

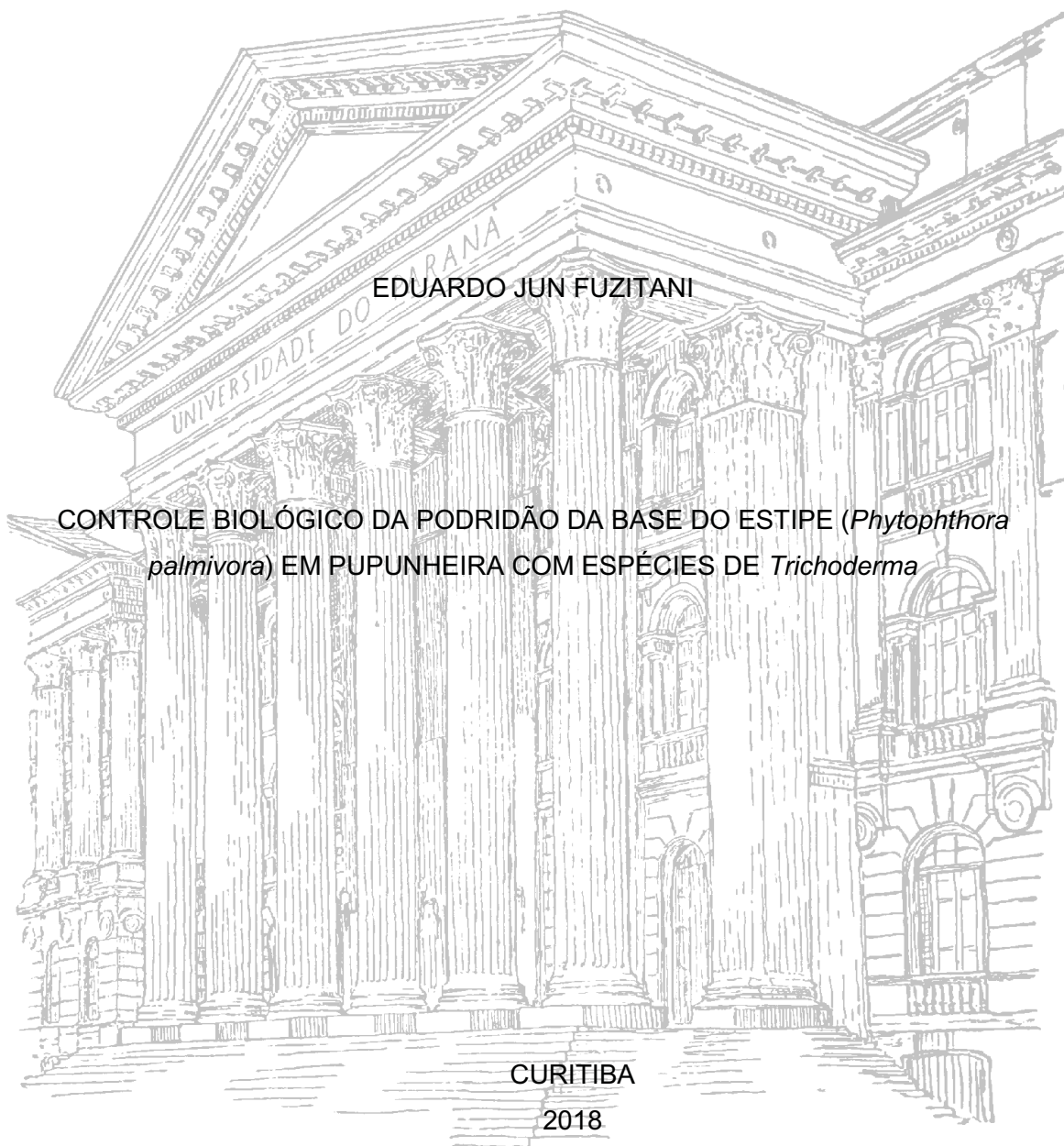
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

EDUARDO JUN FUZITANI

CONTROLE BIOLÓGICO DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE (*Phytophthora palmivora*) EM PUPUNHEIRA COM ESPÉCIES DE *Trichoderma*

CURITIBA

2018



EDUARDO JUN FUZITANI

CONTROLE BIOLÓGICO DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE
(*Phytophthora palmivora*) EM PUPUNHEIRA COM ESPÉCIES DE *Trichoderma*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Álvaro Figueredo dos Santos

Coorientador: Dr. Wagner Bettiol

Curitiba

2018



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO AGRONOMIA
(PRODUÇÃO VEGETAL)

TERMO DE APROVAÇÃO

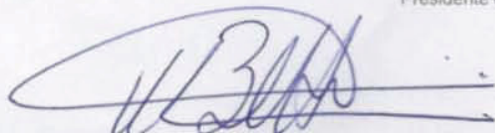
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **EDUARDO JUN FUZITANI** intitulada: **CONTROLE BIOLÓGICO DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE (*Phytophthora palmivora*) EM PUPUNHEIRA COM ESPÉCIES DE *Trichoderma***, após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

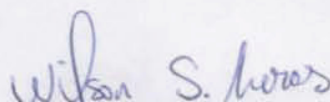
Curitiba, 31 de Julho de 2018.



ALVARO FIGUEREDO DOS SANTOS
Presidente da Banca Examinadora



WAGNER BETTIOL
Avaliador Externo



WILSON DA SILVA MORAES
Avaliador Externo



LUCIMERIS RUARO
Avaliador Externo



CELSO GARCIA AUER
Avaliador Externo

Aos meus pais

Sigueo Fuzitani *in memoriam* e Maria Hissaka Fuzitani

DEDICO

À Aldrien, Murilo e Fernando, cujo apoio, carinho,
amor, dedicação e
companheirismo
foram indispensáveis,

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

- À minha esposa Aldrien de Sousa Fuzitani, pelo companheirismo, amor, incentivo e paciência, compartilhando todos os momentos alegres e difíceis no decorrer do curso;

- Aos meus filhos Murilo e Fernando, pela alegria de ser pai e a oportunidade de poder gerar filhos tão queridos e desejados;

- Aos meus pais Sigeo *in memoriam* e Maria Hissaka Fuzitani por acreditarem na minha capacidade e por me incentivarem a concluir este estudo;

- Ao professor, orientador e amigo Dr. Álvaro Figueredo dos Santos pela confiança e ensinamentos importantes durante o curso;

- Ao pesquisador, amigo e co-orientador Dr. Wagner Bettiol, pelo auxílio e atenção dispensada durante a realização deste estudo;

- Ao pesquisador, amigo Luis Alberto Saes pela oportunidade para a realização deste estudo;

- Aos professores do Programa de Pós-graduação em Agronomia - Produção Vegetal/UFPR, pelos conselhos e ensinamentos transmitidos;

- Aos pesquisadores do Polo Vale do Ribeira – APTA (Eral Rafael Damatto Jr, Edson Nomura, Leonardo e Camila), pelo auxílio na condução do experimento, tabulação dos dados e redação da tese;

- À CAPES pela concessão de bolsa de estudo;

- Aos funcionários da Embrapa Florestas – (Carol e David), pelo auxílio nos experimentos e amizade no decorrer do curso;

- Aos funcionários da APTA - Polo Regional Vale do Ribeira: João Batista Sales, Elisete, Iolanda, Alberto e Adélia pelo apoio na avaliação dos dados;

- A empresa M & M mudas em nome do Márcio e Mario, pelas mudas cedidas para os experimentos;

- A todos os colegas da pós-graduação, cujos nomes não citarei, porque graças a Deus são muitos;

- A todos que colaboraram para a realização e finalização deste estudo.

RESUMO

A pupunheira (*Bactris gasipaes* var. *gasipaes*) é uma palmeira oriunda da Amazônia que apresenta características diferenciadas, como precocidade, perfilhamento, adaptabilidade aos diferentes climas, regiões e estados brasileiros, como Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina, além do seu palmito não oxidar ou escurecer após o corte. Nestas regiões de cultivo, os viveiros e os plantios, jovens e adultos, são atacados por várias doenças, com destaque para a podridão da base do estipe (PBE), causada pelo oomiceto *Phytophthora palmivora*. A PBE é uma doença que se caracteriza pelo amarelecimento e morte da folha mais nova ou folha bandeira, seguindo para as demais folhas, podendo provocar a morte da planta-mãe, dos perfilhos e da touceira. O fato de a pupunheira ser uma planta perene, os cortes anuais de seus perfilhos auxiliam na disseminação da doença e comprometem a longevidade das plantas e os rendimentos econômicos. Até o momento, não se dispõe de medidas efetivas de controle da PBE, uma vez que não se dispõe de genótipos de pupunheira resistentes. Diante disso, o controle biológico com espécies de *Trichoderma* pode fazer parte de um manejo integrado para auxiliar o produtor a conviver com a doença. O objetivo do presente estudo foi avaliar a eficiência da aplicação de *Trichoderma* spp. no controle biológico da PBE. Para tanto, três experimentos foram conduzidos *in vitro*, para avaliar o efeito do antagonismo entre culturas confrontadas e dos metabólitos voláteis e não voláteis produzidos pelo *Trichoderma*; quatro *in vivo*, utilizando-se estipes destacadas de pupunheira, para avaliar a agressividade de isolados de *P. palmivora*, a colonização por *Trichoderma* spp. e o controle preventivo e curativo de *Phytophthora* por *Trichoderma* spp.; dois em casa de vegetação, para avaliar o efeito preventivo e curativo da aplicação de *T. asperellum* e *T. harzianum* em plântulas e mudas de pupunheira, adotando-se dois métodos de inoculação de *P. palmivora*; além de dois experimentos conduzidos em plantio comercial de primeiro ciclo, onde, plantas sintomáticas foram selecionadas, cortadas na base da touceira e submetidas a aplicação de uma suspensão de conídios de *T. asperellum* e *T. harzianum*, na região exposta pelo corte, mantendo-se os demais perfilhos para posterior avaliação. A partir dos resultados obtidos *in vitro* e *in vivo* foi possível constatar que isolados de *T. harzianum* e *T. asperellum* reduziram significativamente o crescimento micelial de *P. palmivora*; o isolado SA30 de *P. palmivora* foi o mais agressivo; todos os isolados de *Trichoderma* colonizaram internamente os tecidos do estipe destacado de pupunheira, e que aplicações preventivas e curativas de *T. harzianum* e *T. asperellum* reduziram significativamente a colonização de *P. palmivora* em estipe destacado de pupunheira, evidenciando a eficiência do método de inoculação de *P. palmivora* e do método de aplicação de *Trichoderma* para estudos com a PBE. As aplicações preventivas de *T. harzianum* e *T. asperellum* proporcionaram menor incidência da doença e maior sobrevivência de plântulas e mudas, além do efeito adicional no crescimento de plântulas, em altura do caule, diâmetro do colo, peso fresco e peso seco da parte aérea, e nas mudas, em altura do caule, diâmetro do colo e no peso fresco das raízes. Aplicações preventivas de *T. harzianum* e *T. asperellum*, 48 h antes da inoculação de *P. palmivora* em mudas de pupunheira, reduziram significativamente a severidade da PBE. Touceiras sintomáticas tratadas com *Trichoderma* mostraram redução significativa da incidência e severidade da doença, além do crescimento em altura do estipe, diâmetro do colo e no número de folhas do perfilho principal. Com estes

resultados vislumbra-se a introdução do uso de *Trichoderma* no manejo integrado da PBE em plantios adultos de pupunheira.

Palavras-chave: *Bactris gasipaes*; Doença, Palmito e PBE.

ABSTRACT

The peach palm (*Bactris gasipaes* var. *gasipaes*) is a native Amazon palm tree that has distinguish characteristics such as precocity production; tillering; great adaptability to the different climatic conditions, regions and Brazilian States, such as Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná and Santa Catarina and; its heart of palm does not rust or darken after harvest. In these cultivation regions, nurseries, young plantations and established crops attacked by several diseases, especially by stem base rot (SBR) that is caused by the oomycete *Phytophthora palmivora*. The SBR is a disease that is characterized by yellowing and death of the youngest leaf or flag leaf, following to the other leaves, which can cause the death of the mother plant, of the tillers and of the clump. Due the fact that peach palm is a perennial plant, the annual harvests of its tillers helps in the spread of the disease and compromise the longevity of the plants and the economic yields. There are no available effective control measures for SBR until this moment, since peach palm genotypes are not resistant to the disease. In view of this, biological control with *Trichoderma* species can be part of an integrated management to help the producer to cope with the disease. The aim of this study was to evaluate the efficiency of the application of *Trichoderma* spp. in the biological control of SBR. To achieve the objectives, three experiments were carried out *in vitro* to evaluate the effect of antagonism between challenged cultures and the volatile and non-volatile metabolites produced by *Trichoderma*; Four experiments *in vivo* were established with detached peach palm stems to evaluate the aggressiveness of *P. palmivora* isolates, the colonization by *Trichoderma* spp. and the preventive and curative control of *Phytophthora* by *Trichoderma* spp. on peach palm detached stems; Two experiments were carried out at greenhouse conditions to evaluate the preventive and curative effects of the application of *T. asperellum* and *T. harzianum* on young peach palm seedlings and peach palm seedlings, adopting two *P. palmivora* inoculation methods; It was also carried out two experiments in a first cycle peach palm field, where young symptomatic plants were selected, detached at the base of the clump and submitted to the application of *T. asperellum* and *T. harzianum* conidia suspension in the region exposed by the cut, remaining the others tiller for further evaluation. With the obtained data *in vitro* and *in vivo* conditions it was possible to verify that *T. harzianum* and *T. asperellum* isolates reduced significantly *P. palmivora* mycelial growth; the *P. palmivora* isolate SA30 of was the most aggressive; all *Trichoderma* isolates colonized internally the tissues of the detached peach palm stem; and preventive and curative applications of *T. harzianum* and *T. asperellum* reduced significantly *P. palmivora* colonization on detached peach palm stem, evidencing the efficiency of *P. palmivora* inoculation method and the *Trichoderma* application method for studies with SBR; Preventive applications of *T. harzianum* and *T. asperellum* provided lower incidence of disease and increased young seedling and seedling survival and also affect positively on young seedling growth, height, neck diameter, fresh weight and shoot dry weight, and on seedlings affected positively in height, diameter of the lap and the fresh weight of the roots. Preventive applications of

T. harzianum and *T. asperellum*, 48 h prior to inoculation of *P. palmivora* in peach palm seedlings reduced significantly the severity of SBR. Symptomatic clumps treated with *Trichoderma* showed significant reduction in the incidence and on severity of the disease, as well as stem height growth, neck diameter and number of leaves of the main tiller. With the obtained results it is possible to introduce the use of *Trichoderma* in the integrated management of SBR in adult peach palm orchards.

Key words: *Bactris gasipaes*; Disease; Heart of palm; SBR.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 A pupunheira	16
2.2 O gênero <i>Phytophthora</i>	20
2.3 Podridão da base do estipe da pupunheira	21
2.4 Controle biológico	23
CAP. 1 AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE <i>Trichoderma harzianum</i> e <i>T. asperellum</i> EM CONTROLAR <i>Phytophthora palmivora</i> IN VITRO E EM ESTIPES DESTACADOS DE PUPUNHEIRA.....	28
1.1 introdução	30
1.2 Material e Métodos	31
1.3 Resultados e Discussão.....	33
Referências.....	41
CAP. 2. CONTROLE PREVENTIVO E CURATIVO DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE EM PLÂNTULAS E EM MUDAS DE PUPUNHEIRA COM ESPECIES DE <i>Trichoderma</i>.....	46
2.1 Introdução.....	48
2.2 Material e Métodos	49
2.3 Resultados.....	56
2.4 Discussão	66
2.5 Conclusões	67
Referências.....	68

CAP. 3. CONTROLE BIOLÓGICO DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE EM PLANTIO ADULTO DE PRIMEIRO CICLO DE PUPUNHEIRA COM <i>Trichoderma harzianum</i> E <i>T. asperellum</i>	72
3.1 Introdução	74
3.2 Material e Métodos	75
3.3 Resultados	80
3.4 Discussão	87
3.5 Conclusões	90
Referências.....	90
CONSIDERAÇÕES FINAIS	96
REFERÊNCIAS.....	97

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1. ADAPTABILIDADE DA PUPUNHEIRA EM DIFERENTES REGIÕES E AS CONDIÇÕES CLIMÁTICAS E DO SOLO PARA SUA PRODUTIVIDADE.....17
- FIGURA 2. MORFOLOGIA DA PUPUNHEIRA. FONTE: MORA URPI E ECHEVERRÍA (1999)19
- FIGURA 3. SINTOMA EXTERNO DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE EM MUDA DE PUPUNHEIRA (A) SINTOMA EXTERNO EM PLANTAS JOVENS (B E C) SINTOMA INTERNO NA BASE DO ESTIPE EM PLANTAS JOVENS, APÓS CORTE LONGITUDINAL (D).....23
- FIGURA 4. CORTES LONGITUDINAIS EM ESTIPES DESTACADAS DE PUPUNHEIRA. A = TESTEMUNHA; B = ESTIPES TRATADAS APENAS COM ÁGUA; C = ESTIPES TRATADAS COM *Trichoderma harzianum*; E D = ESTIPES INOCULADAS COM *Phytophthora palmivora*.....35
- FIGURA 5. COLONIZAÇÃO DOS ISOLADOS TA1 DE *Trichoderma asperellum* (A) E TH2 DE *Trichoderma harzianum* (C) APLICADOS NOS ESTIPES DESTACADOS DE PUPUNHEIRA 0, 24 H E 48 H ANTES DA INOCULAÇÃO DO ISOLADO SA30 DE *Phytophthora palmivora* (BD), NAS REGIÕES A 0-1, 5-6 E 10-11 CM A PARTIR DA EXTREMIDADE, APÓS SETE DIAS DA INOCULAÇÃO DO PATÓGENO. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI (TUKEY 5%)38
- FIGURA 6. COLONIZAÇÃO DOS ISOLADOS TA1 DE *Trichoderma asperellum* (A) E TH2 DE *Trichoderma harzianum* (C) APLICADOS NOS ESTIPES DESTACADOS DE PUPUNHEIRA 48 H, 24 H, 0 APÓS A INOCULAÇÃO DO ISOLADO SA30 DE *Phytophthora palmivora* (BD), NAS REGIÕES A 0-1, 5-6 E 10-11 CM A PARTIR DA EXTREMIDADE, APÓS SETE DIAS DA INOCULAÇÃO DO PATÓGENO. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI (TUKEY 5%)39
- FIGURA 7. MÉTODO DE INOCULAÇÃO POR IMERSÃO: A) PLÂNTULAS SADIAS DE PUPUNHEIRA RETIRADAS DA SEMENTEIRA; B) PLÂNTULAS INOCULADAS POR IMERSÃO DAS RAÍZES EM SUSPENSÃO DE ZOÓSPOROS DE *Phytophthora palmivora*.....51
- FIGURA 8. MÉTODO DE APLICAÇÃO DE *TRICHODERMA*: IMERSÃO DAS RAÍZES COM FERIMENTOS NA SUA EXTREMIDADE EM SUSPENSÃO DE CONÍDIOS DE ISOLADOS DE *Trichoderma asperellum* E *T. harzianum*.52
- FIGURA 9. MÉTODO DE INOCULAÇÃO DE *P. palmivora* EM MUDAS DE PUPUNHEIRA: A) IMERSÃO DAS RAÍZES EM BANDEJA COM ÁGUA; B) INOCULAÇÃO COM AUXÍLIO DE UMA SERINGA, DA SUSPENSÃO DE ZOÓSPOROS NO COLO E RAÍZES DAS MUDAS, COM AUXÍLIO DE

UMA SERINGA DESCARTÁVEL, APÓS A IMERSÃO EM BANDEJA COM ÁGUA.....	54
TABELA 10. INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE EM MUDAS DE PUPUNHEIRA TRATADAS PREVENTIVAMENTE COM ISOLADOS DE <i>Trichoderma asperellum</i> E <i>T. harzianum</i> , NOS INTERVALOS DE APLICAÇÃO 0, 24 E 48 H ANTES DA INJEÇÃO DE UMA SUSPENSÃO DE ZOÓPOROS DE <i>P. palmivora</i>	58
FIGURA 11. INCIDÊNCIA DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE EM PLÂNTULAS INOCULADAS NO COLO DE SUSPENSÃO DE ZOÓSPOROS DE <i>P. PALMIVORA</i> : A) TESTEMUNHA ABSOLUTA (0%); B) TESTEMUNHA INOCULADA COM <i>P. palmivora</i> (60%); C) PLÂNTULAS TRATADAS COM <i>T. harzianum</i> (60%); D) PLÂNTULAS TRATADAS COM <i>T. asperellum</i> (30%).....	60
FIGURA 12. REGIÃO DO COLO E RAÍZES DE MUDAS DE PUPUNHEIRA: A) SEM INOCULAÇÃO DE <i>P. palmivora</i> (SADIAS); B) COM INOCULAÇÃO DE <i>Phytophthora palmivora</i> , APÓS 90 DIAS (DOENTES), EXIBINDO ESCURECIMENTO DEVIDO À COLONIZAÇÃO DO PATÓGENO (SETAS).....	65
FIGURA 13. PLANTAS COM SINTOMAS DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE EM PLANTIOS ADULTOS (A,B E C); CORTE DO ESTIPE DA PLANTA MÃE DOENTE COM AUXÍLIO DE SERROTE (D); LIMPEZA DA BASE DO ESTIPE COM A RETIRADA DOS TECIDOS APODRECIDOS DA BASE DO ESTIPE (E); PLANTA-MÃE COM LESÃO EXPOSTA DA BASE DO ESTIPE E APTA PARA RECEBER A APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS COM <i>Trichoderma asperellum</i> E <i>Trichoderma harzianum</i> (F).....	79
FIGURA 14. SOBREVIVÊNCIA DE PERFILHOS EM TOUCEIRAS COM PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE SUBMETIDAS À APLICAÇÃO DE <i>Trichoderma asperellum</i> E <i>Trichoderma harzianum</i>	82
FIGURA 15. ALTURA DO ESTIPE DO PERFILHO PRINCIPAL EM TOUCEIRA DE PUPUNHEIRA COM PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE E SUBMETIDA À APLICAÇÃO DE UMA SUSPENSÃO DE CONÍDIOS DE <i>Trichoderma asperellum</i> E <i>T. harzianum</i> , APÓS 240 DIAS DA APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA MINÚSCULA, NA COLUNA, NÃO DIFEREM ENTRE SI, PELO TESTE DE DUNCAN (5%)	82
FIGURA 16. DIÂMETRO DO COLO DO PERFILHO PRINCIPAL EM TOUCEIRA DE PUPUNHEIRA AFETADAS PELA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE E SUBMETIDA A PLICAÇÃO DE UMA SUSPENSÃO DE CONÍDIOS DE <i>Trichoderma asperellum</i> E <i>T. harzianum</i> , APÓS 240 DIAS DA APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA MINÚSCULA, NA COLUNA, NÃO DIFEREM ENTRE SI, PELO	

TESTE DE DUNCAN (5%)	83
FIGURA 17. NÚMERO DE FOLHAS DO PERFILHO PRINCIPAL EM TOUCEIRAS DE PUPUNHEIRA AFETADAS PELA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE SUBMETIDAS À APLICAÇÃO DE UMA SUSPENSÃO DE CONÍDIOS DE <i>Trichoderma asperellum</i> E <i>T. harzianum</i> APÓS 240 DIAS DA APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA MINÚSCULA, NA COLUNA, NÃO DIFEREM ENTRE SI, PELO TESTE DE DUNCAN (5%)	84
FIGURA 18. TOUCEIRA DE PUPUNHEIRA DO TRATAMENTO TESTEMUNHA (SEM APLICAÇÃO DE <i>TRICHODERMA</i> E SEM A REMOÇÃO DA PLANTA-MÃE) (A); TOUCEIRA COM A REMOÇÃO DA PLANTA-MÃE, ANTES DA APLICAÇÃO DE <i>Trichoderma asperellum</i> (B); TOUCEIRA COM A REMOÇÃO DA PLANTA-MÃE, ANTES DA APLICAÇÃO DE <i>T. harzianum</i> (C); TOUCEIRA DO TRATAMENTO TESTEMUNHA, APÓS 240 DIAS (D); TOUCEIRA TRATADA COM <i>T. asperellum</i> , APÓS 240 DIAS DA APLICAÇÃO (E); TOUCEIRA TRATADA COM <i>T. HARZIANUM</i> , APÓS 240 DIAS DA APLICAÇÃO (F).....	85
FIGURA 19. DIÂMETRO DO COLO E ALTURA DO ESTIPE DO PERFILHO PRINCIPAL EM TOUCEIRA DE PUPUNHEIRA AFETADA PELA PODRIDÃO DA-BASE DO ESTIPE E SUBMETIDA À APLICAÇÃO DE UMA SUSPENSÃO DE CONÍDIOS DE <i>Trichoderma asperellum</i> E <i>Trichoderma harzianum</i> , APÓS 120 DIAS DA APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS.....	86

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. ÁREA LESIONADA E COLONIZAÇÃO DOS TECIDOS DE ESTIPE DESTACADO DE PUPUNHEIRA INOCULADO COM ISOLADOS DE <i>Phytophthora palmivora</i> , A PARTIR DA EXTREMIDADE.....	34
TABELA 2. COLONIZAÇÃO E VELOCIDADE DE CRESCIMENTO (VC) DE ISOLADOS DE <i>Trichoderma asperellum</i> E <i>Trichoderma harzianum</i> NOS TECIDOS DE ESTIPE DESTACADO DE PUPUNHEIRA A PARTIR DA EXTREMIDADE.....	36
TABELA 3. ÁREA LESIONADA PELA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE (PBE) E PORCENTAGEM DE CONTROLE (ENTRE PARÊNTESES) DO ISOLADO TH2 DE <i>Trichoderma harzianum</i> E TA1 DE <i>T. asperellum</i> EM ESTIPE DESTACADOS DE PUPUNHEIRA, NOS INTERVALOS DE ZERO, 24 E 48 H ANTES E APÓS A INOCULAÇÃO DO ISOLADO SA30 DE <i>Phytophthora palmivora</i> , APÓS SETE DIAS DA APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS....	37
TABELA 4. INCIDÊNCIA E O NÍVEL DE CONTROLE DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE E SOBREVIVÊNCIA DE PLÂNTULAS DE PUPUNHEIRA INOCULADAS POR IMERSÃO DE RAÍZES EM SUSPENSÃO DE ZOÓSPOROS DE <i>Phytophthora palmivora</i> E TRATADAS COM APLICAÇÃO DE <i>Trichoderma asperellum</i> E <i>T. harzianum</i> , NO SUBSTRATO, ANTES DO PLANTIO.....	57
TABELA 5. CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS DE PUPUNHEIRA INOCULADAS POR IMERSÃO EM SUSPENSÃO DE ZOÓSPOROS DE <i>P. palmivora</i> E TRATADAS COM APLICAÇÃO DE <i>Trichoderma asperellum</i> (TA1) E <i>T. harzianum</i> (TH2) NO SUBSTRATO, APÓS 90 DIAS DA APLICAÇÃO NOS TRATAMENTOS.....	58
TABELA 6. INCIDÊNCIA E O NÍVEL DE CONTROLE DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE E SOBREVIVÊNCIA DE PLÂNTULAS DE PUPUNHEIRA INOCULADAS NO COLO COM SUSPENSÃO DE ZOÓSPOROS DE <i>Phytophthora palmivora</i> E TRATADAS PELA IMERSÃO DAS RAÍZES EM SUSPENSÃO DE CONÍDIOS DE <i>Trichoderma asperellum</i> E <i>T. harzianum</i>	59
TABELA 7. CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS DE PUPUNHEIRA INOCULADAS COM <i>Phytophthora palmivora</i> E TRATADAS POR IMERSÃO DAS RAÍZES EM SUSPENSÃO DE CONÍDIOS DE <i>Trichoderma asperellum</i> E <i>T. harzianum</i>	61
TABELA 8. INCIDÊNCIA E O NÍVEL DE CONTROLE DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE E SOBREVIVÊNCIA DE MUDAS DE PUPUNHEIRA TRATADAS PREVENTIVAMENTE COM ISOLADOS DE <i>Trichoderma harzianum</i> E <i>T. asperellum</i> E INOCULADAS COM <i>Phytophthora palmivora</i>	61

TABELA 9. CRESCIMENTO DE MUDAS DE PUPUNHEIRA INOCULADAS POR IMERSÃO EM SUSPENSÃO DE ZOÓSPOROS DE <i>P. palmivora</i> E TRATADAS COM APLICAÇÃO DE <i>Trichoderma asperellum</i> (TA1 E TA2) E <i>T. harzianum</i> (TH1 E TH2) NO SUBSTRATO, APÓS 90 DIAS DA APLICAÇÃO NOS TRATAMENTOS.....	62
TABELA 10. INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE EM MUDAS DE PUPUNHEIRA TRATADAS PREVENTIVAMENTE COM ISOLADOS DE <i>Trichoderma asperellum</i> E <i>T. harzianum</i> , NOS INTERVALOS DE APLICAÇÃO 0, 24 E 48 H ANTES DA INJEÇÃO DE UMA SUSPENSÃO DE ZOÓPOROS DE <i>P. palmivora</i>	63
TABELA 12. CRESCIMENTO DE MUDAS DE PUPUNHEIRA INOCULADAS COM <i>Phytophthora palmivora</i> E TRATADAS CURATIVAMENTE COM ISOLADOS DE <i>Trichoderma asperellum</i> E <i>T. harzianum</i>	64
TABELA 13. INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE EM MUDAS DE PUPUNHEIRA TRATADAS CURATIVAMENTE COM ISOLADOS DE <i>trichoderma asperellum</i> E <i>T. harzianum</i> , NO INTERVALO DE APLICAÇÃO 0, 24 E 48 H APÓS A INOCULAÇÃO DE UMA SUSPENSÃO DE ZOÓSPOROS DE <i>P. palmivora</i> , APÓS 28 DIAS DA APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS.....	65
TABELA 14. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DO SOLO NA ÁREA EXPERIMENTAL COM PUPUNHEIRA, NA PROFUNDIDADE DE 0-20 CM, NO MUNICÍPIO DE SETE BARRAS, SP/2017.....	76
TABELA 15. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DO SOLO NA ÁREA EXPERIMENTAL COM PUPUNHEIRA, NA PROFUNDIDADE DE 0-20 CM, NO MUNICÍPIO DE SETE BARRAS, SP/2017.....	76
TABELA 16. TEORES ADEQUADOS DE NUTRIENTES PARA PUPUNHEIRA, VISANDO A PRODUÇÃO DE PALMITO, NAS CONDIÇÕES ESPECÍFICAS DO VALE DO RIBEIRA, SP.....	77
TABELA 17. INCIDÊNCIA DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE (PBE), SOBREVIVÊNCIA DOS PERFILHOS DE TOUCEIRA EM PUPUNHEIRA TRATADA COM <i>Trichoderma harzianum</i> E <i>Trichoderma asperellum</i> ...	81
TABELA 18. TEORES ADEQUADOS DE N, P, K, CA, MG, S, B, FE, CU, MN E ZN EM FOLHAS DE PUPUNHEIRA PARA PRODUÇÃO DE PALMITO, EM RELAÇÃO ÀS FOLHAS DE PLANTAS SADIAS E DOENTES COM SINTOMAS DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE (SETE BARRAS, SP/2017).....	86

1. INTRODUÇÃO

O palmito é um produto consumido em várias partes do mundo e o Brasil, que já foi considerado, por muitos anos, o maior exportador mundial de palmito, com a exploração extrativista de populações de palmeiras nativas, perdeu este mercado para a Costa Rica e Equador que produzem palmito de pupunheira cultivada. Os principais mercados são França, Argentina, EUA e Espanha. Várias palmeiras têm sido usadas para produção de palmito, tais como: juçara (*Euterpe edulis* Martius), na Mata Atlântica; açai (*Euterpe. oleraceae* Martius) e precatoria (*Euterpe. precatoria* Martius), na Amazônia; palmeira real (*Archonthonphoenix* spp.), na região Sul do Brasil; guariroba (*Syagrus oleracea* Martius), na região centro-oeste e, nos últimos anos, a pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth var. *gasipaes* Henderson).

A pupunheira se destaca em relação as outras espécies produtoras de palmito, como o palmito juçara, açai, guariroba e palmeira real, por sua precocidade no primeiro corte e a possibilidade de cortes anuais sucessivos, conferindo-lhe características de cultura perene. A espécie apresenta ampla adaptação geográfica, alto perfilhamento e o palmito não sofre escurecimento (oxidação) após o corte (TONET et al., 1999), tornando-se assim, uma alternativa comercialmente viável na produção do palmito. Esta espécie é uma alternativa de produção economicamente sustentável e viável, na medida em que as populações de plantas nativas produtoras de palmito vão se esgotando (SANTOS e LUZ, 2007).

A área plantada com pupunheira para produção de palmito é de 20 mil hectares. Os estados de São Paulo e Bahia são os maiores produtores, com mais de 5.000 ha cada. Estes plantios se localizam em polos específicos, na região Sul da Bahia e no Vale do Ribeira, em São Paulo. É plantada também na região litorânea dos estados de Santa Catarina, Paraná, Espírito Santo e Rio de Janeiro, e em sistema de plantio irrigado nos estados do Mato Grosso, Rondônia e Goiás (PENTEADO JUNIOR et al., 2014).

Nas regiões produtoras de palmito do Brasil e da Costa Rica, a pupunheira é atacada por vários patógenos, desde a fase de viveiro até plantios adultos (SANTOS et al., 2001), com destaque para a doença conhecida como podridão da base do estipe (PBE). O agente causal desta doença é o oomiceto *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler (SANTOS et al., 2001). A PBE ocorre em plantas jovens e adultas de

pupunheira, sendo frequente em viveiros e em plantios definitivos. As plantas atacadas caracterizam-se pelo amarelecimento da folha bandeira, seguido do amarelecimento e a seca das demais folhas, podendo provocar a morte da planta-mãe e, às vezes, dos perfilhos e de toda a touceira. Em cortes longitudinais e transversais realizados na base do estipe observa-se o escurecimento dos tecidos internos e uma podridão generalizada (BENCHIMOL et al., 2001; SANTOS et al., 2004). As plantas doentes de pupunheira encontram-se distribuídas esparsamente nos plantios (SANTOS et al., 2004). Até o momento, não se dispõe de medidas efetivas de controle, uma vez que o controle químico é pouco eficiente e não se dispõe de genótipos de pupunheira resistentes à doença.

Uma medida que poderá melhorar o manejo de controle da PBE é o controle biológico com o fungo *Trichoderma*. Em vários patossistemas (TEIXEIRA et al., 2012; NASHWA et al. 2008; LISBOA et al., 2007; MUTAWILA et al., 2011) tem sido comprovado o sucesso deste controle como em pinus, no controle de *Diplodia pinea* (REGLINSKI et al., 2012); em videira, no controle de patógenos de caule (MUTAWILA et al., 2011); e em tomateiro, no controle de *Botrytis cinerea* (LISBOA et al., 2007).

Trichoderma é um dos fungos mais pesquisados como agente de biocontrole, sendo antagonista a vários fitopatógenos em diferentes culturas. Os principais mecanismos envolvidos na atividade de biocontrole de *Trichoderma* spp. são competição por espaço e nutrientes e a produção de metabólitos e enzimas hidrolíticas como quitinase e β -1,3-glucanase. Essas enzimas hidrolíticas degradam parcialmente a parede celular do patógeno e leva ao seu parasitismo (RAI et al., 2016a; SOLANKI et al., 2011; BENITEZ et al. 2004; HARMAN et al., 2004). Além disso, *Trichoderma*, em associação com a planta, também desencadeia sistemicamente resistência e aumenta o crescimento e o desenvolvimento das raízes, a produtividade, a resistência a estresses abióticos e captação e uso de nutrientes (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2016; STUDHOLME et al., 2013).

Considerando o apelo da sociedade por produtos ecologicamente sustentáveis, a demanda por espécie de palmito cultivada de modo sustentável e consumido *in natura*. O manejo integrado é uma ferramenta que se adequa ao sistema de produção da pupunheira. A pupunheira se sobressai sobre todas as espécies produtoras de palmito, pois permite a comercialização *in natura* e o sistema de produção demanda baixo uso de produtos químicos (SANTOS et al., 2011).

O objetivo geral do presente estudo foi avaliar o potencial do controle biológico da PBE por *Trichoderma* spp. Os objetivos específicos foram: a) avaliar o antagonismo de *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma asperellum* sobre *P. palmivora* *in vitro* e em estipes destacados de pupunheira; b) desenvolver e validar um método de inoculação de *P. palmivora* e de aplicação de *Trichoderma* spp. para estudos com a PBE; c) avaliar o controle preventivo e curativo da PBE em plântulas e mudas de pupunheira tratadas com *T. harzianum* e *T. asperellum*, adotando-se dois métodos de inoculação de *P. palmivora*; e d) avaliar o controle curativo da PBE em touceiras de plantios comerciais de pupunheira tratadas com *T. harzianum* e *T. asperellum*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A pupunheira

A pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth var. *gasipaes* Henderson) é uma palmeira que apresenta grande variabilidade em suas características botânicas, morfológicas e fisiológicas, sendo seus tipos agrupados de acordo com a coloração da casca dos frutos, presença de espinhos no estipe, teor de óleo na polpa e presença de semente no fruto (BENCHIMOL et al., 2001).

O centro de origem da pupunheira, no Brasil, é a região Amazônica (Pará, Amazonas, Acre, Rondônia e Mato Grosso), e a sua domesticação se deu nos vales amazônicos dos Andes, no norte da Bolívia, no leste do Peru e no Equador, disseminando para as planícies tropicais da América (BERGO et al., 1999).

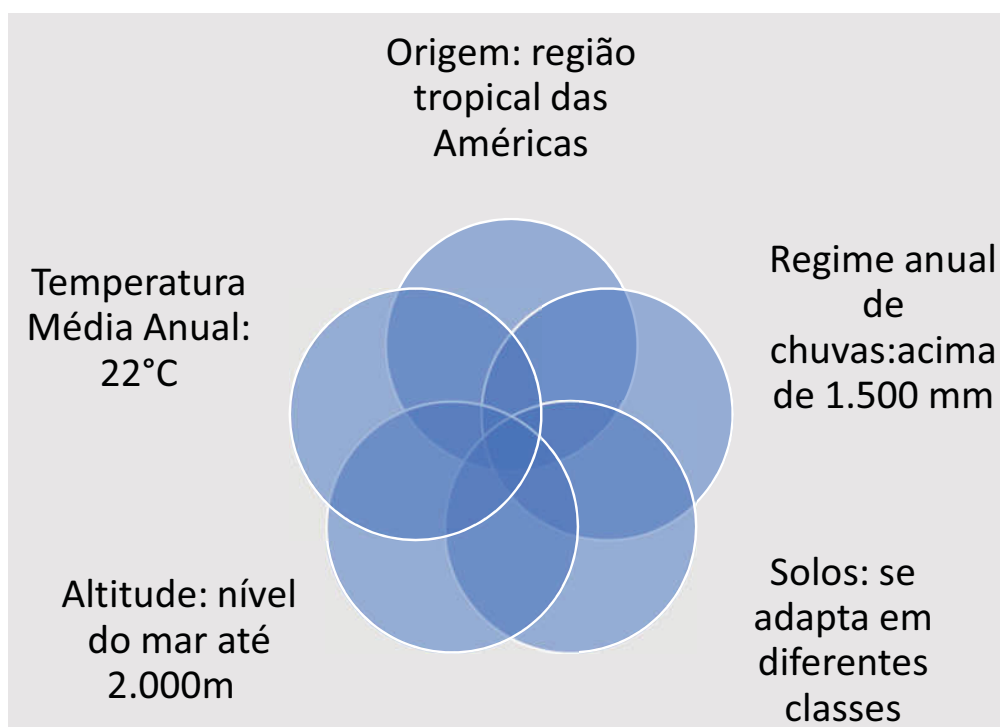
Embora a pupunheira seja originária de regiões tropicais com elevada precipitação pluviométrica e solos pobres, ela apresenta boa adaptação a diferentes condições climáticas nos trópicos (FERREIRA, 1987), tal características podem ser confirmadas no Brasil a partir da existência de cultivos desde o estado da Bahia até Santa Catarina. Porém, é importante ressaltar que, embora possa ser implantada nas mais diferentes condições climáticas, condições ótimas, do ponto de vista climático, resultam em maior desenvolvimento vegetativo, precocidade de produção e maior peso de palmito por planta e área (BOVI, 1998; NASCIMENTO et al., 2005). Os principais parâmetros que devem ser observados para verificar a aptidão climática do local para o cultivo da pupunheira são a precipitação pluviométrica e temperatura do ar (SANCHEZ, 1981).

A pupunheira é uma espécie que necessita de precipitação pluviométrica média anual acima de 1500 mm e de temperatura média anual do ar acima de 22°C (CLEMENT, 1988; BONACCINI, 1997; BOVI, 1998) (Figura 1).

Em relação a temperatura, a pupunheira tem se adequadado bem as regiões mais frias (temperatura inferior a 20,6 °C), como no litoral do estado do Paraná e Santa Catarina (MORSBACHET et al, 1998). Porém, ressalta-se que a pupunheira apresenta baixa resistência a geada, principalmente no caso de mudas e plantas jovens (NEVES et al., 2007).

A pupunheira se adapta satisfatoriamente em diferentes classes de solo. Quando plantada em solos ácidos, é recomendada a correção da acidez mediante a calagem e, posteriormente, a aplicação de fertilizantes visando suprir deficiências existentes.

FIGURA 1. ADAPTABILIDADE DA PUPUNHEIRA EM DIFERENTES REGIÕES E AS CONDIÇÕES CLIMÁTICAS E DO SOLO PARA SUA PRODUTIVIDADE.



Fonte: Eduardo Jun Fuzitani

A planta é de múltiplo uso, tendo como principais utilidades, a produção de palmito e de frutos comestíveis ou ainda a fabricação de ração de excelente valor nutritivo. A pupunheira apresenta grande potencial comercial para a alimentação humana na forma de frutos, ricos em nutrientes como a vitamina A e β -caroteno, podendo ser consumidos cozidos ou na forma de farinha (MORA-URPI et al., 1997).

Na região de origem, o fruto da pupunheira é bastante utilizado na alimentação humana, em função do seu alto valor nutritivo e energético. Clement e Mora Urpi (1987) referem-se à farinha de pupunha como o principal subproduto derivado do fruto usado na panificação. De acordo com Clement (2000), o mercado potencial dos frutos é grande, devido, principalmente, as suas qualidades nutritivas, organolépticas e visuais, que podem ser exploradas para a elaboração de novos subprodutos.

A pupunheira tem se mostrado como uma alternativa para a produção sustentável de palmito por pequenos produtores rurais (RESENDE et al., 2004). A utilização atual mais frequente da pupunheira é como planta produtora de palmito de excelente qualidade, sendo processada e comercializada em vidros, para exportação e mercado interno. O consumo do palmito *in natura* é possível para essa espécie, pois sua oxidação é bem mais lenta do que a de outras espécies, tais como o açaí, a juçara e a palmeira real (SANTOS et al., 2004).

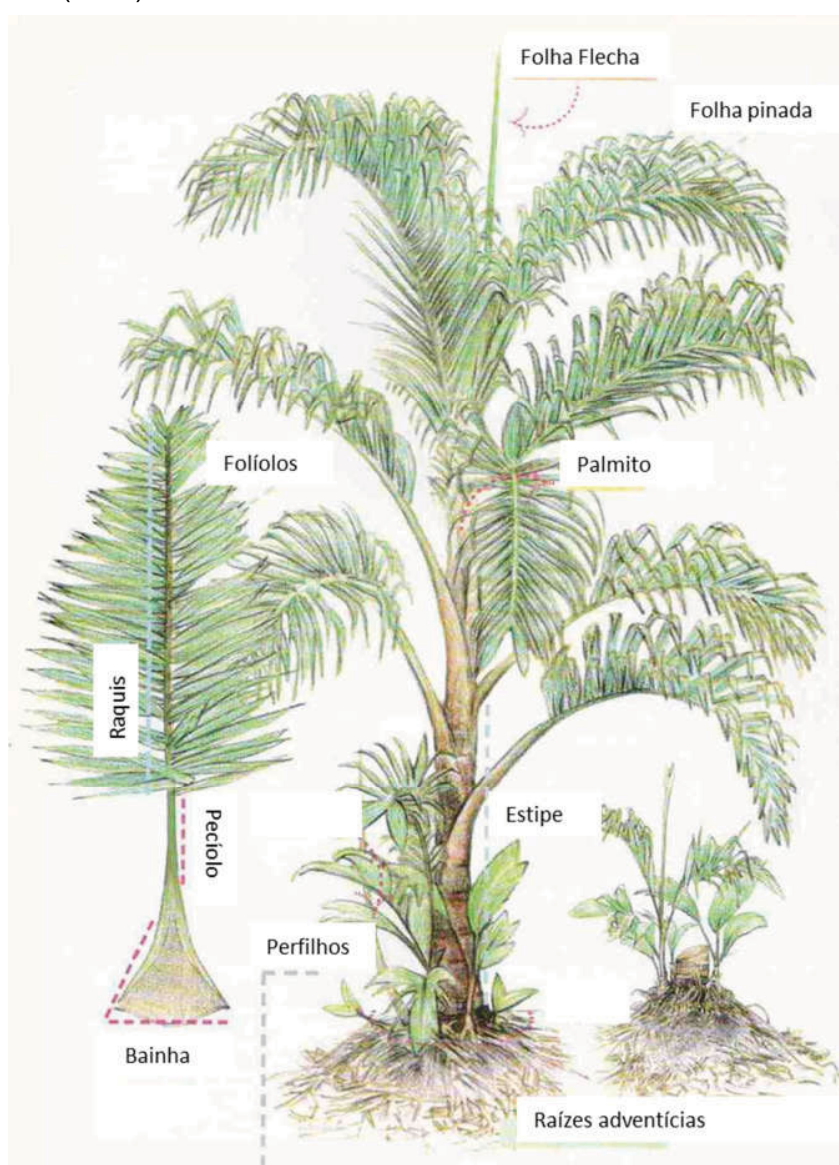
A partir de 1970, algumas instituições brasileiras de pesquisa, tais como o Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA), o Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e a Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC) começaram a realizar pesquisas com a cultura. Sementes foram importadas da Costa Rica, assim como realizadas coletas e conservação de material genético (CLEMENT, 1983; CLEMENT e CORADIN, 1985). Os primeiros resultados de pesquisa com a pupunheira para a produção de palmito no Brasil começaram a ser divulgados a partir de 1978 (GERMEK, 1978; GERMEK et al., 1981; GOMES, 1983; BOVI et al., 1988; CLEMENT et al., 1988).

Em decorrência dos bons resultados alcançados pela pesquisa com material sem espinho na década de 80 e da escassez da matéria prima de palmito juçara (*Euterpe edulis* Mart.), explorada de forma extrativista, alguns empresários passaram a cultivar a pupunheira em escala comercial, com maior expansão a partir de 1988 (CLEMENT et al., 1988; BOVI et al., 1988). As características vantajosas observadas para produção de palmito em escala comercial, proveniente espécie são: rápido crescimento, alta qualidade nutricional, baixos teores de substâncias oxidantes e boa capacidade de perfilhamento (GOMES et al., 1987) (Figura 2). Outra característica é a alta produtividade de palmito, podendo chegar a 12.000 palmitos ha⁻¹ano⁻¹ ou cerca

de 1700 kg ha⁻¹ ano⁻¹, além de subprodutos como palmito fatiado ou em rodela (MORO, 2004).

O interesse por parte dos agricultores no cultivo da planta, para produção de palmito, deu-se nos anos 1990 nas regiões Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil. A produção brasileira de palmito de pupunha em 2009 foi de 5.076 toneladas, gerando uma renda de R\$ 7.353.000,00 (IBGE, 2009).

FIGURA 2. MORFOLOGIA DA PUPUNHEIRA. FONTE: MORA URPÍ E ECHEVERRÍA (1999).



O Brasil foi considerado o maior exportador mundial de palmito, perdendo mercado para Costa Rica e Equador que produzem palmito de pupunha cultivada.

Além da lucratividade gerada por esse palmito, mesmo com a produção brasileira diminuída, tem-se a geração de empregos e riqueza (RESENDE et al., 2004).

No estado do Pará, a maior parte dos cultivos implantados com a pupunheira, continua em produção, mas sem expansão notável da área plantada. Em São Paulo, a região de maior importância para a cultivo é o Vale do Ribeira, com crescimento de 10 a 15% da área plantada, totalizando 4.000 ha em expansão. Enquanto que na Bahia, a atividade também é expressiva, notadamente na região sul do estado, onde os plantios são realizadas em 30 municípios, e destina a produção para oito agroindústrias de médio e grande porte (IAPAR, 2007).

A expansão do cultivo das palmeiras para produção de palmito, a escassez de informações e o manejo inadequado da cultura têm favorecido a ocorrência de vários problemas fitossanitários, tanto em viveiro como em plantios definitivos (SANTOS et al., 2008). Dentre eles, destacam-se a Antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. (SANTOS et al., 2008), a Mancha de *Curvulária*, causada por *Curvularia eragrostides* (Henn.) Meyer (BENCHIMOL e ALBUQUERQUE, 1998) e *Curvulária senegalensis* (Speg.) Subram. (SANTOS et al., 2003). A podridão da base do estipe, causada pelo oomiceto *Phytophthora palmivora* Butler (Butler), tem provocado danos em plantas jovens e adultas, tanto em viveiros como em campos de produção (SANTOS et al., 2008). Sendo considerada a maior ameaça ao estabelecimento da cultura nas regiões brasileiras promissoras, a doença provoca danos em mudas, sob as condições de viveiro, ou em plantas no campo. Porém, foi nas condições de campo de produção, principalmente em plantas jovens de até um ano de idade, que a doença se tornou o principal fator limitante da produção de palmito e da expansão dos cultivos de pupunheira.

2.2 O gênero *Phytophthora*

Segundo Alexopoulos et al. (1996), o gênero *Phytophthora* pertence ao Reino Straminopila, Filo Oomycota, Classe Oomycetes, Família Pythiaceae. O gênero contém aproximadamente 117 espécies descritas (KROON et al., 2011), ocupando uma variedade de habitats terrestres e aquáticos. Desde a publicação de Erwin e Ribeiro (1996), 39 novas espécies de *Phytophthora* foram identificadas (ÉRSEK e RIBEIRO, 2010).

A maioria das espécies de *Phytophthora* são consideradas patogênicas e altamente destrutivas, causando podridões de raízes, caules, folhas e frutos. Normalmente, em ambientes saturados de umidade, é que os esporângios são produzidos. A germinação pode ser direta ou indireta, ocorrendo liberação de zoósporos, que são as principais unidades infectivas. Isto ocorre somente quando há um filme de água em contato com o esporângio e quando a temperatura está entre 15 e 18 °C.

Phytophthora palmivora é um patógeno sendo a maioria de seus hospedeiros nativos das Américas Central e do Sul (ZENTMYER et al., 1983). Ocorrência de doenças provocadas por esta espécie é registrada em diferentes regiões e em culturas de valor econômico expressivo no Brasil, como o cacau, citrus, coqueiro, cupuaçu, mamão, pimenta-do-reino, pinha e a seringueira (SANTOS et al. 2014). Luz e Matsuoka (1996) e Zentmyer (1983) citam as diferentes formas de esporos, incluindo zoósporos móveis, produzidos e diferenciados no interior de esporângios, se apresentando também como forma infectiva do patógeno, como principais características do gênero *Phytophthora*. Os clamidósporos, que são fundamentais na sobrevivência de algumas espécies, e os oósporos, esporos sexuais, formados após união do anterídio (gametângio masculino) com o oogônio (gametângio feminino), importantes nas recombinações genéticas e sobrevivência de algumas espécies também são características do gênero.

Os zoósporos são necessários na disseminação do patógeno quando em alta umidade e temperatura ótima e os oósporos são estruturas essenciais permitirem a ocorrência de recombinações genéticas e, por consequência, a formação de híbridos intra e interespecíficos entre indivíduos compatíveis (LUZ e MATSUOKA, 2001).

2.3 Podridão da base do estipe da pupunheira (PBE)

A podridão da base do estipe da pupunheira (PBE), causada por *P. palmivora* tem provocado danos em plantas jovens e adultas, em viveiros e campos de produção (SANTOS et al., 2008). Ao realizar cortes longitudinais e transversais da pupunheira é possível observar o escurecimento dos tecidos internos e podridão generalizada (SANTOS et al., 2008).

Geralmente, podridões provocadas por *Phytophthora* spp. avançam rapidamente se as condições ambientais forem relativamente favoráveis. Segundo

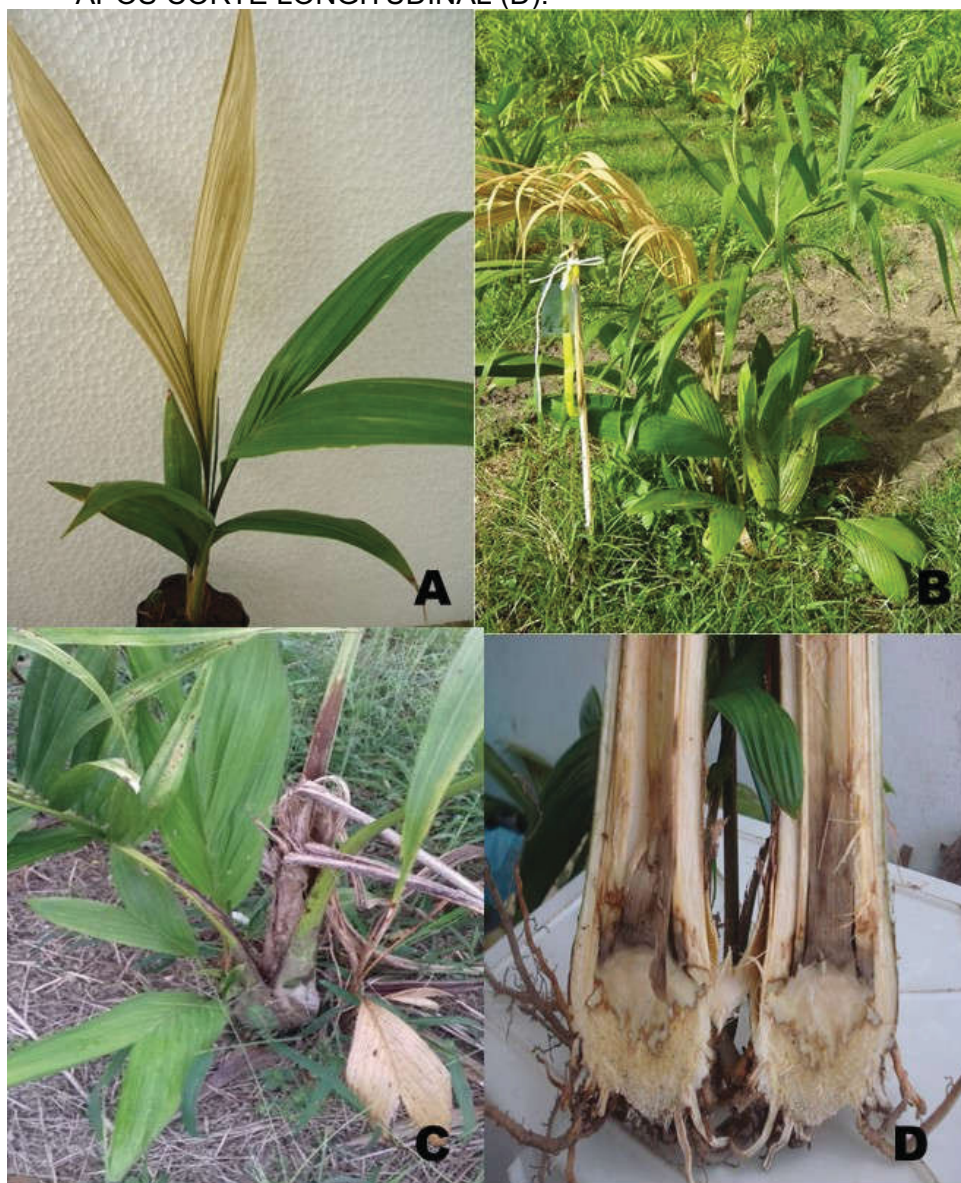
Benchimol et al. (1998), plantas de pupunheira com sintomas de PBE apresentam murcha, necrose e seca das folhas, como consequência do apodrecimento dos tecidos internos da base do estipe, os quais adquirem coloração pardo-escuro, que levam a morte da planta. A podridão pode ser observada mais detalhadamente, após o corte transversal e longitudinal do caule ou estipe, que expõe os tecidos mais internos colonizados pelo fungo. Além disso, também são observados amarelecimento da folha bandeira, da primeira e segunda folha.

No município de Mogi Mirim-SP, em 2000, foi observada a ocorrência de podridão da base do estipe de pupunheira (PBE), com escurecimento dos tecidos internos e amarelecimento de folhas, inicialmente na folha bandeira. Desse material foi obtido um isolado de *Phytophthora*, o qual teve sua patogenicidade testada em pupunheira e sua espécie identificada como *P. palmivora* (PIZZINATTO et al., 2002).

No Paraná, o primeiro relato da ocorrência de *P. palmivora* associada à podridão do estipe da pupunheira foi em 2002, por Santos et al., (2004). Os autores identificaram *P. palmivora* causando podridão do estipe da pupunheira em Paranaguá-PR, em plantios com idades entre seis e 12 meses.

Plantas atacadas exibem, inicialmente, sintomas de amarelecimento da folha bandeira, posteriormente amarelecimento e seca das demais folhas (Figura 3A e 3B), podendo causar morte da planta-mãe (Figura 3C). Ao se efetuar um corte transversal na base do estipe era observado o escurecimento dos tecidos internos com posterior podridão generalizada do estipe (Figura 3 D).

FIGURA 3. SINTOMA EXTERNO DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE EM MUDA DE PUPUNHEIRA (A) SINTOMA EXTERNO EM PLANTAS JOVENS (B E C) SINTOMA INTERNO NA BASE DO ESTIPE EM PLANTAS JOVENS, APÓS CORTE LONGITUDINAL (D).



Fonte: Eduardo Jun Fuzitani

Fonte: Wilson da Silva Moraes

2.4. Controle Biológico

Na agricultura tradicional, o combate às enfermidades tem sido altamente dependente de agrotóxicos, que embora sejam eficazes em controlá-las podem, às vezes, ocasionar consequências indesejáveis como o seu uso nocivo, causando

desequilíbrio ao meio ambiente e contaminando o solo e as fontes de água (LIMA et al., 2000).

O impacto do uso de agrotóxicos para o controle de doenças, pragas e plantas invasoras, tem reconhecidamente promovido diversos problemas de ordem ambiental, alterando o cenário agrícola, resultando em mercados de alimentos produzidos sem o uso de agrotóxicos, ou aqueles que com o selo garantam que os agrotóxicos foram utilizados adequadamente. Esses aspectos estão fazendo que a situação do uso de agrotóxicos permeie a agenda ambiental de diversos países (BETTIOL, 2008). Dentre as alternativas para a redução do uso de agrotóxicos o controle biológico é um dos mais discutidos, podendo aproveitar o controle biológico natural quanto realizar a introdução de um agente de controle.

No sucesso das estratégias de controle de uma determinada doença é essencial conhecer o ciclo de vida do fitopatógeno (AGRIOS, 1998), para se saber onde e quando os agentes de biocontrole poderão atuar para reduzir a incidência da doença, não existem características únicas que possam ser identificadas neles para explicar a sua atuação, pois apresentam vários mecanismos de ação (PUNJA et al., 2003).

Os fungos antagonistas podem interferir em alguma etapa do ciclo de vida do fitopatógeno impedindo que este se complete. Tal participação pode se dar através de diversos mecanismos de ação como: prevenção à infecção, redução na colonização dos tecidos do hospedeiro, redução na esporulação como também na sobrevivência do fitopatógeno, proporcionando assim níveis variáveis de controle (PUNJA et al., 2003).

A utilização do controle biológico em condições de campo visa evitar a penetração dos fitopatógenos nos tecidos e seu posterior desenvolvimento durante o armazenamento de frutos e hortaliças, por exemplo. O seu uso após a colheita tem dois objetivos: evitar que os fitopatógenos latentes nos tecidos causem lesões ou impedir novas infecções (BETTIOL et al., 1995). Carabi-Adell (2003) enfatiza o sucesso de diversos fungos como agentes de biocontrole, principalmente, de patógenos de solo, tais como: *Rhizoctonia solani*; *Sclerotium rolfsii*; *Sclerotinia sclerotiorum*; *Fusarium* spp. e *Pythium* spp. Como exemplos citam-se: *Trichoderma*

harzianum, *T. koningii*; *T. viride*; *T. hamatum*; *T. virens* e *T. pseudokoningii*, além de muitos outros apontados como potenciais.

De acordo com Melo (1991) as espécies de *Trichoderma* apresentam características sobrepostas, tornando difícil a sua classificação. Esse gênero pertence ao Reino Fungi, Filo Ascomycota, Classe Euscomycetes, Ordem Hyproceales, Família Hypocreaceae (KRUNGER e BACCHI, 1995). Atualmente existem 75 espécies de *Trichoderma* descritas (SAMUELS, 1996).

Trichoderma é tido como um fungo saprófita que apresenta dois tipos de frutificação, a forma teleomórfica ou sexuada e a forma assexuadas ou clonais, a forma anamórfica. Habitualmente, para cada espécie existe uma forma anamórfica e uma forma teleomórfica (FIGUEREDO, 2007).

Trichoderma ssp. é um fungo micoparasita capaz de controlar inúmeros fungos fitopatogênicos (MELO, 1998). Sua ação como biocontrolador foi demonstrada pela primeira vez em 1932, por Weindling, que sugeriu seu uso no controle de doenças (SPIEGEL e CHET, 1998). Fatores como temperatura, umidade, nutrientes, tipo de solo, microbiota, aeração, pH e teor de matéria orgânica influenciam na sobrevivência de *Trichoderma* no solo ou substrato (HOWELL, 2003).

Espécies de *Trichoderma* tem capacidade antagonista contra fungos fitopatogênicos como: *Trichoderma harzianum* contra *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporium* fs. *dianthii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phytophthora cinnamomi*, *P. cactorum*, *T. virens* contra *Botrytis cinérea*; *T. pseudokoningii* contra *Roselinia bunodes*; *T. viride* contra *Armilaria mellea*; *T. hamatum* contra *Pythium* sp. e *Phytophthora* sp.; (ARENAS, 2007). Pelos exemplos citados, já existe comprovação da eficiência de espécies de *Trichoderma* no controle de espécies do gênero *Phytophthora*.

O gênero *Trichoderma* apresenta potencial para a utilização em diversas áreas agrícola, ambiental e industrial. Ocorre em quase todos os tipos de solos e em outros habitats naturais, especialmente, naqueles contendo ou consistindo de matéria orgânica. É encontrado também na superfície de raízes, em restos vegetais, ou ainda em estruturas fúngicas (BOMFIM, 2007).

Muitas espécies do gênero são reconhecidas como organismos controladores, presentes no solo e em ambientes florestais, já que estão envolvidos em processos de decomposição da matéria orgânica, na reciclagem de nutrientes e na regulação da

microbiota associada (ESPOSITO e SILVA, 1998). Várias espécies de *Trichoderma* já vêm sendo usadas em formulações comerciais para o controle biológico de fungos fitopatogênicos, reduzindo a necessidade da aplicação de produtos químicos. *Trichoderma harzianum* é um exemplo, utilizado para controlar o apodrecimento pós-colheita da maçã.

A influência de *Trichoderma* spp. no crescimento de plantas e no aumento da produtividade ocorrem, segundo Harman et al. (2004), graças à sua capacidade em colonizar as raízes. Por exemplo, o *T. harzianum* foi efetivo na indução à formação de raízes em tomateiro, tanto quanto, um hormônio comercial, provocando também aumento no comprimento de raízes de soja e milho, além de aumentar a produtividade de pimentão, comparado com plantas não tratadas (HARMAN, 2000).

A promoção de crescimento provocada por microrganismos de solo ocorre devido à ação de vários fatores ainda pouco conhecidos. Pode envolver a produção de hormônios vegetais e vitaminas ou ainda a conversão de materiais a uma forma utilizável pela planta, facilitando também a absorção e translocação de minerais e o controle de patógenos (KLEIFELD e CHET, 1992).

Os agentes de biocontrole podem atuar interferindo na sobrevivência e em atividades relacionadas à patogênese, tais como: crescimento, infectividade, virulência, agressividade, além de aumentar a resistência da planta hospedeira (AGRIOS, 2005). Os mecanismos envolvidos no processo são: parasitismo, antibiose, hipovirulência, predação, competição, além de indução de resistência, podendo ainda atuar em sinergia durante a interação antagônica (MELO, 1998). A sua importância relativa pode variar de acordo com as condições ambientais e com o estado de desenvolvimento do agente biocontrolador e do fitopatógeno (MICHEREFF, 2001).

O agente antagônico apresenta alta capacidade de mobilização dos nutrientes do solo ou daqueles associados às raízes das plantas. Alguns autores definem tais espécies como simbiontes, as quais produzem combinações que estimulam o crescimento e os mecanismos de defesa das plantas. Grande parte desses agentes pode exercer habilidade antagônica através do ácido harziânico, alameticinas, tricholinas, antibióticos, 6-pentil-pirano, massoilactona, viridinas, gliovirinas, glisopreninas, ácido heptelídico, além de outros metabólitos que podem ser voláteis ou não. Também podem atuar através de combinações de enzimas hidrolíticas,

quitinases, glucanases, proteases, além de antibióticos que resultam em níveis elevados de antagonismo quando comparados à sua ação isolada (TAVARES, 2009).

Segundo Dianese (2006) encontraram dois isolados de *Trichoderma* spp., cen162 e cen235, foram eficazes sobre *P. palmivora* em mudas de mamoeiro.

Segundo Boneti e Katsurayama (2001) microrganismos que se apresentam como antagonistas *in vitro*, nem sempre se comportam bem em condições de campo. Testes *in vitro* realizados por Tocafundo (2008) ilustram bem este fato. De 18 isolados de *Trichoderma* spp. avaliados, encontrou-se que 14 foram capazes de inibir o crescimento micelial de *P. palmivora*, entretanto, quando avaliados sobre frutos, apenas dois, um de *Trichoderma stromaticum*, (2995) e outro de *T. asperellum*, (SF04), mostraram-se promissores. Por outro lado, em avaliações em casa de vegetação, o controle de *P. palmivora* em mudas de mamoeiro, não apresentou resultado consistente não só no controle da doença, como no desenvolvimento das mudas. Tavares (2009), por outro lado, obteve resultados positivos no controle da podridão das raízes do mamoeiro com dois isolados de *Trichoderma*., um de *T. harzianum* e outro de *T. virens*, os quais apresentaram efeitos estimulantes no crescimento das mudas.

Em função da escassez de estudos relacionados ao controle de *P. palmivora* em pupunheira, utilizando-se espécies de *Trichoderma*, verificou-se a necessidade de avaliar o potencial desses agentes de biocontrole no patossistema Pupunha *versus* *P. palmivora*, visando o desenvolvimento de um sistema de manejo sustentável para a PBE, que seja menos dependente de agrotóxicos e menos impactante ao meio ambiente e à qualidade de vida dos pupunicultores.

CAP 1. AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE *Trichoderma harzianum* e *T. asperellum* EM CONTROLAR *Phytophthora palmivora* IN VITRO E EM ESTIPES DESTACADOS DE PUPUNHEIRA

Eduardo Jun Fuzitani¹, Álvaro Figueredo dos Santos², Wagner Bettiol³ Erval Rafael Damatto Junior¹, Edson Shigueaki Nomura¹, Luziane Franciscon²

¹APTA, Vale do Ribeira Regional, Rod. Régis Bittencourt, km 460, 11900-000, Registro, SP, Brasil;

²Embrapa Florestas, Estrada da Ribeira, Km 111, CP 319, 83411-000, Colombo, PR, Brasil.

³Embrapa Meio Ambiente, Rodovia SP 340, KM 127,5, S/N - Tanquinho Velho, Jaguariúna, SP, Brasil.

Autor para correspondência: Álvaro Figueredo dos Santos (alvaro.santos@embrapa.br)

RESUMO

A podridão da base do estipe (PBE), causada por *Phytophthora palmivora*, é uma das principais doenças da pupunheira no Brasil e no mundo. Há escassez de métodos adequados de inoculação de fungos patogênicos e não patogênicos para o controle da PBE, uma vez que, não se dispõe de medidas efetivas de controle da doença. O objetivo do presente estudo foi avaliar a eficiência do controle biológico de *P. palmivora* por *Trichoderma* spp. *in vitro* e desenvolver um método de inoculação *P. palmivora* e de aplicação de *Trichoderma* spp. em estipe destacado de pupunheira. Dois experimentos foram conduzidos *in vitro*, para avaliar o antagonismo entre culturas confrontadas e o efeito dos metabólitos não voláteis produzidos por *Trichoderma*; e quatro experimentos, *in vivo*, para avaliar a agressividade de isolados de *P. palmivora*, colonização por *Trichoderma* spp. e o controle preventivo e curativo de *Phytophthora* por *Trichoderma* spp. em estipe destacada de pupunheira. *In vitro*, os isolados de *T. harzianum* (TH2 e TH1) e *T. asperellum* (TA1) reduziram significativamente o crescimento micelial de *P. palmivora* em 94,4, 91,7 e 80,9%, respectivamente. O isolado de *T. asperellum* (TA1) apresentou menor percentagem de inibição, com 61,8%, diferindo dos demais isolados. A colonização de *P. palmivora* em estipe destacado de pupunheira foi reduzida pelos isolados de *T. harzianum* e *T. asperellum* entre 86% e 67%, quando aplicados preventivamente, e por *T. harzianum* em 60 e 40%, quando aplicado curativamente. O método de inoculação de *P. palmivora* e de aplicação de *Trichoderma* spp. em estipes destacados de pupunheira mostrou-se eficiente e promissor para estudos futuros da PBE.

Termos para indexação: *Bactris gasipaes*; Doença; Murcha; Palmito.

EFFICIENCY EVALUATION OF *Trichoderma harzianum* and *T. asperellum* CONTROL ON *Phytophthora palmivora* IN VITRO AND IN PEACH PALM SEEDLINGS

ABSTRACT

The stem base rot (SBR), caused by *Phytophthora palmivora*, is one of the major diseases of peach palm in Brazil and in the world. There is a shortage of pathogenic and non-pathogenic fungi inoculation methods for the SBR control, since there are not adequate measures for effective disease control. This work aimed to evaluate the efficiency of the biological control of *P. palmivora* by *Trichoderma* spp. *in vitro* and to develop a method of *P. palmivora* inoculation and application of *Trichoderma* spp. in detached peach palm stem. Two experiments were carried out *in vitro* aiming to evaluate the antagonism between confronted cultures and the effect of volatile and non-volatile metabolites produced by *Trichoderma*; four experiments were carried out *in vivo* aiming to evaluate the aggressiveness of *P. palmivora* isolates, *Trichoderma* spp. colonization and the preventive and curative control of *Phytophthora* by *Trichoderma* spp. in detached peach palm stem. The isolates of *T. harzianum* (TH2 and TH1) and *T. asperellum* (TA1) reduced significantly the *P. palmivora* mycelial growth *in vitro* in order of 94.4, 91.7 and 80.9%, respectively. The isolate of *T. asperellum* (TA1) showed lower percentage of inhibition, with 61.8%, differing from the other isolates. The colonization of *P. palmivora* in detached peach palm stem was reduced by *T. harzianum* and *T. asperellum* isolates from 86% to 67% when applied preventively and by *T. harzianum* between 60 and 40% when applied curatively. The *P. palmivora* inoculation method and the *Trichoderma* spp. application in detached peach palm stem proved to be efficient and promising for future studies of SBR.

Index terms: *Bactris gasipaes*; Disease; Wilt; Palm heart.

1.1 INTRODUÇÃO

O palmito brasileiro adveio da exploração extrativista da juçara (*Euterpe edulis* Martius). A partir dos anos 1970, após as reservas desta espécie, na Mata Atlântica, ter se esgotado, essa exploração passou a ser do açaí (*Euterpe oleraceae* Martius), na Amazônia. Na busca de novas espécies de palmeira produtoras de palmito, a pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth var. *gasipaes* Henderson) se destacou por suas características: precocidade de corte e perfilhamento e palmito com lenta oxidação, que viabiliza a comercialização *in natura* do palmito (27). A área cultivada com pupunheira, para a produção de palmito, tem aumentado no Brasil, especialmente na Bahia e São Paulo, mas também no Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina e Espírito Santo, com área plantada de 20.000 ha (18).

Com a expansão das áreas de cultivo e a manutenção da monocultura, os problemas fitossanitários estão se tornando limitantes, com destaque para a podridão da base do estipe (PBE), doença causada pelo oomiceto *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler (20). A PBE ocorre em plantas jovens e adultas de pupunheira, evoluindo, a partir amarelecimento da folha bandeira e seguida pelo amarelecimento e necrose das demais folhas, até a morte dos perfilhos e de toda a touceira. Essa enfermidade tem causado sérios danos em plantios comerciais, evidenciando a necessidade de pesquisas voltadas ao desenvolvimento de estratégias de controle (10). Não existem materiais genéticos resistentes, nem controle químico eficiente (23). Assim, considerando as características da cultura, há necessidade do desenvolvimento de métodos alternativos de controle que, além eficientes, não deixem resíduos no palmito.

Trichoderma spp. podem proteger as plantas contra fitopatógenos, pois apresentam capacidade de competir por nutrientes, inibir os patógenos por meio da produção de antibióticos e/ou enzimas que degradam a parede celular (7,16), induzir as defesas das plantas contra estresses bióticos e abióticos e promover o crescimento das plantas (6,13,19) e colonizar endofiticamente hospedeiros (26), característica esta importante para a pupunheira. Além disso, produtos à base de *Trichoderma* são os principais biofungicidas disponíveis no mercado mundial e brasileiro (14,5). Associado a isso, esse agente de biocontrole não deixa resíduos nos alimentos, pois o palmito é comercializado também *in natura* (22).

O potencial de *Trichoderma* spp. em controlar doenças causadas por *Phytophthora* foi demonstrado por Bae et al. (2) inibindo *P. cactorum*, *P. melonis*, *P. sojae*, *P. capsici*, *P. nicotianae*, *P. infestans*, e *P. Drechsleri*; Widmer (29) controlando *P. ramorum*; e Ahmed et al. (1) controlando *P. capsici*, entre outros. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial do controle biológico de *P. palmivora* por *Trichoderma* spp. *in vitro* e em estipe destacado de pupunheira.

1.2 MATERIAL E METODOS

Quanto a origem dos isolados de *Phytophthora* e *Trichoderma* e estipe de pupunha os 10 isolados de *P. palmivora* (SA10, SA30, SA31, SA32-A, SA33, SA33-A, SA34, SA34-A, SA35 e SA35-B,) são provenientes da coleção de Fungos e Oomicetos Florestais da Embrapa Florestas. Para realizar a sua multiplicação os isolados de *P. palmivora* foram transferidos para placas de Petri, contendo meio de cultura cenoura ágar (CA) e incubados em câmara tipo BOD, sob luz fluorescente constante, a 24 °C, por sete dias. Ao final deste período, 5 mL de água ultrapurificada e esterilizada foram adicionados em cada placa, que foram mantidas em geladeira por 30 min. Em seguida, as placas foram transferidas para o ambiente do laboratório, por 30 min, para a liberação dos zoósporos (10). A suspensão de zoósporos foi vertida para Becker e foi determinada a sua concentração em hemacitômetro. Para todos os experimentos, a suspensão de zoósporos foi ajustada para $2,5 \times 10^6$ zoósporos/mL.

Os isolados de *Trichoderma* spp. foram provenientes de produtos comerciais, conforme segue: *T. harzianum* (TH1 = Ecotrich® – Ballagro e TH2 = Trichodermil® SC 1306 – Kooppert e *T. asperellum* (TA1 = Qualit® WG – Laboratório Farroupilha e TA2 = Trichodermax® EC – Novozymes). Todos os produtos foram utilizados na concentração de $2,0 \times 10^8$ conídios/mL.

Estipes destacados de pupunheira foram colhidos de plantas adultas saudáveis em áreas sem a ocorrência da PBE. Para o preparo dos estipes, retirou-se as cascas externas, deixando-as com 130 cm de comprimento, peso aproximado de 2,5 kg e três cascas protegendo o palmito. Nas condições de laboratório, os estipes foram cortados transversalmente para obter 10 pedaços com 12 cm de comprimento cada. A seguir, os estipes foram mantidos por 20 min. expostos a radiação ultravioleta, em capela de fluxo laminar, para desinfestação superficial. Para minimizar a perda de água, a extremidade basal do estipe foi protegida com parafina liquefeita.

Para a inibição *in vitro* de *Phytophthora* por *Trichoderma* os isolados de *Trichoderma* foram confrontados com o isolado SA30 de *P. palmivora*. Discos de 5 mm de diâmetro do meio de CA contendo *Trichoderma* e de *P. palmivora*, em crescimento ativo, foram colocados em placas de Petri de 9 cm de diâmetro separados em 7 cm. Os discos do patógeno foi transferido 48 h antes do antagonista, devido à sua menor velocidade de crescimento. Em seguida, as placas foram mantidas em câmara BOD por sete dias com fotoperíodo de 12 h a 24 °C. O antagonismo foi avaliado utilizando a escala descrita por Bell et al. (4) onde nota 1 - O *Trichoderma* cresce e toma toda a placa e 5 *Phytophthora* cresce e toma toda a placa. Como testemunha, foram mantidas placas com os discos de micélio de *P. palmivora*. Também foi determinada a percentagem de inibição (%I) do crescimento micelial medindo o diâmetro das colônias do patógeno e do antagonista com paquímetro digital, sendo a %I = $(Dc - Dt / Dc) \times 100$, onde Dc é o diâmetro médio das colônias de *P. palmivora* nas placas sem o antagonista (controle) e Dt é o diâmetro médio das colônias de *P. palmivora* nas placas com o antagonista.

O efeito de metabólitos não voláteis dos isolados de *Trichoderma* sobre o isolado SA30 de *P. palmivora* foi determinado pelo método descrito por Michereff et al. (17). O meio de CA contido em placas de Petri foi coberto por discos de papel celofane esterilizado e, no centro da placa, foi colocado um disco de micélio de 5 mm de cada um dos quatro isolados de *Trichoderma*. Após incubação por 48 h, nas condições descritas anteriormente, o papel celofane com as culturas de *Trichoderma* spp. aderentes foi retirado e no centro das placas foi transferido um disco de micélio de *P. palmivora*. As placas foram acondicionadas em câmara BOD, nas mesmas condições anteriores. A testemunha, consistiu no cultivo do patógeno após a retirada do celofane, sem a prévia sobreposição do antagonista. A percentagem de inibição do crescimento micelial (%I) foi determinada conforme descrito anteriormente.

Na avaliação da agressividade de isolados de *P. palmivora* em estipe destacado de pupunheira, cada um dos 10 isolados de *P. palmivora* foi inoculado na extremidade superior do estipe destacado (12 cm de comprimento) por meio da pulverização, com atomizador manual, de uma alíquota de 0,5 mL da suspensão de zoósporos. Em seguida, os estipes foram acondicionados em caixas de polietileno de 29 L e incubados a 22 ± 2 °C. As avaliações foram realizadas aos sete dias após a inoculação do patógeno cortando os estipes no sentido longitudinal e determinando a área lesionada, a coloração dos tecidos e consistência dos tecidos e a presença de

podridão mole na parte comestível do estipe. Para avaliar a colonização dos estipes em três regiões, a partir da extremidade inoculada, foram extraídos, da parte interna, discos do estipe de 1 cm de diâmetro a 0 e 1 cm, a 5 e 6 cm e a 10 e 11 cm da extremidade superior. Os discos do estipe foram submetidos ao isolamento de *P. palmivora* em meio batata-dextrose-ágar [BDA - 39 g de extrato comercial, 1000 mL água ultrapurificada, suplementado com ampicilina (80 µg/mL) e cloranfenicol (40 µg/mL)]. Após a transferência dos discos, as placas foram mantidas em câmara BOD, a 24 ± 2 °C, por sete dias, quando foi avaliado o crescimento micelial de *P. palmivora*, que foi expresso em percentagem de área colonizada.

Para avaliação da colonização do estipe destacado de pupunheira por *T. harzianum* e *T. asperellum* a extremidade superior do estipe destacado foi inoculada com uma alíquota de 0,5 mL da suspensão de $2,0 \times 10^8$ conídios/mL dos isolados de *T. harzianum* (TH1 e TH2) e de *T. Asperellum* (TA1 e TA2), com auxílio de atomizador manual. As avaliações seguiram os mesmos procedimentos adotados na avaliação anterior.

Na avaliação de *T. harzianum* e *T. asperellum* no controle da PBE em estipe destacado de pupunheira os isolados TH2 de *T. harzianum* e o TA1 de *T. asperellum* foram confrontados, separadamente, com o isolado SA30 de *P. palmivora* em estipe destacado de pupunheira. As aplicações dos antagonistas foram realizadas de forma preventiva e curativa com uma alíquota de 0,5 mL da suspensão de $2,0 \times 10^8$ conídios/mL de cada isolado de *Trichoderma*. Os estipes tratados com os antagonistas foram inoculados, com auxílio de atomizador manual, com uma alíquota de 0,5 mL da suspensão de zoósporos de *P. palmivora* no tempo 48 h, 24 h, 0h, 24 h e 48 h antes e após o tratamento com *Trichoderma*. As avaliações seguiram os procedimentos descritos anteriormente. A porcentagem de controle (%C) foi calculada em relação à testemunha. Neste estudo os ensaios com aplicações preventiva e curativa foram instalados separadamente.

Nas análises estatísticas todos os ensaios foram instalados no delineamento inteiramente casualizado com 10 repetições cada tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância e os tratamentos comparados pelo teste de Tukey (5%), utilizando-se o software SISVAR 5.3 (8).

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os isolados de *T. harzianum* e *T. asperellum* reduziram o crescimento micelial de *P. palmivora*. Os isolados TH2 e TH1 de *T. harzianum* e os isolados TA2 e TA1 de *T. asperellum* reduziram o crescimento micelial do isolado SA30 de *P. palmivora* em 94,4%; 91,7%; 80,9% e 61,8%, respectivamente. De acordo com a escala de Bell et al. (4), os isolados TH2, TH1 e TA2 apresentaram notas de 1,2; 1,3 e 1,7, respectivamente. Os metabólitos não voláteis dos isolados de *T. harzianum* e *T. asperellum* não inibiram o crescimento micelial de *P. palmivora*.

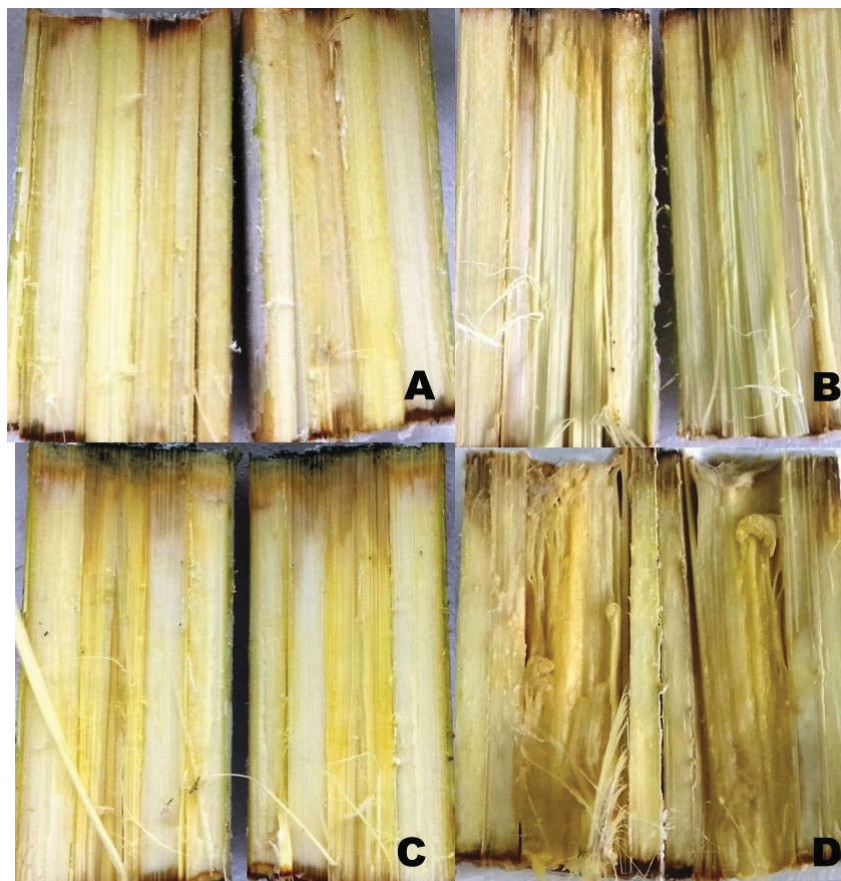
Os isolados de *P. palmivora*, inoculados em estipes destacados de pupunheira, foram igualmente patogênicos e agressivos, exceto o isolado SA34, que apresentou menor área lesionada (24,6 cm²) (Tabela 1). Os tecidos internos dos estipes colonizadas pelos isolados de *P. palmivora* exibiram coloração amarelo escuro e podridão mole, mas todos diferiram da testemunha, que apresentou coloração clara, ausência de podridão mole e consistência dura dos tecidos internos. Todos os isolados de *P. palmivora* colonizaram os tecidos internos do estipe inoculado, comprovado pelo reisolamento a partir das diferentes regiões amostradas (Tabela 1 e Figura 4). Os isolados SA10, SA30 e SA32-A de *P. palmivora* foram os mais agressivos, colonizando os tecidos a 10-11 cm do ponto de inoculação em 86%, 86% e 82%, respectivamente (Tabela 1). A maior percentagem de colonização foi apresentada pelo isolado SA30 (96% a 0-1 cm e a 5-6 cm e 86% a 10-11 cm).

TABELA 1. ÁREA LESIONADA E COLONIZAÇÃO DOS TECIDOS DE ESTIPE DESTACADO DE PUPUNHEIRA INOCULADO COM ISOLADOS DE *Phytophthora palmivora*, A PARTIR DA EXTREMIDADE.

Isolados de <i>Phytophthora</i>	Área lesionada (cm ²)	Colonização (%)		
		0 - 1 cm	5 - 6 cm	10 - 11 cm
SA10	40,6*a	92,0	86,0 A	86,0 A
SA30	43,2 a	96,0	96,0 A	86,0 A
SA31	40,6 a	70,0	80,0 A	68,0 A
SA32-A	44,1 a	94,0	88,0 A	82,0 A
SA33	39,6 a	68,0	84,0 A	62,0 A
SA33-A	36,1 ab	94,0	54,0 B	16,0 B
SA34	24,6 b	94,0	100,0 A	10,0 B
SA34-A	39,2 a	94,0	78,0 A	38,0 B
SA34-B	32,3 ab	68,0	74,0 A	0,0 B
SA35	33,1 ab	70,0	90,0 A	30,0 B

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem entre si (Tukey 5%).

FIGURA 4. CORTES LONGITUDINAIS EM ESTIPES DESTACADAS DE PUPUNHEIRA. A = TESTEMUNHA; B = ESTIPES TRATADAS APENAS COM ÁGUA; C = ESTIPES TRATADAS COM *Trichoderma harzianum*; E D = ESTIPES INOCULADAS COM *Phytophthora palmivora*.



Os isolados de *Trichoderma* spp. colonizaram os tecidos internos das hastes destacadas de pupunheira, com velocidade de crescimento de 1,42 cm /dia para os quatro isolados, mas os tecidos apresentaram coloração clara, ausência de podridão mole e consistência dura dos tecidos internos (Tabela 2 e Figura 1).

TABELA 2. COLONIZAÇÃO E VELOCIDADE DE CRESCIMENTO (VC) DE ISOLADOS DE *Trichoderma asperellum* E *Trichoderma harzianum* NOS TECIDOS DE ESTIPE DESTACADO DE PUPUNHEIRA A PARTIR DA EXTREMIDADE.

Isolado	Colonização %			VC (cm/dia)
	0 – 1 cm	5 - 6 cm	10 - 11 cm	
<i>T. asperellum</i> (TA1)	84,0*	52,0 b	34,0 b	1,42
<i>T. asperellum</i> (TA2)	96,0	40,0 b	62,0 a	1,42
<i>T. harzianum</i> (TH1)	100	70,0 a	58,0 a	1,42
<i>T. harzianum</i> (TH2)	100	46,0 a	62,0 a	1,42

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si (Tukey 5%).

Estipes tratados com os dois isolados de *Trichoderma* spp. e inoculados com o patógeno simultaneamente (0 h) apresentaram podridão e consistência moles dos estipes semelhantemente à testemunha. A aplicação preventiva dos isolados TH2 e TA1 de *Trichoderma* reduziu semelhantemente a área lesionada por *P. palmivora* (Tabela 3). Os estipes tratados com 24 e 48 h antes da inoculação com o patógeno apresentaram apodrecimento parcial dos tecidos internos e consistência dura. TH2 e TA1, quando aplicados 24 h e 48 h que o patógeno, controlaram a doença em 40% e 38,7%, e 24,3% e 41,9%, respectivamente, em relação à testemunha (Tabela 3).

A aplicação curativa dos isolados de *Trichoderma* TH2 e TA1 foi menos eficiente do que a preventiva, com controle de 30,3% e 35,6% e 18,5% e 6,2%, respectivamente, quando aplicados 24 h e 48 h após a inoculação com *Phytophthora* (Tabela 3). A aplicação curativa de *T. harzianum* (TH2) e de *T. asperellum* (TA1) reduziu a área lesionada por *P. palmivora*, em relação à testemunha, exceto a 48 h, para o isolado TA1 (Tabela 3). Na aplicação de *Trichoderma* 24 e 48 h após a inoculação de *P. palmivora*, os estipes exibiram consistência mole dos tecidos internos e presença da podridão mole, diferentemente do observado na aplicação simultânea, que apresentou apodrecimento parcial dos tecidos internos. A testemunha apresentou presença de podridão e a consistência mole dos tecidos.

TABELA 3. ÁREA LESIONADA PELA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE (PBE) E PORCENTAGEM DE CONTROLE (ENTRE PARÊNTESES) DO ISOLADO TH2 DE *Trichoderma harzianum* E TA1 DE *T. asperellum* EM ESTIPE DESTACADOS DE PUPUNHEIRA, NOS INTERVALOS DE ZERO, 24 E 48 H ANTES E APÓS A INOCULAÇÃO DO ISOLADO SA30 DE *PHYTOPHTHORA PALMIVORA*, APÓS SETE DIAS DA APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS.

Tratamentos	Aplicação preventiva de <i>Trichoderma</i>		
	Simultânea	24 h antes	48 h antes
<i>T. harzianum</i> TH 2	33,7* aB (25,8)	25,9 aA (40,0)	26,8 aAB (38,7)
<i>T. asperellum</i> TA1	44,1 bB (2,9)	32,7 aA (24,3)	25,4 aA (41,9)
Testemunha	45,4 bA	43,2 bA	43,7 bA

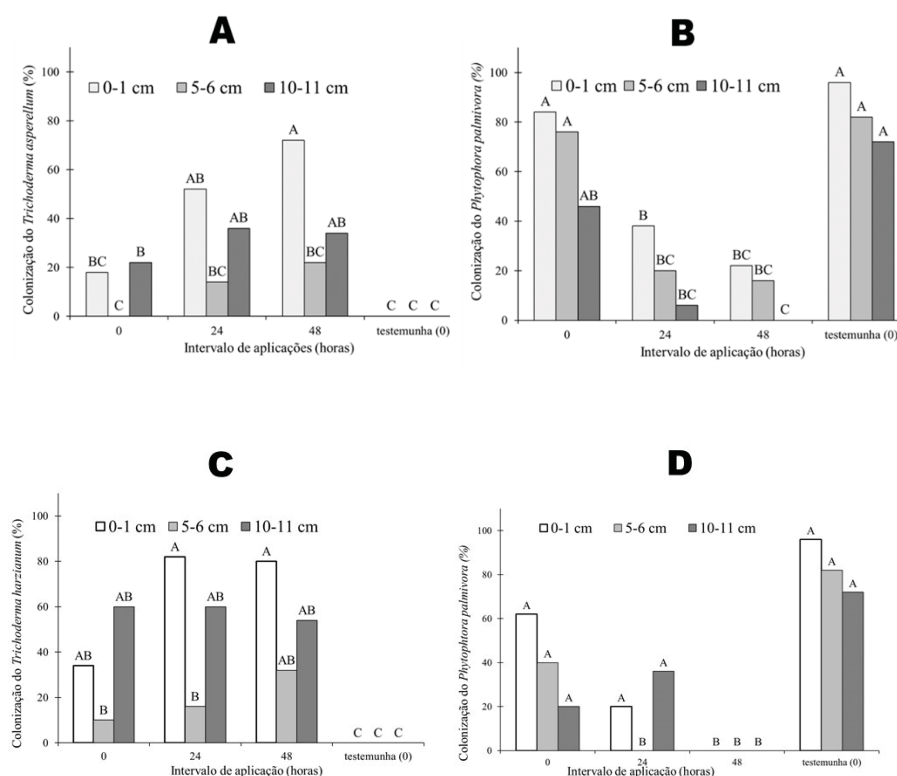
Tratamentos	Aplicação curativa de <i>Trichoderma</i>		
	Simultânea	24 h após	48 h após
<i>T. harzianum</i> TH 2	33,7* aAB (28)	30,8 aA (30,3)	35,6 aA (21,1)
<i>T. asperellum</i> TA1	38,0 aAB (18,8)	36,0 bA (18,6)	42,4 bB (6,2)
Testemunha	46,8 bA	44,2 cA	45,2 bA

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si (Tukey 5%). CV= 19,6 e CV=12, para o ensaio com aplicação preventiva e curativa, respectivamente.

Nos estipes tratados preventivamente com *T. asperellum*, isto é a 0, 24 h e 48 h antes da inoculação do patógeno, a colonização com o TA1 foi de 18%, 52% e 72% na região de 0-1 cm; de 0%, 14% e 22% na região 5-6; e de 22%, 36% e 34% na região a 10-11 cm, respectivamente (Figura 5). Na região a 10-11 cm não foi verificada diferença entre os intervalos de aplicação do TA1. Nos estipes tratadas com *T. asperellum*, 24 h e 48 h antes da inoculação do patógeno, foram observadas significativas reduções na percentagem de colonização pelo patógeno e aumento da colonização por *Trichoderma* (Figura 5AB).

As colonizações por *T. harzianum* dos estipes tratados 0, 24 h e 48 h antes que o patógeno foi de 34%, 82% e 80% na região a 0-1 cm; de 10%, 16% e 32% na região a 5-6; e de 60%, 60% e 54% na região a 10-11 cm, respectivamente (Figura 5C). Nos estipes tratados com *T. harzianum* 48 h antes da inoculação do patógeno a redução colonização pelo patógeno, nas três regiões do estipe, foi de 100% (Figura 5D). Na testemunha a colonização do estipe pelo patógeno foi de 100%, 83% e 75% nas regiões de 0-1 cm; 5-6 cm e 10 -11 cm, respectivamente (Figura 5D). A colonização por *P. palmivora* nos estipes tratados com *T. harzianum*, nos intervalos de aplicação 0 e 24 h antes da inoculação do patógeno, foi de 62% e 20% na região 0-1 cm; 40% e 0% na região a 5-6 cm; e de 20% e 36% na região a 10-11 cm da extremidade, respectivamente.

FIGURA 5. COLONIZAÇÃO DOS ISOLADOS TA1 DE *Trichoderma asperellum* (A) E TH2 DE *Trichoderma harzianum* (C) APLICADOS NOS ESTIPES DESTACADOS DE PUPUNHEIRA 0, 24 H E 48 H ANTES DA INOCULAÇÃO DO ISOLADO SA30 DE *Phytophthora palmivora* (BD), NAS REGIÕES A 0-1, 5-6 E 10-11 CM A PARTIR DA EXTREMIDADE, APÓS SETE DIAS DA INOCULAÇÃO DO PATÓGENO. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI (TUKEY 5%).

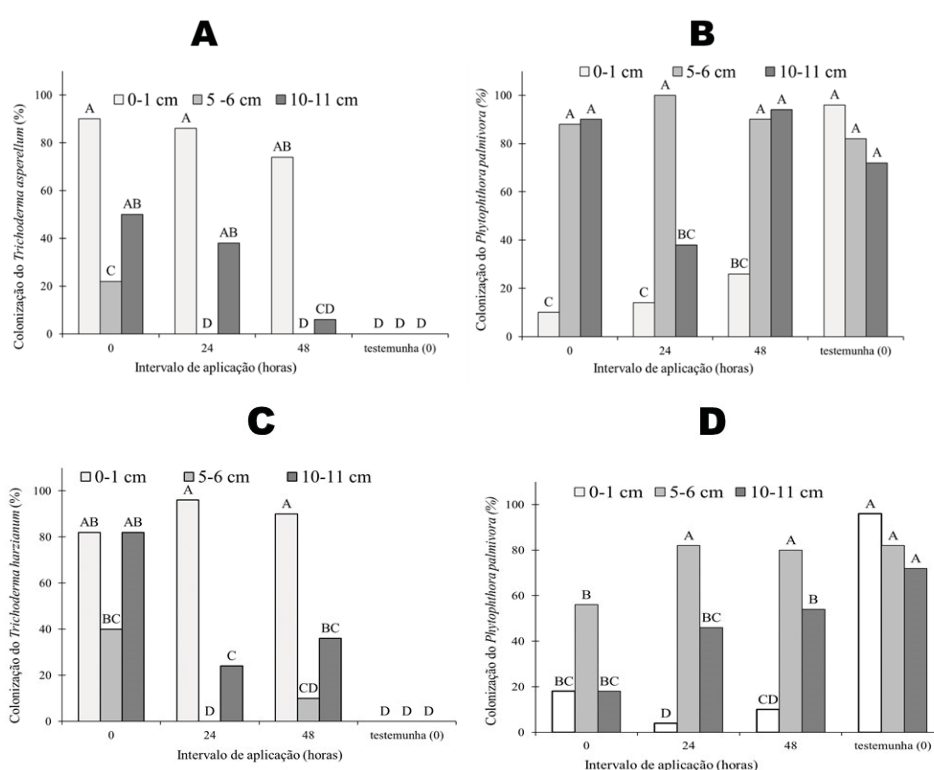


Com a aplicação curativa do isolado TA1 de *T. asperellum* a 0, 24 h e 48 h após a inoculação de *P. palmivora*, a colonização com o antagonista foi de 90%, 86% e 74% a 0-1 cm; de 20%, 0% e 0% a 5-6 cm; e de 50%, 38% e 6% a 10-11 cm da extremidade do estipe, respectivamente (Figura 6A). Nesses estipes, *P. palmivora* apresentou colonização de 10%, 14% e 26% a 0-1 cm; 88%, 100% e 90% a 5-6 cm; e de 90%, 38% e 94% a 10-11 cm da extremidade, respectivamente, quando o antagonista foi aplicado 0, 24 h e 48 h após a inoculação do patógeno.

T. harzianum (TH2), aplicado curativamente, isto é a 0, 24 h e 48 h após a inoculação de *P. palmivora*, apresentou colonização de 82%, 96% e 90% a 0-1 cm; 40%, 0% e 10% a 5-6 cm; e 82%, 24% e 36% a 10-11 cm da extremidade do estipe,

respectivamente (Figura 6C). Quando o antagonista foi aplicado simultaneamente à inoculação do patógeno, foi observado o maior controle do patógeno (Figura 6D). Na testemunha a colonização dos tecidos por *P. palmivora* foi superior a 75% (Figura 6D)

FIGURA 6. COLONIZAÇÃO DOS ISOLADOS TA1 DE *Trichoderma asperellum* (A) E TH2 DE *Trichoderma harzianum* (C) APLICADOS NOS ESTIPES DESTACADOS DE PUPUNHEIRA 48 H, 24 H, 0 APÓS A INOCULAÇÃO DO ISOLADO SA30 DE *Phytophthora palmivora* (BD), NAS REGIÕES A 0-1, 5-6 E 10-11 CM A PARTIR DA EXTREMIDADE, APÓS SETE DIAS DA INOCULAÇÃO DO PATÓGENO. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI (TUKEY 5%).



O método de inoculação do estipe destacado de pupunheira com *Trichoderma* foi eficiente para a realização de estudos com o controle da PBE. Esse resultado é importante, pois, de acordo com o nosso conhecimento, é o primeiro relato de utilização desta metodologia para estudos com controle biológico nesse patossistema. Assim, no presente estudo foi demonstrada a viabilidade de se inocular os tecidos do estipe da pupunheira tanto com o antagonista, como com o patógeno para os estudos visando o biocontrole de *P. palmivora*, com a vantagem de realizar os estudos em condições controladas e com baixo custo. Alguns autores, como Vaz et al. (28)

relataram a presença de zoósporos e de haustórios de *P. palmivora* no interior dos tecidos da pupunheira formados após 6 h e 12 h da inoculação do patógeno. Na metodologia de inoculação de plântulas emergidas na superfície do solo, utilizada por Bailey et al. (3), isolados endofíticos de *Trichoderma* colonizaram os tecidos da raiz, a partir do ponto de inoculação, em mudas de cacaueteiro, e também os tecidos mais distantes, como as pontas das raízes, o caule e as folhas. Rodrigues et al. (21) em inoculação de *Ceratocystis cacaofunesta* em disco de folhas de cacaueteiro demonstraram que o isolado de *Trichoderma virens* inibiu a formação de peritécio, colonizando a superfície do disco e impedindo o seu estabelecimento e a sua esporulação.

No presente estudo também foi demonstrada a capacidade de *T. asperellum* e de *T. harzianum* inibirem o crescimento micelial de *P. palmivora*. Estes resultados têm sido observados em outros patossistemas. Em frutos de cacaueteiro Hanada et al. (12) também observaram que *Trichoderma martiale* inibiu *P. palmivora*. Enquanto que, Silva et al. (25) observaram que isolados de *T. stromaticum* apresentaram maior antagonismo à espécie *P. citrophthora* do que *T. harzianum*. Em outros patossistemas, Silva et al. (25) em pareamento das espécies de *T. longibrachiatum*, *T. harzianum* e *T. viride* demonstraram o efeito antagônico significativo sobre o crescimento micelial dos diferentes isolados de *Fusarium solani*. Segundo Santos et al. (24) em cultivo pareado foi verificado que todos os isolados de *Trichoderma* spp. testados inibiram o crescimento micelial de *Thielaviopsis paradoxa*.

A colonização de *P. palmivora* em estipe destacado de pupunheira foi reduzida pelos isolados de *T. harzianum* e *T. asperellum* entre 86% e 67%, quando aplicados preventivamente, e por *T. harzianum* em 60 e 40%, quando aplicado curativamente. Este é o primeiro relato da eficácia da penetração e colonização endofítica de tecidos de pupunheira por *Trichoderma* spp. Em uva, Harvey & Hunt (13) relataram a penetração e colonização de tecidos internos por *T. harzianum* aplicado em ferimentos de poda. Segundo Gava e Menezes (11) isolados de *Trichoderma* spp. colonizaram ativamente a rizosfera das plantas de meloeiro amarelo, apresentando variação entre as espécies estudadas. Todos os isolados apresentaram controle significativo da ocorrência de tombamento e murcha de plantas de meloeiro. No entanto, o tratamento de sementes com os isolados de *T. koningii* LCB49 e *T. polysporum* LCB50

proporcionou maior estande de plantas quando comparado com o tratamento controle, levando à maior produção de frutos em toneladas ha⁻¹.

Nos estipes tratados com *T. harzianum* 48 h antes da inoculação do patógeno não foi detectada a colonização do estipe pelo patógeno, evidenciando a ação deste antagonista sobre *P. palmivora*. Entretanto, essa eficiência não foi observada quando *T. harzianum* foi aplicado curativamente. Esse resultado evidencia a necessidade de se realizar o controle preventivo da PBE, pois os tecidos estando colonizados pelo antagonista há evidencia da redução de colonização pelo patógeno. Fischer et al. (9) com um tratamento preventivo, com aplicação mensal e quinzenal com 15 dias de antecedência ao transplante, das covas e nas mudas, com *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma* ssp. não foram observadas reduções significativas na incidência da podridão do colo do maracujazeiro.

A contribuição desse estudo em patossistema pouco estudado colabora para o manejo desta doença que pode se tornar fator limitante para o cultivo da pupunheira em todo o país. Através do uso do controle biológico, poderá ser gerado um impacto positivo no sistema produtivo e no ambiente, com a diminuição de aplicação de fungicidas. Os agricultores, o meio ambiente e a sociedade seriam beneficiados.

REFERÊNCIAS

1. Ahmed, A.s.; Pérez-Sanchez, C.; Egea, C.; Candela, M.E. 1999. Evaluation of *Trichoderma harzianum* for controlling root rot caused by *Phytophthora capsici* in pepper plants. Plant Pathology 48: 58-65.
2. Bae S.J.; Mohanta, T.K.; Chung, J.Y.;Ryu, M.; Park, G.; Shim, s.; Hong, S.B.; Seo, H.; Bae, D.W.; Bae, I.; Kim, J.J.; Bae, H. 2016. *Trichoderma* metabolites as biological control agents against *Phytophthora* pathogens. Biological control 92: 128-138.
3. Bailey, B. A.; Bae, H., Strem, M. D.; Crozier, J.; Thomas, S. E.; Samuels, G. J.; Vinyard, B. T.; Holmes, K. A. Antibiosis, mycoparasitism, and colonization success for

endophytic *Trichoderma* isolates with biological control potential in *Theobroma cacao*.

Biol. Control, v.46, p. 24-35, 2008.

4. 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.

5. Bettiol W, Maffia LA & Castro MLMP (2014) Control biológico de enfermedades de plantas en Brasil. In: Bettiol W, Rivera MC, Mondino P, Montealegre AJR & Colmenárez YC (Eds.) Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe. Montevideo, Facultad de Agronomía. p.91-137.

6. Dominguez, S.; Rubio, M.B.; Cardoza, R.E.; Gutiérrez, S.; Nicolás, C.; Bettiol, W.; Hermosa, R.; Monte, E. (2016). Nitrogen Metabolism and Growth Enhancement in Tomato Plants Challenged with *Trichoderma harzianum* Expressing the *Aspergillus nidulans* Acetamidase *amdS* Gene. *Frontiers in Microbiology* 7, article 1162. doi: 10.3389/fmicb.2016.01182.

7. Druzhinina, I. S., Seidl-Seiboth, V., Herrera-Estrella, A., Horwitz, B. A., Kenerley C. M., Monte, E., et al. (2011). *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. *Nat. Rev. Microbiol.* 9, 749-759

8. Ferreira, D.F. **Sisvar**: Versão 5.3. Lavras: UFLA, 2010.

9. Fischer, I.H.; Almeida, A.M.de.; Fileti, M. de S.; Bertani, R.M. de A.; Arruda, M.C.; Bueno, C.J. Avaliação de passifloráceas, fungicidas e *Trichoderma* para o manejo da podridão-do-colo do maracujazeiro, causado *Nectria haematococca*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 3, p. 709-717, 2010.

10. Fuzitani, E.J.; Santos dos A.F.; Moraes, W.S da.; Damatto Júnior, E.R.; Nomura, E.S. Eficiência de fosfitos no controle da podridão da base do estipe em mudas de pupunheira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 4, p. 1000-1006, 2013.

11. 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, n. 4, p. 633-640, out-dez, 2012.
12. Hanada, R. E.; Pomella, A. W. V.; Soberanis, W.; Loguercio, L. L.; Pereira, J. O. Biocontrol potencial of *Trichoderma martiale* against the black-pod disease (*Phytophthora palmivora*) of cacao. **Biological Control**, v. 50, p. 143-149, 2009.
13. Harvey, I.C. & Hunt, J.S. Penetration of *Trichoderma harzianum* into grapevine wood from treated pruning wounds. *New Zealand Plant Protection* 59: 343-347, 2006.
14. Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I., and Monte, E. (2012). Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology** 158, 17-25.
15. Mariano, R.L.R. Métodos de seleção *in vitro* para o controle microbiológico de patógenos de plantas. In: Luz, W.C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, p.369-409, 1993.
16. Lorito, M., Woo, S. L., Harman, G. E., and Monte, E. (2010) Translational research on *Trichoderma*: from 'omics to the field. **Ann. Rev. Phytopathol.** 48, 395-417.
17. 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**, Jaguariúna, v.19, p.14-17, 1993.
18. Penteado Júnior, J. F.; Santos, A. F. dos; Neves, E. J. M. **Aspectos do agronegócio do palmito de pupunha no Brasil**. Colombo: Embrapa Florestas, 2014. 21 p. (Embrapa Florestas. Documentos, 275).
19. Pérez, E.; Rubio, M.B.; Cardoza, R.E.; Gutiérrez, S.; Bettiol, W.; Monte, E.; Hermosa, R. 2015. Importance of chorismate mutase in the biocontrol potential and

plant defense signaling of *Trichoderma parareesei*. *Frontiers in Microbiology*. 6, article 1181. doi: 10.3389/fmicb.2015.01181.

20. Pizzinatto, M.A.; Bovi, M.L.A.; Feichtenberger, E.; Spiering, S.H. Ocorrência da podridão do estipe em pupunheira, causada por *Phytophthora palmivora*, no estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, v.28, n.4, p.363-365, 2002.

21. Rodrigues, G. de Souza; Magalhães, D.M.A.; Costa, A.M.da.; Newman, E.D.M. Antagonismo de *Trichoderma* spp. ao agente etiológico da Murcha de *Ceratocystis* em cacauzeiro. **Summa Phytopathologica**, v.44, n.1, p.72-78, 2018.

22. Santos, A.F. dos; Correa JR., C.; Neves, E.J.M. **Palmeiras para produção de palmito** juçara, pupunheira e palmeira real. Colombo: Embrapa Florestas, 2008) 188 p.

23. Santos, A.F.dos; Luz, E.D.M.N.; Fianto, P.D; Tessmann, D.J.; Vida, J.B. Primeiro relato da podridão do estipe da pupunheira causado por *Phytophthora palmivora*, no Estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, p.81-84, 2004.

24. Santos, C.C.; Oliveira, F.A.de.; Santos, M.S.dos.; Talamini, V.; Ferreira, J.M.S.; Santos, F.J.dos. Influência de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Thielaviopsis paradoxa*. *Scientia plena* 8, 047309 (2012).

25. Silva, A.N.da.; Azevedo, G.B.da.; Rocha Sobrinho, G.G.; Novaes, Q. Silva da. Efeito de produtos químicos e de *Trichoderma* spp. no controle de *Fusarium solani* do maracujazeiro. *Inter ciência*, v.39, n.6, p.398-403, 2014.

26. Toghueo, R.M.K.; Ike, P.; Zabalgoceazcoa, I.; Aldana, B.R.V.; Nana, L.W.; Boyom, F.F. (2016). Biocontrol and growth enhancement potential of two endophytic *Trichoderma* spp. from *Terminalia catappa* against the causative agente of Common Bean Root Rot (*Fusarium solani*). *Biocontrol*, 96: 8-20.

27. Tonet, R.M.; Ferreira, L. G. S.; Otoboni, J.L.M.A. Cultura da Pupunha. Campinas: CATI, 1999. 44p. (CATI, Boletim técnico, 237).
28. Vaz, A.B.; Luz, E.D.M.N.; Silva, S.D.V.M.; Oliveira, M.L. Aspectos histopatológicos da interação *Phytophthora palmivora* com a pupunheira. **Tropical Plant Pathology**, v.36, n.4, p.259-263, 2011.
29. Widmer, T.L. 2014. Screening *Trichoderma* species for biological control activity against *Phytophthora ramorum* in soil. *Biological control*. 79: 43-48.

CAP. 2. CONTROLE PREVENTIVO E CURATIVO DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE EM PLÂNTULAS E EM MUDAS DE PUPUNHEIRA COM ESPECIES DE *Trichoderma*

RESUMO

A podridão da base do estipe (PBE), causada pelo oomyceto *Phytophthora palmivora*, é uma das principais doenças da pupunheira no Brasil, que provoca danos em plântulas e mudas, sob as condições de viveiro, e em plantas jovens de plantios comerciais. No momento não se dispõe de medidas efetivas de controle da doença, porém, agentes de biocontrole podem se tornar uma alternativa viável e sustentável, para integrar o sistema de manejo da doença. O objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial do controle de *P. palmivora* por *Trichoderma* spp. em plântulas e mudas de pupunheira, adotando-se dois métodos de inoculação de *P. palmivora*. Para tal, experimentos foram conduzidos em casa de vegetação com aplicação preventiva e curativa de espécies de *Trichoderma*. A partir dos resultados obtidos foi possível constatar que aplicações preventivas de *T. harzianum* e *T. asperellum* proporcionaram menor incidência da PBE e maior sobrevivência de plântulas e mudas, além do efeito adicional no crescimento em altura do caule, diâmetro do colo, peso fresco e peso seco da parte aérea de plântulas e a altura, diâmetro do colo e o peso fresco das raízes de mudas de pupunheira. Aplicações preventivas de *T. harzianum* e *T. asperellum*, 48 h antes da inoculação de *P. palmivora* em mudas de pupunheira, reduziram significativamente a severidade da PBE, evidenciando que este agente de controle biológico se mostrou eficiente no PBE, além de induzir o crescimento em plântulas e mudas de pupunheira.

Termos para indexação: Controle biológico, *Bactris gasipaes*, Palmito

CHAP. 2. PREVENTIVE AND CURATIVE CONTROL OF THE STEM BASE ROT ON YOUNG SEEDLINGS AND SEEDLINGS WITH *Trichoderma* SPECIES

ABSTRACT

The stem base rot (SBR), caused by the oomycete *Phytophthora palmivora* is one of the major diseases on peach palm in Brazil which causes damage to young seedlings and seedlings, under nursery conditions, and on young plants in commercial crops. Effective disease control measures are not available until this moment, but biocontrol agents can become a viable and sustainable alternative to integrate the disease management system. This study aimed to evaluate the potential control of *P. palmivora* by *Trichoderma* spp. on peach palm young seedlings and seedlings, adopting two *P. palmivora* inoculation method. Experiments were carried out at greenhouse conditions with preventive and curative *Trichoderma* species application. With the obtained data it was possible to verify that preventive applications of *T. harzianum* and *T. asperellum* provided lower SBR incidence and greater young seedling and seedling survival. It was also observed an additional effect on height growth, neck diameter, fresh weight and dry weight of the seedling aerial part and the height, diameter of the lap and the fresh weight of the roots of peach palm seedlings. Preventive applications of *T. harzianum* and *T. asperellum*, 48 h prior to inoculation of *P. palmivora* in peach palm seedlings reduced significantly the severity of SBR, evidencing that this biological control agent proved to be efficient in SBR control, besides induced young seedlings and seedlings of peach palm growth.

Index terms: Biological control, *Bactris gasipaes*, Heart of palm

2.1 INTRODUÇÃO

A pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth var. *gasipaes* Henderson) se destaca em relação a outras espécies produtoras de palmito como o palmito juçara (*Euterpe edulis* Martius) e açaí (*E. oleracea* Martius) por sua precocidade na primeira colheita e possibilitar cortes sucessivos na mesma touceira, conferindo-lhe característica de cultura perene. A pupunheira apresenta grande adaptação geográfica, perfilhamento e o palmito não sofre escurecimento (oxidação) após o corte (TONET et al., 1999), tornando-se, assim, uma alternativa comercialmente viável na produção de palmito.

No Brasil, a pupunheira é plantada nos Estados de São Paulo e Bahia, que são os maiores produtores, com mais de 5.000 ha cada. Os plantios se localizam em polos específicos, na região Sul da Bahia e no Vale do Ribeira, em São Paulo. Com menores áreas plantadas, cultiva-se pupunheira na região litorânea dos Estados de Santa Catarina, Paraná, Espírito Santo e Rio de Janeiro, e em sistemas de plantio irrigado nos Estados do Mato Grosso, Rondônia e Goiás (PENTEADO JUNIOR et al., 2014). Com a expansão da área plantada, a pressão das doenças aumenta, tanto nos viveiros de produção de mudas, quanto em áreas de plantios comerciais, potencializando os danos causados pelas doenças. Patógenos como *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler, agente causal da podridão da base do estipe (PBE), está limitado a expansão da cultura (SANTOS et al., 2011). A importância da PBE está aumentando nas regiões brasileiras produtoras de pupunheira (FUZITANI et al., 2013). As plantas atacadas pela PBE caracterizam-se pelo amarelecimento das primeira e segunda folhas abertas e da folha bandeira, seguido por morte da touceira. Quando se realiza o corte transversal na base do estipe observa-se o escurecimento dos tecidos internos, com posterior podridão generalizada. A doença ocorre em plantas jovens e adultas de pupunheira (SANTOS et al., 2004).

Apesar de se tratar de um patógeno agressivo e amplamente distribuído, existem poucos trabalhos publicados sobre o mesmo no cultivo da pupunheira. Assim, há necessidade do desenvolvimento de métodos alternativos de controle, principalmente de medidas ambientalmente sustentáveis. O controle biológico, mediado pelo fungo *Trichoderma*, pode ser uma medida adequada de controle, pois existem espécies que produzem enzimas e metabolitos capazes de alterar os níveis de etileno na planta (VITERBO et al., 2010) alterar a arquitetura das raízes

(MALMIERCA et al., 2015; SAMOLSKI et al., 2012) e inibe o patógeno. Mastuori et al. (2010) relataram que o tratamento de sementes de tomate com *T. harzianum* acelera a germinação das sementes, aumenta o vigor das mudas e aumenta a tolerância à salinidade e ao calor, induzindo proteção fisiológica em plantas contra danos oxidativos. Além disso, *Trichoderma* spp. pode aumentar a tolerância a seca através do desenvolvimento de raízes (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2009), ativando proteção antioxidante contra danos por desidratação (GULER et al., 2016; BROTMAN et al., 2013; MASTOURI et al., 2012) e alterando a indução na abertura estomática, fotossíntese e teor de clorofila nas folhas. Vários estudos demonstraram que *Trichoderma* spp. pode aumentar o desenvolvimento e produção de raízes, proliferação de raízes secundárias, peso fresco de raiz e peso da área foliar (HARMAN 2000; JANARTHANAM 2013).

Diante do exposto, o presente estudo teve por objetivo avaliar a eficiência de isolados de *Trichoderma asperellum* e *T. harzianum* no controle biológico da PBE e no crescimento de plântulas e mudas de pupunheira.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Origem dos isolados de *Phytophthora palmivora* e *Trichoderma* spp. – O isolado SA30 de *P. palmivora*, comprovadamente fitopatogênico, proveniente da coleção de Fungos e Oomicetos Florestais da Embrapa Florestas, Colombo-PR, e os isolados de *Trichoderma* spp. provenientes de empresas comerciais, sendo: a) Ecotrich® – Ballagro (*Trichoderma harzianum*), b) Trichodermil® SC 1306 – Kooppert (*Trichoderma harzianum*), c) Qualit® WG – Laboratório Farroupilha (*Trichoderma asperellum*) e d) Trichodermax® EC – Novozymes (*Trichoderma asperellum*), foram utilizados no presente estudo.

O isolado SA30 de *P. palmivora* foi repicado para placas de Petri contendo meio de cenoura-ágar (CA) e incubado em câmara tipo BOD, sob luz fluorescente contínua, a 24°C, por sete dias. Ao final deste período, 5 mL de água ultrapurificada e esterilizada foi adicionada em cada placa, sendo em seguida, colocada em geladeira (4 a 6 °C), por 30 min. As placas foram transferidas para o ambiente do laboratório e

deixadas na bancada, por 30 min, para que ocorresse a liberação dos zoósporos (FUZITANI et al., 2013). A suspensão de zoósporos obtida em cada placa foi vertida para b quer para ajuste da concentração em hemacitômetro. Em todos os experimentos adotou-se uma suspensão de zoósporos ajustada para $2,5 \times 10^6$ zoósporos/mL de *P. palmivora*. Os isolados TH1 e TH2 (Ecotrich  e Trichodermil ) de *T. harzianum* e TA1 e TA2 (Qualit  e Trichodermax ) de *T. asperellum* foram usados respectivamente nos experimentos adotando-se a dose recomendada pelo fabricante.

Material vegetal – As plântulas de pupunheira foram oriundas de viveiro comercial com seis cm de altura (medido da base do colo até a inserção da primeira folha), raiz nua e com um a dois pares de folhas, e as mudas com oito meses de idade com 12 cm de altura (medido da base do colo até a inserção da primeira folha), três a quatro pares de folhas e mantidas em sacos de polietileno preto (11 cm de altura e sete cm de largura). Com substrato comercial de casca de pinus. As plântulas e as mudas foram irrigadas manualmente de acordo com as suas necessidades.

1. Controle Preventivo da PBE em Plântulas de Pupunheira. Para atingir os objetivos propostos, dois experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, adotando-se dois métodos de inoculação de *P. palmivora* e duas formas de aplicação de *Trichoderma* ssp, para avaliar o controle preventivo da PBE em plântulas.

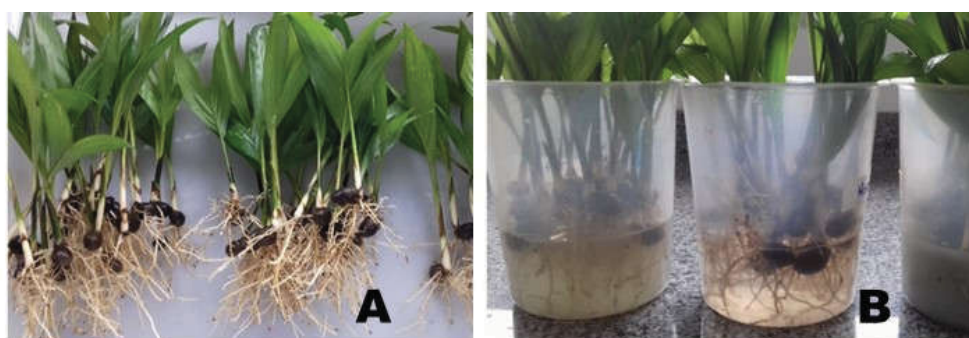
Imersão das raízes das plântulas em suspensão de zoósporos de *Phytophthora palmivora* e aplicação de *T. asperellum* e *T. harzianum* no substrato antes do plantio.

As plântulas foram retiradas da sementeira, manejadas cuidadosamente para não causar danos e suas raízes lavadas em água corrente (Figura 7A) e inoculados por meio da imersão das raízes das plântulas (Figura 7B) com ferimentos nas suas extremidades em uma suspensão de zoósporos de *P. palmivora* (isolado SA 30), por 20 minutos. *T. harzianum* e *T. asperellum* foram previamente, aplicados no substrato de plantio na concentração de 2×10^9 conídios/mL na dosagem de 12,5 mL/L e $1,0 \times 10^{10}$ UFC/g, na dosagem de 2,5 g/L, respectivamente, conforme recomendação do fabricante. As plântulas inoculadas com *P. palmivora* foram plantadas em vasos de polietileno contendo substrato tratadas com *Trichoderma*. Plantas do tratamento testemunha foram inoculadas apenas com *P. palmivora*, sem a presença de

Trichoderma no substrato. Após a instalação do experimento, as plantas foram mantidas em casa de vegetação recebendo irrigação, quando necessário.

Trancorrido 90 dias do transplante, foram avaliados a incidência (%) e a severidade da PBE, usando a escala proposta por Fuzitani et al. (2013): 0 - planta sem sintomas; 1 - planta com folha bandeira e/ou primeira folha aberta exibindo murcha e/ou amarelecimento; 2 - planta com folha bandeira, primeira e segunda folhas exibindo murcha e/ou amarelecimento; 3 - planta com todas as folhas exibindo murchas ou amarelecimento; e 4 - planta morta. Em seguida, as mudas foram retiradas dos recipientes e as raízes lavadas com água corrente, avaliando a altura do caule, diâmetro do colo, peso fresco das raízes e da parte aérea. As raízes e a parte aérea foram mantidas em estufa de secagem a 60 °C, por 48 h para a determinação do peso seco das raízes e da parte aérea.

FIGURA 7. MÉTODO DE INOCULAÇÃO POR IMERSÃO: A) PLÂNTULAS SADIAS DE PUPUNHEIRA RETIRADAS DA SEMENTEIRA; B) PLÂNTULAS INOCULADAS POR IMERSÃO DAS RAÍZES EM SUSPENSÃO DE ZOÓSPOROS DE *Phytophthora palmivora*.



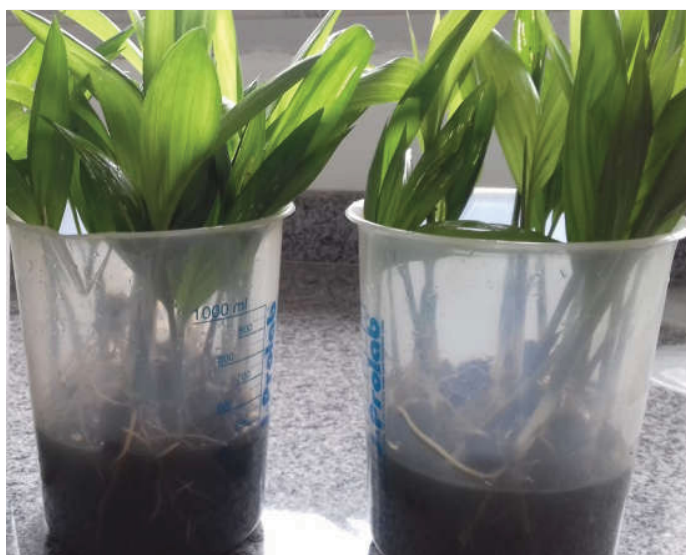
Fonte: Eduardo Jun Fuzitani

Aplicação de *T. asperellum* e *T. harzianum* por imersão de raízes em suspensão de conídios e inoculação dos zoósporos de *P. palmivora* no colo de plântulas.

As raízes das plântulas foram cortadas nas extremidades e, logo depois, imersas por 20 minutos em uma suspensão de conídios dos isolados TA1 de *T. asperellum* e TH2 de *T. harzianum* (Figura 8), na dosagem recomendada pelo fabricante, sendo *T. harzianum* (TH2) na concentração de 2×10^9 conídios/mL (dosagem de 12,5 mL/L) e o *T. asperellum* (TA1) na concentração de $1,0 \times 10^{10}$ UFC/g

(Unidade Formadora de Colônia) (dosagem de 2,5 g/L). As plântulas foram transplantadas para vasos de polietileno contendo substrato comercial(marca/) após 60 dias da semeadura. As plântulas, foram inoculadas com 5 mL de uma suspensão de $2,06 \times 10^5$ zoósporos de *P. palmivora* do isolado SA 30 aplicada ao redor do colo, com auxílio de uma seringa graduada. O tratamento testemunha consistiu de plântulas inoculadas pelo patógeno, mas sem adição de *Trichoderma*, sendo as plântulas mantidas em casa de vegetação com regime diário de irrigação, após o segundo dia da inoculação.

FIGURA 8. MÉTODO DE APLICAÇÃO DE *TRICHODERMA*: IMERSÃO DAS RAÍZES COM FERIMENTOS NA SUA EXTREMIDADE EM SUSPENSÃO DE CONÍDIOS DE ISOLADOS DE *Trichoderma asperellum* E *T. harzianum*.



Fonte: Eduardo Jun Fuzitani

Aos 90 dias, após a instalação do experimento, procedeu-se a avaliação da incidência (%) e da severidade da PBE, conforme Fuzitani et al. (2013). As mudas foram retiradas das bandejas e as raízes lavadas com água corrente. Posteriormente, avaliou-se a altura do estipe, diâmetro do colo e o peso fresco e seco das raízes e da parte aérea, conforme discutido anteriormente.

Os tratamentos dos experimentos 1 e 2 foram constituídos de dois isolados de *Trichoderma* e duas testemunhas, sendo uma testemunha com o patógeno (sem *Trichoderma*) e outra somente com água (sem o patógeno e o *Trichoderma*) dispostos em delineamento inteiramente casualizado com 10 repetições de uma planta cada.

Análise dos dados

Os dados dos experimentos 1 e 2 foram analisados pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, a 5% de probabilidade.

2. Controle Preventivo da PBE em Mudanças de Pupunheira. Para avaliar o controle preventivo da PBE em mudas de pupunheira, dois experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, adotando-se dois métodos de inoculação de *P. palmivora*.

Controle preventivo com deposição de suspensão de zoósporos de *P. palmivora*.

Vasos (7,5 cm de altura e 6 cm de diâmetro) com mudas de pupunheira foram imersos em bandejas contendo suspensão de conídios de *Trichoderma* spp, até a altura do colo das mudas, formando uma lâmina de aproximadamente 2 mm acima da superfície do substrato (Figura 9). A concentração e a dosagem do antagonista seguiu a recomendação do fabricante, sendo de *T. harzianum* (TH1) na concentração de $1,0 \times 10^{10}$ UFC/g (0,5 g/L); *T. harzianum* (TH2) na concentração de 2×10^9 conídios/mL (12,5 mL/L); *T. asperellum* (TA1) na concentração de $1,0 \times 10^{10}$ UFC/g (2,5 g/L) e *T. asperellum* (TA2) na concentração de $1,5 \times 10^9$ conídios/mL (dose de 5 mL/L). Após as mudas foram mantidas sob condição de saturação, por 20 minutos, e depois as mudas foram retiradas e mantidas na casa de vegetação.

Após um período de sete dias, procedeu-se a inoculação de *P. palmivora*. Antes da inoculação do patógeno, as mudas foram colocadas novamente em bandejas contendo água ultrapurificada esterilizada, e deixadas por um período de uma hora, para que a água infiltrasse e atingisse o colo até formar uma lâmina de 2 mm acima da superfície do substrato (Figura 9A). Após este período, as mudas foram retiradas das bandejas e realizado três cortes com bisturi em um dos lados do colo das mudas para atingir as raízes até a profundidade de 3 cm. Em seguida 5 mL de uma suspensão de zoósporos de *P. palmivora* foram aplicadas no local do corte (Figura 9B), sendo as mudas mantidas por mais uma hora, sob saturação de água ultrapurificada esterilizada. Após a inoculação as mudas foram levadas para a casa de vegetação, onde receberam irrigação após 36 h da inoculação e permaneceram até o momento da avaliação.

As avaliações da PBE foram realizadas semanalmente, quantificando a incidência (%) e a severidade da doença em mudas sintomáticas. Conforme escala desenvolvida por Fuzitani (2013).

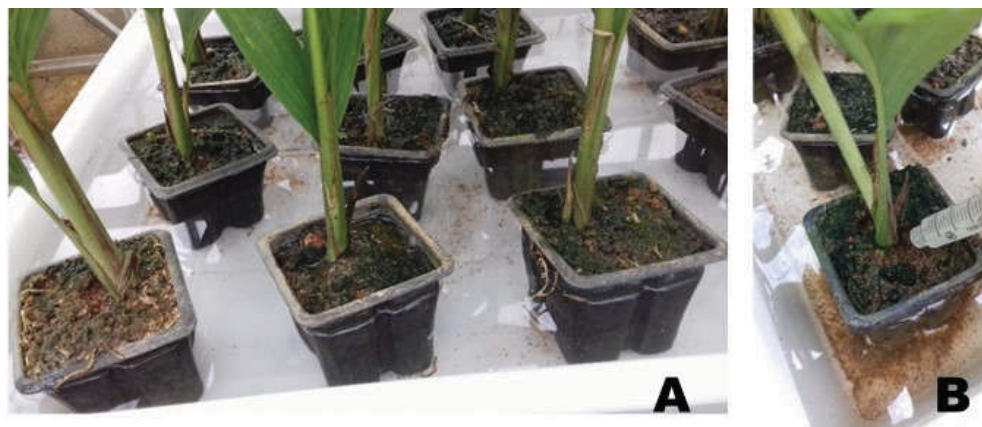
Aos 90 dias após a inoculação, as mudas foram retiradas dos vasos e as raízes lavadas em água corrente. Posteriormente, avaliou-se a altura do estipe, diâmetro do colo, o peso fresco e seco das raízes e da parte aérea.

Os tratamentos foram constituídos com quatro isolados de *Trichoderma*, além da testemunha (sem *Trichoderma*), os quais foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições de uma planta cada.

Análise dos dados

Os dados foram submetidos à análise de variância, verificando-se preventivamente a normalidade pelo teste de Shapiro Wilk, sendo as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

FIGURA 9. MÉTODO DE INOCULAÇÃO DE *P. palmivora* EM MUDAS DE PUPUNHEIRA: A) IMERSÃO DAS RAÍZES EM BANDEJA COM ÁGUA; B) INOCULAÇÃO COM AUXÍLIO DE UMA SERINGA, DA SUSPENSÃO DE ZOÓSPOROS NO COLO E RAÍZES DAS MUDAS, COM AUXÍLIO DE UMA SERINGA DESCARTÁVEL, APÓS A IMERSÃO EM BANDEJA COM ÁGUA.



Fonte: Eduardo Jun Fuzitani

Controle preventivo com injeção de suspensão de zoósporos de *P. palmivora*

Neste experimento foram utilizados *T. harzianum* (TH2) na concentração de 2×10^9 conídios/mL e (12,5 mL/L) e *T. asperellum* (TA1) na concentração de $1,0 \times 10^{10}$ UFC/g (2,5 g/L). As aplicações do *Trichoderma* foram realizadas 0, 24 e 48 h antes da

inoculação de *P. palmivora*. A inoculação de *P. palmivora* foi realizada por meio da injeção de uma suspensão de zoósporos na concentração de $2,05 \times 10^6$ zoósporos/mL na base do estipe (colo) das mudas de pupunheira (FUZITANI, 2012), utilizando de uma seringa descartável com agulha hipodérmica (1,20 x 40 mm), introduzindo-se uma alíquota de 0,1 mL da suspensão de zoósporos/muda.

As avaliações da PBE foram realizadas semanalmente quantificando-se a incidência e a severidade de mudas sintomáticas. A severidade da PBE foi avaliada aos 7, 14, 21 e 28 dias após a inoculação, com base na escala descritiva de Fuzitani et al. (2013). Neste experimento não foi possível avaliar os dados fitotécnicos, pois todas as mudas atingiram nota máxima na referida escala descritiva.

Os tratamentos foram constituídos de dois isolados de *Trichoderma*, além da testemunha (aplicação somente do patógeno) e três épocas de inoculação (0, 24 e 48 h), os quais foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado, seguindo o esquema fatorial 3x3 (*Trichoderma* x Época de aplicação) com 10 repetições de uma planta cada.

Análise dos dados

Os dados foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, a 5% de probabilidade.

3. Controle Curativo da PBE em Mudanças de Pupunheira. Para avaliar o controle curativo da PBE em mudas de pupunheira, dois experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, adotando-se dois métodos de inoculação de *P. palmivora*.

Controle curativo com deposição de suspensão de zoósporos de *P. palmivora*.

As mudas de pupunheira foram colocadas, previamente, em bandejas contendo água ultrapurificada esterilizada, até a saturação do substrato, formando uma lâmina de 2 mm acima da superfície do substrato, para assim atingir o colo das mudas. As mudas permaneceram sob saturação, por um período de uma hora, quando se realizou os cortes, com auxílio de bisturi, em um dos lados do colo para atingir as raízes até uma profundidade de 3 cm. Em seguida, procedeu-se a deposição de 5 mL da suspensão de zoósporos de *P. palmivora* na concentração de $1,5 \times 10^6$ zoósporos/mL no local do corte. Os vasos foram colocados novamente nas bandejas com água ultrapurificada esterilizada, onde permaneceram sobre saturação, por mais uma hora. Em seguida, as mudas foram retiradas da água e deixadas na casa de vegetação.

A inoculação de *P. palmivora* e as avaliações da PBE foram semelhantes a descritas anteriormente.

Os tratamentos foram constituídos por quatro isolados de *Trichoderma*, além da testemunha (sem *Trichoderma*), os quais foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado com 10 repetições de uma planta cada.

Análise dos dados

Os dados foram submetidos à análise de variância, a verificação da normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, sendo comparadas as médias dos tratamentos pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

Controle curativo com injeção de suspensão de zoósporos de *P. palmivora*.

O efeito curativo de *T. asperellum* (isolado TA1) e *T. harzianum* (isolado TH2) foi avaliado, utilizando-se o método descrito anteriormente.

A aplicação de *Trichoderma ssp* e as avaliações das mudas de pupunheira foram semelhante a decrita anteriormente.

Os tratamentos foram constituídos de dois isolados de *Trichoderma*, além da testemunha (aplicação somente do patógeno) e três épocas de inoculação (zero, 24 e 48 h), os quais foram dispostos no delineamento casualizado seguindo o esquema fatorial 3x3 (*Trichoderma* x época de aplicação), com 10 repetições de uma planta cada.

Análises dos dados

Os dados foram analisados pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis a 5% de probabilidade.

2.3 RESULTADOS

Controle Preventivo da PBE em Plântulas

Imersão das raízes em suspensão de zoósporos de *Phytophthora palmivora* e aplicação de *T. asperellun* e *T. harzianum* no substrato antes do plantio.

O tratamento testemunha com inoculação de zoósporos de *P. palmivora* apresentou mortalidade de 70% das plântulas (Tabela 5), exibindo os sintomas de amarelecimento, murcha seguido de morte. Com a aplicação de *T. harzianum* (TH2)

ocorreu 40% de mortalidade de plântulas e para o isolado *T. asperellum* (TA1) foi 20%. As plântulas tratadas com *T. asperellum* (TA1) e *T. harzianum* (TH2) reduziram a incidência da PBE em 80 e 60%, respectivamente (Tabela 4 e Figura 10).

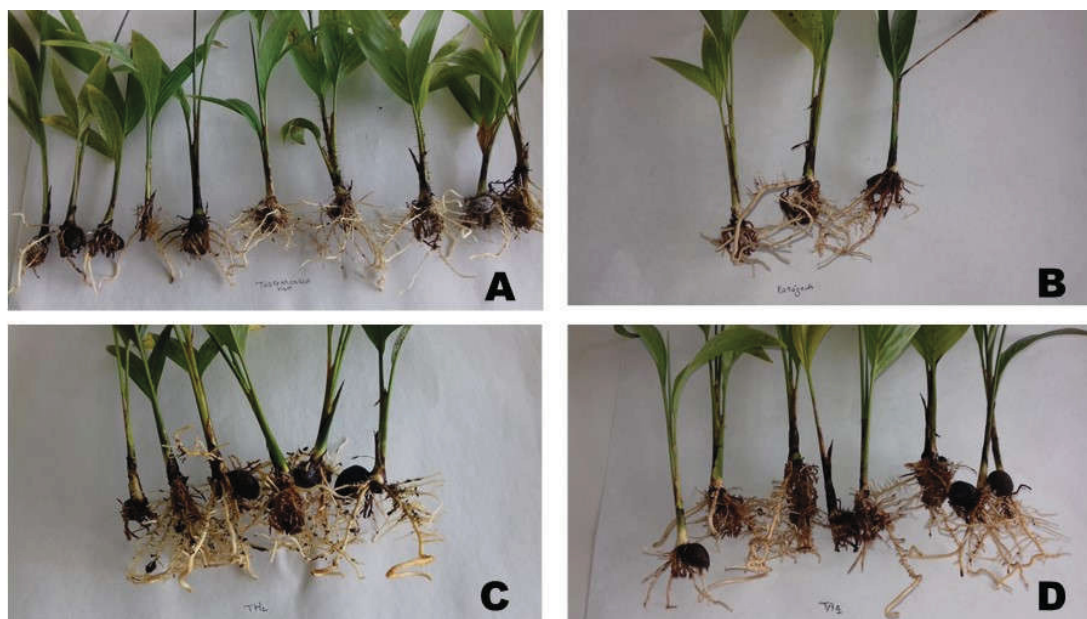
TABELA 4. INCIDÊNCIA E O NÍVEL DE CONTROLE DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE E SOBREVIVÊNCIA DE PLÂNTULAS DE PUPUNHEIRA INOCULADAS POR IMERSÃO DE RAÍZES EM SUSPENSÃO DE ZOÓSPOROS DE *Phytophthora palmivora* E TRATADAS COM APLICAÇÃO DE *Trichoderma asperellum* E *T. harzianum*, NO SUBSTRATO, ANTES DO PLANTIO.

Tratamento	Incidência (%)	Sobrevivência (%)	Nível de controle (%)
<i>Trichoderma asperellum</i> (TA1)	20	80	71,4
<i>Trichoderma harzianum</i> (TH2)	40	60	42,8
Testemunha absoluta	0	100	
Testemunha inoculada	70	30	

*Testemunha absoluta: tratada apenas com água; Testemunha inoculada com *P. palmivora*., sem *Trichoderma*; ***Escala descritiva de Fuzitani et al. (2013): nota 0 - planta sem sintomas; 1 - planta com folha bandeira e/ou primeira folha aberta com murcha e/ou amarelecimento; 2 - planta com folha bandeira, primeira e segunda folhas com murcha e/ou amarelecimento; 3 - planta com todas as folhas com murchas ou amarelecimento; e 4 - planta morta.

As plântulas transplantadas para substrato contendo *T. asperellum* (Figura 10D) e *T. harzianum* (Figura 10C) incorporados ao substrato apresentaram a menor incidência da PBE e uma maior sobrevivência e desenvolvimento das plântulas em relação ao tratamento testemunha (Figura 10B). Diferenças significativas e positivas no diâmetro do colo no tratamento com *T. harzianum* (TH2) e no peso fresco da raiz, nos tratamentos com *T. asperellum* (TA1) e *T. harzianum* (TH2) (Tabela 5) foram observados.

FIGURA 10. INCIDÊNCIA DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE EM PLÂNTULAS INOCULADAS POR IMERSÃO DE SUSPENSÃO DE ZOÓSPOROS DE *Phytophthora palmivora*: A) TESTEMUNHA ABSOLUTA (0%); B) TESTEMUNHA INOCULADA COM *P. palmivora* (70%); C) PLÂNTULAS TRATADAS COM *T. HARZIANUM* (40%); D) PLÂNTULAS TRATADAS COM *T. asperellum* (30%).



Fonte: Eduardo Jun Fuzitani

TABELA 5. CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS DE PUPUNHEIRA INOCULADAS POR IMERSÃO EM SUSPENSÃO DE ZOÓSPOROS DE *P. palmivora* E TRATADAS COM APLICAÇÃO DE *Trichoderma asperellum* (TA1) E *T. harzianum* (TH2) NO SUBSTRATO, APÓS 90 DIAS DA APLICAÇÃO NOS TRATAMENTOS.

Tratamento	Alt (cm)	DC (cm)	PFR (g)	PFPA (g)	PSR (g)	PSPA (g)
<i>T. asperellum</i> (TA1)	7,7 ns	0,6 ^b	2,0 ^b	2,4 ^b	0,5 ^{ab}	0,9 ^{ab}
<i>T. harzianum</i> (TH2)	6,1	0,7 ^a	1,9 ^b	2,3 ^b	0,6 ^{ab}	0,9 ^{ab}
Testemunha absoluta	7,3	0,7 ^a	3,8 ^a	3,7 ^a	1,0 ^a	1,1 ^a
Testemunha inoculada	5,7	0,5 ^b	0,9 ^c	1,6 ^b	0,2 ^b	0,5 ^b

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis (5%); Alt: altura das plântulas DC: diâmetro do coleto; PFR: peso fresco das raízes; PFPA: peso fresco da parte aérea; PSR: peso seco das raízes; PSPA: peso seco da parte aérea. Testemunha absoluta: tratada apenas com água, sem patógeno; Testemunha inoculada com *P. palmivora*, sem *Trichoderma*; ns: não significativo.

Inoculação de uma suspensão de zoósporos de *P. palmivora* no colo de plântulas e aplicação de *T. asperellum* e *T. harzianum* por imersão de raízes em suspensão de conídios.

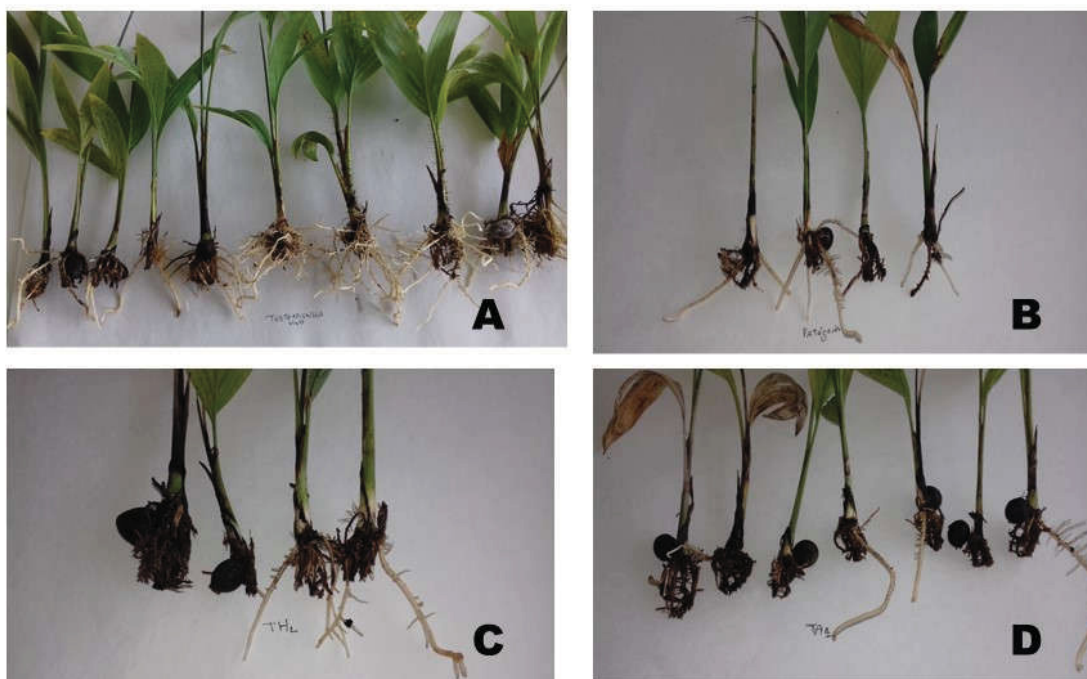
A incidência e a severidade da PBE foram evidenciadas no tratamento testemunha com inoculação do patógeno, no qual 60% das plântulas apresentaram sintomas de amarelecimento, murcha, seguido de morte. Com *T. harzianum* (TH2) foi observada 60% de morte de plântulas e com *T. asperellum* (TA1) 30% (Tabela 6 e Figura 11).

TABELA 6. INCIDÊNCIA E O NÍVEL DE CONTROLE DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE E SOBREVIVÊNCIA DE PLÂNTULAS DE PUPUNHEIRA INOCULADAS NO COLO COM SUSPENSÃO DE ZOÓSPOROS DE *Phytophthora palmivora* E TRATADAS PELA IMERSÃO DAS RAÍZES EM SUSPENSÃO DE CONÍDIOS DE *Trichoderma asperellum* E *T. harzianum*.

Tratamento	Incidência (%)	Sobrevivência (%)	Nível de controle (%)
<i>Trichoderma asperellum</i> (TA1)	30	70	50
<i>Trichoderma harzianum</i> (TH2)	60	40	0
Testemunha absoluta*	0	100	
Testemunha **	60	40	

*Testemunha absoluta: tratada apenas com água; Testemunha inoculada com *P. palmivora*, sem *Trichoderma*; ***Escala descritiva de Fuzitani et al. (2013): nota 0 - planta sem sintomas; 1 - planta com folha bandeira e/ou primeira folha aberta com murcha e/ou amarelecimento; 2 - planta com folha bandeira, primeira e segunda folhas com murcha e/ou amarelecimento; 3 - planta com todas as folhas com murchas ou amarelecimento; e 4 - planta morta.

FIGURA 11. INCIDÊNCIA DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE EM PLÂNTULAS INOCULADAS NO COLO DE SUSPENSÃO DE ZOÓSPOROS DE *P. PALMIVORA*: A) TESTEMUNHA ABSOLUTA (0%); B) TESTEMUNHA INOCULADA COM *P. palmivora* (60%); C) PLÂNTULAS TRATADAS COM *T. harzianum* (60%); D) PLÂNTULAS TRATADAS COM *T. asperellum* (30%).



Fonte: Eduardo Jun Fuzitani

T. asperellum (TA1) proporcionou crescimento (7,3 cm) semelhante ao da testemunha com água, diferindo da testemunha com patógeno (5,8 cm). Com relação ao peso seco da parte aérea, o tratamento *T. asperellum* (TA1) foi superior aos demais tratamentos, com 1,2 g. Nas demais variáveis analisadas não houve diferenças significativas entre os tratamentos com *Trichoderma* e a testemunha.

TABELA 7. CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS DE PUPUNHEIRA INOCULADAS COM *Phytophthora palmivora* E TRATADAS POR IMERSÃO DAS RAÍZES EM SUSPENSÃO DE CONÍDIOS DE *Trichoderma asperellum* E *T. harzianum*.

Tratamento	Alt (cm)	DC (cm)	PFR (g)	PFPA (g)	PSR (g)	PSPA (g)
<i>T. asperellum</i> (TA1)	*7,3 ^a	0,7 ^{ns}	4,3 ^{ns}	3,5 ^{ns}	1,0 ^{ns}	1,2 ^a
<i>T. harzianum</i> (TH2)	5,7 ^b	0,7	4,0	3,27	1,0	0,9 ^{bc}
Testemunha absoluta	7,3 ^a	0,7	3,8	3,7	1,0	1,1 ^{ab}
Testemunha inoculada	5,8 ^b	0,6	2,2	2,4	0,6	0,8 ^c

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis (5%); Alt: altura das plântulas DC: diâmetro do coleto; PFR: peso fresco das raízes; PFPA: peso fresco da parte aérea; PSR: peso seco das raízes; PSPA: peso seco da parte aérea. Testemunha absoluta: tratada apenas com água, sem patógeno; Testemunha inoculada com *P. palmivora*, sem *Trichoderma*; ns: não significativo.

Controle Preventivo da PBE em Mudas

Controle preventivo com deposição de suspensão de zoósporos de *P. palmivora*.

Neste experimento, apenas algumas mudas de pupunheira inoculadas com *P. palmivora* apresentaram os sintomas típicos da PBE, caracterizados pelo amarelecimento, murcha e morte da folha bandeira (Tabela 8). Na testemunha ocorreu a morte de 20% das mudas, enquanto que, nos demais tratamentos 10%.

TABELA 8. INCIDÊNCIA E O NÍVEL DE CONTROLE DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE E SOBREVIVÊNCIA DE MUDAS DE PUPUNHEIRA TRATADAS PREVENTIVAMENTE COM ISOLADOS DE *Trichoderma harzianum* E *T. asperellum* E INOCULADAS COM *Phytophthora palmivora*.

Tratamento (Isolado)	Incidência (%)	Sobrevivência (%)	Nível de controle (%)
<i>T. harzianum</i> (TH1)	10	90	50
<i>T. harzianum</i> (TH2)	10	90	50
<i>T. asperellum</i> (TA1)	10	90	50
<i>T. asperellum</i> (TA2)	10	90	50
Testemunha *	20	80	

* Testemunha inoculada apenas com *P. palmivora* ** Escala descritiva de Fuzitani et al. (2013), com notas: 0 - planta sem sintomas; 1 - planta com folha bandeira e/ou primeira folha aberta com murcha e/ou amarelecimento; 2 - planta com folha bandeira, primeira e segunda folha com murcha e/ou amarelecimento; 3 - planta com todas as folhas com murcha ou amarelecimento; e 4 - planta morta.

No diâmetro do colo a aplicação de *T. asperellum* (TA1 e TA2) apresentou maior crescimento em relação aos demais tratamentos. O peso fresco e seco da raiz foi superior com *T. asperellum* TA1 em relação aos demais tratamentos. *T. harzianum* (TH1 e TH2) não diferiu estatisticamente da testemunha (Tabela 9).

TABELA 9. CRESCIMENTO DE MUDAS DE PUPUNHEIRA INOCULADAS POR IMERSÃO EM SUSPENSÃO DE ZOÓSPOROS DE *P. palmivora* E TRATADAS COM APLICAÇÃO DE *Trichoderma asperellum* (TA1 E TA2) E *T. harzianum* (TH1 E TH2) NO SUBSTRATO, APÓS 90 DIAS DA APLICAÇÃO NOS TRATAMENTOS.

Tratamento	Alt (cm)	DC (cm)	PFR (g)	PFPa (g)	PSR (g)	PSPa (g)
<i>T. asperellum</i> (TA1)	13,6 ^{ns*}	1,7 ^a	37,9 ^a	25,7 ns	16,9 ^a	7,2 ns
<i>T. asperellum</i> (TA2)	13,6	1,6 ^a	18,8 ^b	21,2	8,8 ^b	7,2
Testemunha**	13,7	1,4 ^b	21,7 ^b	25,1	7,2 ^b	7,0
<i>T. harzianum</i> (TH1)	13,8	1,6 ^{ab}	23,8 ^b	22,8	11,2 ^b	7,5
<i>T. harzianum</i> (TH2)	13,0	1,5 ^{ab}	27,5 ^b	24,3	11,1 ^b	6,8

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem entre si, pelo teste Duncan, a 5% de probabilidade; Alt: altura das plântulas DC: diâmetro do coleto; PFR: peso fresco das raízes; PFPa: peso fresco da parte aérea; PSR: peso seco das raízes; PSPa: peso seco da parte aérea.

**Testemunha inoculada com *P. palmivora*, sem *Trichoderma*; ns: não significativo.

Controle preventivo com injeção de suspensão de zoósporos de *P. palmivora*

Todos os tratamentos apresentaram 100% de incidência da PBE (Tabela 10). A análise demonstrou que, no controle preventivo, houve diferença estatística no intervalo de 48 h da aplicação do agente de biocontrole, em relação aos demais tratamentos. *T. asperellum* (TA1) e *T. harzianum* (TH2) aplicados 48 h antes da inoculação do patógeno apresentou notas de 3,3 e 3,0, respectivamente, a severidade foi menor em relação à testemunha (3,9). Nos demais intervalos avaliados (0 e 24 h) não houve diferença da testemunha.

TABELA 10. INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE EM MUDAS DE PUPUNHEIRA TRATADAS PREVENTIVAMENTE COM ISOLADOS DE *Trichoderma asperellum* E *T. harzianum*, NOS INTERVALOS DE APLICAÇÃO 0, 24 E 48 H ANTES DA INJEÇÃO DE UMA SUSPENSÃO DE ZOÓPOROS DE *P. palmivora*.

Tratamento	Incidência (%)	Severidade**		
		0 h	24 h	48 h
<i>T. asperellum</i> (TA1)	100	3,5	3,8	3,3 a
<i>T. harzianum</i> (TH2)	100	3,7	3,5	3,0 a
Testemunha*	100	3,9	3,9	3,9 b

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna e na linha, não diferem entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis (5%)

* Testemunha inoculada apenas com *P. palmivora*; ** Escala de notas descritiva por Fuzitani et al. (2013), sendo: 0 - planta sem sintomas; 1 - planta com folha bandeira e/ou primeira folha aberta com murcha e/ou amarelecimento; 2 - planta com folha bandeira, primeira e segunda folha com murcha e/ou amarelecimento; 3 - planta com todas as folhas com murchas ou amarelecimento; e 4 - planta morta.

Controle Curativo da PBE em Mudas

Controle curativo com deposição de suspensão de zoósporos de *P. palmivora*.

Neste experimento, todas os tratamentos apresentaram sintomas da doença causando ao menos a morte de uma planta. No entanto, foi observado baixa incidência da PBE (Tabela 11).

TABELA 11. INCIDÊNCIA E O NÍVEL DE CONTROLE DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE E SOBREVIVÊNCIA DE MUDAS DE PUPUNHEIRA, TRATADAS CURATIVAMENTE COM ISOLADOS DE *Trichoderma harzianum* E *T. asperellum*, NO INTERVALO DE APLICAÇÃO ZERO, 24 E 48 H APÓS A INOCULAÇÃO POR INJEÇÃO DE UMA SUSPENSÃO DE ZOÓPOROS DE *P. palmivora*.

Tratamento (Isolado)	Incidência (%)	Sobrevivência (%)	Nível de controle (%)
<i>T. harzianum</i> (TH1)	10	90	50
<i>T. harzianum</i> (TH2)	10	90	50
<i>T. asperellum</i> (TA1)	10	90	50
<i>T. asperellum</i> (TA2)	10	90	50
Testemunha *	20	80	

* Testemunha com inoculação apenas de *P. palmivora*

** Escala de notas descrita por Fuzitani, et al. (2013), sendo: 0 - planta sem sintomas; 1 - planta com folha bandeira e/ou primeira folha aberta com murcha e/ou amarelecimento; 2 - planta com folha bandeira, primeira e segunda folha com murcha e/ou amarelecimento; 3 - planta com todas folhas com murchas ou amarelecimento; e 4 - planta morta.

A altura do caule, diâmetro do colo, peso da parte aérea e peso seco da parte aérea foram positivamente influenciada por *Trichoderma* (Tabela 12). Enquanto que, para o peso fresco e peso seco da raiz não houve efeito significativo do *Trichoderma* em relação à testemunha. A altura das mudas tratadas com *T. asperellum* (TA1, TA2) e *T. harzianum* (TH1 e TH2), com 13,8, 13,4, 13,3 e 14,1 cm, respectivamente, foram superiores à testemunha. Com relação ao diâmetro do colo o destaque foi para o tratamento *T. harzianum* TH2 com 1,6 cm.

TABELA 12. CRESCIMENTO DE MUDAS DE PUPUNHEIRA INOCULADAS COM *Phytophthora palmivora* E TRATADAS CURATIVAMENTE COM ISOLADOS DE *Trichoderma asperellum* E *T. harzianum*.

Tratamento (Isolado)	Alt (cm)	DC (cm)	PFR (g)	PFPA (g)	PSR (g)	PSPA (g)
<i>T. asperellum</i> (TA1)	*13,8 ^a	1,5 ^{ab}	19,4 ^{ns*}	21,5 ^{ab}	7,3 ^{ns}	6,3 ^b
<i>T. asperellum</i> (TA2)	13,4 ^a	1,5 ^{ab}	20,8	22,0 ^{ab}	8,4	6,2 ^{ab}
<i>T. harzianum</i> (TH1)	13,3 ^a	1,4 ^{bc}	20,9	19,0 ^b	8,7	5,8 ^b
<i>T. harzianum</i> (TH2)	14,1 ^a	1,6 ^a	20,6	23,6 ^a	8,8	7,7 ^a
Testemunha**	11,4 ^b	1,3 ^c	14,3	18,0 ^b	5,9	6,0 ^b

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem entre si, pelo teste Duncan, a 5% de probabilidade; Alt: altura das plântulas DC: diâmetro do coleto; PFR: peso fresco das raízes; PFPA: peso fresco da parte aérea; PSR: peso seco das raízes; PSPA: peso seco da parte aérea.

**Testemunha inoculada com *P. palmivora*, sem *Trichoderma*; ns: não significativo.

Aos 90 dias após a inoculação de *P. palmivora*, as mudas apresentaram necrose e escurecimento do colo e das raízes (Figura 12B).

FIGURA 12. REGIÃO DO COLO E RAÍZES DE MUDAS DE PUPUNHEIRA: A) SEM INOCULAÇÃO DE *P. palmivora* (SADIAS); B) COM INOCULAÇÃO DE *Phytophthora palmivora*, APÓS 90 DIAS (DOENTES), EXIBINDO ESCURECIMENTO DEVIDO À COLONIZAÇÃO DO PATÓGENO (SETAS).



Fonte: Eduardo Jun Fuzitani

Controle curativo com inoculação por injeção de suspensão de zoósporos de *P. palmivora*.

Não se verificou efeito controle curativo das mudas tratadas com *Trichoderma*, aos 0, 24 e 48 h após a inoculação de *P. palmivora*, via injeção no estipe (Tabela 13).

TABELA 13. INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE EM MUDAS DE PUPUNHEIRA TRATADAS CURATIVAMENTE COM ISOLADOS DE *trichoderma asperellum* E *T. harzianum*, NO INTERVALO DE APLICAÇÃO 0, 24 E 48 H APÓS A INOCULAÇÃO DE UMA SUSPENSÃO DE ZOÓSPOROS DE *P. palmivora*, APÓS 28 DIAS DA APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS.

Tratamento (Isolado)	Incidência (%)	Severidade*		
		0 h	24 h	48 h
<i>T. asperellum</i> (TA1)	100	4,0 *	3,8	3,9
<i>T. harzianum</i> (TH2)	100	3,7	3,8	3,7
Testemunha	100	3,9	3,9	3,9

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna e na linha, não diferem entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis (5%), ** Escala de notas descrita por Fuzitani et al. (2013), sendo: 0 - planta sem sintomas; 1 - planta com folha bandeira e/ou primeira folha aberta com murcha e/ou amarelecimento; 2 - planta com folha bandeira, primeira e segunda folhas com murcha e/ou amarelecimento; 3 - planta com todas as folhas com murchas ou amarelecimento; e 4 - planta morta.

2.4 DISCUSSÃO

A aplicação de *T. asperellum* e *T. harzianum* em plântulas e mudas de pupunheira pode ser uma estratégia de controle da PBE. Além disso, aumentou a altura do caule, o diâmetro de colo e o peso de raízes. Na literatura, há registros sobre os benefícios da aplicação de *Trichoderma* em vários hospedeiros, proporcionando aumentos significativos na percentagem e na precocidade de germinação, no peso seco e na altura de plantas, além de estimular o desenvolvimento das raízes laterais (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2009).

Em plântulas de pupunheira, os efeitos de *T. asperellum* e *T. harzianum* foram marcantes, quando incorporados no substrato antes do plantio, observando-se aumento na sobrevivência das plantas inoculadas com *P. palmivora*. Quando foi realizada a imersão das raízes na suspensão de conídios do antagonista, *T. asperellum* foi mais efetivo que *T. harzianum*. Silva et al. (2011) também observaram que a aplicação de *Trichoderma* no substrato, antes da inoculação do patógeno, proporcionou uma melhor proteção da planta. Estes autores enfatizam que esta ação está relacionada com a promoção de crescimento e a indução de resistência.

A aplicação do agente de biocontrole no substrato de plantio proporcionou aumento do diâmetro do colo quando as plântulas foram tratadas com *T. harzianum* e aumento do peso da parte aérea quando tratadas com *T. asperellum* e *T. harzianum*. Quando foi aplicado nas raízes, *T. asperellum* proporcionou maior crescimento em altura e no peso seco da parte aérea em relação a todos os demais tratamentos. De acordo HARMAN, (2000) e HARMAN et al. (2004b), *Trichoderma* pode atuar como bioestimulante no crescimento radicular, promovendo o desenvolvimento de raízes através de fitohormônios e, assim, melhorando a assimilação de nutrientes, aumentando a resistência diante de fatores bióticos não favoráveis, além de degradar fontes de nutrientes que serão importantes para o desenvolvimento do vegetal. A redução da severidade da PBE em plântulas e mudas de pupunheira após aplicação de *T. asperellum* e *T. harzianum*, indica que estes agentes de biocontrole podem ser utilizados como alternativa de controle. Em outros hospedeiros, como o feijoeiro, Sousa Pedro et al. (2012) demonstraram que isolados de *Trichoderma* spp. podem promover o crescimento e reduzir a severidade da antracnose.

Em mudas de pupunheira houve um aumento em altura, diâmetro do colo e ganho de peso fresco das raízes no tratamento preventivo com o *T. asperellum*. Em experimentos em viveiro, SILVA et al, 2011 verificaram a redução nos sintomas foliares, aos 45 dias, utilizando *Trichoderma* no controle da antracnose no pepineiro (SILVA et al, 2011).

O diâmetro do colo, o peso da parte aérea e o peso seco da parte aérea no tratamento curativo aumentaram quando foi acrescentado *T. harzianum*. Em videira, FOURIE et al. (2001) verificaram que a massa radicular aumentou 41,7% com tratamentos mensais com *Trichoderma*. Di Marco et al. (2004) observaram que o desenvolvimento da raiz pilosa foi quatro vezes maior em aplicação com *Trichoderma* na extremidade inferior logo após o enxerto como em cortes não tão tratados.

Trichoderma asperellum e *T. harzianum* aplicados em mudas de pupunheira, preventivamente, no intervalo de aplicação de 48 h antes da inoculação de *P. palmivora*, reduziram a severidade da PBE. Segundo Romeiro (2007), as plantas com indução de resistência apresentam aumento nas atividades de enzimas, tais como, quitinases, glucanases e peroxidases, envolvidas nas rotas de percepção da presença do patógeno em potencial e nas rotas de sinalização bioquímica a pontos distantes do sítio onde o sinal foi originado.

2.5 CONCLUSÕES

A aplicação de *Trichoderma* no substrato, antes do plantio, reduziu a incidência da PBE e favoreceu o crescimento do diâmetro do colo das plântulas;

A imersão de raízes em suspensão de conídios de *T. asperellum* favoreceu o crescimento em altura e peso seco da parte aérea das plântulas;

A aplicação preventiva de *T. asperellum* e *T. harzianum*, 48 h antes da inoculação de *P. palmivora* em mudas de pupunheira, reduziu a incidência e a severidade da PBE;

A aplicação preventiva de *T. asperellum* favoreceu o crescimento do diâmetro do colo, peso fresco da raiz e do peso seco da raiz de mudas de pupunheira;

A aplicação curativa de *T. asperellum* e *T. harzianum* favoreceu o crescimento em altura do caule e diâmetro do colo de mudas de pupunheira;

A aplicação de *T. harzianum* aumentou o peso fresco da parte aérea e o peso seco da parte aérea das mudas de pupunheira.

REFERÊNCIAS

BROTMAN, Y; LANDAU, U; CUADROS-INOSTROZA, Á; TAKAYUKI, T. Trichoderma-plant root colonization: escaping early plant defense responses and activation of the antioxidant machinery for saline stress tolerance. PLoS Pathog 9:e1003221, 2013.

CONTRERAS-CORNEJO, H. A; MACIAS-RODRÍGUEZ, L; CORTÉS-PENAGOS, C; LÓPEZ-BUCIO, J. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in Arabidopsis. Plant Physiol, v. 149, p.1579–1592, 2009.

DI MARCO, S.; OSTI, F.; CESARI, A. 2004. Experiments on the control of esca by *Trichoderma*. Phytopathologia Mediterranea 43, p.108–115.

FUZITANI, E.J. Integração de medidas de manejo da Podridão da base do estipe em mudas de pupunheiras. 2012. p.63. Produção Vegetal e Impacto Ambiental- Universidade Federal do Paraná, UFPR, 2012.

FUZITANI, E.J.; SANTOS, A.F.; MORAES, W.S.; DAMATTO JUNIOR, E.R.; NOMURA, E.S. Eficiência de fosfitos no controle da podridão da base do estipe em mudas de pupunheira. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 35, n. 4, p. 1000-1006, dez. 2013.

FOURIE, P.H., HALLEN, F; VYVER, J. van der; SCHREUDER, W. 2001. Effect of *Trichoderma* treatments on the occurrence of decline pathogens in the roots and rootstocks of nursery grapevines. *Phytopathologia Mediterranea* 40, p.473–478.

GULER, N.S; PEHLIVAN, N; KARAOGLU, S. A; GUZEL, S; BOZDEVECI, A. *Trichoderma atroviride* ID20G inoculation ameliorates drought stress-induced damages by improving antioxidant defence in maize seedlings. *Acta Physiol Plant*, v. 38, p.132, 2016.

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

HARMAN, G. E; HOWELL, C. R; VITERBO, A; CHET, I; LORITO, M. *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat Rev Microbiol*, v.2, p.43–56, 2004.

HWANG, J. e BENSON, D.M. (2002) – Biocontrol of *Rhizoctonia* stem and root rot of poinsettia with Burkholderia and binucleate *Rhizoctonia*. *Plant Disease*, 86: 47-53.

JANARTHANAM, L; Bioprotectant with multifunctional microorganisms: a new dimension in plant protection. *J Biopestic*, v 6, p.219–230, 2013.

MALMIERCA, M. G; McCORMICK, S. P; CARDOZA, R. E; ALEXANDER, N.J; MONTE, E; GUTIERREZ, S. Production of trichodiene by *Trichoderma harzianum* alters the perception of this biocontrol strain by plants and antagonized fungi. *Environ Microbiol*, v.17, p.2628–2646, 2015.

MASTOURI, F; BJORKMAN, T; HARMAN, G. E. Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. *Phytopathology*, v.100, p.1213–1221, 2010.

MELO, I.S. - *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. Revisão Anual de Patologia de Plantas, v.4, p.261–295, 1996.

PENTEADO JUNIOR, J.F.; SANTOS, A.F.; NEVES, E.J.M. Aspectos do agronegócio do palmito de pupunha no Brasil. Colombo: Embrapa Florestas, 2014. (Embrapa Florestas. Documentos, 275).

SAMOLSKI, I; RICON, A. M; PINZÓN, L. M; VITERBO, A; MONTE, E. The qid74 gene from *Trichoderma harzianum* has a role in root architecture and plant biofertilization. Microbiology, v.158, p.129–138, 2012.

SNEH, B. e ICHIELEVICH-AUSTER, M. (1998) - Induced resistance of cucumber seedlings caused by some non-pathogenic *Rhizoctonia* (np-R) isolates. Phytoparasitica, 26, 1: 27-38.

SANTOS, A.F. dos; LUZ, E.D.M.N.; FIANITO, P.D; TESSMANN, D.J.; VIDA, J.B. Primeiro relato da podridão da base do estipe da pupunheira causado por *Phytophthora palmivora*, no Estado do Paraná. Fitopatologia Brasileira, v.30, p.81-84, 2004.

SANTOS, T.R.; LUZ, E.D.M.N. Avaliação de métodos, concentrações de inoculo e idade das plântulas para a inoculação de *Phytophthora palmivora* em plântulas de mamoeiro. Tropical Plant Pathology, v.36, n.6, p.383-389, 2011.

SILVA, V.N. et al. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.46, n.12, p. 1609-1618, 2011.

SOUZA PEDRO, E. A.; HARAKAVA, R.; LUCON, C. M. M.; GUZZO, S. D. Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. Pesquisa

Agropecuária Brasileira. Brasília (DF), Ed. Embrapa, v.47, n.11, p.1589-1595, nov. 2012.

RESENDE, J. M.; FIORI, J. E.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; SILVA, E. M.; BOTREL, N. Processamento do Palmito de Pupunheira em Agroindústria Artesanal - uma atividade rentável e ecológica. Seropédica, Rio de Janeiro: Embrapa Agrobiologia, 2004.

ROMEIRO, R.S. (2007) - Controle biológico de doenças de plantas – procedimentos. Viçosa, Editora UFV, 172 p.

TONET R.M.; FERREIRA, L. G. S.; OTOBONI, J.L.M.A. Cultura da Pupunha. Campinas: CATI, 1999. 44p. (CATI, Boletim técnico, 237).

VITERBO, A; LANDAU, U.; KIM, S; CHERNIN, L.; CHET, I. (2010) Characterization of ACC deaminase from the biocontrol and plant growthpromoting agent *Trichoderma asperellum* T203. FEMS Microbiol Lett 305:42–48

CAP. 3. CONTROLE BIOLÓGICO DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE EM PLANTIO ADULTO DE PRIMEIRO CICLO DE PUPUNHEIRA COM *Trichoderma harzianum* E *T. asperellum*

RESUMO

A pupunheira tornou-se a principal palmeira produtora de palmito no Brasil, devido as características diferenciadas da planta, como precocidade, perfilhamento, e o não escurecimento do palmito após o corte. Com a expansão da área plantada surgiram enfermidades, como a podridão da base do estipe (PBE) causada pelo oomiceto *Phytophthora palmivora* que é a mais grave doença da pupunheira. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de *Trichoderma asperellum* e *T. harzianum* no controle da PBE em plantios estabelecidos em campos de produção. Os experimentos foram conduzidos nos municípios de Sete Barras e Pariquera-Açu, SP, em plantios adultos afetados pela PBE. Previamente à aplicação do antagonista procedeu-se nas touceiras sintomáticas, o corte da planta-mãe doente na base da touceira (rente ao solo) e retirada dos tecidos apodrecidos. Suspensões do isolado de *T. harzianum* (TH2) na concentração de 2×10^9 conídios/mL e dosagem de 12,5 mL/L e do isolado *T. asperellum* (TA1) na concentração de $1,0 \times 10^{10}$ UFC/g e dosagem de 2,5 g/L foram aplicadas na área exposta da base do estipe. Os tratamentos foram constituídos da aplicação de *T. harzianum* (TH1) e aplicação de *T. asperellum* (TA1) mais a testemunha (aplicação somente de água). Aos quatro, seis e oito meses após a aplicação dos tratamentos procedeu-se a avaliação da incidência da PBE, o crescimento em altura do estipe, diâmetro do perfilho principal, número de folhas do perfilho principal e o número de perfilhos da touceira. Procedeu-se a avaliação da incidência da PBE nos perfilhos e da severidade no perfilho principal. Realizou-se a coleta de solo para análise química e física e de folhas de plantas saudáveis e doentes para análise química. O isolamento de *P. palmivora* dos perfilhos foi realizado em meio ágar-água 2% contendo ampicilina (80 ppm), cloranfenicol (40 ppm) e PCNB (100 ppm). Um questionário contendo informações sobre o histórico de uso da área e do manejo dispensado aos plantios foi preenchido pelos produtores. A partir dos resultados obtidos foi possível constatar a eficiência da aplicação de *Trichoderma* na redução da incidência e severidade da PBE em touceiras com plantas doentes, aliando-se as práticas de remoção da planta-mãe doente e limpeza com retirada dos

tecidos doentes do estipe mostrou resultados promissores. Houve aumento significativo do crescimento em altura, diâmetro do colo e, número de folhas superior do perfilho principal em relação ao tratamento testemunha. A incidência da PBE e a mortalidade dos perfilhos foi menor nas touceiras que receberam a aplicação do *Trichoderma*, evidenciando o benefício deste agente de controle.

Termos para indexação: Pupunha, Controle Biológico, Palmito, Fitopatologia

CHAP. 3. BIOLOGICAL CONTROL OF STEM BASE ROT IN ADULT PEACH PALM FIRST CYCLE WITH *Trichoderma harzianum* AND *T. asperellum*

ABSTRACT

The peach palm tree became the main palm tree producing palm heart in Brazil due to the differentiated plants characteristics, such as precocity, tillering, and the non-darkening of the palm heart after the harvest. Diseases as stem base rot (SBR) caused by the oomycete *Phytophthora palmivora* appeared with the expansion of the peach palm cultivate area, which is the most severe disease on this crop. The aim of this study was to evaluate the efficiency of *Trichoderma asperellum* and *T. harzianum* in the control of SBR in plantations established in production fields. The experiments were carried out in the municipalities of Sete Barras and Pariquera-Açu, São Paulo State, Brazil, in adult plantations affected by SBR. Prior to the application of the antagonist, symptomatic clumps had the mother plant cut out at the base of the clump (close to the ground) and remove of the rotting tissues. *T. harzianum* (TH2) suspensions at the concentration of 2×10^9 conidia/mL with dosage of 12.5 mL/L and *T. asperellum* (TA1) at the concentration of 1.0×10^{10} CFU/g with dosage of 2.5 g/L were applied to the exposed area of the stem base. The treatments were composed by *T. harzianum* (TH1) and *T. asperellum* (TA1) application plus the control (application of water only). At four, six and eight months after treatments application it was evaluated the incidence of SBR, stem growth height, main till diameter, number of leaves of the main tiller and number of tillers in the clump. It was evaluated the incidence of SBR in tillers and disease severity in the main tiller. Soil was sampled for chemical and physical analysis and leaves of healthy and diseased plants were collected for chemical analysis. The isolation of *P. palmivora* from the tillers was performed in 2% agar-water medium with ampicillin (80 ppm), chloramphenicol (40

ppm) and PCNB (100 ppm). A questionnaire about the cultivated area use history was completed. Results demonstrate the positive effect of *Trichoderma* use on peach palm clump with SBR, combining the practices of removal of the diseased mother plant and cleaning with removal of diseased tissues from the stem showed promising results. It was observed significantly increase of height growth, lap diameter and superior leaves number in the main tiller compared to the control. The SBR incidence and tiller mortality was lower in the clumps that received the application of *Trichoderma*, evidencing the benefit of this control agent.

Index terms: Peach palm, Biological control, Heart of palm, Phytopathology.

3.1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a área plantada com pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth var. *gasipaes* Henderson) se expandiu nos últimos anos, devido às características diferenciadas da planta, como a precocidade, perfilhamento, ou seja, à capacidade de emitir novas plantas, além de não escurecer o palmito após o corte. Estas características são desejadas pelos produtores de palmito, pois, além de dispensar a realização de um novo plantio a cada ano, por um longo período de tempo, aumenta a produção de palmito, diminuindo, os custos de implantação da cultura e oferecendo a possibilidade de cortes mais frequentes. Estas vantagens proporcionam renda constante ao produtor e permite a comercialização do palmito *in natura* (PENTEADO JUNIOR et al., 2010).

De acordo com Penteado Junior et al. (2014), o cultivo da pupunheira no Brasil apresentava, em 2014, uma área plantada de 20.000 ha. Os estados de São Paulo e Bahia foram os maiores produtores, com mais de 5.000 ha cada. Estes plantios se localizam em polos específicos, na região Sul da Bahia e no Vale do Ribeira, em São Paulo. Com menores áreas plantadas, cultiva-se pupunheira na região litorânea dos estados de Santa Catarina, Paraná, Espírito Santo e Rio de Janeiro, e em sistemas de plantio irrigado nos Estados do Mato Grosso, Rondônia e Goiás.

A expansão das áreas plantadas em monocultura, favorece a incidência e a severidade das doenças, tanto em mudas nos viveiros quanto em plantas jovens de plantios adultos, potencializando os danos causados pelas doenças. Dentre as doenças, destaca-se a podridão da base do estipe (PBE) causada pelo oomiceto

Phytophthora palmivora (Butler) Butler (FUZITANI et al., 2013). Plantas jovens e adultas de pupunheira atacadas pela PBE exibem sintomas caracterizados pelo amarelecimento da primeira e segunda folha aberta e folha bandeira, seguido por morte da touceira. O corte transversal na base do estipe exhibe o escurecimento dos tecidos internos, com posterior podridão generalizada (SANTOS et al., 2004).

Apesar da importância da PBE nas regiões produtoras de palmito e de se tratar de um patógeno agressivo e amplamente distribuído no Brasil, existem poucos trabalhos científicos publicados sobre o patossistema pupunheira versus *Phytophthora palmivora* (FUZITANI et al., 2013). Assim, há necessidade do desenvolvimento de métodos alternativos de controle, preferencialmente de medidas ambientalmente sustentáveis.

Uma medida que pode melhorar a eficiência de controle da PBE é o controle biológico de *P. palmivora* pelo fungo *Trichoderma*. Fungos do gênero *Trichoderma* apresentam potencial para o controle de fitopatógenos e para a promoção do crescimento vegetal (MACHADO et al, 2011). Espécies de *Trichoderma* tem sido usado no controle de várias doenças e em vários patossistemas tem sido comprovada a eficiência desse agente biológico (LISBOA et al. 2007; MUTAWILA et al, 2011; NASWA et al, 2008; REGLINSKI et al, 2012). *Trichoderma asperellum*, *T. harzianum*, *T. stromaticum* e *T. viride* são as principais espécies de agente de biocontrole comercializadas (MORANDI et al, 2009).

Diante do exposto, o presente estudo teve por objetivo avaliar a eficiência da aplicação de suspensões *T. asperellum* e *T. harzianum* no reestabelecimento da sanidade e do crescimento de perfilhos em touceiras de pupunheira afetadas pela PBE em plantios adultos de primeiro ciclo.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Para atingir os objetivos propostos, dois experimentos foram conduzidos, separadamente, em dois plantios comerciais de pupunheira, localizados nos municípios de Sete Barras e Pariqueira Açu, SP.

O primeiro experimento foi conduzido no município de Sete Barras, SP, que apresenta as seguintes coordenadas geográficas: 24°22'34" S; 47°56'0" W e 25 m

a.n.m. O clima da região é classificado como tropical chuvoso, sem estação seca (Af), segundo a classificação de Köppen. Dados de uma série de 10 anos (2004-2014), registrados na APTA Regional Polo Vale do Ribeira, em Pariquera-Açu, SP, mostram que a média anual da temperatura máxima e mínima foi de 26,8 °C e 17,7 °C, respectivamente, e a pluviosidade média anual foi de 1.524,5 mm. Os solos das áreas experimentais foram classificados como Cambissolo distrófico (SAKAI e LEPSCH, 1984).

Foi realizada amostragem de solo na profundidade de 0 a 20 cm nos três blocos, cujas características químicas e físicas são apresentadas na Tabela 14 e 15 respectivamente.

TABELA 14. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DO SOLO NA ÁREA EXPERIMENTAL COM PUPUNHEIRA, NA PROFUNDIDADE DE 0-20 CM, NO MUNICÍPIO DE SETE BARRAS, SP/2017.

	pH	Ca	Mg	H+Al	CTC	P	K	MO	V
	CaCl ₂		mmol _c dm ⁻³			mg dm ⁻³	mmol _c dm ³	g dm ³	%
Bloco 1	5,0	34	14	30	80,5	20	2,5	31	63
Bloco 2	5,1	39	12	28	81,7	65	2,7	31	66
Bloco 3	4,9	24	10	33	68,9	20	1,9	22	52

	B	Cu	Fe	Mn	Zn
			mg dm ⁻³		
Bloco 1	0,4	0,7	180	4,6	3,9
Bloco 2	0,35	3,2	212	4,8	13,1
Bloco 3	0,32	2,8	201	2,0	1,8

TABELA 15. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DO SOLO NA ÁREA EXPERIMENTAL COM PUPUNHEIRA, NA PROFUNDIDADE DE 0-20 CM, NO MUNICÍPIO DE SETE BARRAS, SP/2017.

Identificação	Unidade	Argila < 0,002 mm	Silte 0,053-0,002 mm	Areia Total 2,00 - 0,053 mm	Classificação textural
Bloco 1	%	24,9	30,5	44,6	Franco
	g kg ⁻¹	249	305	446	
Bloco 2	%	28,2	29,1	42,7	Franco-argilosa
	g kg ⁻¹	282	291	427	
Bloco 3	%	26,5	36,1	37,4	Franco
	g kg ⁻¹	265	361	374	

No plantio, as adubações foram calculadas de acordo com o resultado da análise química do solo, para produtividade esperada de 1,3 a 1,8 t ha⁻¹/ano de palmito de primeira (tolete), seguindo as recomendações do Boletim Técnico 200 (MODOLO, 2014). Durante a condução do experimento, foram realizadas três adubações, sendo uma com sulfato de amônio e duas com formulado NPK (20-05-20), aplicando-se 100 g por touceira.

O plantio foi realizado em agosto de 2015, utilizando-se mudas devidamente aclimatada, com 3 a 4 pares de folhas e 30 cm de altura no espaçamento de 3,0 m x 1 m (3333 plantas por hectare). Os tratos culturais dispensados a cultura foram efetuados conforme as recomendações de cultivo, sem a realização de desbaste de perfilhos.

Para a análise foliar, amostras de folhas foram coletadas de plantas doentes com sintomas da PBE e de plantas sadias (sem ocorrência de sintomas), conforme segue: amostragem de 20 plantas com altura superior a 1,6 m (a partir do solo até a inserção da folha não aberta), durante a fase de maior desenvolvimento vegetativo (novembro a março). Foliolos da parte mediana da folha 2 (segunda folha mais nova com limbo totalmente expandido) foram retirados conforme as indicações do Boletim Técnico 100 (IAC, 1996).

O estado nutricional da pupunheira foi analisado conforme RAIJ e CANTARELLA (1997), sendo as amostras da folha-diagnóstica realizadas conforme sugerido por Rozane e Natale (2017) que consideram uma aproximação das faixas de interpretação de nutrientes considerados adequados para o cultivo de pupunheira, visando a produção de palmito, nas condições específicas do Vale do Ribeira (Tabela 16).

TABELA 16. TEORES ADEQUADOS DE NUTRIENTES PARA PUPUNHEIRA, VISANDO A PRODUÇÃO DE PALMITO, NAS CONDIÇÕES ESPECÍFICAS DO VALE DO RIBEIRA, SP.

N	P	K	Ca	Mg	S
-----g Kg ⁻¹ -----					
25 - 32	1,7 - 2,0	11 - 15	2 - 4	1,9 - 2,9	2,0 - 2,9
B	Cu	Fe	Mn	Zn	
-----mg Kg ⁻¹ -----					
11 - 18	5 - 8	70 - 110	20 - 30	22 - 33	

Fonte: Rozane e Natale (2017)

Controle da PBE

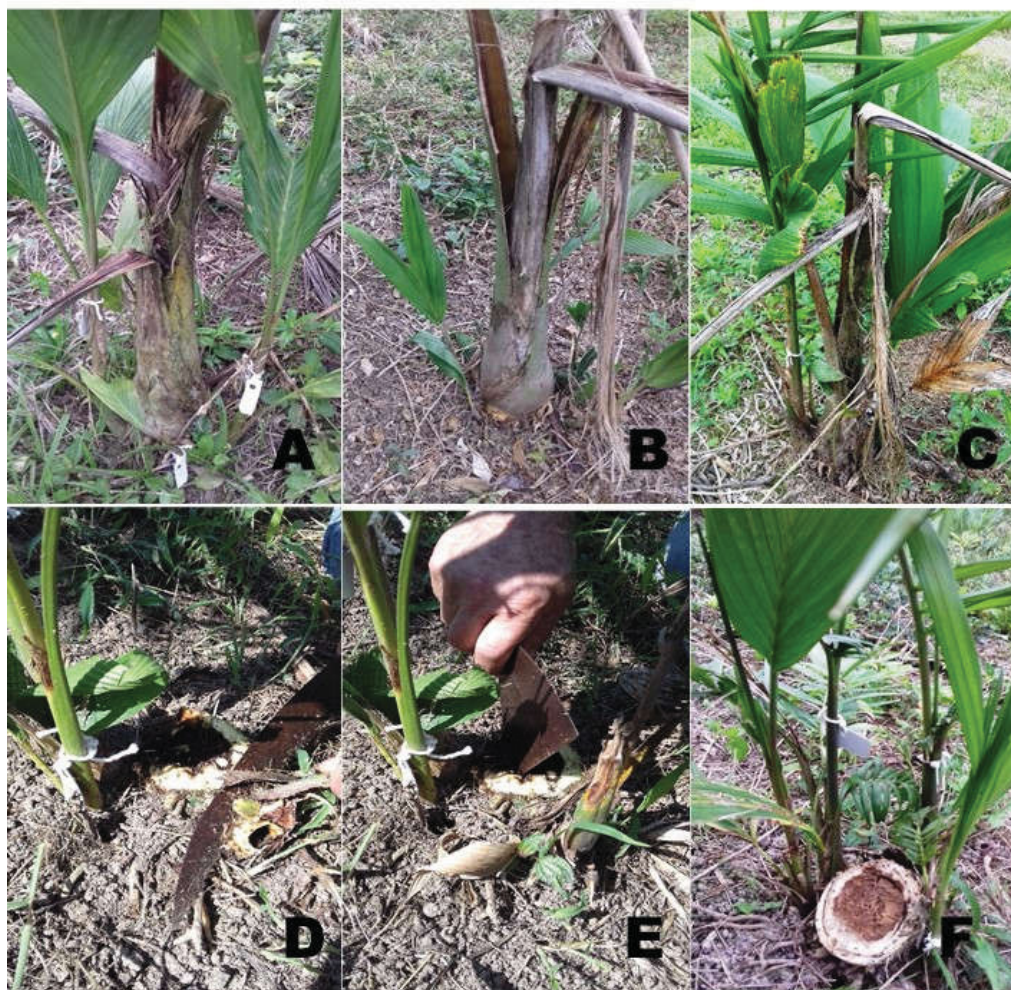
Para a implantação dos experimentos, as touceiras com planta-mãe doente foram selecionadas de acordo com os sintomas típicos da PBE, os quais foram caracterizavam-se pelo amarelecimento ou morte da planta-mãe (Figura 13ABC). Posteriormente, as touceiras foram identificadas e marcadas com estacas de madeira, fitas e etiquetas plásticas.

Nas touceiras sintomáticas foi realizado a decepa da planta-mãe doente, exatamente na base da touceira, rente ao solo, utilizando um serrote (Figura 13D) e, em seguida, retirou-se os tecidos apodrecidos com auxílio de uma espátula (Figura 13E). Os perfilhos, aparentemente sadios, foram mantidos na touceira para avaliação das variáveis relacionadas ao crescimento, como altura, emissão foliar e o diâmetro do estipe do perfilho principal, além do número de perfilhos da touceira. A altura do estipe foi medida com auxílio de uma régua desde a base do perfilho até a inserção da primeira folha aberta e o diâmetro do estipe medido com auxílio de paquímetro digital. Um tratamento testemunha adicional foi utilizado no presente experimento, sem a realização do corte da planta-mãe, conforme tem sido realizado na prática pelos produtores, sendo aplicado apenas água sobre a planta-mãe doente.

A aplicação da calda ou suspensão de conídios de *T. asperellum* (Qualit®) e *T. harzianum* (Trichodermil®), foi realizada após o corte e a limpeza da região da base do estipe até o ponto de escorrimento, no intervalo de sete dias, por duas vezes, com auxílio de pulverizador manual de 500 mL, utilizando a dosagem e concentração recomendada pelo fabricante do isolado de *T. harzianum* (TH2) na concentração de 2×10^9 conídios/mL (dosagem de 12,5 mL/L), e do isolado de *T. asperellum* (TA1) na concentração de $1,0 \times 10^{10}$ UFC/g, (dosagem de 2,5 g/L).

Uma amostra de parte das plantas sintomáticas foi coletada e encaminhada ao Laboratório de Patologia Florestal da Embrapa Florestas, Colombo-PR para o isolamento e confirmação do agente causal da podridão da base do estipe. As análises laboratoriais confirmaram a presença de *P. palmivora* em 100% das amostras.

FIGURA 13. PLANTAS COM SINTOMAS DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE EM PLANTIOS ADULTOS (A,B E C); CORTE DO ESTIPE DA PLANTA MÃE DOENTE COM AUXÍLIO DE SERROTE (D); LIMPEZA DA BASE DO ESTIPE COM A RETIRADA DOS TECIDOS APODRECIDOS DA BASE DO ESTIPE (E); PLANTA-MÃE COM LESÃO EXPOSTA DA BASE DO ESTIPE E APTA PARA RECEBER A APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS COM *Trichoderma asperellum* E *Trichoderma harzianum* (F).



Fonte: Eduardo Jun Fuzitani

Os tratamentos foram constituídos de: T1 = aplicação do isolado de *T. harzianum* (TH1); T2 = aplicação do isolado de *T. asperellum* (TA1); e T3 = testemunha (aplicação apenas de água). Os tratamentos foram dispostos no delineamento experimental em blocos ao acaso com cinco repetições, sendo a parcela experimental foi constituída por 15 plantas. Os tratos culturais foram constituídos de

roçada e capina manual ao redor da touceira e adubações de acordo com a análise de solo a cada 60 dias.

Antes e após 180 dias da aplicação dos tratamentos, para o primeiro experimento e 120 dias, para o segundo experimento foi avaliada a incidência e a severidade da PBE no perfilho principal e apenas a incidência nos demais perfilhos, sendo a severidade determinada com base na escala de notas desenvolvida por Fuzitani, et al. (2013): 0 - planta sem sintomas; 1 - planta com folha bandeira e/ou primeira folha aberta com murcha e/ou amarelecimento; 2 - planta com folha bandeira, primeira e segunda folhas com murcha e/ou amarelecimento; 3 - planta com todas as folhas com murcha ou amarelecimento; e 4 - planta morta.

Após 240 dias foram avaliadas as variáveis relacionadas ao crescimento do perfilho principal como a altura e o diâmetro do estipe (cm) e número de folhas e de perfilhos da touceira.

O segundo experimento foi realizado, no município de Pariquera-Açu, SP, que apresenta as seguintes coordenadas geográficas: 24°36'31" S; 47°53'48" W e 25 m a.n.m. O clima da região é classificado como tropical chuvoso, sem estação seca (Af), segundo a classificação de Köppen. Dados de uma série de 10 anos (2004-2014), registrados na APTA Regional Polo Vale do Ribeira, mostram que a média anual da temperatura máxima e mínima foi de 26,8 °C e 17,7 °C, respectivamente, e a pluviosidade média anual foi de 1.524,5 mm. O solo da área experimental foi classificado como Cambissolo distrófico (SAKAI e LEPSCH, 1984). O plantio foi estabelecido em setembro de 2014, no espaçamento 2 m x 1m com 5000 plantas por ha. O cultivo anterior na área era de chá preto por mais de 20 anos. As mesmas metodologias e avaliação discutidas no primeiro experimento foram utilizadas.

Análise dos dados

Os dados relativos ao número de folhas e número de perfilho, foram analisados por modelos lineares generalizados com distribuição de probabilidade de Poisson. Variáveis como a altura, o diâmetro do estipe foi analisado com distribuição de probabilidade normal e a normalidade efetuadas pelo teste de Shapiro Wilk e a comparação entre médias pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

3.3 RESULTADOS

No primeiro experimento, com *T. asperellum* e *T. harzianum* aumentaram a sobrevivência dos perfilhos na touceira (Tabela 17). No tratamento testemunha ocorreu a morte de 46,6% dos perfilhos.

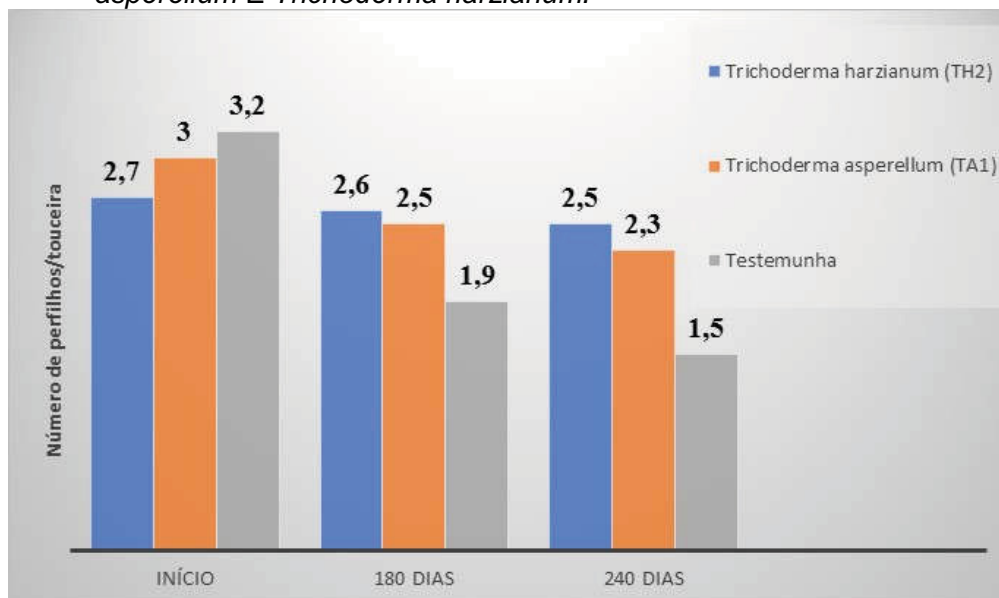
TABELA 17. INCIDÊNCIA DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE (PBE), SOBREVIVÊNCIA DOS PERFILHOS DE TOUCEIRA EM PUPUNHEIRA TRATADA COM *Trichoderma harzianum* E *Trichoderma asperellum*.

Tratamento	Incidência da PBE nos perfilhos (%)	Sobrevivência dos perfilhos na touceira (%)	Nível de controle (%)
<i>T. harzianum</i> (TH2)	13,3	86,7	71,4
<i>T. asperellum</i> (TA1)	13,3	86,7	71,4
Testemunha *	46,6	53,4	

*Testemunha com aplicação somente de água; ** Severidade: nota 0 - planta sem sintomas; 1 - planta com folha bandeira e/ou primeira folha aberta com murcha e/ou amarelecimento; 2 - planta com folha bandeira, primeira e segunda folhas com murcha e/ou amarelecimento; 3 - planta com todas as folhas com murchas ou amarelecimento; e 4 - planta morta.

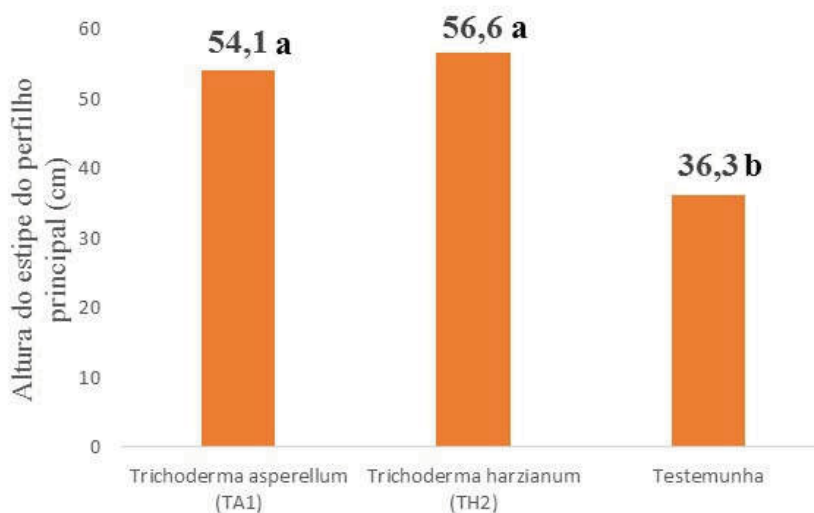
A morte de perfilhos foi menor nos tratamentos com *T. asperellum* após 180 e 240 dias da aplicação de espécies de *Trichoderma*, com 0,5 e 0,7 perfilhos, e *T. harzianum*, com 0,1 e 0,2 perfilhos mortos (Figura 14).

FIGURA 14. SOBREVIVÊNCIA DE PERFILHOS EM TOUCEIRAS COM PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE SUBMETIDAS À APLICAÇÃO DE *Trichoderma asperellum* E *Trichoderma harzianum*.



Após 240 dias da aplicação de *T. asperellum* e *T. harzianum* verificou-se incrementos significativos na altura do caule do perfilho principal em relação à testemunha (Figura 15).

FIGURA 15. ALTURA DO ESTIPE DO PERFILHO PRINCIPAL EM TOUCEIRA DE PUPUNHEIRA COM PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE E SUBMETIDA À APLICAÇÃO DE UMA SUSPENSÃO DE CONÍDIOS DE *Trichoderma asperellum* E *T. harzianum*, APÓS 240 DIAS DA APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA MINÚSCULA, NA COLUNA, NÃO DIFEREM ENTRE SI, PELO TESTE DE DUNCAN (5%).



Houve crescimento significativo no diâmetro do perfilho principal aos 240 dias após a aplicação de *T. asperellum* e *T. harzianum* em relação ao tratamento testemunha (Figura 16). Quanto ao número de folhas do perfilho principal houve efeito significativo da aplicação do *T. asperellum* e *T. harzianum* com 2 e 1,9 folhas (Figura 16).

FIGURA 16. DIÂMETRO DO COLO DO PERFILHO PRINCIPAL EM TOUCEIRA DE PUPUNHEIRA AFETADAS PELA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE E SUBMETIDA A APLICAÇÃO DE UMA SUSPENSÃO DE CONÍDIOS DE *Trichoderma asperellum* E *T. harzianum*, APÓS 240 DIAS DA APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA MINÚSCULA, NA COLUNA, NÃO DIFEREM ENTRE SI, PELO TESTE DE DUNCAN (5%).

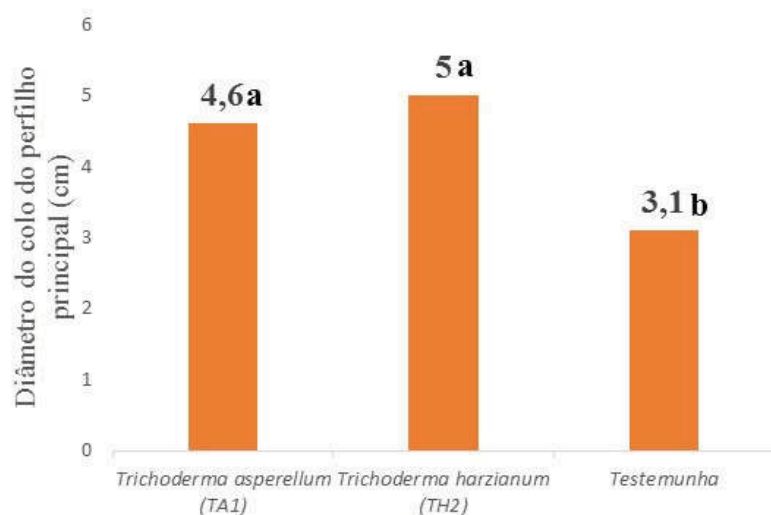
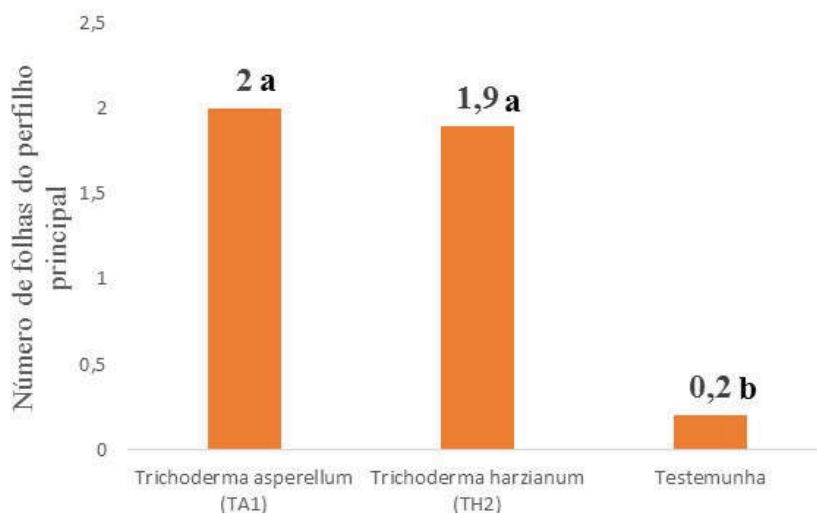
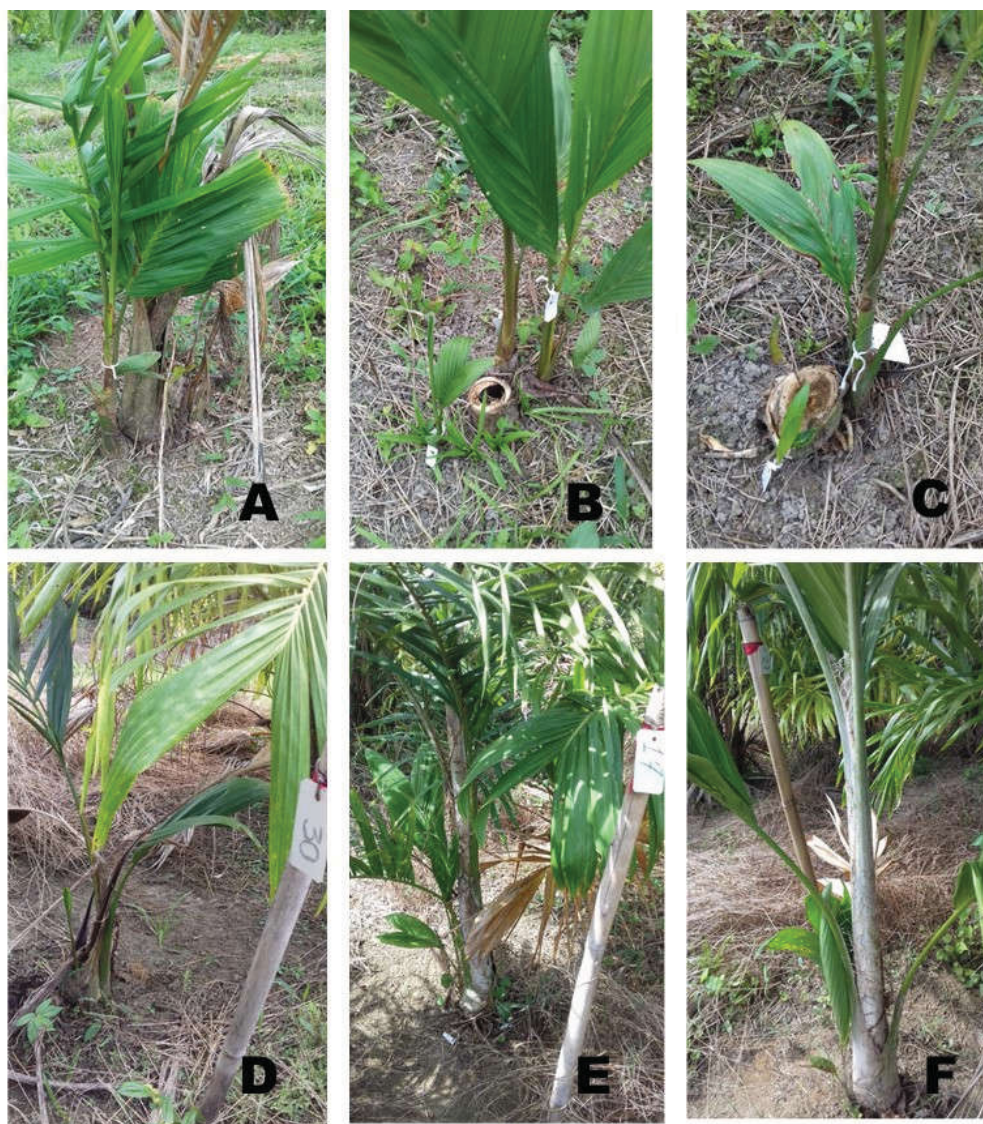


FIGURA 17. NÚMERO DE FOLHAS DO PERFILHO PRINCIPAL EM TOUCEIRAS DE PUPUNHEIRA AFETADAS PELA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE SUBMETIDAS À APLICAÇÃO DE UMA SUSPENSÃO DE CONÍDIOS DE *Trichoderma asperellum* E *T. harzianum* APÓS 240 DIAS DA APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA MINÚSCULA, NA COLUNA, NÃO DIFEREM ENTRE SI, PELO TESTE DE DUNCAN (5%).



Na Figura 18A pode-se observar uma touceira do tratamento testemunha no início e aos 240 dias a mesma touceira na Figura 20D, apresentando sintomas típicos da PBE, com pouco ou nenhum crescimento neste período. Nas Figuras 18B e 18C verifica-se as touceiras antes do tratamento com *T. asperellum* e *T. harzianum* e nas Figuras 18E e 18F verifica-se o efeito positivo de *T. asperellum* e *T. harzianum* no crescimento dos perfilhos e no aspecto geral da touceira. Estas imagens mostram o efeito benéfico destes agentes de biocontrole no incremento em altura e diâmetro do estipe e no aumento do número de folhas no perfilho principal.

FIGURA 18. TOUCEIRA DE PUPUNHEIRA DO TRATAMENTO TESTEMUNHA (SEM APLICAÇÃO DE *TRICHODERMA* E SEM A REMOÇÃO DA PLANTA-MÃE) (A); TOUCEIRA COM A REMOÇÃO DA PLANTA-MÃE, ANTES DA APLICAÇÃO DE *Trichoderma asperellum* (B); TOUCEIRA COM A REMOÇÃO DA PLANTA-MÃE, ANTES DA APLICAÇÃO DE *T. harzianum* (C); TOUCEIRA DO TRATAMENTO TESTEMUNHA, APÓS 240 DIAS (D); TOUCEIRA TRATADA COM *T. asperellum*, APÓS 240 DIAS DA APLICAÇÃO (E); TOUCEIRA TRATADA COM *T. HARZIANUM*, APÓS 240 DIAS DA APLICAÇÃO (F).



Fonte: Eduardo Jun Fuzitani

As folhas com PBE tiveram valores inferiores aos da touceira sadia. Para os teores de P não houve diferença entre a touceira sadia, doentes e os teores

considerado ideal para a cultura. O teor de K foi mais baixo na touceira com PBE do que a touceira sadia (Tabela 18).

Os teores de Ca e de Mg mostraram que na touceira sadia a variação entre os blocos avaliados estava nas condições consideradas adequadas, diferentemente do que foi observado nas amostras das folhas com sintomas da PBE (Tabela 18). O teor de Ca foi cerca de três vezes maior nas amostras das folhas sintomáticas e o Mg quase duas vezes superiores ao considerado adequado. O teor do S tanto nas amostras das folhas sadias quanto nas amostras com sintomas encontrava-se na faixa considerada ideal.

Os teores de boro, nas amostras estavam na faixa considerada adequada. Os teores de Fe e Mn nas amostras das folhas de touceiras sadias estavam na faixa adequada, enquanto que, nas amostras das folhas com sintomas de PBE, o Fe e Mn estavam adequados (Tabela 18). Os níveis de Cu e Zn nas folhas sadias estavam em teores menores do que o indicado como adequado para a cultura.

TABELA 18. TEORES ADEQUADOS DE N, P, K, CA, MG, S, B, FE, CU, MN E ZN EM FOLHAS DE PUPUNHEIRA PARA PRODUÇÃO DE PALMITO, EM RELAÇÃO ÀS FOLHAS DE PLANTAS SADIAS E DOENTES COM SINTOMAS DA PODRIDÃO DA BASE DO ESTIPE (SETE BARRAS, SP/2017).

	N	P	K
	-----g Kg ⁻¹ -----		
Touceira Sadia	18,1 - 18,7	1,7 - 1,9	11,1 - 12,9
Touceira Doente	16,6 - 18,0	1,6 - 2,0	7,0 - 8,8

	Ca	Mg	S
	-----g Kg ⁻¹ -----		
Touceira Sadia	1,5 - 2,0	1,9 - 2,1	2,5 - 2,7
Touceira Doente	9,1 - 12,7	3,7 - 4,5	2,6 - 3,4

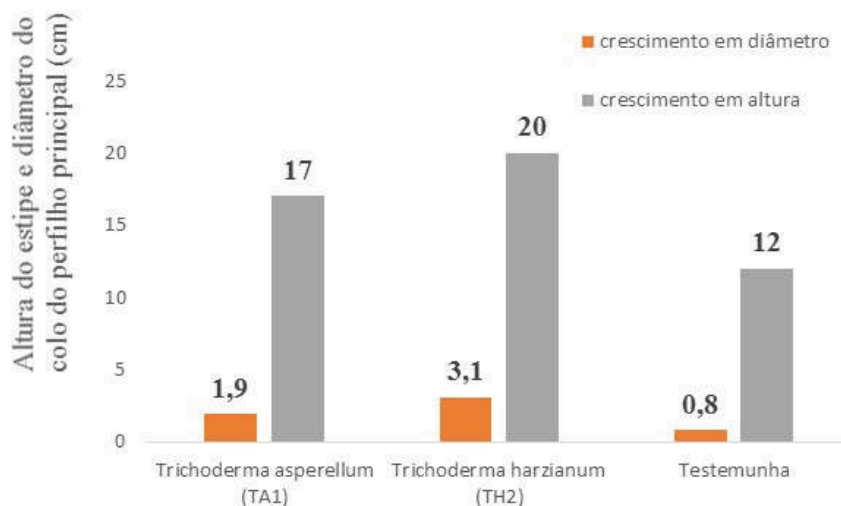
	B	Fe	Cu	Mn	Zn
	-----mg Kg ⁻¹ -----				
Touceira Sadia	14- 16	80 - 90	4 - 5	26 - 42	17 - 20
Touceira Doente	16 - 18	144 - 183	3 - 4	72 - 106	24,1 - 37

Nenhuma diferença significativa entre os tratamentos foi observada no segundo experimento, provavelmente devido ao menor período de avaliação, apenas 120 dias (Figura 19). No entanto, a partir das avaliações preliminares, observou-se tendência de comportamento similar ao experimento anterior. O diâmetro do colo do perfilho

principal e a altura do estipe principal nas touceiras que receberam *T. asperellum* e *T. harzianum* foram superiores aos do tratamento testemunha (Figura 19). O diâmetro médio do colo do perfilho principal foi 3,1 e 1,9 cm nas touceiras que receberam a aplicação de *T. harzianum* e *T. asperellum* respectivamente, enquanto que no tratamento testemunha foi apenas de 0,8 cm.

Em relação ao crescimento em altura do estipe do perfilho principal, observou-se diferenças entre os tratamentos, com *T. asperellum* e *T. harzianum* apresentando crescimento de 17 e 20 cm, respectivamente, enquanto que a testemunha atingiu apenas 12 cm. O número de folhas e o número de perfilhos não apresentaram diferenças em relação a testemunha, assim como na sobrevivência dos perfilhos.

FIGURA 19. DIÂMETRO DO COLO E ALTURA DO ESTIPE DO PERFILHO PRINCIPAL EM TOUCEIRA DE PUPUNHEIRA AFETADA PELA PODRIDÃO DA-BASE DO ESTIPE E SUBMETIDA À APLICAÇÃO DE UMA SUSPENSÃO DE CONÍDIOS DE *Trichoderma asperellum* E *Trichoderma harzianum*, APÓS 120 DIAS DA APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS.



3.4 DISCUSSÃO

O estudo demonstrou a eficiência de *Trichoderma* no tratamento de touceira de pupunheira afetada pela PBE, após a remoção da planta-mãe doente e a retirada dos tecidos apodrecidos. A capacidade de colonização endofítica de *Trichoderma* dos

tecidos do estipe de pupunheira e a sua eficiência no controle *in vivo* de *P. palmivora* foram demonstradas no Capítulo I, quando, *Trichoderma* colonizou os tecidos do estipe destacado numa velocidade de 1,4 cm por dia de crescimento.

Trichoderma asperellum e *T. harzianum*, aplicados após a decepa e a cirurgia demonstraram sua eficiência no controle da PBE. Resultados obtidos por Di Marco et al. (2004) durante tratamento pós-enxertia de videira com *T. harzianum* também reduziu significativamente o tamanho da lesão causada por *Phytophthora chlamydospora* inoculado no porta-enxerto após o biocontrole. Hunt et al. (2001) afirmaram que *Trichoderma* foi eficiente no controle, em troncos de videira, ao proteger os tecidos expostos pela poda e feridas contra infecções pelos fungos envolvidos na doença. Em hospedeiro lenhoso, como a videira, Harvey e Hunt (2006) também demonstraram a colonização endofítica por *Trichoderma* em plantas podadas.

As variáveis relacionadas ao crescimento, como altura do caule, diâmetro do colo e número de folhas do perfilho principal foram avaliadas pois a pupunheira é uma planta perene que apresenta estipes (perfilhos) múltiplos, gerados a partir de gemas axilares basais (MORA URPI et al., 1997). Assim, o perfilhamento é a principal característica que interessa para a produção de palmito, uma vez que a colheita contínua do palmito se baseia na constante renovação da touceira (BOVI, 1988). A pupunheira é uma planta perene, que permite cortes anuais de seus perfilhos, dos quais é obtido palmito. Portanto a planta tem ciclo anual em touceira perene. A PBE é uma doença monocíclica, que ataca os perfilhos provocando morte gradativa de todos os perfilhos da touceira. Assim, a doença provoca grande impacto sobre a longevidade dos plantios e sobre os rendimentos econômicos.

A redução do número de perfilhos por touceira por área, provocada pela PBE, revertida com a aplicação de *Trichoderma*, garantindo a menor incidência da doença, maior sobrevivência e o desenvolvimento dos perfilhos em touceiras tratadas. A mortalidade de perfilhos compromete a produção, visto que as produções futuras dependem da sobrevivência, vigor e crescimento desses perfilhos. Consequentemente, quanto maior a percentagem de perfilhos vivos na touceira, maior a longevidade da touceira e do plantio.

Benitez et al. (2014) relataram o efeito benéfico da aplicação de *Trichoderma* sobre a produtividade das culturas no campo com aumentos de até 30% após a adição

de *T. hamatum* ou *T. koningii*. Chacon et al. (2007) verificaram que *T. harzianum* foi capaz de promover o crescimento de plantas de tomate colonizando raízes, aumentando a área foliar e o número de raízes secundárias, bem como alterando a arquitetura do sistema radicular. Molla et al. (2012) avaliaram a capacidade de *Trichoderma* spp. ao melhorar crescimento de plantas de tomate, quando aplicado juntamente com fertilizantes.

Além de reduzir a incidência da PBE e aumentar a sobrevivência dos perfilhos em touceiras afetadas pela doença, a aplicação de *Trichoderma* apresentou efeitos benéficos adicionais sobre o crescimento dos perfilhos. Esses efeitos podem ser devido à estreita relação do *Trichoderma* com as plantas, pois ao colonizar as raízes provocam mudanças no metabolismo da planta e alterando o conteúdo de hormônios, açúcares solúveis, compostos fenólicos e amino ácidos, taxa fotossintética, transpiração e o teor de água (YEDIDIA et al., 2003; BROTMAN et al., 2012).

As touceiras tratadas com *T. asperellum* e *T. harzianum* apresentaram aumento do crescimento em altura do estipe, diâmetro da base do estipe e número de folhas do perfilho principal, além de aumentar a sobrevivência dos demais perfilhos da touceira. Outros estudos revelaram esses efeitos benéficos do *Trichoderma* sobre o crescimento das plantas e reforça a resistência das plantas aos estresses abióticos. Vários relatos indicam que *Trichoderma* promovem respostas de crescimento em rabanete, pepino, pimenta, crisântemo, alface e tomate (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2016; ZEILINGER et al. 2016; BROTMAN et al., 2013; DONOSO et al. 2008; BAE et al., 2009). Em plantas, o *Trichoderma* desencadeia sistemicamente a resistência e aumenta o crescimento e o desenvolvimento das raízes, produtividade, resistência a estresses abióticos e captação e uso adequado de nutrientes (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2016; STUDHOLME et al., 2013).

A capacidade de espécies de *Trichoderma* em produzir antibióticos e enzimas pode induzir a resistência sistêmica em plantas, aliado ao alto metabolismo e a forte capacidade de competição, tornando este fungo uma alternativa de controle biológico da PBE em pupunheira. A resposta da planta ao *Trichoderma*, varia geralmente com cultivo, genótipo vegetal, método de aplicação (isto é, semente, raiz e solo), do inóculo e condições do solo e do meio ambiente (LÓPEZ-BUCIO et al., 2015).

Nas folhas das touceiras sadias e com PBE apresentaram níveis inferiores ao da faixa considerada adequada para plantas para produção de palmito. A diagnose foliar é importante ferramenta para determinar o nível crítico de cada nutriente na

planta, definindo a concentração no tecido vegetal, acima do qual nenhum aumento significativo na produção é esperado (ROZANE e NATALE, 2017). No presente estudo, ficou evidente que as plantas doentes apresentaram menores teores de macronutrientes N, P e K, em ordem decrescente; a pupunheira para produção de palmito é exigente em N, K e P (NEVES et al., 2008). Os resultados obtidos com a análise foliar em plantas sadias e doentes forneceram importantes informações sobre o que pode afetar a produtividade da pupunheira.

3.5 CONCLUSÕES

O tratamento com *T. asperellum* e *T. harzianum* possibilitou o controle da PBE, reduzindo a incidência da doença em 13,3%;

O aumento na sobrevivência das touceiras tratadas com *T. asperellum* e *T. harzianum* foi evidenciado com 86,7% de perfilhos vivos aos 240 dias da aplicação;

Touceira com a PBE tratada com *T. asperellum* e *T. harzianum* apresenta um maior crescimento em altura do estipe, diâmetro do colo e número de folhas do perfilho principal;

Trichoderma asperellum e *T. harzianum* reduziram a mortalidade de perfilhos nas touceiras de pupunheira.

REFERÊNCIAS

BAE, H; SICHER, R. C; KIM, M.S; KIM, S. H. The beneficial endophyte *Trichoderma hamatum* isolate DIS 219b promotes growth and delays the onset of the drought response in *Theobroma cacao*. J Exp Bot, v. 60, p.3279–3295, 2009.

BENITEZ, T; RINCON, A.M; LIMON, M.C; CODON, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma strains*. Int Microbiol v.7.p.249–260, 2009.

BOVI, M. L. A. Palmito Pupunha: Informações Básicas para Cultivo. Boletim Técnico 173,

Campinas, Instituto Agronômico, 50p. 1998.

BROTMAN, Y; LANDAU, U; PNINIC, S; LISEC, J; BALAZADEH, S. The LysM receptor-like kinase LysMRLK1 is required to activate defense and abiotic-stress responses induced by overexpression of fungal chitinases in *Arabidopsis* plants. *Mol Plant*, v.5, p.1113–1124, 2012.

BROTMAN, Y; LANDAU, U; CUADROS-INOSTROZA, Á; TAKAYUKI, T. *Trichoderma*-plant root colonization: escaping early plant defense responses and activation of the antioxidant machinery for saline stress tolerance. *PLoS Pathog* 9:e1003221, 2013.

CHACON, M. R; RODRIGUEZ-GALAN, O; BERITEZ, T; SOUSA, S; REY, M; LLOBELL, A; DELGADO-JARANA, J. Microscopic and transcriptome analyses of early colonization of tomato roots by *Trichoderma harzianum*. *Int Microbiol*, v.10, p.19–27, 2007.

CONTRERAS-CORNEJO, H. A; MACIAS-RODRÍGUEZ, L; DEL-VAL, E; LARSEN, J. Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. *FEMS Microbiol Ecol* 92:fiw036, 2016.

DI MARCO, S., OSTI, F., CESARI, A. Experiments on the control of esca by *Trichoderma*. *Phytopathologia. Mediterranea*. 43, p.108–115, 2004.

DONOSO, E.P.; BUSTAMANTE, R.O.; CARÚ, M.; NIEMEYER, H.M. Water deficit as a driver of the mutualistic relationship between the fungus *Trichoderma harzianum* and two wheat genotypes. *Appl Environ Microbiol* 74:1412–1417, 2008.

FUZITANI, E.J.; SANTOS, A.F.; MORAES, W.S.; DAMATTO JUNIOR, E.R.; NOMURA, E.S. Eficiência de fosfitos no controle da podridão da base do estipe em mudas de pupunheira. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 35, n. 4, p. 1000-1006, dez. 2013.

HARVEY, I.C. & HUNT, J.S. Penetration of *Trichoderma harzianum* into grapevine wood from treated pruning wounds. New Zealand Plant Protection 59: 343-347, 2006.

HUNT, J.S., GALE, D.S.J.; HARVEY, I.C. Evaluation of *Trichoderma* as bio-control for protection against wood-invading fungi implicated in grapevine trunk diseases. Phytopathologia Mediterranea 40, p.485–486, 2001.

LISBOA, B.B.; BOCHESSE, C.C.; VARGAS, L.K.; SILVEIRA, J.R.P.; RADIN, B.; de OLIVEIRA, A.M.R. Eficiência de *Trichoderma harzianum* e *Gliocladium viride* na redução da incidência de *Botrytis cinerea* em tomateiro cultivado sob ambiente protegido. Revista Ciência Rural, v.37, n.5, p.1255-1260, 2007.

MACHADO, R.G. Promoção de crescimento em gramíneas forrageiras por rizóbios isolados de *Lotus corniculatus*. 2011. 58p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

MAFACIOLI, R.; SANTOS, A.F.; TESSMANN, D.J.; VIDA, J.B. Etiologia e Manejo das doenças da Pupunheira no Brasil. Pesquisa Florestal Brasileira, n.58, p. 61-68, jun. 2009.

MODOLO, V. A. Palmito pupunha. Instrução agrícolas para as principais culturas econômicas. Boletim, IAC, 200, 2014.

MOLLA, A. H; HAQUE, M. M; HAQUE, M. A, ILIAS, G. N. M; *Trichoderma* enriched biofertilizer enhances production and nutritional quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and minimizes NPK fertilizer use. Agric Res 1(3), p. 265–272, 2012.

MORANDI, M.A.B. e BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: Bettiol, W; Morandi, M.A.B. (Ed.). Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, p.07-14, 2009.

MORA-URPÍ, J.; WEBER, J. C.; CLEMENT, C. R. Peach palm. *Bactris gasipaes* Kunth. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Rome: Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, 1997. v.20, 83p.

NASHWA, M. A.; SALLAM; K. A. M.; ABO-ELYOUSR; HASSAN, M.A.E. Evaluation of *Trichoderma* species as biocontrol agents for damping- off and wilt diseases of *Phaseolus vulgaris* L. and efficacy of suggested formula. Egyptian Journal Phytopathology, Assiut, v. 36, n.1/2, p. 81-93, 2008.

PENTEADO JUNIOR, J. F.; SANTOS, A. F., NEVES E. J. M. Rentabilidade econômica do cultivo da pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth), destinada à produção de palmito no Litoral de Santa Catarina. Colombo: Embrapa Florestas, 2010. (Embrapa Florestas. Documentos, 195).

PENTEADO JUNIOR, J.F.; SANTOS, A.F.; NEVES, E.J.M. Aspectos do agronegócio do palmito de pupunha no Brasil. Colombo: Embrapa Florestas, 2014. (Embrapa Florestas. Documentos, 275).

KASHVAP, P.; KUMAR, S; SRIVASTAVA, A. K. Nanodiagnostics for plant pathogens. *Environ Chem Lett*, v. 15, p.7–13, 2017.

LÓPEZ-BUCIO, J; PELAGIO-FLORES, R; HERRERA-ESTRELLA, A. *Trichoderma* as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. *Sci Hortic*, v.196, p.109–123, 2015.

MORANDI, M.A.B. e BETTIOL, W. (2009) – Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: Bettiol, W; Morandi, M.A.B. (Ed.). *Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas*. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, p.07-14.

MUTAWILA, P.H.F.; FOURIE, P.H.; HALLEN, F.; Mostert, L. Grapevine cultivar variation to pruning wound protection by *Trichoderma* species against trunk pathogens. *Phytopathology Mediterranean Journal* v. 50, Supl., p. 264-276, 2011.

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H. Outras culturas industriais. In: RAIJ, V. van; CANTARELLA, H; QUAGGIO, J. A; FURLANI, A. M. C. (Eds.). *Recomendação de adubações e calagem para o estado de São Paulo* 2ed. Campinas: Instituto Agrônômico & Fundação IAC, 1997. p. 233-236.

REGLINSKI, T.; RODENBURG, N.; TAYLOR, J.T.; NORTHCOTT, G.L.; CHEE, A.A.; SPIERS, T.M.; HILL, R.A. *Trichoderma atroviride* promotes growth and enhance systemic resistance to *Diplodia pínica* in radiata pine (*Pinus radiata*) seedlings. *Forest Pathology*, v.42, p. 75-78, 2012.

ROZANE, D.E; NATALE, W. Calagem, adubação e nutrição da pupunheira. Palmito pupunha do plantio a colheita. Registro: UNESP/Câmpus Experimental de Registro, 2017. p. 51-62.

SAKAI, E.; LEPSCH, I.F. Levantamento pedológico detalhado da Estação Experimental de Pariquera-Açu. Campinas: Instituto Agronômico, 1984. 56p. (Boletim Técnico).

SANTOS, A.F. dos; LUZ, E.D.M.N.; FIANTO, P.D; TESSMANN, D.J.; VIDA, J.B. Primeiro relato da podridão da base do estipe da pupunheira causado por *Phytophthora palmivora*, no Estado do Paraná. Fitopatologia Brasileira, v.30, p.81-84, 2004.

STUDHOLME, D. J; HARRIS, B; COCQ, K.L; WINSBURY, R. Investigating the beneficial traits of *Trichoderma hamatum* GD12 for sustainable agriculture-insights from genomics. Front Plant Sci 4:258, 2013.

YEDIDIA, I; SHORESH, M; KEREM, Z; BENHAMOU, N; KAPULNIK, Y; CHET, I. Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. lachrymans in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and accumulation of phytoalexins. Appl Environ Microbiol, v. 69, p.7343–7353, 2003.

ZEILINGER, S. GRUBER, S; BANSALB, R; MUKHERJEE, P. K. Secondary metabolism in *Trichoderma*-Chemistry meets genomics. Fungal Biol Rev, v.30, p.74–90, 20016.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O potencial de *Trichoderma* spp. foi evidenciado associados para controle da podridão da base do estipe da pupunheira causado pelo oomiceto *Phytophthora palmivora*. Os isolados de *T. asperellum* e *T. harzianum* mostraram ação contra *P. palmivora* reduzindo o crescimento micelial e promoveram a colonização do estipe destacado, tanto quanto na aplicação preventivamente e curativamente. O método utilizado foi adequado e podem ser utilizados para estudos da PBE. Tal comportamento abre a oportunidade de aplicação conjunta destes isolados visando a ação de diferentes mecanismos de ação que a sua vez atuem em diferentes etapas do processo de infecção do patógeno. Pesquisas futuras são indispensáveis para identificar os mecanismos de ação e compostos antimicrobianos envolvidos na redução da colonização do patógeno e verificar a adaptabilidade desses agentes em condições de campo.

Neste estudo, espécies de *Trichoderma* foram aplicados para o controle do patógeno em intervalos de 0, 24 e 48 h, na aplicação no modo preventivo e curativo. O aumento destes intervalos para avaliar se os agentes de biocontrole pode desfavorecer ainda mais a colonização dos tecidos vegetais pelo patógeno.

Desta forma, em estudos futuros deve-se proceder à aplicação dos agentes de controle antecipadamente, de maneira a permitir sua adaptação no sistema radicular das plantas e depois proceder à inoculação das mudas com o patógeno. As variáveis de crescimento como altura do perfilho e diâmetro do colo, assim como o peso fresco e seco, tanto da parte aérea como da raiz deverão ser novamente estudados. Em estudos futuros visando verificar a promoção de crescimento das plantas de pupunheira em função da aplicação das espécies de *Trichoderma* com diferentes dosagens e épocas. A aplicação no campo em plantas adultas deve ser repetida principalmente avaliando a intensidade da doença nos mesmos. Independentemente dos estudos que deverão ser realizados no futuro, o presente estudo mostrou o potencial de uso de *Trichoderma* spp. em pupunheira como agentes de biocontrole da PBE. O controle biológico da doença por meio *Trichoderma* spp. em casa de vegetação e a campo em plantas adultas, constitui uma promissora alternativa para a redução do uso de fungicidas. Espera-se que a aplicação desses agentes possa

reduzir a incidência e severidade da doença nas principais regiões produtoras do Brasil.

REFERÊNCIAS

AGRIOS, G. N. Manual de Fitopatologia. 2 ed, 1998.v.1, 332-336p.

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 5. ed. California: Elsevier Academic Press, 2005. p. 907.

ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. **Introductory mycology**. 4. ed. New York: John Wiley, 1996.

ARENAS, A. V. *Trichoderma* pers. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible. Ing. Agrónomo. MSc. Villavicencio. Colômbia Disponível em. Acesso em 29 de maio de 2018.

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Ilustred genera** of imperfect fungi (3ª ed). Minneapolis: Burgess Publishing Company, 1972.

BENCHIMOL, R.L.; ALBUQUERQUE, F.C.; MULLER, C.H. Podridão da base do estipe da pupunheira causada por *Phytophthora palmivora*. Fitopatologia brasileira, v.32, n.2, p.181, 1998.

BENCHIMOL, R.L.; FERNANDO, C.A.; LUZ, S.P.; DINALDO, R.T.; MULLER, C.H. Podridão do estipe da pupunheira. In: LUZ, E.D.M.N.; SANTOS, A.F.; MATSUOKA, K.; BEZERRA, J.L. **Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil**. Campinas: Editora Rural, 2001, p.608-628.

BENITEZ, T; RINCON, A.M; LIMON, M.C; CODON, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma strains*. Int Microbiol v.7.p.249–260, 2004.

BERGAMIN FILHO, A; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M. Importância das Doenças de Plantas. In: AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. Manual de Fitopatologia. Volume 1: Princípios e Conceitos. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011. p. 19-36.

BERGO, C. L.; MENDONÇA, H. A.; LEDO, F. J. S. Estimativa de parâmetros genéticos e fenotípicos em progênies de meio-irmãos de pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth, Palmae) na Amazônia ocidental. Revista de Ciências Agrárias, n.31, jan/jun 1999.

BETTIOL, W. Componentes do controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. (Org.) Controle biológico de doenças de plantas. Brasília: EMBRAPA. p. 1-5, 1991.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Controle biológico. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, v.1. cap.36. p.717-728, 1995.

BETTIOL, W. Conversão de sistemas de produção. In: Poltronieri, L.S. & Ishida, A.K.N. (Eds.)

Métodos Alternativos de Controle de Insetos-Praga, Doenças e Plantas Daninhas: Panorama

atual e perspectivas. Belém. Embrapa Amazônia Oriental. 2008. pp. 289-308.

BRASIER, C.M. The biosecurity threat to the UK and global environment from international plant trade. *Plant Pathology*, v. 57, p. 792–808, mai. 2008.

BONACCINI, L.A. Produza palmito: a cultura da pupunha. Cuiabá: SEBRAE, 1997. 100p.

BOMFIM, M. P. Antagonismo in vitro e in vivo de *Trichoderma* spp. A *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. 2007. 74p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 2007.

BONETI, J. I. S & KATSURAYAMA, Y. Podridão do colo da macieira (*Phytophthora* spp.). In: LUZ, E. D. M. N.; SANTOS, A. F.; MATSUOKA, K.; BECERRA, J. L. (eds.). Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil. Campinas, SP, Editora Rural, 2001. p.381-412.

BOVI, M.L.A. Palmito pupunheira: informações básicas para cultivo. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 1998, 50p, (Boletim Técnico, 173).

CARABI-ADELL et al. Uma técnica simples para observação microscópica de *Trichoderma* spp. (Hypocreales) em cultura de lâminas. In: REUNIÃO ATUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 15. Arquivos do Instituto Biológico, v. 70, p. 35-37, 2003. Suplemento.

CLEMENT, C.R. & CORADIN, L, Ed. Final report: Peach palm (*Bactris gasipaes* H.B.K.) germplasm bank. San José, US AID project report, 1985, p.156.

CLEMENT, C.R. Report on the first international peach palm germplasm expedition. Manaus, US AID project report, 1983, p.127.

CLEMENT, C.R.; MORA URPI, J. The pejibaye (*Bactris gasipaes* H.B.K., Arecaceae): multi-use potencial for the lowland humid tropics. Jornal of Ecomomic Botany, v.41, n.2, p.302-311, 1987.

CLEMENT, C.R.; CHAVEZ FLORES, W.B. & GOMES, J.B.M. Considerações sobre a pupunha (*Bactris gasipaes* H.B.K.) como produtora de palmito. In ENCONTRO NACIONAL DE PESQUISADORES EM PALMITO, 1., Anais.Curitiba, EMBRAPA-CNPQ, 1988, p. 225-247. (EMBRAPA-CNPQ, Documentos, 19).

CLEMENT, C.R. Pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth, *Palmae*). Jabuticabal: FUNEP, 2000. 48p. (Séries Frutas Nativa, v.8).

CONTRERAS-CORNEJO, H. A; MACIAS-RODRÍGUEZ, L; DEL-VAL, E; LARSEN, J. Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. FEMS Microbiol Ecol 92:fiw036, 2016.

DIANESE, A. C. de Variabilidade e Controle de *Phytophthora palmivora* (podridão-do-pé) e Controle da Varíola (*Asperisporium caricae*) do mamoeiro (*Carica papaya*). 2006. 109p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) UNB, Brasília, 2006.

ESPOSITO, E.; SILVA, M. Systematics and environmental application of the genus *Trichoderma*. *Critical Reviews in Microbiology*, v. 24, n. 2, p. 89-98, 1998.

ÉRSEK, T.; RIBEIRO, O. Mini review article: an annotated list of new *Phytophthora* species described post 1996. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, v. 45, p. 251-266, 2010.

FERREIRA, S. A. N. A cultura da pupunheira, *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.9, p.23-28, 1997.

FIGUEIREDO, M. B., 2007. Disponível em: Acesso em 29 de maio de 2018.

GERMEK, E.B. A cultura experimental da pupunha no estado de São Paulo. In CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 4., Salvador, 1977. Anais, Cruz das Almas, Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1978, p.409-411.

GERMEK, E.B.; ARRUDA, H.V.; SANTOS, R.R.; CIONE, J.; SCARANARI, H.J. & MARTINS, F.P. Comportamento da palmeira pupunha (*Guilielma gasipaies* (H.B.K) Bailey) em três localidades do Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 6., Recife. 1981. Anais, Recife, Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1981, p. 1119-1206.

GOMES, E.N; LIMA, J.D; TERAMOTO, E.T. Morfologia e adaptabilidade da pupunheira. Palmito Pupunha do plantio a colheita. Registro SP. Universidade Estadual Paulista “UNESP Câmpus Registro”. 2017, p. 13-19.

GOMES, J.B.M. Avaliação de características agronômicas da pupunheira (*Bactris gasipaes* H.B.K.) para a produção de palmito. Monografia (Eng. Agr.), Universidade do Amazonas, Manaus, 1983.

GOMES, J. B. M.; MENEZES, J. M. T.; FILHO, P. V. Efeito de níveis de adubação e espaçamento na produção de palmito de pupunheira em solo de baixa fertilidade na região de Ouro Preto D'Oeste – RO. In: Anais I Encontro Nacional de Pesquisadores de Palmito. Curitiba, EMBRAPA – CNPF. 1987. (Documentos, 19).

HANADA, R. E. Controle de *Phytophthora palmivora*, agente causal da podridão-parda dos frutos de cacaueiro com fungos endofíticos. 2006. 114p. Tese (Doutorado em Ciências agrárias). Universidade Federal Amazonas, Manaus, 2006.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol – Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Disease, v. 84, p. 377-392, 2000.

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

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

IAPAR. O agronegócio do palmito no Brasil. Londrina. IAPAR, 2007. 131 p. (Circular técnica 130).

IBGE. Produção da extração vegetal e da silvicultura 2009. 24. Rio de Janeiro, RJ: IBGE, 2009.

IBGE. Produção da extração vegetal e da silvicultura 2010. 25. Rio de Janeiro, RJ: IBGE, 2011.

KLEIFELD, O. e CHET, I. *Trichoderma harzianum* – interaction with plants and effect on growth response. Plant and Soil, 144: 267-272, 1992.

KROON, L. P. N. M.; BROUWER, H.; COCK, A. W. A. M de.; GOVERS, F. 2012. The genus *Phytophthora* anno 2012. Phytopathology, v. 102, p. 348-364, dez. 2011.

KRUGNER, T. L.; BACCHI, L. M. A. Fungos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (Eds.) Manual de Fitopatologia. v. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, p. 46-95, 1995.

LIMA, L. H. C.; MARCO, J. L. de; FELIX, C. R. Enzimas hidrolíticas envolvidas no controle biológico por micoparasitismo. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. Ed. Controle biológico. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. cap. 8. p.263-284.

LISBOA, B.B.; BOCHESSE, C.C.; VARGAS, L.K.; SILVEIRA, J.R.P.; RADIN, B.; de OLIVEIRA, A.M.R. Eficiência de *Trichoderma harzianum* e *Gliocladium viride* na redução da incidência de *Botrytis cinerea* em tomateiro cultivado sob ambiente protegido. Revista Ciência Rural, v.37, n.5, p.1255-1260, 2007.

LUZ, E. D. M. N. e CAMPELO, A. M. F. L. Dinâmica populacional de três espécies de *Phytophthora* na região cacauzeira da Bahia. Fitopatologia Brasileira, v.10, p. 1-8, 1985.

LUZ, E.D.M.N.; MATSUOKA, K. Taxionomia e sistemática do gênero *Phytophthora*. Revisão Anual de Patologia de Plantas (RAPP), v.4, p.297-328, 1996.

LUZ, E.D.M., MATSUOKA, K. *Phytophthora*: fungo, protista ou Chromista? In: LUZ, E.D.M., SANTOS, A. F., MATSUOKA, K., BEZERRA, J.L., (Ed.). Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil. Campinas: Rural, 2001, p.1-22.

LUZ, E. D. M. N; SILVA, S. D. V. M.; BEZERRA, J. L.; SOUZA, T. S.; SANTOS, A. F. (Eds), Glossário ilustrado de *Phytophthora*: Técnica especiais para o estudo de oomicetos.

Itabuna: FAPESB, Centro de Pesquisa do Cacau. 2008. p. 126.

MAGALHÃES, D. M. A. Diversidade de Fungos na Serrapilheira e de *Phytophthora* na Rizosfera de Plantas na Mata Atlântica no Sul da Bahia. 2009. 153p. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2009. MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. Eds. Controle biológico. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998.

MELO, I. S. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. (org.) Controle biológico de doenças de plantas. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. p. 135-156.

MELO, I.S. - *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. Revisão Anual de Patologia de Plantas, v.4, p.261–295, 1996.

MICHEREFF, S. J., Fundamentos de Fitopatologia. Unidade 17. Controle Biológico de Doenças de Plantas. Recife [s.n] 2001. 123p.

MORANDI, M.A.B. e BETTIOL, W. (2009) – Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: Bettiol, W; Morandi, M.A.B. (Ed.). Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, p.07-14.

MORA-URPI, J.; WEBER, J.C.; CLEMENT, R.C. 1997. Peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth). Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops, 20. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/ International Plant Genetics Research Institute, Rome, Italy.

MORO, J. R. A cultura da pupunha par produção de palmito. In: Anais do I Encontro Paranaense sobre Palmitos Cultivados: o agronegócio pupunha e palmeira real. Editor técnico Álvaro Figueredo dos Santos – Dados eletrônicos. – Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2004.

MORSBACH, N.; RODRIGUES, A.S.; CHAIMSOHN, F.P.; TREITNY, M.R. Pupunha para palmito: cultivo no Paraná. Morretes: IAPAR, 1998, 56p.

NASCIMENTO, J.T.; OLIVEIRA, A.P.; SOUZA, A.P.; SILVA, I.F.; ALVES, A.U. Rendimento de palmito de pupunheira em função da aplicação de esterco bovino e adubação química. Horticultura Brasileira, v.23, p.19-21, 2005.

NASHWA, M. A.; SALLAM; K. A. M.; ABO-ELYOUSR; HASSAN, M.A.E. Evaluation of *Trichoderma* species as biocontrol agents for damping- off and wilt diseases of *Phaseolus vulgaris* L. and efficacy of suggested formula. Egyptian Journal Phytopathology, v. 36, n.1/2, p. 81-93, 2008.

NEVES, E. J. M.; SANTOS, A. F. dos; RODIGHIERI, H. R.; CORRÊA JÚNIOR, C.; BELLETTINI, S.; TESSMANN, D. J. Cultivo da pupunheira para palmito nas Regiões Sudeste e Sul do Brasil. Colombo: Embrapa Florestas, 2007. 9 p. (Embrapa Florestas. Circular técnica, 143).

PENTEADO JUNIOR, J.F.; SANTOS, A.F.; NEVES, E.J.M. Aspectos do agronegócio do palmito de pupunha no Brasil. Colombo: Embrapa Florestas, 2014. (**Embrapa Florestas. Documentos, 275**).

PIZZINATTO, M.A.; BOVI, M.L.A.; FEICHTENBERGER, E.; SPIERING, S.H. Ocorrência da podridão do estipe em pupunheira, causada por *Phytophthora palmivora*, no estado de São Paulo. Summa Phytopathologica, v.28, n.4, p.363-365, 2002.

PUNJA, Z. K.; UTKHEDE, R. S. Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases. Trends in Biotechnology, v. 21, p.400-407, 2003.

RAI, S; KASHYAP, P.L; KUMAR, S. Identification, characterization and phylogenetic analysis of antifungal *Trichoderma* from tomato rhizosphere. SpringerPlus 5:1939. doi:10.1186/s40064-016-3657-4, 2016.

REGLINSKI, T.; RODENBURG, N.; TAYLOR, J.T.; NORTHCOTT, G.L.; CHEE, A.A.; SPIERS, T.M.; HILL, R.A. *Trichoderma atroviride* promotes growth and enhance systemic resistance to *Diplodia pinea* in radiata pine (*Pinus radiata*) seedlings. Forest Pathology, v.42, p. 75-78, 2012.

RESENDE, J. M.; FIORI, J. E.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; SILVA, E. M.; BOTREL, N. Processamento do Palmito de Pupunheira em Agroindústria Artesanal - uma atividade rentável e ecológica. Seropédica, Rio de Janeiro: Embrapa Agrobiologia, 2004.

SAMUELS, G.J. *Trichoderma*: A review of biology and systematic of the fungus. Mycological Research, 100, 923-925, 1996.

SANCHES, N.F.V. Aspectos fisiológicos de pijibaye (*Bactris gasipaes* H.B.K.), Tese. Lie. San José, CR: Research report, Centro de investigaciones Agronómicas. Universidad de Costa Rica, p.79, 1981.

SANTOS, A.F. dos; LUZ, E.D.M.N.; REIS, A. *Phytophthora* spp.: distribuição e associação de espécies florestais. In Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 47; Simposio Brasileiro de mofo branco, 2014.

SANTOS, A.F. dos.; TESSMANN, D.J.; NUNES, W.M.C.; VIDA, J.B.; FILHO, D.S.J. Doenças foliares da pupunheira (*Bactris gasipaes*) no Estado do Paraná. Boletim de Pesquisa Florestal, Colombo, n.42, p.125-130, 2001.

SANTOS, A.F. dos; BEZERRA, J.L.; TESSMANN, D.J.; POLTRONIERI, L.S. Ocorrência de *Curvularia senegalensis* em pupunheira e palmeira real no Brasil. Fitopatologia Brasileira, v. 28, n. 2, p. 204, 2003.

SANTOS, A.F. dos; LUZ, E.D.M.N.; FIANTO, P.D; TESSMANN, D.J.; VIDA, J.B. Primeiro relato da podridão da base do estipe da pupunheira causado por *Phytophthora palmivora*, no Estado do Paraná. Fitopatologia Brasileira, v.30, p.81-84, 2004.

SANTOS, A.F. dos; LUZ, E.D.M.N. Doenças emergentes causadas por *Phytophthora* no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, suplemento, p. 41-42, 2007.

SANTOS, A.F. dos; TESSMANN, D.J.; VIDA, J.B. Doenças das Palmeiras para palmito. In: SANTOS, A.F.; CORRÊA JÚNIOR, C.; NEVES, E.J.M. Palmeiras para produção de palmito Juçara, Pupunheira e Palmeira Real. Colombo: Embrapa Florestas, p. 106-120, 2008.

SANTOS, T.R.; LUZ, E.D.M.N. Avaliação de métodos, concentrações de inoculo e idade das plântulas para a inoculação de *Phytophthora palmivora* em plântulas de mamoeiro. Tropical Plant Pathology, v.36, n.6, p.383-389, 2011.

SILVA, da G. S. Podridão das raízes e dos frutos do mamoeiro. In: LUZ, E. D. M. N.; SANTOS, dos A. F.; MATSUOKA, K.; BEZERRA, L. J. Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil. Campinas: Editora Rural, 2001. p.413-432.

SPIEGEL, Y.; CHET, I. Evaluation of *Trichoderma* spp. as a biocontrol agent against soilborne fungi and plant-parasitic nematodes in Israel. Integrated Pest Management Review, v. 3, p. 169-175, 1998.

STUDHOLME, D. J; HARRIS, B; COCQ, K.L; WINSBURY, R. Investigating the beneficial traits of *Trichoderma hamatum* GD12 for sustainable agriculture-insights from genomics. Front Plant Sci 4:258, 2013.

SOLANKI, M.K; SINGH, N; SINGH, R. K; SINGH, P; SRIVASTAVA, A. K. Plant defense activation and management of tomato root rot by a chitin-fortified *Trichoderma/Hypocrea* formulation. Phytoparasitica, v.39, p.471–481, 2011.

TAVARES, G.M. Podridão do pé do mamoeiro: infestação em solos de cultivo, controle alternativo com indutores de resistência e *Trichoderma* e avaliação dos mecanismos de defesa envolvidos. 2009. 113p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

TEIXEIRA, H.; PAULA JÚNIOR, T.J.; VIEIRA, R.F.; SILVA, M.B.; FERRO, C.G.; LEHNER, M.S. *Trichoderma* spp. decrease *Fusarium* root rot in common bean. Summa Phytopathologica, v.3, n.4, p.334-336, 2012.

TOCAFUNDO, F. Avaliação de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *Phytophthora palmivora* em mamoeiro. 2008. 54p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus. 2008.

TONET R.M.; FERREIRA, L. G. S.; OTOBONI, J.L.M.A. Cultura da Pupunha. Campinas: CATI, 1999. 44p. (CATI, Boletim técnico, 237).

ZENTMYER, G.A. The World of *Phytophthora*. In: *Phytophthora*. Its Biology, Taxonomy, Ecology and Patology. Erwin, D.C.; Bartnicki-Garcia, S.; Tsao, p. H. (Eds.). St. Paul, Minnesota: The American Phytopathological Society, 1983. p 1-7.