaria solani*, causador da pinta preta em tomate. De acordo com as características de inibição observadas sugere-se que estes isolados do antagonista agem no controle do patógeno utilizando mais de um mecanismo de ação, como a competição, que inibi o patógeno provocando deficiência de nutrientes e interferindo em sítios onde fatores nutricionais são abundantes, durante o período de pré-penetração (PERELLÓ et al., 2003).

Resultados semelhantes foram observados por Hibar et al., (2005) que em testes de confronto direto entre *T. harzianum* e *F. oxysporum* f. sp. *radicis* – *lycopersici* observaram mais de 65% de inibição do patógeno após quatro dias a 25°C. Estes autores afirmam que o antagonista atua inibindo o crescimento micelial, invadindo e esporulando sobre as colônias do patógeno, demonstrando a sua capacidade como micoparasita, sendo que estas mesmas características foram observadas neste estudo. A atividade micoparasítica de *Trichoderma* vem sendo citada em vários estudos, demonstrando que estes fungos são competentes agentes de biocontrole, colonizando e crescendo em associação com mudas e raízes de pepino, algodão, milho, tomate, pimenta, alface, feijão (SHORESH et al., 2005; BROTMAN et al., 2008).

Sabe-se que os benefícios às plantas, capacidade antagônica e mecanismos de controle biológico proporcionados por *Trichoderma* são específicos de cada espécie e sofrem influências das características físico-químicas dos compostos utilizados como substrato e/ou na adubação, principalmente teor de nutrientes e relação carbono/nitrogênio (PEREIRA et al., 1996; LI et al., 2015). Neste estudo, os isolados TCS 29, TCS 40 e TCS 10 de *T. harzianum* favoreceram a inibição de

Foc apresentando crescimento micelial entrelaçado às hifas do patógeno, demonstrando possível micoparasitismo e elevado grau de competição por nutrientes nos substratos avaliados. Já o isolado TCS 78 de *T. longibrachiatum* apresentou produção de metabólitos que paralisaram o crescimento micelial do patógeno. Resultado semelhante foi relatado por Michereff et al., (1993) que em testes *in vitro* com culturas pareadas relataram a inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum graminicola* por *Trichoderma*, sendo evidenciado produção de metabólitos extracelulares difusíveis no meio de cultivo que inibiram o crescimento do patógeno. Yi e Chi, (2011) também observaram que hifas de *T. longibrachiatum* crescem, esporulam e enrolam-se nas hifas de *Cytospora chrysosperma*, causador de cancro em plantas de choupo na China, e que filtrados das culturas e metabólitos voláteis inibem em até 54% o desenvolvimento do patógeno após 96 horas.

Ficou evidente que nas mudas de bananeira da cultivar 'Prata Maravilha' (FHIA 01), a combinação de *Trichoderma* e solo com resíduos orgânicos, proporcionou um atraso no aparecimento dos primeiros sintomas em relação aos demais tratamentos. As folhas das mudas nestes tratamentos demonstraram amarelecimento somente após 22 dias após a inoculação do patógeno. Isolados de *T. theobromicola* também foram capazes de atrasar o aparecimento e o desenvolvimento de sintomas de doença causados por *Phytophthora capsici* em pimentão (BAE et al., 2011).

Os maiores percentuais de incidência e índices de severidade foram observados nas plantas do controle positivo (tratamento apenas com o patógeno e substratos orgânicos) evidenciando que nas condições avaliadas apenas a aplicação de resíduos agrícolas no solo não foi eficiente para o controle da doença. Segundo Pereira et al., (1996) o uso de compostos orgânicos pode ter efeito supressivo ou condutivo sobre determinado patógeno de solo, dependendo da relação C/N (qualidade da matéria orgânica) e da habilidade competidora do patógeno. Não foram verificadas incidência e severidade da doença nas mudas plantadas em solo com adição de bagaço de cana e raspas de mandioca, com inoculações de *T. harzianum* (TCS 40) feitas quinzenalmente. Isolados de *T. harzianum* também promoveram reduções entre 48 e 62% na incidência da doença e em infecções causadas por *Phytophthora capsici*, em pimenta vermelha (SRIRAM et al., 2009).

Desta forma, fica comprovado que a ação de biocontrole eficiente ocorre com a associação do antagonista com resíduos orgânicos no solo. O uso de fungos do gênero *Trichoderma* aliado a práticas culturais, como rotação de culturas, uso de fungicidas e variedades resistentes apresentam melhores resultados do que quando qualquer um destes métodos é usado individualmente (ELAD et al., 1984; PAPAVIDAS, 1985; SHEN et al., 2013; WANG et al., 2015). Segundo De Cal et al., (2000) o controle da fusariose por antagonistas envolve mecanismos de inibição ao crescimento e extensão da colonização do patógeno, por maneira física pela criação de barreiras, ou por indução na planta para produção de fitoalexinas. A fonte de matéria orgânica proporcionou melhores resultados, o que pode estar relacionado ao melhor crescimento do antagonista, melhor nutrição da planta, ou a combinação destes fatores, pois o efeito de biocontrole depende da interação do antagonista com o hospedeiro e o ambiente (HARMAN, 1991).

O isolado de *T. longibrachiatum* (TCS 78) causou redução na incidência de plantas doentes com índices menores que 30%, quando inoculado em substrato contendo resíduo orgânico de palha de bananeira. Este isolado tem sido apontado com potencial de controle de vários patógenos de plantas com redução na incidência das doenças (FREEMAN et al., 2004;. SÁNCHEZ et al., 2007; YI; CHI, 2011).

Avaliando a associação dos substratos orgânicos e os isolados antagônicos, foi observado que *T. harzianum* (TCS 29) promoveu os maiores índices de redução da severidade da doença quando inoculado em conjunto com todos os tipos de resíduos orgânicos avaliados, apresentando diminuição de até 90% dos sintomas internos do mal do Panamá. Várias doenças causadas por fungos podem ser controladas com a inoculação de *T. harzianum* (AKHATAR et al., 2010). Aplicações de *T. harzianum* aos sete dias antes da inoculação do patógeno, reduziram doenças causadas por *Botrytis cinerea* e *Uromyces appendiculatus* em plantas de alface, tomate, pimentão, fumo e feijão (DE MEYER et al., 1998; ABEYSINGHE, 2009). Sabe-se que este isolado produz tricotecenos, compostos não voláteis que se acumulam na rizosfera e raiz, atuando nas plantas atingindo níveis de antibióticos ou tóxicos causando inibição de *B. cinerea* (MCCORMICK et al., 2011; MALMIERCA et al., 2015).

Além do potencial de biocontrole comprovado de *T. harzianum* (TCS 29) sobre Foc, sabe-se que a matéria orgânica e os nutrientes adicionados ao solo

associados à inoculação do antagonista favorecem que este permaneça em estado viável atingindo uma melhor eficiência (YANG et al., 2010). Os fungos deste gênero possuem habilidade em colonizar as raízes e desenvolver-se na rizosfera (HARMAN et al., 2004). Neste estudo todos os isolados avaliados foram capazes de colonizar as raízes e pseudocaule das mudas de bananeira plantadas em solo com incorporação de resíduos orgânicos. Estes isolados crescem e se desenvolvem melhor quando estão associadas às raízes saudáveis e em grande quantidade, que favorece vários mecanismos de ação contra patógenos, induzindo a defesa das plantas e favorecendo o seu crescimento nas raízes (BROTMAN et al., 2010; LORITO et al., 2010; SAMOLSKI et al., 2012; HERMOSA et al., 2012).

T. harzianum (TCS 10, com uma aplicação e TCS 29, com aplicações quinzenais) em solo sem adição de matéria orgânica e *T. harzianum* (TCS 40) com adição de bagaço de cana, não foram capazes de colonizar as folhas das mudas de bananeira nas condições avaliadas. Resultado semelhante foi observado por Evans et al., (2003) que não obtiveram sucesso no re-isolamento *T. harzianum* e *T. spirale* de folhas, mas apenas em galhos e frutos de *Theobroma gileri*, indicando que estes não possuem habilidade para colonizar as folhas deste vegetal. O substrato de gliricídia apesar de não favorecer o crescimento de *Trichoderma* no solo, favoreceu a sua colonização nas raízes, exceto para *T. harzianum* (TCS 29) que obteve os melhores resultados no solo com adição de bagaço de cana e raspas de mandioca.

A alta taxa de frequência de colonização das raízes observadas em *T. harzianum* (TCS 40) com aplicações quinzenais pode explicar a percentagem de redução da incidência do mal do Panamá em 100%. Nas mudas plantadas em solo sem resíduos orgânicos houve diferença significativa para *T. harzianum* (TCS 40), com relação à colonização das raízes quando feita apenas uma inoculação.

A adição de resíduos orgânicos ao solo favoreceu o desenvolvimento do fungo antagonista, que permaneceu com populações entre 10^5 e 10^7 . O equilíbrio das populações microbianas no solo, sofrem alterações pela ação isolada e/ ou combinada dos valores de pH, umidade, aeração temperatura e disponibilidade de nutrientes orgânicos e inorgânicos (MADSEN, 1995).

Quando o solo é coberto com materiais orgânicos e/ ou sintéticos favorece a persistência e atividade do *Trichoderma* no solo e na rizosfera, trazendo

benefícios para a agricultura (SAMPAIO; ARAÚJO, 2001). Segundo Bae e Knudsen (2005), fatores bióticos e abióticos podem reduzir o crescimento da população de *Trichoderma* no solo, entretanto o seu potencial antagônico permanece devido à produção de antibióticos e competição com os patógenos.

Os substratos orgânicos de bagaço de cana e palha de mandioca, quando adicionados ao solo favoreceram ao desenvolvimento da população de *Trichoderma*. Este fato pode estar relacionado com os altos teores de ferro em sua composição o que auxilia no desenvolvimento e ação antagônica (ROBIN et al., 2008; LEMANCEAU et al., 2009). Além disso, Papavizas (1985) afirma que as diferentes espécies de *Trichoderma* têm suas próprias preferências ecológicas e por tipos de substratos, o que pode explicar um maior desenvolvimento dos antagonistas em alguns dos substratos orgânicos utilizados neste trabalho.

A população de *Trichoderma* observada é considerada viável, mesmo após a realização da última inoculação, para atuação em biocontrole, pois concentrações de 10^8 a 10^{10} UFC g^{-1} de solo não apresentam aumento significativo de atividade antagônica o que não justifica a utilização de densidades maiores (AL-HAZMI; TARIQJAVEED, 2015; ZHANG et al., 2015).

A população do patógeno sofreu interferência negativa no seu desenvolvimento com o incremento dos resíduos agrícolas, exceto para a adição de gliricídia. Contradizendo o que afirma Rodriguez-Kábana et al., (1994), que diz que a decomposição e incorporação de adubos orgânicos, principalmente de leguminosas, promovem a liberação de substâncias com efeito inibitório e supressivo aos fitopatógenos.

Os números observados para UFC g^{-1} do patógeno foram maiores do que os resultados do trabalho de Wen et al., (2015), que em solos inundados observaram que a população de *Foc* atinge $4,0 \times 10^4$ UFC g^{-1} e em solos com adição de matéria orgânica o número de unidades formadoras de colônias são reduzidas drasticamente para cerca de $5,0 \times 10^3$ UFC g^{-1} após 15 dias de incubação.

Os melhores resultados para a produção de massa seca das mudas de bananeira foram observados para os tratamentos com a adição de bagaço de cana e gliricídia, para todos os isolados de *Trichoderma*.

Segundo trabalho desenvolvido por Umesh et al.,(1999), o bagaço de cana possui grande potencial para colonização microbiana quando comparado a outros substratos orgânicos, favorecendo ao desenvolvimento da microbiota no solo,

explicando os resultados satisfatórios com relação à produção de massa seca da parte aérea onde este substrato foi utilizado em relação aos demais avaliados.

Sabe-se que a gliricídia, assim como outras leguminosas são muito utilizadas na adubação, pois aumentam os teores de nitrogênio no solo por fixação biológica e contribuem na reciclagem de nutrientes, favorecendo o desenvolvimento dos vegetais e microrganismos da rizosfera (ALCÂNTARA et al., 2000). As leguminosas possuem naturalmente maiores concentrações de cálcio do que as gramíneas, o que favorece ao desenvolvimento das plantas (AJAYI et al., 2005). As concentrações de cálcio observadas no substrato orgânico de gliricídia neste experimento foram maiores que as encontradas no substrato de bagaço de cana.

Os isolados de *T. harzianum* (TCS 10, TCS 29 e TCS 40) se destacaram em produção de massa seca total em comparação com o isolado de *T. longibrachiatum* (TCS 78). Vários trabalhos apontam *T. harzianum* como agente de promoção de crescimento de plantas, tais como: em plantas de milho doce (BJÖRKMAN et al., 1995), pepino (YEDIDIA et al., 2001), milho híbrido (RESENDE et al., 2004), tomate (DATNOFF; PERNEZNY, 2001), alface (BAL; ALTINTAS, 2008), e citros (PRATES et al., 2007). Sabe-se que o crescimento vegetal proporcionado por *T. harzianum* nos ensaios está relacionado à sua habilidade em solubilizar nutrientes para as plantas e também na produção de hormônios e/ou outros fatores de crescimento (ALTOMARE et al., 1999). Além disso, a promoção de crescimento nas plantas proporcionadas por *T. harzianum* varia com o tipo de substrato, nutrientes ou matéria orgânica disponível, além da habilidade que o isolado apresenta em competir com os patógenos presentes na rizosfera (KLEIFELD; CHET, 1992). O solo é um ambiente muito complexo e o desenvolvimento das plantas e adaptação dos organismos benéficos depende de vários fatores. Sendo assim, a adição de *T. harzianum* é uma opção eficaz, por favorecer ao mesmo tempo uma diminuição das interferências bióticas causadas pelo patógeno e abiótico provocado pelo stress hídrico nas plantas (INNOCENTI et al., 2015).

Os dados obtidos com relação à produção de massa seca associada à inoculação dos isolados e incremento de resíduos orgânicos ao solo de plantio das mudas da cultivar 'Prata Maravilha' (FHIA 01), condizem com os percentuais obtidos pelos mesmos isolados com relação à densidade populacional observada nos ensaios *in vitro* e em solo de plantio das mudas. Além da redução da

incidência e severidade e da colonização das raízes, demonstrando a relação dos percentuais observados para o biocontrole e a melhoria nas condições fisiológicas da planta e aumento da massa total da mesma.

Segundo Ferraz (1992), a adição de matéria orgânica ao solo favorece o desenvolvimento de raízes das plantas. Característica que pode explicar os bons resultados apresentados com relação à produção de massa seca da parte radicular das mudas de bananeira, quando analisados os tratamentos onde os substratos orgânicos foram adicionados ao solo de plantio das plantas associados aos isolados de *Trichoderma*. A aplicação deste antagonista em condições de campo, atrelado a adubação orgânica consiste em uma prática promissora e sustentável, pois o controle biológico tem uma maior durabilidade, segurança e melhor custo-efetividade do que os fungicidas químicos aplicados no solo (YAQUB; SHAHZAD, 2011; KUMAR et al., 2012).

CONCLUSÕES

Os isolados de *Trichoderma* demonstraram eficiência antagônica no controle ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, nos testes realizados *in vitro* e *in vivo*, quando associados aos resíduos orgânicos de bagaço de cana, raspa de mandioca e palha de bananeira, com apresentação de bons resultados nos testes de pareamento e valores expressivos de UFC g⁻¹, tanto em substrato de cultivo de plantas quanto em solo, além de elevadas frequências de colonização de raízes e pseudocaule das mudas. Entretanto, observou-se que diferentes periodicidades de inoculação com *Trichoderma* não promovem melhor controle da doença. O controle integrado com a utilização de associação dos isolados de *T. harzianum* (TCS 10, TCS 29 e TCS 40) e *T. longibrachiatum* (TCS 78) com mudas de bananeira do tipo 'Prata Maravilha' e resíduos agrícolas favoreceram a redução dos percentuais de incidência e severidade da doença e ao incremento de massa seca total das plantas, demonstrando respostas eficientes destes tratamentos em condições de casa de vegetação. O isolado de *T. harzianum* (TCS 40), inoculado quinzenalmente em mudas plantadas em solo com substrato orgânico de bagaço de cana e raspas de mandioca controla o mal do Panamá em até 100%. Desta forma, se faz necessário à continuação dos estudos em campo sobre

metodologias para o manejo integrado do mal do Panamá, utilizando variedades que são mais aceitas comercialmente e os resíduos agrícolas como bagaço de cana e raspas de mandioca, combinados com os isolados de *T. harzianum* (TCS 10, TCS 29 e TCS 40) e *T. longibrachiatum* (TCS 78).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEYSINGHE, S. Systemic resistance induced by *Trichoderma harzianum* RU01 against *Uromyces appendiculatus* on *Phaseolus vulgaris*. **Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka**, v.37, p.203 - 207, 2009.

AJAYI, D.A.; ADENEYE, J.A.; AJAYI, F.T. Intake and nutrient utilization of West African Dwarf Goats Fed Mango (*Mangifera indica*), Ficus (*Ficus thionningii*), Gliricidia (*Gliricidia sepium*) Foliages and Concentrates as Supplements to Basal Diet of Guinea Grass (*Panicum maximum*). **World Journal of Agricultural Sciences**, v.1, n.2, p.184 - 189, 2005.

AKHATAR, M.; IBRAHIMOV, A.Sh.; ZAFARI, D.M.; VALIZADEH, E. Control Fusarium rot of bean by combination of by *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma asperellum* in greenhouse condition. **Agricultural Journal**, v.4, p.121 - 123, 2010.

ALCÂNTARA, F. A.; FURTINI NETO, A. E.; PAULA, M. B.; MESQUITA, H. A.; MUNIZ, J. A. Adubação verde na recuperação da fertilidade de um latossolo vermelho-escuro degradado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 2, p. 277 - 288, 2000.

AL-HAZMI, A. S.; TARIQJAVEED, M. Effects of different inoculum densities of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* against *Meloidogyne javanica* on tomato. **Saudi Journal of Biological Sciences**. v.23. n. 2. p. 288 – 292. 2015.

ALTOMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJORKMAN, T.; HARMAN, G. E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and

biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 7, p.2926 - 2933, 1999.

BAE, Y. S.; KNUDSEN, G. R. Soil microbial biomass influence on growth and biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum*. **Biological Control**, v. 32, n. 02, p. 236 – 242, 2005.

BAE, H.; ROBERTS, D.P.; LIM, H.-S.; STREM, M.D.; PARK, S.C.; RYU, C.M.; MELNICK, R.L.; BAILEY, B.A. Endophytic *Trichoderma* isolates from tropical environments delay disease onset and induce resistance against *Phytophthora capsici* in hot pepper using multiple mechanisms. **Molecular Plant Microbe Interactions**, v. 24, p.336 - 351, 2011.

BAL, U.; ALTINTAS, S. Effects of *Trichoderma harzianum* on lettuce in protected cultivation. **Journal Central European Agriculture**, v.9, n.1, p. 63 - 70, 2008.

BAREJA, M.; PRAVEEN, KUMAR.; LODHA, S. Effect of composts on microbial dynamics and activity, dry root rot severity and seed yield of cowpea in the Indian arid region. **Phytopathol Mediterr.** v. 49. p. 381 – 392. 2010.

BJÖRKMAN, T.; HARMAN, G.E.; BLANCHARD, L. Root development in sweet-corn inoculated with the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. **Hort Science** v.30 n° 4. p. 810.1995.

BONANOMI, G.; ANTIGNANI, V.; PANE C.; SCALA, F. Suppression of soilborne fungal diseases with organic amendments. **Journal of Plant Pathology**. v.89. p.311 - 324. 2007.

BROTMAN, Y.; BRIFF, E.; VITERBO, A.; CHET, I. Role of swollenin, an expansin-like protein from *Trichoderma*, in plant root colonization. **Plant Physiol.** v.147. p. 779 – 789. 2008.

BROTMAN, Y.; GUPTA, J.K.; VITERBO, A. *Trichoderma*. **Current Biology**, v.20, p.390 - 391, 2010.

CHAGAS JUNIOR, A. F.; OLIVEIRA, A. G.; REIS, H. B.; SANTOS, G. R.; CHAGAS, L. F. B.; MILLER, L. O. Eficiência da inoculação combinada de rizóbio e *Trichoderma* spp. em diferentes cultivares de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) no cerrado (Savana Brasileira). **Revista de Ciências Agrárias**, v.37,n.1, p. 20 - 28. 2014.

CIRULLI, M.; ALEXANDER, L. J. A comparison of pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* and different sources of resistance in tomato. **Phytopathology**, v.56, p.1301 - 1304, 1966.

CORDEIRO, Z. J. M.; SHEPHERD, K.; DANTAS, J. L. L. Rating bananas for reaction to *Fusarium* wilt in Brazil. Proceeding International Symposium on Recent Developments in Banana Cultivation Technology. **INIBAP**, v. 1, p.84 - 88. 1993.

DATNOFF, L. E.; PERNEZNY, K. L. *Paenibacillus macerans* and *Trichoderma harzianum* enhance transplant growth and suppress fusarium crown and root rot in Florida tomato production. In: KARIBBEAN DIVISION MEETING ABSTRACT, **La Habana**, Cuba. Publication. v. 1, p. 2002 – 2025, 2001.

DE CAL, A.; GARCIA-LEPE, R.; MELGAREJO, P. Induced resistance by *Penicillium oxalicum* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*: histological studies of infected and induced tomato stems. **Phytopathology**. v. 90, p. 260 - 268. 2000.

DE MEYER, G.; BIGIRIMANA, J.; ELAD, Y.; HÖFTE, M. Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* T39 biocontrol of *Botrytis cinerea*. **European Journal of Plant Pathology**, v.104, p.279 - 286, 1998.

ELAD, Y.; BARAK, R.; CHET, I. Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 16, n. 4, p. 381 - 386, 1984.

EVANS, H. C.; HOLMES, K. A.; THOMAS, S. E. Endophytes and mycoparasites associated with an indigenous forest tree, *Theobroma gileri*, in Ecuador and a

preliminary assessment of their potential as biocontrol agents of cocoa diseases. **Mycological Progress**, v.2, p.149 - 160, 2003.

ETHUR, L. Z.; BLUME, E.; MUNIZ, M.; SILVA, A. C. F.; STEFANELO, D. R.; ROCHA, E. K. Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* em pepineiro cultivado em estufa. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, n.2, p.127 - 133, 2005.

FERRAZ, L. C. C. B. Métodos alternativos de controle de fitonematóides. **Informe Agropecuário**. v. 16, p. 23 - 26.1992.

FERREIRA, D. F. Análises Estatísticas por meio do Sisvar para Windows 4.0. In: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, 45, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, p. 255 - 258. 2000.

FREEMAN, S.; MINZ, D.; KOLESNIK, I.; BARBUL, O.; ZVEIBIL, A.; MAYMON, M.; NITZANI, Y.; KIRSHNER, B.; RAV-DAVID, D.; BILU, A. *Trichoderma* biocontrol of *Colletotrichum acutatum* and *Botrytis cinerea* and survival in strawberry. **European Journal of Plant Pathology**.v.110, p.:361 - 370. 2004.

GARCÍA-LÓPEZ, A; M.; AVILÉS, M.; DELGADO, A. Iron availability thresholds for the inoculation of cucumber with *Trichoderma asperellum* T34. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**. v.176, p. 867 – 875. 2013.

GONZÁLEZ, A.; CANTO-SAENZ, M. Comparison of five organic amendments for the control of *Globodera pallida* in microplots in Peru. **Nematropica**, v. 23, n. 2, p. 133 - 139. 1993.

HALBRENDT, J. M.; LAMONDIA, J. A. Crop rotations and other cultural practices. In: CHEN, Z.; CHEN, S.; DICKINSON, D. W. (ed). **Nematology – Advances and Perspectives**. Volume II: Nematode Management and Utilization. Tsinghua University Press & CABI Publishing, Beijing & Wallingford, v. 1, p. 909 - 930. 2004.

HARMAN, G.E. Seed treatment for biological control of plant disease. **Crop Prot.** v.10, n. 3, p.166 - 171.1991.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* t-22. **Plant Diseases**. v.84, p. 377 - 393. 2000.

HARMAN, G.E.; HOWELL, C.R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature**, v.2, p. 42 - 56, 2004.

HASANZADEH, M.; MOHAMMADIFAR, M.; SAHEBANY, N.; ETEBARIAN, H. R. Effect of cultural condition on biomass production of some nematophagous fungi as biological control agent. **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences**, v. 5, n. 1, p.115 – 126, 2012.

HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**. v.158,p. 17 – 25. 2012.

HIBAR, K.; DAAMI-REMADI, M.; KHIAREDDINE, H.; EL MAHJOUR, M. Effet inhibite ur *in vitro* et *in vivo* du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. **Biotechnologie Agronomie Societe Et Environnement**. v. 9, p. 163 - 171. 2005.

HOWEL, 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, p. 4 - 10, 2003.

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

INNOCENTI, G.; ROBERTI, R.; PIATTONI, F. Biocontrol ability of *Trichoderma harzianum* strain T22 against *Fusarium* wilt disease on water-stressed lettuce plants. **BioControl**. v.60, p.573 – 581. 2015.

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

KOWALSKI, S.; DAHM, H.; ROZYCKI, H. Effect of the mineral fertilizers on soil fungi and mycotrophism of Scots pine in Cladio-Pinetium Forest. **Acta Agricultural**, v. 23, n. 3, p. 12-16. 1984.

KUMAR, K.; AMARESAN, N.; BHAGAT, S.; MADHURI, K.; SRIVASTAVA, R. C. Isolation and characterization of *Trichoderma* spp. for antagonistic activity against root rot and foliar pathogens. **Indian Journal of Microbiology**, v.52, n.2, p.137 - 144, 2012.

LEMANCEAU, P., BAUER, P., KRAEMER, S., BRIAT, J. F. Iron dynamics in the rizosphere as a case study for analyzing interactions between soils, plants and microbes. **Plant Soil**. v.321, p. 513 – 535. 2009.

LORITO, M.; WOO, S. L.; HERMAN, G. E.; MONTE, E. Translational research on *Trichoderma*: from 'omics to the field. **Annual Review of Phytopathology**. v. 48: p. 395 – 417. 2010.

LI, R-X.; CAI, F.; PANG, G.; SHEN, Q-R.; LI, R.; CHEN, W. Solubilisation of Phosphate and Micronutrients by *Trichoderma harzianum* and Its Relationship with the Promotion of Tomato Plant Growth. **PLOS ONE**. v.10. p. 6. 2015.

MADSEN, E.L. Impacts of agricultural practices on subsurface microbial ecology. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.54, p.1 - 67, 1995.

MALMIERCA, M. G.; MCCORMICK, S. P.; CARDOZA, R. E.; ALEXANDER, N. J.; MONTE E.; GUTIÉRREZ, S. Production of trichodiene by *Trichoderma harzianum* alters the perception of this biocontrol strain by plants and antagonized fungi. **Environmental Microbiology**. v.17,n. 8, p. 2628 – 2646. 2015.

MCCORMICK, S. P., STANLEY, A. M., STOVER, N. A.; ALEXANDER, N.J. Trichothecenes: from simple to complex mycotoxins. **Toxins (Basel)**. v. 3, p. 802 – 814. 2011.

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 Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**. v.17, n.1, p.38 - 50, 2010.

MENEZES, J.P.; LUPATINI, M.; ANTONIOLLI, Z.I.; BLUME, E.; JUNGES, E.; MANZONI, C.G.; Variabilidade Genética na região ITS do rDNA de isolados de *Trichoderma* spp. (Biocontrolador) e *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi*. **Ciências Agrotécnica**, Lavras, v. 34, n. 1, p. 132 - 139, 2010.

MICHEREFF, S.J.; MENEZES, M.; MARIANO, R.L.R. Antagonismo de espécies de *Trichoderma* sobre *Colletotrichum graminicola*, agente da antracnose do sorgo em condições de laboratório. **Summa Phytopathologica**, v.19, n. 1, p. 14 - 17, 1993.

MOHAMED, H. A. A.; HAGGAG, W. M. Biocontrol potential of salinity tolerant mutants of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, n. 2, p. 181 - 191. 2006.

MOMMA, N.; KOBARA, Y.; MOMMA, M. Fe²⁺ and Mn²⁺, potential agents to induce suppression of *Fusarium oxysporum* for biological soil disinfestation. **Journal of General Plant Pathology**. v.77, n. 6, p. 331 – 335. 2011.

MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A.; HERRERA-ESTRELLA, A.; SCHMOLL, M.; KENERLEY, C. M. *Trichoderma* research in the genome era. **Annual Review of Phytopathology**. v.51, p. 105 – 129. 2013.

NÚÑEZ-ZOFÍO, M., LARREGLA, S., GARBISU, C. Application of organic amendments followed by soil plastic mulching reduces the incidence of

Phytophthora capsici in pepper crops under temperate climate. **Crop Prot.** v.30, n. 12, p. 1563 – 1572. 2011.

PAPAVIZAS, G. C. *Trichoderma gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. **Annual Reviews of Phytopathology**, Palo Alto, v. 23, p. 23 - 54, 1985.

PAULA JÚNIOR, T. J. de; VIEIRA, R. F.; ROCHA, P. R. R.; BERNARDES, A.; COSTA, É. L.; CARNEIRO, J. E. S.; VALE, F. X. R. do, ; ZAMBOLIM, L. White mold intensity on common bean in response to plant density, irrigation frequency, grass mulching, *Trichoderma* spp., and fungicide. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 35, n. 1, p. 44 - 48, 2009.

PEREIRA, J. C. R.; ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R. ; CHAVES, G. M. Compostos orgânicos no controle de doenças de plantas. In: LUZ, W.C., ed. **Revisão anual de patologia de plantas**. Passo Fundo, EMBRAPA/CNPTrigo, v. 1, p.353 - 379. 1996.

PEREIRA, J. C. R.; PEREIRA, J. R.; CASTRO, M. E. A.; GASPAROTTO, L. Ocorrência do mal do Panamá em Bananeira do Subgrupo Figo, em Piau, Minas Gerais. **Fitopatologia brasileira**. v.30, n. 5, p. 554 , 2005.

PEREIRA, G. V. N. Promoção do crescimento de mudas de maracujazeiro inoculadas com *Trichoderma* spp. **Dissertação**. Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Vitória da Conquista.67p.2012.

PERELLÓ, A.; MÓNACO, C.; SIMÓM, M.R.; SISTERMA, M. & DALL BELLO, G. Biocontrol efficacy of *Trichoderma* isolates for tan spot of wheat in Argentina. **Crop Protection**, v. 22, p.1099 - 1106, 2003.

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

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.

PRABHAKARAN, N.; PRAMEELADEVI, T.; SATHIYABAMA, M.; KAMIL, D. screening of different *Trichoderma* species against agriculturally important foliar plant pathogens. **Jornal of environmental Biology**. v. 36, p. 191 - 198. 2015.

PRATES, H.S.; LAVRES JUNIOR, J.; ROSSI, M.L. Composição mineral de mudas cítricas com aplicações de *Trichoderma* spp. Piracicaba: Informações Agronômicas. **POTAFOS**, v.117, p. 23 - 24. 2007.

REARDON, C. L.; GOLLANY, H. T.; WUEST, S. B. Diazotroph community structure and abundance in wheate-fallow and wheate-pea crop rotations. **Soil Biology and Biochemistry**. v.69, p. 406 - 412. 2014.

RESENDE, M. L.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M.; VON PINHO, R. G.; VIEIRA, A. R. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, p. 793 - 798. 2004.

ROBIN, A.; VANSUYT, G.; HINSINGER, P.; MEYER, J. M.; BRIAT, J. F.; LEMANCEAU, P. Iron dynamics in the rhizosphere: consequences for plant health and nutrition. **Advances in Agronomy**.v. 99, p. 183 – 225. 2008.

RODRIGUEZ-KÁBANA, R.; KOKALIS-BURELLE, N.; ROBERTSON, D. G.; KING, P. S.; WELLS, L. W. Rotations with coastal bermudagrass, cotton and bahiagrass for management of *Meloidogyne arenaria* and southern blight in peanut. **Journal of Nematology**, v. 26, p. 665 - 668, 1994.

SAMOLSKI, I.; RINCÓN, A.M.; PINZÓN, L.M.; VITERBO, A.; MONTE, E. The quid74 gene form *Trichoderma harzianum* has a role in root architecture and plant biofertilization. **Microbiology**. v.158, p. 129 – 138. 2012.

SAMPAIO, R. A.; ARAÚJO, W. F. Importância da cobertura plástica do solo sobre o cultivo de hortaliças. **Agropecuária Técnica**, Areia, v. 22, p. 1 - 12, 2001.

SAMUELS, G.J. *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. **Mycological Research**.v.100, p. 923 - 935, 1996.

SÁNCHEZ, V.; REBOLLEDO, O.; PICASO, R. M.; CÁRDENAS, E.; CÓRDOVA, J.; GONZÁLEZ, O.; SAMUELS, G. J. *In vitro* antagonism of *Thielaviopsis paradoxa* by *Trichoderma longibrachiatum*. **Mycopathologia**. v.163, p. 49 - 58. 2007.

SANTOS, T. M.; COSTA, M. R.; XAVIER, A. A.; NIETSCHE, S.; FERNANDES, T. P.; PEREIRA, G. V. N. Variabilidade genética de isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense obtidos de bananais do norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 437 - 445. 2011.

SHEN, Z.; ZHONG, S.; WANG, Y.; WANG, B.; MEI, X.; LI, R.; RUAN, Y.; SHEN, Q. Induced soil microbial suppression of banana *fusarium* wilt disease using compost and biofertilizers to improve yield and quality. **European Journal of Soil Biology**. v.57, p. 1 - 8. 2013.

SHINMURA, A., Studies on the ecology and control of Welsh onion root rot caused by *Fusarium redolens*. **J. Gen. Plant Pathol.** v.68, n. 3, p. 265 - 265. 2002.

SHORESH, M.; YEDIDIA, I.; CHET, I. Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. **Phytopathol.** v.95, p. 76 – 84. 2005.

SILVA, S. O.; SANTOS-SEREJO, J. A.; CORDEIRO, Z. J. M. **Varietades**. In: O cultivo da bananeira. (Eds. A. L. Borges e L. S. Souza). Embrapa Mandioca e Fruticultura, 279 p. 2004.

SILVA, C. M. Análise da diversidade genética por marcadores RAPD e SSR em *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense no Estado de Santa Catarina. **Dissertação**.

Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 52 f. 2009.

SILVA, L. S. Efeito de extratos foliares de nim em *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* e na intensidade do mal do Panamá em mudas de bananeira cv. maçã. **Dissertação**. Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, Universidade Estadual de Montes Claros, 2010.

SILVA, A. N.; AZEVEDO, G. B.; SOBRINHO, G. G. R.; NOVAES, Q. S. Efeito de produtos químicos e de *Trichoderma* spp. no controle de *Fusarium solani* do maracujazeiro. **Interciencia**, v. 39, n. 6, p. 398 - 403. 2014.

SRIRAM, S.; MANASA, S.B.; SAVITHA, M.J. Potential use of elicitors from *Trichoderma* in induced systemic resistance for the management of *Phytophthora capsici* in red pepper. **Journal of Biological Control**, v.23, p. 449 - 456, 2009.

SZEWCZUK, C.; MICHALOJC, Z. Practical aspects of foliar fertilization. **Acta Agrophys**. v.19, p. 85, 2003.

TOLEDO-SOUZA, E. D. de; SILVEIRA, P. M. da; LOBO JUNIOR, M.; CAFÉ FILHO, A. C. Sistemas de cultivo, sucessões de culturas, densidade do solo e sobrevivência de patógenos de solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.8, p. 971 - 978. 2008.

UMESH, N. R., SHANKAR, K. M.; MOHAN, C. V. Enhancing growth of common carp, rohu and Mozambique tilapia through plant substrate: the role of bacterial biofilm. **Aquaculture International**. v. 7, p. 251 – 260. 1999.

WANG, B. B.; YUAN, J.; ZHANG, J.; SHEN, Z. Z.; ZHANG, M. X.; LI, R.; RUAN, Y.; SHEN, Q. Effects of novel bioorganic fertilizer produced by *Bacillus amyloliquefaciens* W19 on antagonism of *Fusarium* wilt of banana. **Biology and Fertility of Soils**. v.49, n. 4, p. 435 – 446. 2013.

WANG, B.; LI, R.; RUAN, Y.; OU, Y.; ZHAO, Y.; SHEN, Q. Pineapple-banana rotation reduced the amount of *Fusarium oxysporum* more than maize-banana rotation mainly through modulating fungal communities. **Soil Biology & Biochemistry**. v.86, p. 77 - 86. 2015.

WEN, T.; HUANG, X.; ZHANG, J.; ZHU, T.; MENG, L.; CAI, Z. Effects of water regime, crop residues, and application rates on control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Jornal of Environmental Sciences**. v.31,p. 30 - 37. 2015.

YANG, X.; CHEN, L.; YONG, X.; SHEN, Q. Formulations can affect rhizosphere colonization and biocontrol efficiency of *Trichoderma harzianum* SQR-T037 against *Fusarium* wilt of cucumbers. **Biology and Fertility of Soils**, v.47, p. 239 – 248. 2010.

YAQUB, F.; SHAHZAD, S. Effect of seed pelleting with *Trichoderma* spp., and *gliocladium virens* on growth and colonization of roots of sunflower and mung bean by *Sclerotium rolfsii*. **Pakistan Journal of Botany**, v.40, n.2, p. 947 - 953, 2011.

YEDIDIA, I. et al. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. **Plant Soil**, v. 235, p. 235 - 242, 2001.

YI, H.; CHI, Y. Biocontrol of Cytospora canker of poplar in north-east China with *Trichoderma longibrachiatum*. **Forest Pathology**. v.41, p.299 - 307. 2011.

YIN, C.; JONES, K.L.; PETERSON, D.E.; GARRETT, K.A.; HULBERT, S.H.; PAULITZ, T.C. Members of soil bacterial communities sensitive to tillage and crop rotation. **Soil Biology and Biochemistry**. v.42, p. 2111 - 2118. 2010.

ZHANG, S.; GAN, Y.; XU, B. Biocontrol potential of a native species of *Trichoderma longibrachiatum* against *Meloidogyne incognita*. **Applied Soil Ecology**. v. 94, p . 21 – 29. 2015.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O manejo integrado com a utilização de variedades resistentes, isolados de *Trichoderma* spp. antagônicos a fungos patogênicos e incremento de matéria orgânica do solo, que proporciona melhoria na qualidade do solo e o controle de fitopatógenos, apresenta-se como alternativa de proteção contra doenças, em especial aquelas que não apresentam controle eficaz com métodos químicos.

A cultura da banana, uma das frutas mais consumidas no mundo e que gera renda e emprego em várias regiões do mundo, vêm sofrendo com o ataque de diversas pragas e doenças. Nas últimas décadas em vários países do mundo, as variedades do subgrupo Cavendish têm sido dizimadas pelo mal do Panamá, doença causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Algumas das variedades de maior aceitação pelo consumidor, como a 'Prata Anã' e a 'Maçã', que são susceptíveis e altamente susceptíveis respectivamente a esta doença.

A cultivar FHIA 01, lançada pela Fundação Hondurenha de Investigação Agrícola em 1988, um híbrido tetraploide AAAB, possui alta produtividade em vários ambientes e se apresenta como tolerante às raças 1 e 4 de Foc, em comparação às variedades de maior aceitação comercial e que são susceptíveis a doença.

O presente trabalho avaliou a ação integrada de isolados de *Trichoderma* spp., antagonistas ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, em diferentes formas e períodos de inoculação, associados à adubação com resíduos orgânicos e mudas de bananeira da cultivar FHIA 01, visando o controle do mal do Panamá.

Trichoderma harzianum (isolado TCS 29) promoveu os melhores resultados *in vitro* e *in vivo*, sendo considerado o mais eficiente em promover a redução da incidência e severidade do mal do Panamá, em condições de casa de vegetação, em solo com e sem a adição de matéria orgânica.

O uso dos resíduos orgânicos associados aos isolados de *Trichoderma* foi considerado eficiente, pois promoveram o crescimento e manutenção da população do antagonista no solo, também sendo observada a melhoria do vigor das plantas e uma redução dos sintomas internos causados por Foc nas mudas. Os substratos de bagaço de cana e gliricídia promoveram bons resultados para incremento de massa seca das plantas de bananeira. Pode-se ainda fazer a associação destes resultados de biocontrole com a melhoria nas condições do solo e também de nutrição das mudas pela adição da matéria orgânica ao substrato de cultivo.

A incorporação de gliricídia ao solo favorece ao desenvolvimento das plantas nas condições avaliadas, entretanto também favorece ao desenvolvimento da população do patógeno no substrato e no solo, não sendo aconselhável o seu uso indiscriminado sem análises prévias da área de plantio de bananeira.

A adição dos substratos orgânicos de bagaço de cana e raspas de mandioca ao solo, associado à aplicação de *Trichoderma harzianum* (TCS 40) promoveram 100% de controle do mal do Panamá, em condições de casa de vegetação nas mudas de bananeira da variedade 'Prata Maravilha'.

Os isolados de *Trichoderma* obtidos de solo de plantio de sisal (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm) na região semiárida da Bahia apresentaram capacidade de colonização endofítica das raízes, pseudocaule e folhas das mudas de bananeira e eficiência no biocontrole ao patógeno.

As populações de *Trichoderma* permaneceram viáveis no solo de plantio das mudas mesmo após quinze dias da última aplicação demonstrando que estes isolados podem ser utilizados para o biocontrole de Foc. Além disso, a adição de matéria orgânica ao solo favoreceu ao desenvolvimento das populações dos antagonistas e inibiu a população do patógeno, com exceção da parte aérea de gliricídia.

As reaplicações de *Trichoderma* spp. com periodicidades semanais e quinzenais, nas condições avaliadas, não influenciam na redução da incidência e severidade da doença nas mudas de bananeira. Foi demonstrado que a inoculação do antagonista no solo é mais eficiente para o controle do patógeno do que o tratamento das mudas ainda em bandejas de aclimatação e posterior plantio em solo infestado com Foc, sem inoculação do solo com *Trichoderma*.

Sugere-se que novos experimentos sejam realizados com os isolados selecionados de *Trichoderma harzianum* (TCS 10, TCS 29 e TCS 40) e os resíduos agrícolas (bagaço de cana e raspas de mandioca) que proporcionaram o controle eficiente do mal do Panamá, avaliando-se as variedades 'Prata Anã' e 'Maçã', as quais tem maior aceitação pelos consumidores, mas que são afetadas pelo mal do Panamá. Dessa forma, os resultados deste estudo seriam validados com variedades suscetíveis, visando à definição de estratégias integradas para o manejo do mal do Panamá em diferentes variedades de bananeira.