

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

**MANEJO INTEGRADO DA MURCHA DE FUSARIUM
EM BANANEIRA**

LEANDRO DE SOUZA ROCHA

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
SETEMBRO - 2016**

MANEJO INTEGRADO DA MURCHA DE FUSARIUM EM BANANEIRA

LEANDRO DE SOUZA ROCHA

Engenheiro Agrônomo

Universidade Estadual de Montes Claros, 2010

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

Orientadora: Profa. Dra. ANA CRISTINA FERMINO SOARES

Coorientador: Pesquisador. Dr. FERNANDO HADDAD

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

SETEMBRO - 2016

FICHA CATALOGRÁFICA

R672 Rocha, Leandro de Souza.

Manejo integrado da murcha de fusarium em bananeira / Leandro de Souza Rocha. – Cruz das Almas, BA, 2016.
108 f. il.; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr^a. Ana Cristina Fermino Soares.
Coorientador: Dr. Fernando Haddad.

Tese (Doutorado em Ciências Agrárias, Área de Concentração: Fitotecnia)- Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2016.

1. Doença de planta. 2. Banana. I. Soares, Ana Cristina Fermino. II. Haddad, Fernando. III. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia IV. Título.

CDD: 632.3

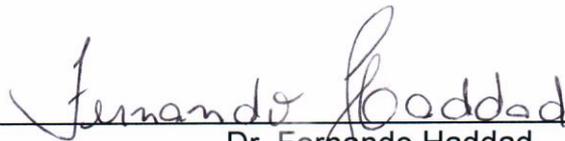
Ficha catalográfica elaborada por Lucidalva R. G. Pinheiro- Bibliotecária CRB51161 – Embrapa Mandioca e Fruticultura

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

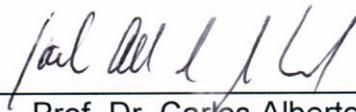
**MANEJO INTEGRADO DA MURCHA DE FUSARIUM EM
BANANEIRA**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE
Leandro de Souza Rocha**

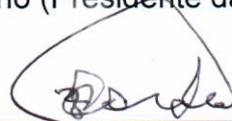
Realizada em 19 de setembro de 2016



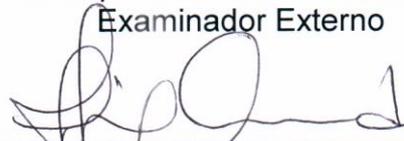
Dr. Fernando Haddad
Embrapa Mandioca e Fruticultura
Examinador Externo (Coorientador)



Prof. Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo
Professor do PPG Ciências Agrárias/ Embrapa Mandioca e Fruticultura
Examinador Interno (Presidente da Comissão examinadora)



Dr. Zilton José Maciel Cordeiro
Embrapa Mandioca e Fruticultura
Examinador Externo



Prof^a Dr^a. Cintia Armond
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia / UFRB
Examinador Interno



Dr. Hermínio Souza Rocha
Embrapa Mandioca e Fruticultura
Examinador Externo

DEDICATÓRIA

A Deus, sem ele nada seria possível;

Aos meus pais, José Geraldo e Maria Gorete;

Aos meus irmãos, Lília, Lidiney, Liliane e José Geraldo;

A minha afilhada Ana Clara e sobrinho Pedro;

À minha esposa, Chauana;

Aos meus filhos, Vicente Gabriel e Augusto;

À minha avó Maria Miguel (*in memoriam*);

Dedico!!!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela saúde, pelas oportunidades que surgiram na minha vida e pelas conquistas.

À Embrapa Mandioca e Fruticultura, pelo apoio financeiro.

À Bioversity International pelo financiamento do projeto.

À FAPESB pelo apoio financeiro.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB, pela oportunidade de aprendizagem.

À Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de cursar parte do doutorado no programa de Fitopatologia.

Ao meu orientador, enquanto estudante da UFV, Leandro Grassi, pela amizade, orientação e ensinamentos transmitidos.

À empresa Borborema pela parceria e área cedida para implantação do experimento.

Sou eternamente grato ao meu coorientador Dr. Fernando Haddad, pela oportunidade, orientação, exemplo, paciência, amizade, credibilidade e ensinamentos transmitidos.

À minha orientadora Dra. Ana Cristina Fermino Soares pelos ensinamentos, e contribuição para a realização deste trabalho e para minha formação acadêmica.

Ao professor Carlos Alfredo Lopes de Carvalho pela oportunidade que me foi dada, de realizar o curso de Doutorado em Ciências Agrárias na UFRB.

Ao chefe geral da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Alberto Duarte Vilarinhos, pelo apoio, para que eu pudesse concluir meu curso de doutorado.

À Dr. Hermes Peixoto, pelo exemplo de pessoa, paciência, amizade, credibilidade e ensinamentos transmitidos.

A Isac pela amizade e companheirismo na condução do experimento.

Aos técnicos Adailton e Giovanni pelo empenho e dedicação na implantação, condução, manutenção e avaliação do experimento.

À minha esposa, Chauana e meus filhos Vicente Gabriel e Augusto pelo apoio nas horas difíceis, pelos conselhos, pelo carinho e por me fazer o homem mais feliz do mundo.

A todos que de alguma forma participaram desta importante etapa de minha vida.

MUITO OBRIGADO!!!

SUMÁRIO

Página

RESUMO

ABSTRACT

REFERENCIAL TEÓRICO.....1

ARTIGO 1

POTENCIAL ANTAGÔNICO DE *Trichoderma harzianum* AO *Fusarium oxysporum*
f. sp. *cubense* 35

ARTIGO 2

REAÇÃO DE CULTIVARES DE BANANEIRA AO COMPLEXO *Meloidogyne* x
Fusarium 57

ARTIGO 3

MANEJO DA MURCHA DE FUSARIUM DE BANANEIRA EM MINAS GERAIS,
BRASIL 79

CONSIDERAÇÕES FINAIS 99

MANEJO INTEGRADO DA MURCHA DE FUSARIUM EM BANANEIRA

Autor: Leandro de Souza Rocha

Orientadora: Dra. Ana Cristina Fermino Soares

RESUMO: O uso de cultivares resistentes é a forma mais efetiva de controle da fusariose da bananeira (FB). Entretanto, a interação *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) x nematoide e a variabilidade genética de Foc pode suplantar a resistência dessas cultivares. Com isso o manejo integrado, com uso de práticas culturais e controle biológico, atrelados à resistência das cultivares torna-se promissor no manejo da FB. O objetivo do trabalho foi desenhar um sistema de manejo integrado para a FB, a partir de estudos envolvendo fatores que interferem de forma negativa no patógeno e favorecem a hospedeira. Três estudos foram realizados: avaliação *in vitro* e *in vivo* do potencial antagônico de *Trichoderma harzianum* sobre Foc; interação Foc x *Meloidogyne javanica* (Mj) em diferentes cultivares de bananeira e; avaliação a campo de diferentes métodos de manejo para a FB. Nos testes *in vitro* o antagonista reduziu acima de 90% o crescimento micelial de 17 dos 35 isolados de *Fusarium* testados. Em casa de vegetação, o antagonista reduziu em 64% o índice de doença (ID) da FB, em relação à testemunha. Nos testes de interação a presença do Mj aumentou o ID da FB em plantas de 'Grande naine' e 'BRS Princesa'. Em Prata Anã não foi observada interação entre o Mj e Foc. Em campo, 100% das plantas de 'Maçã' morreram após nove meses, independente do tratamento. Em 'Prata Anã' o tratamento considerado Top reduziu em 30% a incidência de Foc em relação ao tratamento controle. Em relação ao ID interno, em 'Prata Anã' o tratamento Top reduziu a incidência em 58%, em relação ao controle e proporcionou um aumento de 157,3% na produtividade. A resistência genética da 'BRS Princesa', garantiu 0% de incidência da FB. Os resultados sugerem que a produção de banana em solos infestados por Foc pode ser alcançada por meio do fortalecimento da supressividade do solo e das defesas das plantas.

Palavras-chave: *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*; *Musa* spp.; Biocontrole.

INTEGRATED MANAGEMENT OF FUSARIUM WILT IN BANANA PLANT

Author: Leandro de Souza Rocha

Adviser: Dra. Ana Cristina Fermino Soares

ABSTRACT: The use of resistant cultivars is the most effective form of control of the banana wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* (FB). However, the interaction between the fungus and nematoids, as well as the genetic variability of Foc can enhance the resistance of these cultivars. Therefore, the integrated management, with the use of cultural practices and biological control, linked to the resistance of the cultivars becomes promising in the control of FB. The objective of this work was to design an integrated management system for FB, based on studies involving factors that negatively interfere with the pathogen and favor the host. Three studies were carried out: *in vitro* and *in vivo* evaluations of the antagonistic potential of *Trichoderma harzianum* on Foc; interaction Foc x *Meloidogyne javanica* (Mj) in different banana cultivars; and field evaluation of different management methods. In the *in vivo* tests, the antagonist reduced over 90% of the mycelial growth of 17 isolates of *Fusarium*, out of the 35 isolates tested. In the greenhouse, the antagonist reduced in 64% the ID of FB in relation to the control. The interaction tests showed that the presence of Mj increased the ID of FB in plants of cultivars 'Grande naine' e 'BRS Princesa'. Interaction between the Mj and Foc was not observed in plants of the cultivar 'Prata Anã'. In the field, 100% of the plants of cultivar 'Silk' died after nine months, regardless of the treatment. In 'Prata Anã' the treatment considered Top reduced in 30% the incidence of Foc, when compared to the control treatment, with incidence of only 14%. For the internal ID in 'Prata Anã' the best treatment reduced it by 58%, when compared to the control, and provided an increase of 157.3% in productivity. The resistant cultivar 'BRS Princesa', showed 0% incidence of Fusarium wilt. The results suggest that banana production in Foc-infected soils can be achieved through the strengthening of soil suppressiveness and plant.

Key-words: *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*; *Musa* spp.; biocontrol.

REFERENCIAL TEÓRICO

Bananicultura

A banana *Musa* spp, originária do sudeste asiático, é tida como uma das primeiras culturas domesticadas pelo homem (Molina e Valmayor, 1998; Perrier et al., 2011). Atualmente é a oitava cultura alimentar mais importante do mundo, e em termos de países em desenvolvimento, aparece em quarto lugar (Frison e Sharrock, 1998; Ploetz, 2015). Em países da África, Ásia e América Tropical, principalmente em locais de cultivo, a banana assume o papel de alimento básico da população, sendo consumida na forma in natura, cozida ou frita (Karamura et al., 2012). Dentre os 50 subgrupos, aproximadamente, de bananas existentes, se destacam os subgrupos Cavendish (principal fruto de exportação) e os plátanos, com aproximadamente 40% e 21% da produção mundial, respectivamente (Ploetz, 2015). Uma realidade diferente do cultivo brasileiro que é baseado em cultivares do subgrupo Prata, com destaque para 'Prata-Anã' (AAB) clone Gorutuba e Catarina. No entanto o plantio das cultivares 'Grande Naine', 'Nanica' e 'Nanicão' pertencentes ao subgrupo Cavendish, também se destacam em plantios do Sudeste e Sul do Brasil.

Atualmente a banana é cultivada em todo território brasileiro, e em termos de área cultivada e consumo aparece em segundo lugar entre as fruteiras, perdendo apenas para a cultura da laranja (Treichel et al., 2016). O Brasil destaca-se entre os cinco maiores produtores mundiais de banana, com uma produção aproximada de 6,8 milhões de toneladas em 464,5 mil hectares plantados (IBGE, 2016). A maior parte da produção nacional provém do Nordeste e Sudeste, onde são produzidos 32,7% do volume total, seguido das Regiões Sul (16,3%), Norte (14,3%) e Centro-Oeste (4,0%) (IBGE, 2016). Em relação aos estados brasileiros, destacam-se São Paulo, Bahia e Minas Gerais com 14,4%, 14,3% e 12,2% da produção, respectivamente (IBGE, 2016). Apesar do Brasil estar entre os maiores produtores de banana, o rendimento médio ainda é considerado baixo, com uma produtividade de 14,76 t/ha (IBGE, 2016). O baixo rendimento dos bananais brasileiros está atrelado ao manejo inadequado (proprietários com baixo nível tecnológico), déficit hídrico e principalmente a problemas fitossanitários constantes e de ampla distribuição geográfica.

Na bananicultura, assim como em outras culturas vegetais os principais problemas de ordem biótica são decorrentes de fungos, bactérias, nematoides, vírus e insetos. A bactéria de maior importância para cultura da banana é a causadora do moko da bananeira, *Ralstonia solanacearum* race 2 biovar 1. Em relação às viroses, no Brasil ocorre o mosaico do pepino, causado pelo *Cucumber mosaic virus* (CMV) e o vírus das estrias da bananeira (*Banana streak virus*, BSV). Dentre os principais insetos destaca-se o moleque da bananeira (*Cosmopolites sordidus*) praga chave dessa cultura.

Em relação aos nematoides, já foram relatadas 146 espécies de nematoides parasitas ou associadas ao cultivo de banana, distribuídas em 43 gêneros (Gowen e Quénehervé, 1990). As perdas causadas na cultura da bananeira pelos fitonematoides são altas, com valores estimados em 20% (Sasser e Freckman, 1987). Algumas espécies chegam a causar 100% de perdas, dependendo das condições ambientais, da população do nematoide e da cultivar utilizada (Ritzinger et al., 2007). Levantamento realizado por Dias et al. (2001), em bananais de 18 municípios do norte de Minas, mostrou a presença de *Meloidogyne* spp., *Helicotylenchus* spp., *Radopololus similis*, *Tylenchus* spp., *Criconemella* spp., *Aphelenchoides* spp., *Pratylenchus* spp. e *Rotylenchulus reniformis*. Cofcewicz et al. (2004) constataram a presença de *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita* em 61,7% e 32,2%, respectivamente, das amostras retiradas de solos de bananais, nos estados de Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul. Dentre as espécies do gênero *Meloidogyne*, em regiões produtoras de banana, *M. javanica* e *M. incognita* são as mais frequentes, principalmente em perímetros irrigados. O resultado da infecção de *Meloidogyne* spp. em cultivares de bananeira pode ser observado pela redução no porte da planta, amarelecimento das folhas, seca prematura, má formação de cachos, refletindo em baixa produção e reduzindo a longevidade dos plantios. As estimativas de perdas causadas por *Meloidogyne* spp. em bananais brasileiros chega em média a 8% (Costa, 2000) e são proporcionais ao aumento das populações do nematoide (Davide e Marasigan, 1992; Patel et al., 1996; Costa et al., 1998). Mas essa perda pode ser agravada quando a presença do nematoide está associada a outros fatores bióticos, como o *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* Smith (Snyder e Hansen).

Entretanto para a cultura da bananeira os maiores problemas fitossanitários são decorrentes dos fungos causadores da Sigatoka amarela (*Mycosphaerella musicola*, Leach), Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) e do mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*). Nos principais polos produtores de banana irrigada no Brasil, as maiores perdas na produção estão relacionadas com o mal-do-Panamá, visto que medidas eficientes de controle ainda são desconhecidas.

Mal-do-Panamá

O mal-do-Panamá, causado pelo *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), é considerado a principal doença fúngica e a mais destrutiva entre as que atacam variedades de bananeira (O'Donnell et al, 1998; Ploetz, 1994; Wang et al, 2013). Endêmica por todas as regiões produtoras de banana no mundo é considerada uma das seis doenças de maior importância mundial (Ploetz e Pegg, 1997). Provavelmente teve sua origem no Sudeste Asiático, mas foi relatada pela primeira vez na Austrália em 1876 (Ploetz e Pegg, 1997, 2000). No Brasil foi constatada pela primeira vez na cultivar 'Maçã' em 1930, no município de Piracicaba-SP, onde foram dizimados, em apenas 3 a 4 anos, cerca de um milhão de plantas de banana (Goes e Moreto, 2001). O mal-do-Panamá tem sido relatado na Ásia, África, Austrália e na América tropical (Stover, 1962; Anonymous, 1977; Ploetz e Pegg, 2000). Atualmente é encontrada em praticamente todas as áreas onde se cultiva bananeira, reduzindo a produção drasticamente (Ploetz, 2015).

A infecção radicular da hospedeira pelo agente causal do mal-do-Panamá pode ocorrer em cultivares de bananeiras suscetíveis e resistentes, mas, geralmente, a progressão da infecção no sistema vascular ocorre apenas em genótipos suscetíveis (Beckman, 1987, 1990). Em resposta à infecção do patógeno, a hospedeira inicia um processo de produção de tiloses, gomas e géis na cavidade do xilema, na tentativa de barrar a progressão do patógeno (Ploetz, 2015). Em cultivares resistentes esses produtos são produzidos mais cedo e mais rapidamente do que nas cultivares suscetíveis, e com isso, a infecção sistêmica no pseudocaule é bloqueada (Ploetz, 2015). Já nas variedades suscetíveis a

progressão da infecção ocorre antes que a hospedeira consiga responder à presença do patógeno, fazendo com que ocorra a colonização (Ploetz, 2015).

O primeiro sintoma interno observado no processo de infecção é uma coloração marrom avermelhada, que se desenvolve nos pontos iniciais da infecção, radículas e região de junção da raiz com o rizoma (Stover, 1962; Thurston 1997; Ploetz e Pegg 2000). Com o desenvolvimento da infecção o xilema torna-se marrom avermelhado e posteriormente é obstruído pelas estruturas do patógeno, impedindo a passagem de água e nutrientes. Conseqüentemente, o progresso do sintoma interno pelos vasos do xilema influencia o primeiro aspecto dos sintomas externos (Ploetz et al., 1994), o amarelecimento e murcha das folhas mais velhas e as rachaduras das bainhas no pseudocaule (Figura 1). Eventualmente as folhas mais novas desenvolvem os sintomas, e em sequência ocorre a morte da planta. O amarelecimento da lâmina foliar, supostamente, é associado com as ações de fitotoxinas produzidas pelo patógeno, apesar de ocorrer, em alguns casos, a murcha verde (Ploetz, 2015) (Figura 2).

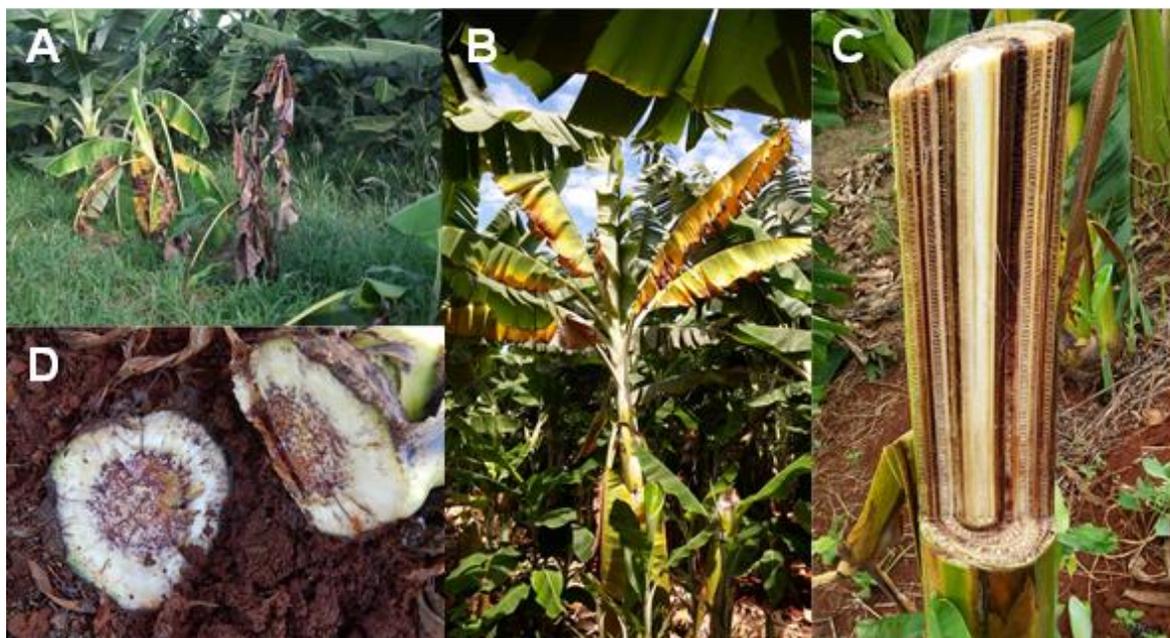


Figura 1 - Sintomas externos e internos de mal-do-Panamá em cultivares de bananeiras 'Maçã' e 'Prata Gorutuba'. A - Amarelecimento progressivo e morte em cultivar 'Maçã'; B - Amarelecimento progressivo em cultivar 'Prata Gorutuba'; C - Necrose do tecido vascular do pseudocaule em cultivar 'Maçã' e D - Coloração marrom avermelhada do tecido vascular do rizoma em cultivar 'Maçã'.



Figura 2 – Sintoma de murcha verde em bananeira cultivar 'Prata Gorutuba'. A – Planta com aspecto de "guarda-chuva fechado" e B – Sintoma interno de descoloração dos vasos do xilema.

O manejo do mal-do-Panamá é limitado uma vez que, após a infestação do solo pelo fungo é praticamente impossível erradicá-lo, impedindo o replantio das variedades suscetíveis de banana no local, por décadas (Stover, 1962; Stover e Ploetz, 1990, Ploetz, 2015). Em pequenas propriedades ou agricultura de subsistência, as perdas causadas pelo mal-do-Panamá, normalmente, são reduzidas com a diversificação das variedades de bananeira e/ou outras culturas, (Stover, 1962). Assim, quando elevados rendimentos de uma única variedade não são o objetivo, pode ser possível produzir variedades suscetíveis em pequena escala. Em contraste, a produção de monocultura de variedades suscetíveis é difícil em áreas infestadas (Ploetz, 2015).

Em regiões livres do patógeno, as medidas de quarentena e exclusão devem ser rigorosas na tentativa de retardar a entrada do patógeno na área. Uma alternativa de diminuir o risco de introdução do patógeno na área é a utilização de mudas derivadas de cultura de tecidos. Embora sejam mais suscetíveis a fusariose do que as mudas tradicionais de banana (Smith et al., 1998), elas deverão ser usadas para propagação dessa cultura sempre que possível (Ploetz,

2015). Entretanto o sucesso dessas mudas depende da idoneidade do viveiro onde elas serão produzidas e/ou aclimatizadas antes de ir para o campo. Uma vez que a utilização de substrato e/ou água contaminados pode gerar perdas enormes, com infecção de até 100% das mudas plantadas, além de disseminar o patógeno por toda a área cultivada. A infecção prematura das mudas de banana por Foc aumenta a severidade da doença, quando essas são levadas para o campo.

O sucesso de medidas de longo prazo que visam manejar Foc, em áreas infestadas, tem sido dificultado pela natureza perene deste patossistema e consequentemente policíclica da doença (Ploetz, 2007). O mal-do-Panamá assume a identidade de uma doença policíclica, pois vários ciclos de infecção ocorrem nas plantações de banana (Ploetz, 2015), ao contrário da fusariose do algodoeiro que foi classificada como monocíclica, pelo fato da infecção ocorrer a partir de inóculo do solo, ao longo de uma única estação de cultivo (Vanderplank 1963). Atualmente, nenhuma estratégia de controle sustentável está disponível no manejo de Foc, exceto a substituição de variedades suscetíveis por resistentes ao mal-do-Panamá. A resistência genética é a opção de manejo mais eficaz e sustentável (Stover, 1986; Jones, 2000; Ploetz e Pegg 2000; Hwang e Ko, 2004). No entanto, o uso de variedades resistentes no controle da doença está condicionado à variabilidade genética do patógeno (variantes) e a aparição de novas raças, como a raça 4 tropical “TR4” (Ploetz 1990, 2006). Outro fator que agrava a utilização de variedades resistentes é a aceitação comercial dos frutos, que às vezes são descartados pelos produtores e/ou atravessadores antes mesmo de chegarem ao público consumidor. Uma alternativa para superar a rejeição de novas cultivares, resistentes ao Foc, seria o melhoramento convencional das variedades comerciais. No entanto problemas relacionados com as cultivares, como por exemplo, a baixa fertilidade do subgrupo Cavendish, ainda não foram superados pelo melhoramento clássico (Aguilar Morán, 2013).

A aplicação de fungicidas nas mudas não necessariamente previne a infecção de raiz por Foc, e não existe nenhum fungicida eficiente no controle da doença, tornando o uso inviável (Ploetz 2006). Já a eficácia do controle biológico no campo, em longo prazo, tem sido pouco explorada (Ploetz, 2004). Uma vez que as variações dos fatores no campo, após colonização inicial do organismo de

biocontrole, afetam a colonização em longo prazo do antagonista interferindo no controle do Foc.

Considerando a importância da doença e a exigência mundial por sustentabilidade faz-se necessário à busca por novas estratégias de manejo do mal-do-Panamá, utilizando métodos sustentáveis de controle, como o uso de microrganismos de biocontrole e produtos alternativos. Dentre os microrganismos pesquisados em trabalhos científicos, 90% correspondem a diferentes isolados de *Trichoderma* spp. (Benítez et al., 2004). Provavelmente pelo antagonismo natural observado a vários patógenos, bem como a facilidade de se adaptar ao micro habitat, de ambientes diferentes dos quais foram isolados.

O controle biológico ou biocontrole é considerado um importante componente em programas de manejo integrado. Quando comparado com outros métodos, o uso de agentes de biocontrole é uma estratégia ecologicamente segura e viável no manejo da doença. No entanto, ainda faltam mais estudos para que a tecnologia do biocontrole seja aplicada comercialmente, de forma eficaz e segura no manejo integrado do mal-do-Panamá.

***Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc)**

O *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. é um complexo de espécies de fungos, cosmopolitas, morfológicamente semelhante e habitantes do solo (O'Donnell e Cigelnik, 1999; Baayen et al., 2000). Dentro do gênero *Fusarium*, agronomicamente e economicamente, é o táxon mais importante, com mais de 150 *formae speciales* conhecidas (Baayen et al., 2000, Ploetz, 2006). O conceito de *formae speciales* foi adotado para identificar populações específicas de determinadas plantas hospedeiras (Baayen et al., 2000; O'Donnell et al., 1998). A *formae specialis* tem um hospedeiro exclusivo ou um grupo, normalmente, de espécies vegetativas intimamente relacionadas (Ploetz, 2006), enquanto que as raças são baseadas na virulência e/ou diferenciação de cultivares hospedeiras (Correll, 1991). Ainda se questiona a correta classificação das *formae speciales* de *F. oxysporum*, tendo em vista que diferentes isolados, com origens evolucionárias independentes estão classificados em uma única *formae specialis*, enquanto que isolados de diferentes *formae speciales* podem compartilhar um ancestral comum (Kistler, 1997; O'Donnell et al., 1998; Baayen et al., 2000). Já

para diferenciação de raças, variedades diferenciadoras usadas como método não têm garantido resultados consistentes. E com isso outros critérios estão sendo utilizados, baseados em grupos de compatibilidade vegetativa (VCG – Grupos de Compatibilidade Vegetativa) e diversidade molecular, como adotado no patossistema Foc x bananeira (Bentley et al., 1998; Fourie et al., 2009).

O Foc, causador do mal-do-Panamá, classificado em três raças fisiológicas é considerado como uma das formas especiais mais destrutivas de *F. oxysporum* (Ploetz, et al. 1990). É um patógeno habitante de solo de elevada capacidade saprofítica e de alto potencial evolutivo, sendo relatados 21 Grupos de Compatibilidade Vegetativa (VCGs – Vegetative Compatibility Groups), (Ploetz e Pegg 2000, Fourier et al., 2009). Apesar de ser considerado um patógeno com alta variabilidade genética, sua forma perfeita ainda não foi relatada (Bentley et al, 1998.; O'Donnell et al., 1998; Ploetz, 2006).

As três raças de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, que afetam banana, foram divididas com base na sua patogenicidade em referência a cultivar hospedeira. A raça 1 afeta cultivares de bananeira Gros Michel e Silk, a raça 2 subgrupo Bluggoe e a raça 4 afeta todas as cultivares do subgrupo Cavendish (Waite e Stover, 1960; Su et al., 1986). Dentro da classificação por raças fisiológicas, a raça 4 que afeta Cavendish, foi dividida em subtropical (ST4) e tropical (TR4), de acordo com as condições regionais onde a doença ocorre (Ploetz et al., 1990). No entanto a raça TR4 apresenta patogenicidade em ambas às condições, tropical e subtropical (Buddenhagen, 2009). Além dessas raças ainda existe a raça 3 que afeta especificamente espécies de helicônia. No Brasil, de acordo com estudos envolvendo grupos de compatibilidade vegetativa, presume-se a prevalência da raça 1 (Goes e Moretto, 2001, Dias et al., 2014).

F. oxysporum f.sp *cubense*, durante seu ciclo assexuado, produz três tipos de esporos, microconídios, macroconídios e clamidósporos. Os clamidósporos são esporos de resistência de paredes espessas e resistentes, permitindo sua permanência e viabilidade no solo por até 30 anos (Stover, 1962, 1990; Ploetz et al., 2003). Outra possibilidade é a sobrevivência em estado saprofítico, uma vez que linhagens não patogênicas existentes no solo são capazes de formar heterocários com linhagens patogênicas, onde núcleos geneticamente diferentes se estabelecem em uma mesma hifa (Leslie, 1990). Assim, os genes de virulência

da forma patogênica persistiriam no micélio de crescimento saprofítico, voltando a atuar quando em presença da planta hospedeira (Leslie, 1993).

A disseminação do patógeno pode ocorrer pela água de irrigação ou de drenagem, animais, homem, equipamentos, material de plantio infectado e no contato de raízes sadias com o inóculo liberado por restos de rizoma, raízes e pseudocaule doentes (Cordeiro e Matos, 2000). A disseminação da doença entre áreas distantes está diretamente relacionada com a introdução de material propagativo contaminado. Por isso há necessidade de se utilizar material de qualidade no plantio, uma vez que o custo com mudas corresponde a menos de 5% do valor de implantação de um hectare de banana.

***Meloidogyne* spp.**

Os nematoides fitopatogênicos são vermes parasitas de plantas, que atacam diversas culturas de importância econômica, causando grandes prejuízos aos produtores com a redução da produtividade.

O gênero *Meloidogyne* com mais de 90 espécies descritas (Hunt e Handoo, 2009) e mais de 2000 plantas hospedeiras, é o mais importante do mundo, causando grandes prejuízos à produção agrícola mundial (Perry et al., 2009). As perdas na agricultura podem variar de 10 a 90% (Agudelo, 1980; Perry et al., 2009), dependendo da densidade populacional dos nematoides presentes, da suscetibilidade da cultura e das condições edafoclimáticas (Sasser, 1987). Dentre as mais de 90 espécies identificadas no gênero *Meloidogyne*, as mais difundidas e economicamente importantes são: *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. chitwoodi* e *M. graminicola* (Perry et al., 2009).

A reprodução normalmente é partenogenética, não necessita dos machos, os quais saem da raiz, não se alimentam e movem-se no solo até a morte. Em condições favoráveis quase 100% dos adultos formados são fêmeas. No entanto em condições edafoclimáticas desfavoráveis, com elevada população de nematoides na raiz ou resistência da hospedeira, os juvenis que dariam origem as fêmeas sofrem reversão sexual e dão origem aos machos. Estratégia adotada como mecanismo de sobrevivência pelos nematoides das galhas, pois menos ovos serão produzidos e o parasitismo sobre a planta infectada será menor, garantindo a sobrevivência das poucas fêmeas formadas (Freitas et al., 2006).

A duração do ciclo de vida do nematoide das galhas varia de três a quatro semanas a depender da espécie de *Meloidogyne* e das condições ambientais, sendo a fase de juvenil de segundo estágio (J2) a responsável pela infecção da hospedeira. A temperatura, umidade e planta hospedeira afeta fortemente o ciclo de vida do nematoide. Temperaturas superiores a 40°C ou temperaturas inferiores a 5°C reduz ou paralisa por completo as atividades vitais dos fitonematoides (Abad et al., 2009; Freitas et al., 2006). Para *M. incognita* em tomateiro suscetível, com temperatura próxima de 29 °C e umidade favorável, o ciclo pode-se completar entre 19 e 21 dias, com o aparecimento das primeiras massas de ovos (Moens et al., 2009). Os ovos dos nematoides das galhas podem permanecer no interior do tecido radicular ou podem ser liberados para o solo, onde, sob condições favoráveis, permanecem viáveis por pelo menos um ano (Abad et al., 2009; Barker et al, 1998; Freitas et al., 2006).

As espécies e raças de *Meloidogyne* influenciam diretamente no grau de sintomatologia, assim como, a densidade populacional do nematoide e a espécie e/ou cultivar da planta hospedeira. À medida que a densidade de *Meloidogyne* spp. aumenta em um determinado local, o número de galhas por planta também irá aumentar. E o grande número de J2 penetrando em estreita proximidade do sistema radicular também irá resultar em maiores galhas. O tamanho e o número de galhas também são influenciados pela espécie e/ou raça do nematoide, *M. hapla* produz galhas com tamanho inferior a metade do tamanho das galhas produzidas por *M. incognita* nas mesmas plantas hospedeiras. Esse diferente tipo de reação também é dependente de cada cultura hospedeira do nematoides das galhas (Barker et al, 1998; Freitas et al., 2006; Taylor e Sasser 1978).

Os sintomas de *Meloidogyne* spp. são divididos em diretos, observados no sistema radicular da hospedeira, onde o nematoide desenvolve sua ação parasitária, com a formação dos sintomas típicos desse gênero, as galhas. Juntamente com as galhas podem ser observados os sinais do patógeno que são as massas de ovos (Barker et al, 1998; Freitas et al., 2006; Taylor e Sasser 1978). Os outros tipos de sintomas, chamados reflexos ou secundários, são verificados em outras partes da hospedeira que não as raízes, ou seja, órgãos aéreos. Recebem esse nome por refletirem alterações na parte aérea das plantas decorrentes dos danos causados pelo sintoma direto nas raízes, galhas. Os principais sintomas reflexos são a murcha e o amarelecimento, devido às raízes

com galhas terem limitação na capacidade de absorver água e no transporte de nutrientes do solo para o resto da planta (Barker et al, 1998; Freitas et al., 2006; Taylor e Sasser 1978). Plantas atacadas por *Meloidogyne* spp. respondem com menor eficiência à adubação, tornam-se mais vulneráveis à seca e com isso, tem a produção afetada em termos quantitativos e qualitativos (Moura 1996; Roese et al., 2001).

A falta de um manejo adequado, onde ocorrem cultivos sucessivos, uso de mudas, sementes, tubérculos e raízes infectadas, equipamentos, água das chuvas e irrigação e o próprio homem, faz com que os nematoides das galhas se disseminem por toda a área e cheguem a áreas livres, causando grandes perdas ao produtor e dificultando o manejo do fitonematoide. O manejo de nematoides das galhas inclui praticas de controle químico, genético, físico, quarentenário, cultural e biológico. Mas, devido seu hábito cosmopolita e polífago com uma enorme gama de hospedeiras, na maioria plantas exploradas economicamente, e diferença biológica (raça) ligada ao parasitismo intraespecífico (Carneiro, 1992), os métodos de manejo mais eficientes e viáveis, cultural e resistência varietal, são comprometidos (Ferraz et al. 2010). Outro fator importante a ser considerado no manejo dos nematoides das galhas e a interação com outros patógenos, principalmente fungos de solo como do gênero *Fusarium*, que aumenta os danos causados na hospedeira e conseqüentemente perdas na produtividade.

Manejo intergrado

O termo manejo integrado de doenças (MID) foi proposto por Chiarappa em 1974, e está relacionado com a otimização do controle de fitopatógenos de forma econômica e ecológica. De acordo com Kogan (1998), o manejo integrado é a escolha e o uso inteligente de táticas de controle que produzirão conseqüências favoráveis dos pontos de vista econômico, ecológico e sociológico. O manejo pressupõe a utilização de todas as tecnologias de controle disponíveis dentro de um patossistema, de tal modo a estabelecer um sistema de produção sustentável por reduzir a população do fitopatógeno, garantir a produção e minimizar os danos deletérios ao meio ambiente. Entretanto, o manejo exige conhecimentos específicos do patossistema e a integração depende da

disponibilidade de tecnologias adequadas, que se adaptem a cada sistema de cultivo de forma prática e econômica.

Na cultura da bananeira, as doenças são consideradas a principal causa de perda na produtividade. Segundo Cordeiro et al., (2004) o manejo integrado de doenças da bananeira constitui-se na principal forma de combate aos patógenos que afetam essa cultura. A adoção de um sistema de manejo integrado de doenças envolve diferentes métodos de controle que em conjunto resultam na redução do patógeno e dos danos à cultura. Mas para garantir o sucesso desse manejo, faz-se necessário conhecer os patógenos que afetam o bananal, saber identificá-los e ter informações sobre as medidas adequadas de controle. É preciso trabalhar o sistema como um todo, e minimizar os efeitos antagônicos entre as práticas efetuadas.

Um dos principais patógenos da bananeira é o Foc, fungo de solo capaz de sobreviver por mais de 30 anos na ausência da hospedeira, por meio de estruturas de resistência (Stover, 1962, 1990; Ploetz et al., 2003). A ineficiência do manejo de Foc, observada atualmente, se deve a falta de conhecimento sobre a interação planta-patógeno, onde as medidas de controle são tomadas sem levar em consideração a sobrevivência, disseminação, vias de infecção do patógeno e condições ambientais que favorecem a sua colonização e multiplicação. Por isso, avanços tecnológicos capazes de dar o suporte necessário, com foco em qualidade do solo, resistência genética e controle biológico de mal-do-Panamá em bananeiras são necessários.

Controle biológico

O crescimento populacional tem demandado cada vez mais o aumento da produção mundial de alimentos. Na busca por esse aumento, dois caminhos são percorridos, a expansão de novas fronteiras agrícolas e/ou aumento da produtividade. No segundo caso poderá ocorrer via melhoramento genético ou pelo aprimoramento das técnicas utilizadas. No entanto, a expansão da agricultura com o surgimento de novas fronteiras agrícolas, vem atrelada ao aumento da incidência de pragas e doenças. E também ao surgimento de novas espécies, raças ou variantes de fitopatógenos, devido à pressão de seleção pelo uso de matérias resistentes e/ou uso constante de produtos químicos.

Os patógenos afetam raízes, caules, folhas, flores e frutos, independentemente dos métodos de produção adotados, convencional, plantio direto e orgânico, ou do local de produção, campo e condições ambientais controladas (Punja; Utkhede, 2003). Para reduzir as perdas causadas pelas doenças, o principal método utilizado pelos produtores tem sido o controle químico, uma vez que a agricultura está estruturada basicamente no uso de agrotóxicos, pela rapidez e eficiência dos produtos. Entretanto, a eficácia dos produtos químicos no controle de patógenos vem atrelada a impactos negativos ao homem, aos animais e ao meio ambiente, por meio do acúmulo de resíduos no solo, na água e nos alimentos. Outras consequências podem ser a seleção de patógenos resistentes aos princípios ativos, pelo uso constante e invariável do agrotóxico (Rakh et al., 2011), aumento na ocorrência de surtos de doenças consideradas secundárias e diminuição dos microrganismos benéficos. De acordo com Harman (2000), à resistência dos patógenos leva a perda da ação regulatória dos agrotóxicos e em ambientes onde se deseja manter as comunidades microbianas do solo, deve-se substituir ou diminuir o uso de produtos químicos. O impacto negativo dos produtos químicos, utilizados no controle de doenças de plantas, sobre o meio ambiente e a saúde do homem tem sido difundido rapidamente em todo o mundo com os avanços tecnológicos e globalização. Com isso, há uma pressão por parte da sociedade pelo aumento de produtos livres de agrotóxicos, e um estabelecimento de políticas governamentais que restrinjam a utilização de agrotóxicos (Gullino e Kuijpers, 1994; Ragsdale e Sisler, 1994).

O cenário atual, de busca por sustentabilidade, tem levado os pesquisadores e até mesmo os produtores a repensarem sobre o uso de métodos alternativos no manejo de doenças (Punja e Utkhede, 2003). Termo que nas últimas décadas substituiu o conceito de controle de doenças, que tinha como objetivo eliminar completamente o patógeno com o uso indiscriminado e contínuo de produtos, sem considerar as consequências (Grigoletti Júnior et al., 2000). No contexto de proteção de plantas contra fitopatógenos com o uso de métodos alternativos, o controle biológico com uso de antagonistas vem demonstrando grande potencial. Principalmente, quando se busca aumentar a produção e oferta de alimentos mais saudáveis através de um sistema sustentável de produção integrada (Lopes, 2009). O controle biológico é uma alternativa atraente para agricultores que buscam um manejo integrado de doenças de plantas mais

sustentável e, portanto, menos dependente do uso de agrotóxicos (Morando e Bettioli, 2009). No entanto, vale ressaltar que a substituição de um produto químico por um biológico deve ser parte de uma política de manejo integrado, e não a garantia de sucesso do manejo da doença.

O uso do controle biológico de doenças de plantas, como ciência, teve início em 1926, com estudos sobre o agente causal da sarna comum da batata, *Streptomyces scabies*. Sendo que o termo “controle biológico” só foi usado pela primeira vez em 1931, em um artigo sobre a doença conhecida como mal-do-pé do trigo, causada por *Gaeumannomyces graminis* (Baker e Cook, 1974). Em 1983 Cook e Baker definiram o conceito de controle biológico como “a redução da soma de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocada por um fitopatógeno, realizada por ou através de um ou mais organismos que não o homem”. O princípio básico do controle biológico é fundamentado na ação exercida por determinados microrganismos, que eliminam, impedem ou reduzem o desenvolvimento de patógenos, através de uma interação tríplice, patógeno, planta hospedeira e agente antagonista, sob a influência do ambiente (Baker e Cook, 1974). O primeiro passo para alcançar o biocontrole eficaz é encontrar os potenciais agentes de biocontrole, o que necessita de vários estudos. De acordo com Lumsden e Locke (1989), para determinar os mecanismos, inerentes aos agentes de biocontrole, utilizados na supressão do patógeno, bem como efeitos ecológicos que interferem no controle da doença, são necessários estudos *in vitro* e *in vivo*.

O aumento na demanda por produtos biológicos para a proteção de plantas, no século XXI, tem levado pesquisadores do mundo inteiro a desenvolverem pesquisas na busca por microrganismos com potencial de biocontrole (Helbig, 2001; Santos e Marquina 2004; Thangavelu et al., 2004; Zhang et al., 2005; Pal e Gardener, 2007; Zhang, 2007b; Fischer *et al.*, 2010; Constanski, et al., 2015, Caveró et al., 2015). São várias espécies de microrganismos de biocontrole estudadas atualmente, entre fungos, bactérias, nematoides e leveduras. E entre essas, se destacam as espécies do gênero *Trichoderma*, capazes de inibir o desenvolvimento de vários patógenos, além de proporcionar aumento no tamanho das plantas, por facilitar a solubilização e absorção de nutrientes e induzir a resistência de plantas (Harman, 2000, 2011). Dos microrganismos utilizados como antagonistas para o controle de

fitopatógenos, 90% correspondem a diferentes isolados de *Trichoderma* spp. (Benítez et al., 2004).

***Trichoderma* spp.**

O gênero *Trichoderma*, pertence ao Reino Fungi, Filo Ascomycota, Classe Ascomycetes, Ordem Hypocreales, Família Hypocreaceae (Index Fungorum, 2016). Foi proposto em 1974 por Person, para fungos com um conjunto de características bem definidas, porém com espécies pouco delimitadas com base na morfologia. Amplamente distribuído por todo o mundo, esse gênero de fungo ocorre em quase todos os tipos de solo e ambientes naturais, especialmente naqueles contendo matéria orgânica. Muitas espécies de *Trichoderma* são também encontradas na rizosfera de plantas. Outras peculiaridades do gênero *Trichoderma* como: facilidade de ser cultivado e observado, rápido crescimento em um grande número de substratos e a não patogenicidade a plantas superiores, contribui para que seja o mais estudado (Papavizas, et al., 1982).

São fungos de vida livre, onde a maioria das estirpes são classificadas como fungos imperfeitos por não apresentar nenhuma fase sexual, ainda relatada (Monte, 2001, Harman et al. (2004a). Em nível morfológico, a identificação como gênero *Trichoderma* tem sido relativamente fácil (Küçük e Kivanç, 2003). No entanto, devido a grande variação das características morfológicas que definem uma espécie, o termo agregado de espécies tem sido usado pelos taxonomistas para definir grupos de espécies muito semelhantes morfológicamente (Samuels, 1996). A identificação de espécies e a diversidade genética de isolados individuais entre e dentro dos agregados de *Trichoderma*, tem sido realizadas por técnicas moleculares (Hermosa et al., 2000). A característica morfológica marcante de espécies de *Trichoderma* spp. é a presença inicial de micélio branco e com crescimento rápido, que posteriormente se torna cotonoso e compacto com tufo verdes. A coloração da colônia, no entanto, pode variar de acordo com a pigmentação e quantidade de conídios (Domsch et al. 1980). As hifas são hialinas, ramificadas e de parede lisa, onde os esporos de resistência, clamidósporos, presentes na maioria das espécies, são formados intercalados ou raramente nas pontas (Melo, 1991).

O uso de *Trichoderma* no controle biológico foi estudado pela primeira vez em 1934 por Weindling, no controle de *Rhizoctonia solani* Kühn e outros fungos de solo. Porém, a maioria dos trabalhos realizados na tentativa de obter isolados de *Trichoderma* spp. com potencial biotecnológico são relativamente novos. A importância biotecnológica atribuída a esse grupo de fungos é justificada pelo fato das espécies de *Trichoderma* desenvolverem-se em vários substratos e de não serem patogênicas para plantas superiores (Esposito e Silva, 1998). O antagonismo natural de espécies do gênero *Trichoderma* é reconhecido para vários fitopatógenos, sendo documentado com maior sucesso para patógenos de solo, como: *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Pythium* spp. (Mello, 1991; Harman, 2000). A eficiência de espécies de *Trichoderma* como antagonistas de fungos patogênicos está relacionada diretamente com a capacidade de estabelecimento e parasitismo sobre o patógeno, bem como se adaptar ao micro habitat, de ambientes diferentes dos quais foram isolados (Melo e Faull, 2000). No entanto, os mecanismos antagonistas de *Trichoderma*, são influenciados pelo tipo de solo, condições de temperatura e umidade, e, também, pela microflora associada (Howel, 2003).

De acordo com Vinale et al.(2008), as enzimas hidrolíticas produzidas pelo *Trichoderma*, degradam as moléculas liberadas pela planta, na presença do patógeno, fazendo com que o antagonista detecte o fitopatógeno. O antagonismo exercido por *Trichoderma*, após detecção do patógeno, é um processo complexo que pode ocorrer por diferentes mecanismos, como parasitismo, hiperparasitismo, micoparasitismo, competição, antibiose e indução de resistência (Benítez et al., 2004; Harman, 2000 ; Harman et al., 2004b; Hwang e Benson, 2002; Melo, 1998; Stadnik e Bettiol 2000). Entretanto, é muito provável que ainda existam outros mecanismos que não foram descobertos (Harman, 2000). Os antagonistas utilizam de diferentes mecanismos na tentativa de dominarem os patógenos durante as interações, os quais respondem de diferentes maneiras na tentativa de neutralizar a ação antagônica (Duffy et al., 2003). Nesse sentido, sabe-se que cada isolado de *Trichoderma* possui suas especificidades de ação o que possivelmente explica os diferentes resultados encontrados nos trabalhos.

O parasitismo, relação nutricional entre parasita e hospedeiro, onde o parasita é beneficiado com a obtenção de todo ou parte de seu alimento a partir

do hospedeiro, é geralmente substituído em mecanismo de ação de *Trichoderma* spp. por hiperparasitismo. O qual é classificado por Stadnik e Bettiol, (2000) como um nível mais elevado de parasitismo, onde o hospedeiro (patógeno), também é um parasita. Segundo Harman (2000), o potencial hiperparasítico de *Trichoderma* está relacionado com suas características de competição por espaço e suas atividades metabólicas. O potencial de hiperparasitismo de diferentes espécies de *Trichoderma* sobre isolados de fitopatógenos foi estudado por Sandoval e Lopes (2001). Eles observaram que as espécies de *Trichoderma* avaliadas exerceram o hiperparasitismo através, principalmente, da aderência, enrolamento, deformação citoplasmática e lise celular das hifas dos patógenos. No entanto, o sucesso no controle biológico não é garantido simplesmente pelo crescimento e o enrolamento de hifas, apesar de serem importantes na interação parasítica (Almeida, et al. 2007). Os autores relatam ainda a ação dos antagonistas através da degradação da parede celular dos patógenos. Contudo, o mecanismo de degradação das paredes celulares dos fungos patogênicos, através da enzima quitinase, produzida pelas espécies de *Trichoderma*, é denominado de micoparasitismo (Harman, 2000).

O micoparasitismo é o processo onde enzimas hidrolíticas (quitinases, proteases, glucanases e lipases) produzidas por muitos agentes de biocontrole degradam a parede celular do patógeno (Lorito et al, 1996). A habilidade antagonista de isolados de *Trichoderma* está relacionada diretamente às enzimas hidrolíticas extracelulares produzidas por esse fungo (Thrane et al, 2000). Devido à quantidade de proteínas e outros metabolitos envolvidos nessa interação, suspeita-se que existam de 20 a 30 genes envolvidos no processo de micoparasitismo (Harman et al., 2004a)

Outro mecanismo utilizado por *Trichoderma* spp., sendo considerado um dos clássicos de biocontrole, é a competição pelos nutrientes e espaço físico (Melo, 1996). A competição estabelecida por *Trichoderma* ao identificar a presença do patógeno, impede a germinação dos propágulos e diminui a infecção do fitopatógeno (Punja e Utkhrde, 2003). O rápido crescimento e colonização de substratos, excluindo o desenvolvimento de patógenos, tornam as espécies de *Trichoderma* competidoras agressivas. As altas taxas e acúmulo de CO₂ inerentes ao antagonista, também, podem estar relacionadas à eficiência da inibição do fitopatógeno (Marchetti et al, 1992). E de acordo com Harman (2000),

o pré estabelecimento do antagonista à chegada do patógeno, aumenta a efetividade do antagonismo.

A antibiose, outro mecanismo de antagonismo, talvez uns dos mais estudados no gênero *Trichoderma*, é definida como a interação na qual um ou mais metabólitos produzidos por um organismo têm efeito danoso sobre o outro (Stadnik e Bettiol, 2000). Os metabólitos voláteis e não-voláteis, usualmente denominados de antibióticos, produzidos por espécies de *Trichoderma* agem inibindo o crescimento e/ou germinação do patógeno, como comprovado por Erthur et al., (2001). Na avaliação de antagonismo de diferentes isolados de *Trichoderma* sp. obtidos de tomateiro, alface e fumo sobre *Sclerotinia sclerotiorum*, Erthur et al., (2001) observaram que o mecanismo de antibiose, foi o responsável pela inibição do desenvolvimento do patógeno. Várias substâncias com atividade antibiótica (Gliotoxina, viridina, trichodermina, suzucacilina, alameticina e dermadina), produzidas por *Trichoderma* são relatadas na literatura (Bastos, 1991).

A indução de resistência, onde as plantas expostas a moléculas eliciadoras ou agentes indutores, ativa seus mecanismos de defesa (Benhamou, 1996), é outro mecanismo de antagonismo a ser explorado em fungos do gênero *Trichoderma*. Os caminhos do processo ainda não foram todos elucidados, mas em muitos casos a indução está diretamente relacionada com o ácido salicílico, ácido jasmônico e etileno (Harman et al., 2004).

O uso de *Trichoderma* como controlador biológico tem sido uma área de muitos estudos, havendo relatos da eficiência de espécies de *Trichoderma* em suprimir patógenos, causadores de doenças de plantas. Zhang et al. (2004) estudaram o efeito inibitório de 150 isolados de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, *in vitro*, e observaram que destes, 39 apresentaram potencial de controle sobre Foc, através de micoparasitismo, inibição enzimática e lise. Já Nel et al. (2006) relataram uma leve supressão por uso de *Trichoderma* no controle Foc em ensaios de estufa, com a cultivar Chinesa Cavendish. A eficiência dos mecanismos de micoparasitismo, competição e antibiose de *Trichoderma* a fungo patogênico também foi relatada por Meza et al. (2008), *in vitro*, ao avaliarem o antagonismo de isolados de *Trichoderma harzianum* sobre isolados de *F. solani* associados à podridão do colo do maracujazeiro. Os mesmos autores verificaram que com dez dias dois isolados de *Trichoderma*

apresentaram maior competitividade por nutrientes em relação ao patógeno, com maior crescimento da colônia. Em relação ao grau de micoparasitismo, dos 12 tratamentos testados, cinco apresentaram micoparasitismo completo. Já para a antibiose, todos os isolados inibiram acima de 50% o crescimento do fungo *F. solani*. O efeito antagônico exercido por fungos do gênero *Trichoderma*, através da antibiose e metabólitos bioativos, também foi verificado por Isaias et al. (2014), sobre os fitopatógenos *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae*. Além disso, os autores relataram o efeito dos metabólitos secundários não-voláteis termoestáveis contra ambos os patógenos testados.

O entendimento dos mecanismos de ação envolvido no antagonismo de isolados *Trichoderma* sobre fitopatógenos é importante para a seleção de agentes de biocontrole eficientes, sem esquecer que esse potencial, também deve ser avaliado em condições de campo. Segundo Mello et al. (2007), os ensaios de cultura pareada constituem-se em um método importante e rápido para selecionar isolados promissores, através da antibiose e do micoparasitismo. E de acordo com Reino (2008), a eficácia do isolado em atuar como agente de biocontrole está implicado na produção de compostos que apresentam atividade antibiótica. Para Howell (2003), a melhor forma de se obter potenciais agentes de biocontrole, é isolar espécies de *Trichoderma* de solos e plantas onde há doença. Além do antagonismo sobre fungos fitopatogênicos, às espécies de *Trichoderma* também favorecem o desenvolvimento de plantas, comprovado em vários estudos (Filho et al., 2008; Harman et al., 2004b; Júnior et al., 2014). Em experimentos com a cultura do pepino, Melo (1996) demonstrou a eficiência de duas linhagens mutantes de *Trichoderma koningii*, antagônicas a *S. sclerotiorum*, em produzirem celulase e promoverem a emergência e acúmulo de massa seca em plântulas de pepino. Na cultura do feijão comum, em casa de vegetação e campo, Ogut et al. (2005) relataram ganhos em produção de sementes quando inoculadas com *T. harzianum*.

Apesar de todos esses estudos e informações sobre os mecanismos de ação das espécies de *Trichoderma* sobre os fitopatógenos, ainda falta elucidar pontos críticos sobre esses antagonistas, principalmente, quando levados para o campo. Pois os mecanismos de antagonismo empregados pelo *Trichoderma* são complexos e variam de acordo com as habilidades de cada isolado em interagir com o patógeno, a planta hospedeira e o ambiente (Howell, 2003).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAD, P.; CASTAGNONE-SERENO, P.; ROSSO, M. N.; ENGLER, J. A.; FAVERY, B. Invasion, feeding and development. In: Perry, R.; Moens, M.; Starr, J.L. **Root-knot Nematodes**. Cambridge, MA, USA, CABI International, 2009, p. 163-181.
- AGUDELO, F. V. NEMATODES. In: Schwartz, H.F.; Galvez, G.E. (Ed.). **Bean production problems**. Cali: CIAT, 1980, p. 315-326.
- AGUILAR MORAN, J. F. Improvement of Cavendish Banana Cultivars through conventional breeding. **Acta Horticulturae**. v. 986, p. 205-208, 2013.
- ALMEIDA, F.B.; CERQUEIRA, F.M.; SILVA, R. DO N.; ULHOA, C.J.; LIMA, A.L. Mycoparasitism studies of *Trichoderma harzianum* strains against *Rhizoctonia solani*: evaluation of coiling and hydrolytic enzyme production. **Biotechnology Letters**, Heidelberg, v. 29, n. 8, p. 1189-93, 2007.
- BAAYEN, R. P., O'DONNELL, K., BONANTS, P. J. M., CIGELNIK, E., KROON, L. P. N. M., ROEBROECK, E. J. A., WAALWIJK, C. Gene genealogies and AFLP analyses in the *Fusarium oxysporum* complex identify monophyletic and nonmonophyletic formae speciales causing wilt and rot disease. **Phytopathology**, v. 90, p. 891-900, 2000.
- BARKER, K.R., PEDERSON, G.A., WINDHAM, G.L. **Plant and Nematode Interactions**. ASA, CSSA, SSA Publishers, Madison, WI. 1998.
- BASTOS, C.N. Possibilidade do controle biológico da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis pernicioso*) do cacauero. In: Bettiol, W. (Org.) - **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna, Embrapa-CNPDA, 1991, p.333-344.
- BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Biological control of plant pathogens**. San Francisco: W.F. Freeman, 433 p., 1974.

BECKMAN, C.H. Host responses to the pathogen. In: PLOETZ, R.C. (Ed.), **Fusarium Wilt of Banana**. APS Press, American Phytopathological Society, St. Paul, MN., USA, 1990, p. 93-105.

BECKMAN, C.H. **The Nature of Wilt Disease of Plants**. APS Press, St. Paul, MN., USA, 175 pp, 1987.

BENHAMOU, N. Elicitor-induced plant defense pathways. **Trends in Plant Science**, v. 7, p. 233-240, 1996.

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

BENTLEY, S., PEGG, K.G., MOORE, N.Y., DAVIS, D.R., BUDDENHAGEN, I.W. Genetic variation among vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* analyzed by DNA fingerprinting. **Phytopathology**, v. 88, p. 1283-1293, 1998.

BUDDENHAGEN, I.W. Understanding strain diversity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* and history of introduction of „tropical race 4“ to better manage banana production. In: JONES, D.; VAN DEN BERGH, I. Proceedings of the International Symposium on Recent Advances in Banana Crop Protection for Sustainable Production and Improved Livelihoods, White River, South Africa. **ISHS Acta Horticulturae**, v. 828, p. 193–204, 2009.

CARNEIRO, R.M.D.G. Princípios e tendências do controle biológico de nematoides com fungos nematófagos. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.27, p.113-121. 1992.

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

CHIARAPPA, L. Possibility of supervised plant disease control in pest management systems. **FAO Plant Prot. Bull.** 22:65-68, 1974.

Chitiwood, B.G. Root-knot Nematodes. **A Revision of the Genus *Meloidogyne* Göeldi, 1887**. Proceeding of the Helminthological Society of Washington, v. 16, p. 90-104. 1949.

Constanski, K. C., Zorzetti, J., Boas, G. T. V., Ricietto, A. P. S., Fazon, F. A. P., Boas, L. V., Neves, P. M. O. J. Seleção e caracterização molecular de isolados de *Bacillus thuringiensis* para o controle de *Spodoptera* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 8, p. 730-733. 2015.

COOK, R.J.; BAKER, K.F. The nature and practice of biological control of plant pathogens. Saint Paul: **The American Phytopathological Society**, 1983. 539p.

COFCEWICZ, E. T.; CARNEIRO, R. M. D. G.; CATAGNONE-SERENO, P.; QUÉNÉHERVÉ, P. Enzyme phenotype and genetic diversity of root-knot nematode parasitizing *Musa* in Brazil. **Nematology**, v.6, n.1, p. 85-95, 2004.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P. Doenças. In: CORDEIRO, Z. J. M. **Banana Produção: Aspectos Técnicos**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 2000. 143 p.

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

CORRELL, J. C. The relationship between formae speciales, races, and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. **Phytopathology**, v. 81, p. 1061-1064. 1991.

COSTA, D.C. Doenças causadas por nematóides. In: Cordeiro, Z.J.M. **Banana. Fitossanidade**. Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, BA). Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000, p. 66-77.

COSTA, D. DA C.; SILVA, S. DE O.; ALVES, F.R. Reação de genótipos de bananeiras (*Musa spp.*) a *Rodopholus similis* e *Meloidogyne incognita*.

Nematologia Brasileira, Piracicaba, v. 22, n. 2, p. 49-57, 1998.

DAVIDES, R.G.; MARASIGAN, L.Q. Yield loss assessment and evaluation of resistance of banana cultivares to the nematodes *Radopholus similis* and *Meloidogyne incognita*. In: DAVIDE, R.G. **Studies on nematodes affecting bananas in the Philippines**. Los Banõs, laguna: Philippine Agriculture and resources Research Foundation, Inc., 1992. p. 79-93.

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

DIAS, M. S. C., SILVA, M. S.; LOPES, T. C.; RIBEIRO JUNIOR, P. M. Ocorrência de nematoides associados à bananeira na região norte de Minas Gerais.

Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 26, p. 499-500, 2001.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. **Compendium of soil fungi**. CRC Press, London, p. 630, 1980.

ETHUR, L. Z.; CEMBRANEL, C. Z.; SILVA, DA A. C. F. Seleção de *Trichoderma* spp. visando ao controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, in vitro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 5, p. 885-887, 2001.

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

FERRAZ, S.; FREITAS, L.G.; LOPES, E.A.; DIAS-ARIEIRA, C.R. **Manejo sustentável de fitonematoides**. Viçosa: Editora UFV, 2010. 304p

FILHO, M.R.C.; MELLO, S.C.M.; SANTOS, R.P.; MENÉZES, J.E. Avaliação de isolados de *Trichoderma* na promoção de crescimento, produção de ácido indolacético in vitro e colonização endofítica de mudas de eucalipto. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, 226, 2008. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

FISCHER, I. H.; ALMEIDA, A. D.; FILETI, M. D. S.; BERTANI, R. D. A.; ARRUDA, M. D.; BUENO, C. J. Avaliação de Passifloraceas, fungicidas e *Trichoderma* para o manejo da Podridão-do-colo do maracujazeiro, causada por *Nectria haematococca*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n.3, 709-717, 2010.

FOURIE, G., STEENKAMP, E.T, GORDON, T.R, VILJOEN, A. Evolutionary relationships among the vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, p. 4770 – 4781, 2009.

FREITAS, L.G., OLIVEIRA, R.D.L., FERRAZ, S. **Introdução à Nematologia**. 3^o ed. Viçosa: Editora, UFV, 2006, p.83.

FRISON, E.; SHARROCK, S. The economic, social and nutritional importance of banana in the world In: PICA, C.; FOURE, E.; FRISON, E. A. **Bananas and Food security**, (eds.), INIBAP, Montpellier, France, p. 21-35, 1998.

GOES, A.; MORETTO, K.C.K. Mal-do-Panamá. In: RUGGIEIRO, C. **Bananicultura**. v. 2, p. 122-128, 2001.

GOWEN, S.; QUÉNÉHERVÉ, P. Nematode of banana, plantains and abaca. In: Luc, M.; SIKORA, R.A.; BRIDGE, J. **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. England, Wallingford, CAB International, 1990. p. 431-460.

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

GULLINO M. L.; KUIJPERS L. A. M. Social and political implications of managing plant diseases with restricted fungicides in Europe. **Annual Review of Phytopathology**, v. 32, p. 559-579, 1994.

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

HARMAN, G. E. Multifunctional fungal plant symbionts: new tools to enhance plant growth and productivity. **New Phytologist**, v. 189, p. 647–649, 2011.

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

HARMAN, G.E.; PETZOLDT, R.; COMIS, A.; CHEN, J. Interactions between *Trichoderma harzianum* Strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. **Plant Physiology**, v. 94, n. 2, p. 146-153, 2004b.

HELBIG, J. Ability of the antagonistic yeast *Cryptococcus albidus* to control *Botrytis cinerea* in strawberry. **BioControl**, Dordrecht, v.47, n.1, p.85-99, 2002.

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

HUNT, D.J., HANDOO, Z.A. Taxonomy, identification, and principal species. In Roland N., Perry, Maurice Moens., James L. Starr. **Root-knot Nematodes**. CAB International. 2009, pp. 55–97.

HWANG, S.C.; KO, W.H. Cavendish banana cultivars resistant to *Fusarium* Wilt acquired through somaclonal variation in Taiwan. **Plant Disease**. 88: 580-588, 2004.

HWANG, J.; BENSON, D.M. Biocontrol of *Rhizoctonia* stem and root rot of poinsettia with Burkholderia and binucleate *Rhizoctonia*. **Plant Disease**, v. 86, p. 47-53, 2002.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/home/>>. Acesso em 08 de agosto de 2016.

Index Fungorum, 2016. Disponível em:

<<http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>> Acesso em 25 de maio de 2016.

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

JONES, D. R. **Diseases of Banana, Abacá and Enset**. CABI Publishing, Wallingford, UK, 2000.

JÚNIOR, A. F. C., DE OLIVEIRA, A. G., DOS SANTOS, G. R., DE BORJAS REIS, A. F., CHAGAS, L. F. B. Promoção de crescimento em feijão-caupi inoculado com rizóbio e *Trichoderma* spp. no cerrado. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 3, 190-199, 2014.

KARAMURA, D. A.; KARAMURA, E. B.; TINZAARA, W. Banana cultivar names, synonyms and their usage in Eastern Africa, Bioversity International, Uganda.

Cover photo: DA Karamura Bioversity International–Headquarters Via dei Tre Denari 472a, v. 57, 2012.

KISTLER, H. C. Genetic diversity in the plant–pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 87, n. 4, p. 474–479, 1997.

KOGAN, M. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary development. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 43, p. 243-270, 1998.

KÜÇÜK, Ç.; KIVANÇ, M. Isolation of *Trichoderma* spp. and determination of their antifungal, biochemical and physiological features. **Turk. J. Biol.**, v. 27, p. 247-253, 2003.

LESLIE, J. F. Genetic exchange within sexual and asexual populations of the genus *Fusarium*. In: PLOETZ, R. C. **Fusarium wilt of banana**. 2. ed. St. Paul, Minnesota: APS, 1990. p. 37-48.

LESLIE, J. F. Fungal vegetative compatibility. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 31, p. 127-150, 1993.

LOPES, R.B. A indústria no controle biológico: produção e comercialização de microrganismos no Brasil. In: BETTIOL, W. E MORANDI, M.A.B. (Ed.) - **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, 2009, p. 15–28.

LORITO, M., WOO, S.L., AMBROSIO, M.D., HARMAN, G.E., HAYES, C.K., KUBICEK, C.P. SCALA, F. Synergistic interaction between cell wall degrading enzymes and membrane affecting compounds. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 9, p. 206-213, 1996.

LUMSDEN, R.D; LOCKE, J.C. Biological control of damping-off caused by *Phytophthora ultimum* and *Rhizoctonia solani* in soilless mix. **Phytopathology**, v.79, p.361-366, 1989.

MARCHETTI, R., NIPOTI, P., D'ERCOLE, N.; GUERZONI, M.E. Competition at atmosphere level as biocontrol mechanism in *Trichoderma* spp. **Petria**, v. 2, p. 137-47, 1992.

MELLO, S.C.M.; ÁVILA, Z.R.; BRAÚNA, L.M.; PÁDUA, R.R.; GOMES, D. Cepas de *Trichoderma* spp. para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc.

Fitosanidad, Habana, v. 11, n. 1, p. 3-9, 2007.

MELO, I.S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I.S. E AZEVEDO, J.L. (Ed.) – **Controle Biológico**, v.1. Jaguariúna, Embrapa, 1998, p.17–60.

MELO, I. S.; FAULL, J. L. Tombamento de plântulas e controle biológico de *Rhizoctonia solani* e *Pythium* spp. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Eds.) **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa, v. 2, p. 237-262, 2000.

MELO, I. S. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. **Controle Biológico de Doenças de Plantas**, Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, p. 7-23., 1991

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

MEZA, C. L. S.; BARBOSA, R. J. F.; VALERO, N. O.; CARRILLO, R. M. G.; REDONDO, A. R. P. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., asociado a la marchitez en maracuyá. **Revista Colombiana de Biotecnología**. v. 10, n. 2, p. 35-43, 2008.

MOENS, M., PERRY, R. N., STARR, J. L. *Meloidogyne* Species – a diverse group of novel and important plant parasites. In: PERRY RN, MOENS M, STARR JL, eds. **Root-knot Nematodes**. Cambridge, MA, USA, CABI North America Office, 2009, p. 1-17.

MOLINA, A.B., VALMAYOR, R. V. Banana production systems in South East Asia. In: PICA, C.; FOURE, E.; FRISON, E. A. **Bananas and Food security**, (eds.), INIBAP, Montpellier, France, p. 423-436, 1998.

MONTE, E. Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. **International Microbiology**, v. 4, n. 1, p. 1-4, 2001.

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

MOURA, R. M. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte I. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, 1996, v. 4, p. 209-245.

NEL, B., STEINBERG, C., LABUSCHAGNE, N., VILJOEN, A. The potential of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* and other biological control organisms for suppressing fusarium wilt of banana. **Plant Pathology**, v. 55, n. 2, p. 217-223, 2006.

O'DONNELL, K.; CIGELNIK, E. A DNA sequence-based phylogenetic structure for the *Fusarium oxysporum* species complex. **Phytoparasitica**, v. 27, n. 69, p. 9, 1999.

O'DONNELL, K., KISTLER, H.C., CIGELNIK, E., PLOETZ, R.C. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. U.S.A, v. 95, p. 2044–2049, 1998.

Ogut, M, Akdag, C.; Duzdemir, O.; Ali Sakin., M. Single and double inoculation with *Azospirillum/Trichoderma*: the effects on dry bean and wheat. **Biology and Fertility of Soils**, Berlim, v. 41, n. 4, p. 262-272, 2005.

PAPAVIZAS, G.C.; LEWIS, J.A.; ABD-ELMOITY, T.H. Evaluation of new biotypes of *Trichoderma harzianum* for tolerance to Benomyl and enhanced biocontrol capabilities. **Phytopathology**, 72: 126-132, 1982.

PATEL, B.A.; R.V. VYAS; D.J. PATEL; R.S. PATEL. Susceptibility of banana cultivares to root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). **Infomusa**, Montpellier, v. 5, p. 26-27. 1996.

PERRIER, X.; et al. Multidisciplinary perspectives on banana (*Musa* spp.) domestication. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 28, p. 11311-11318, 2011.

PERRY, R.N., MOENS, M., STARR, F. J. Eds. 2009. **Root-Knot Nematodes**. CAB International, Wallingford, UK.

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

PLOETZ, R.C., HERBERT, J., SEBASIGARI, K., HERNANDEZ, J.H., PEGG, K.G., VENTURA, J.A., MAYATO, L.S. **Importance of Fusarium wilt in different banana-growing regions**. In: PLOETZ, R.C. (Ed.), *Fusarium Wilt of Banana*. APS Press, St. Paul, MN., USA, 1990, p. 9-26.

PLOETZ, R.C. Management of Fusarium wilt of banana: A review with special reference to tropical race 4. **Crop Protection**, USA, p.1-9, 2015.

PLOETZ, R. C., PEGG, K. G. Fusarium wilt. In: **Diseases of Banana, Abacá and Enset**. D. R. JONES, ed. CABI Publishing, Wallingford, UK, 2000, p. 143-159.

PLOETZ, R. C., PEGG, K. G. Fusarium wilt of banana and Wallace's line: Was the disease originally restricted to his Indo-Malayan region? **Australasian Plant Pathology**, v. 26, p. 239-249, 1997.

PLOETZ RC, ZENTMYER GA, NISHIJIMA W, ROHRBACH K, OHR HD. Compendium of Tropical Fruit Diseases. St. Paul, MN, APS Press, **The American Phytopathological Society**, p. 111, 1994.

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

RAGSDALE, N. N.; SISLER, H. D. Social and political implications of managing plant diseases with decreased availability of fungicides in the United States. **Annual Review of Phytopathology**, v. 32, p. 545-557, 1994.

RAKH R. R.; RAUT, L. S.; DALVI, S. M.; MANWAR, A. V. Biological control of *Sclerotium rolfsii*, causing stem rot of groundnut by *Pseudomonas cf. monteilii* 9. **Recent Research in Science and Technology**, v. 3, n. 3, p. 26-34, 2011.

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

RITZINGER, C.H.S.P.; BORGES, A.L.; LEDO, C.A.S.; CALDAS, R.S. Fitonematoides associados a bananais 'Pacovan' sob condição de cultivo irrigado: relação com a produção. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal- SP, v. 29, n. 3, p. 677-680, dezembro 2007.

SAMUELS, G. J. *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. **Mycological Research**, v. 100, n. 8, p. 923-935, 1996.

SANDOVAL, I.; LÓPEZ, M. O. Hiperparasitismo de *Trichoderma harzianum*, *T. viride* y *T. pseudokoningii* sobre diferentes hongos fitopatógenos. **Fitosanidad**, Marzo-Sin mes, v. 5, n. 1, p. 41-44, 2001.

SANTOS, A.; MARQUINA, D. Killer toxin of *Pichia membranifaciens* and its possible use as a biocontrol agent against grey mould disease of grapevine. **Microbiology**, Spencers Wood, v.150, n.8, p.2527-2534, 2004.

SASSER, J. N.; FRECKMAN, D. W. A world perspective on nematology: the role of the society. *In*: VEECH, J. A.; DICKSON, D. W. (Eds.) **Vistas on Nematology: A commemoration of the twenty-fifth anniversary of the society of nematologist**. DeLeon Springs: Society of Nematologist, p. 158-165, 1987.

SMITH, M.K., WHILEY, A.W., SEARLE, C., LANGDON, P.W., SCHAFFER, B., PEGG, K.G. Micropropagated bananas are more susceptible to *Fusarium* wilt than plants grown from conventional material. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 49, p. 1133-1139, 1998.

STADNIK, M.J. E BETTIOL, W.– Controle biológico de oídeos. *In*: MELO, I.S. AZEVEDO, J.L. (Ed.) - **Controle biológico**. v. 3. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, 2000, p. 95–112.

STOVER, R. H., BUDDENHAGEN, I. W. Banana breeding: Polyploidy, disease resistance and productivity. **Fruits**, v. 41, p. 175-191, 1986.

STOVER, R. H. Fusarial Wilt (Panama Disease) of Bananas and Other *Musa* Species. **Commonwealth Mycological Institute**, Kew, England, 1962.

STOVER, R.H, PLOETZ, R.C. Fusarium wilt of banana: some history and current status of the disease. **Fusarium Wilt of Banana**. APS Press, p 1–7, 1990.

SU HJ, HWANG SC, KO WH. Fusarial wilt of cavendish bananas in Taiwan. **Plant Disease**, v. 70, p. 814–818, 1986.

TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. Biology, identification and control of root-knot nematodes. **North Carolina State University Graphics**, 1978.

THANGAVELU, R., PALANISWAMI, A., VELAZHAHAN, R. Mass production of *Trichoderma harzianum* for managing Fusarium wilt of banana. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 103, p. 259–263, 2004.

- THRANE, C.; FUNCK JENSEN, D.; TRONSMO, A. Substrate colonization, strains competition, enzyme production in vitro, and biocontrol of *Pythium ultimum* by *Trichoderma* spp. Isolates P1 and T3. **European Journal of Plant Pathology**, v. 106, p. 215-20, 2000.
- THURSTON, H. D. **Tropical Plant Diseases**. 2nd ed. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN. 1997.
- TREICHEL, M.; KIST, B. B.; SANTOS, C. E.; CARVALHO, C.; BELING, R. R. **Anuário brasileiro da fruticultura**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2016, p. 88.
- VANDERPLANK, J.E. **Plant Diseases: Epidemics and Control**. Academic Press, 1963.
- VINALE, F., SVASITHAMPARAM, K., GHISALBERTI, E. L., MARRA, R., WOO, S. L.; LORITO, M. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. **Soil biology and biochemistry**, v. 40, p. 1-10, 2008.
- WAITE, B.H.; STOVER, R.H. Studies on Fusarium wilt of bananas, VI. Variability and cultivar concept in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Canadian Journal of Botany**, v. 38, p. 985–94, 1960.
- WANG, B.B., YUAN, J., ZHANG, J., SHEN, Z.Z., ZHANG, M.X., LI, R., et al. Effects of novel bioorganic fertilizer produced by *Bacillus amyloliquefaciens* W19 on antagonism of Fusarium wilt of banana. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, p. 435–446, 2013.
- WEIDLING, R. Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. **Phytopathology**, St Paul v. 24, p. 1153- 1179, 1934.

ZHANG, H. Y.; ZHENG, X. D.; FU, C. X.; XI, Y. F. Postharvest biological control of gray mold rot of pear with *Ryptococcus laurentii*. **Postharvest Biology and Technology**, Washington, v.35, n.1, p.79-86, 2005.

ZHANG, H.; ZHENG, X.; YU, T. Biological control of postharvest diseases of peach with *Cryptococcus laurentii*. **Food Control**, Oxford, v.18, n.4, p.287-291, 2007b.

ZHANG, Y.; LIU, K.; XIANG, M.; LIU, R. Studies on the Control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* with *Trichoderm*, **Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sciences)**, v. 30, p. 406-406, 2004.

ARTIGO 1**POTENCIAL ANTAGÔNICO DE *Trichoderma harzianum* AO *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*¹**

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico Biological Control, em versão na língua inglesa.

**Potencial antagônico de *Trichoderma harzianum* ao
Fusarium oxysporum f. sp. *cubense***

RESUMO: As espécies de *Trichoderma* são os principais microrganismos estudados no biocontrole de fitopatógenos. E a seleção de potenciais isolados depende da avaliação criteriosa e precisa. O objetivo do trabalho foi avaliar *in vitro* o potencial antagônico de *T. harzianum* (Tri81) sobre diferentes isolados fitopatogênicos de *Fusarium* spp e *in vivo* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Para isso, foram realizados testes de pareamento, antibiose e compostos voláteis, em placas de Petri contendo BDA, a 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Não foram observados efeitos do Tri sobre os fitopatógenos, para os testes de antibiose e compostos voláteis. Após 12 dias, da montagem do experimento, o antagonista reduziu acima de 90% o crescimento micelial de 17 isolados patogênicos dos 35 testados. Em casa de vegetação foram utilizadas cinco repetições e duas plantas por repetição para cada tratamento, denominados: Foc+Tri^{1°}; Foc+Tri^{2°}; Foc+Tri^{3°} (preparo do inóculo de Foc em meio areia-fubá e após uma, duas e três semanas, respectivamente, acrescentou-se o Tri81 no meio); Tri+Foc^{1°}; Tri+Foc^{2°} e Tri+Foc^{3°} (preparo do inóculo de Tri81 em meio areia-fubá e após uma, duas e três semanas, respectivamente, acrescentou-se o isolado de Foc 0801 no meio), além das duas testemunhas (Foc e Tri81). Foram avaliados os sintomas externos a partir de 34 dias após plantio (DAP) e os sintomas internos no decorrer do experimento e ao final dos 86 DAP. Os sintomas foram avaliados através de uma escala de notas e estas transformadas para Índice da doença pela formula de Mckinney's. Na avaliação interna dos sintomas, Tri+Foc^{2°} apresentou o menor ID, 36%, o que correspondeu a uma redução de 64% em relação à testemunha Foc. Para os sintomas externos, os tratamentos Tri+Foc^{2°} e Tri+Foc^{3°}, apresentaram as menores AACPD. Enquanto que os tratamentos Foc+Tri^{1°} e Foc+Tri^{3°} apresentaram as maiores AACPD e maiores ID para sintomas internos. O *T. harzianum* agiu sobre o patógeno através do micoparasitismo e competição por nutrientes e espaço.

Palavras chaves: mal-do-Panamá, biocontrole, *Musa* spp., murcha de Fusarium.

**Antagonistic potential of *Trichoderma harzianum* to
Fusarium oxysporum f. sp. *cubense***

ABSTRACT: *Trichoderma* species are the main microorganisms studied in the biocontrol of plant pathogens. And the selection of potential isolated depends on the thorough and accurate assessment. The objective of the work was evaluate *in vitro* the antagonistic potential of *T. harzianum* (Tri81) on different pathogenic isolates of *Fusarium* spp. and *in vivo* on *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. For this, were conducted tests of pairing, antibiosis and volatile compounds in Petri dishes containing PDA at 25°C and 12 hour photoperiod. No were observed effects of Tri on phytopathogens, for antibiosis tests and volatile compounds. After 12 days, the assembly of the experiment, the antagonist reduced over 90% mycelial growth of 17 pathogenic isolates of the 35 tested. In the greenhouse were used five replications and two plants per replication for each treatment, called: Foc + Tri^{1°}; Foc + Tri^{2°}; Foc + Tri^{3°} (preparation foc inoculum amid sand-cornmeal and after one, two and three weeks, respectively, added the Tri81 no middle); Tri + Foc^{1°}; Tri + Foc^{2°} and Tri + Foc³ (preparation Tri81 inoculum amid sand-cornmeal and after one, two and three weeks, respectively, was added to the isolated Foc 0801 in the middle), and the two witnesses (Foc and Tri81). We evaluated the external symptoms from 34 days after planting (DAP) and internal symptoms in the experiment course and at the end of the 86 DAP. Symptoms were assessed using a scale of notes and these transformed for disease index by Mckinney's formula. In the internal evaluation of symptoms, Tri + Foc^{2°} had the lowest ID, 36%, corresponding to a reduction of 64% compared to Foc witness. For external symptoms, treatments Tri + Foc^{2°} and Tri + Foc³, had the lowest AACPD. While treatments Foc + Tri^{1°} and + Foc Tri^{3°} showed the highest AACPD and larger ID for internal symptoms. *T. harzianum* acted on the pathogen through micoparasitismo and competition for nutrients and space.

Keywords: Panama disease, biocontrol, *Musa* spp., Fusarium wilt.

INTRODUÇÃO

O controle biológico tem assumido destaque nos últimos anos, no manejo de doença de plantas devido à demanda cada vez maior por sustentabilidade. O princípio básico do controle biológico é fundamentado na ação exercida por determinados microrganismos, que eliminam, impedem ou reduzem o desenvolvimento de patógenos através de uma interação tríplice, patógeno, planta hospedeira e agente antagonista, sob a influência do ambiente (Baker e Cook, 1974). A quantidade de microrganismos presentes na natureza e com potencial de serem utilizados no biocontrole tem permitido uma diversidade de pesquisas básicas que tem potencializado cada vez mais a seleção de bons biocontroladores. Portanto, buscar entender os diferentes mecanismos de ação do antagonista sobre os patógenos e/ou hospedeira, é indispensável em garantir o sucesso da pesquisa no manejo da doença.

Dentre os microrganismos mais estudados, fungos, bactérias, leveduras e nematoides, se destaca as espécies do gênero *Trichoderma* spp., com mais de 90% dos trabalhos (Benítez et al., 2004). A principal característica das espécies de *Trichoderma* é a capacidade de agirem diretamente sobre o patógeno, bem como de forma indireta favorecendo a hospedeira. Portanto, a presença do *Trichoderma* pode induzir resistência em plantas, proporcionar maior vigor vegetativo, aumentar a solubilização e absorção de nutrientes (Harman, 2000, 2011). Dentre os mecanismos de ação que atuam sobre os patógenos se destacam o micoparasitismo, produção de antibióticos e competição por nutrientes e espaço, podendo ocorrer simultaneamente. Vários trabalhos, recentes, com diferentes espécies de *Trichoderma*, vêm demonstrando bons resultados no controle de fitopatógenos (Louzada et al., 2009; Carvalho et al., 2011; El_komy et al., 2015). Chaves et al. (2016) comprovaram, *in vitro*, o potencial de isolados de *T. asperellum* na inibição do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*.

No entanto, faz necessário selecionar esses potenciais isolados de *Trichoderma* e entender melhor os mecanismos de ação utilizados por eles na supressão do patógeno, e portanto são necessários estudos *in vitro* e *in vivo*. Neste contexto, o objetivo do trabalho foi caracterizar o isolado 81 de *Trichoderma harzianum*, quanto aos mecanismos de ação, sobre diferentes espécies e *formae*

specialis de *Fusarium*, in vitro, e avaliar seu potencial antagônico na redução da severidade do mal-do-Panamá em bananeira ‘Maçã.

MATERIAL E MÉTODOS

Condução do experimento e material disponível

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitopatologia e em casa de vegetação da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas-BA. O isolado de *T. harzianum* (Tri-81) utilizado neste trabalho pertence à coleção de Microrganismos no controle biológico de Fitopatógenos do laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas-BA. Os isolados fitopatogênicos estudados são do gênero *Fusarium*, pertencem a três coleções: Coleção Biológica de trabalho de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* do Laboratório de Fitopatologia, Coleção Biológica de trabalho de microrganismos fitopatogênicos e de biocontrole do Laboratório de Fitopatologia, ambas da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas-BA e Coleção de Culturas de Fungos Fitopatogênicos “Prof. Maria Menezes, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CMM), Recife-PE (Tabela 1). Os isolados foram reativadas em meio batata dextrose-ágar (BDA) e tiveram a patogenicidade avaliada e confirmada antes dos ensaios.

Teste de antagonismo em pareamento

Em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo meio de cultura Batata dextrose ágar (BDA) foram colocados dois discos de micélio de 5 mm de diâmetro, em lados opostos e a uma distância de 1 cm da borda da placa, sendo um do patógeno (*Fusarium* spp) e outro do isolado de *T. harzianum*. Como testemunhas foram confrontadas as colônias entre si. As avaliações iniciaram após quatro dias de incubação e as colônias permaneceram incubadas a temperatura de 25 °C por 12 dias em fotoperíodo de 12 horas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado - DIC, com 37 tratamentos e cinco repetições.

Tabela 1 – Isolados de *Fusarium* spp. e *Trichoderma harzianum*, com os respectivos códigos, classificação taxonômica, ano de obtenção, local de origem, hospedeiro e substrato, utilizados nos ensaios.

Código	Antagonista/ Patógenos	Isolamento			
		Ano	Local	Hospedeiro	Substrato
Tri-81	<i>T. harzianum</i>	2015	x	Plantio Sisal	Solo
0801	Foc-raça1	2014	Cruz das Almas-BA	Maçã	Pseudocaulo
33A	Foc	2011	Tancredo Neves-BA	Maçã	Pseudocaulo
61A	Foc	2011	Bom J. Da Lapa-BA	Maçã	Pseudocaulo
83A	Foc	2011	Guanambi-BA	Prata anã	Pseudocaulo
114A	Foc	2011	Itajuípe-BA	Prata	Pseudocaulo
127A	Foc	2011	Mampituba-RS	Prata	Pseudocaulo
140A	Foc	2011	Três Cachoeiras-RS	Prata	Pseudocaulo
172A	Foc	2013	Corupá-SC	Nanicão	Pseudocaulo
212A	Foc	2014	Vale do Ribeira-SP	Prata Zulú	Pseudocaulo
218A	Foc	2014	Eldorado-SP	Nanica	Pseudocaulo
227A	Foc	2014	Eldorado-SP	Prata	Pseudocaulo
273A	Foc	2014	Jacupiranga-SP	Prata	Pseudocaulo
283A	Foc	2014	Vale do Ribeira-SP	Prata	Pseudocaulo
15B	Foc	2011	Jaíba-MG	Prata anã	Pseudocaulo
21B	Foc	2011	Porteirinha-MG	Prata anã	Pseudocaulo
41B	Foc	2011	Juazeiro-BA	Maçã	Pseudocaulo
139B	Foc	2011	Três Cachoeiras-RS	Prata	Pseudocaulo
165B	Foc	2013	Corupá-SC	Nanicão	Pseudocaulo
217B	Foc	2014	Eldorado-SP	Nanica	Pseudocaulo
240B	Foc	2014	Eldorado-SP	Prata	Pseudocaulo
260B	Foc	2014	Jacupiranga-SP	Prata	Pseudocaulo
264B	Foc	2014	Vale do Ribeira-SP	Prata	Pseudocaulo
287B	Foc	2014	Rio Novo-SC	Prata	Pseudocaulo
306B	Foc	2014	Rio Novo- SC	Cavendish	Pseudocaulo
168C	Foc	2013	Corupá-SC	Nanicão	Pseudocaulo
259C	Foc	2014	Jacupiranga-SP	Prata	Pseudocaulo
294C	Foc	2014	Santa Catarina	Prata	Pseudocaulo
CMM0005	Fot	2011	São João-PE	Feijão caupi	Caule
CMM0800	For	2007	Irecê-BA	Mamona	Caule
CMM4115	Foly	2011	Gama-DF	Tomate	Caule
CMM3576	Fol	2012	Campinas-SP	Alface	Caule
CMM1437	Fov	x	Campina Grande-PB	Algodão	Caule
CMM0732	Fot	1998	Floresta-PE	Feijão caupi	Caule
CMF 0509	<i>F.guttiforme</i>	2014	Turiação-MA	Abacaxi	Fruto
CMF 0306	<i>F.solani</i>	2015	CNPMF-BA	Maracujá	Caule
FOP 04	Fop	2015	Dom Basílio -BA	Maracujá	Caule

*Foc- *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*; Fot- *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*; Fol- *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae*; Foly - *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*; Fop- *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*; For-*Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini*; Fov-*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*.

O potencial antagônico do isolado de *T. harzianum* foi avaliado mediante aplicação da escala de notas de 1 a 5, proposta por Bell et al. (1982), sendo nota 1- sobreposição de *T. harzianum* que colonizou a superfície total do meio, e reduziu a colônia de *Fusarium* spp; 2- sobreposição de *T. harzianum* que colonizou pelo menos 2/3 da superfície do meio; 3 - *T. harzianum* e *Fusarium* spp. colonizaram mais que 1/3 e, menos que 2/3 da superfície do meio; 4 - *Fusarium* spp colonizou ao menos 2/3 da superfície do meio e resistiu a invasão por *T. harzianum*; 5- sobreposição do *Fusarium* spp, que colonizou toda a superfície do meio. A avaliação do crescimento micelial dos patógenos foi realizada após 12 dias. Para o cálculo da percentagem de inibição da colonização, foi aplicada a fórmula: % inibição = $[(crtest - crtrat) / crtest] \times 100$, onde: crtest = crescimento radial testemunha; crtrat = crescimento radial tratamento (MENTEN et al., 1976). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas mediante teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, com o auxílio do programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

Teste de antibiose

A avaliação do potencial de antibióticos produzidos pelo isolado de *T. harzianum* na inibição do crescimento micelial dos isolados de *Fusarium* spp. foram colocados discos de membrana de celofane (9 cm de diâmetro) em placas de Petri na superfície do meio de cultura BDA. Sobre o celofane, discos de micélio de *T. harzianum* foram colocados no centro da placa (DENNIS e WEBSTER, 1971). As placas com as colônias foram mantidas em BOD por 48 horas a 25°C, em fotoperíodo de 12 horas. Após esse período, o diâmetro médio das colônias foi demarcado e os discos de celofane juntamente com a colônia de *T. harzianum* foram removidos das placas. Para eliminar possíveis estruturas do agente de biocontrole remanescentes nas placas, um ml de clorofórmio foi adicionado na tampa das placas de Petri, as quais permaneceram viradas no interior da capela de exaustão. Após a volatilização do reagente as placas foram transferidas para a câmara de fluxo laminar, permanecendo por 30 minutos sob irradiação direta de luz ultravioleta. Em seguida, 200 µl de suspensão aquosa de conídios de cada isolado de *Fusarium* spp., na concentração de 10⁵/ml, foi adicionado sobre a superfície do meio de cultura. Essas suspensões foram obtidas de colônias

previamente cultivadas em meio de cultivo BDA, por sete dias, a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas. O mesmo procedimento foi realizado nos tratamentos controle, consistindo de cultivo de *Fusarium* spp. e subsequente cultivo de suspensão contendo conídios de *Fusarium* spp, o mesmo no isolado de *T. harzianum*.

As placas foram mantidas a 25 °C, fotoperíodo de 12 horas, por cinco dias quando foi avaliada a presença ou ausência do halo de inibição ao crescimento dos isolados de *Fusarium* spp., em decorrência do pré-cultivo do isolado de *T. harzianum*. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 37 tratamentos e três repetições.

Efeito de compostos voláteis

Na avaliação do efeito dos compostos voláteis produzidos pelo isolado de *T. harzianum* sobre os isolados de *Fusarium* spp. o ensaio experimental seguiu a metodologia de Dennis e Webster (1971). Duas bases de placas de Petri de nove cm de diâmetro contendo BDA receberam, individualmente, discos de cinco mm de diâmetro das culturas do patógeno e do antagonista e em seguida foram sobrepostas e unidas com filme de PVC transparente. Como controle, foram sobrepostas duas bases contendo o patógeno. As placas foram incubadas em BOD a 25°C sob fotoperíodo de 12 horas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 37 tratamentos e cinco repetições.

A avaliação do crescimento micelial foi realizada após 10 dias ou após completa colonização da superfície do meio pelos isolados de *Fusarium* spp. nas placas controles, com medição do diâmetro da colônia. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, com o auxílio do programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

Teste de antagonismo in vivo

O experimento foi conduzido na casa de vegetação da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas-BA, de julho a setembro, período no qual foram observadas temperaturas variando de 18,8°C a 28,9°C com uma média de 22,3°C (Estação Meteorológica Convencional de Cruz das Almas).

No teste de antagonismo in vivo os isolados do antagonista e do patógeno (Tri-81 e Foc 0801), foram multiplicados em placas de Petri com meio de cultura BDA durante 10 dias, em BOD a temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Após esse período, 80 sacos plásticos contendo 300 gramas de meio de cultura areia-fubá, foram separados em dois lotes de 40 sacos e cada lote foi infestado com *T. harzianum* ou Foc. A infestação foi realizada por meio da inoculação de dez discos de cinco mm de diâmetro, do meio de cultura BDA contendo micélio de Tri-81 ou Foc 0801. O meio de cultura areia-fubá foi preparado com 250g de areia lavada, 50g de fubá de milho e 50 ml de água destilada e autoclavada, sendo esterilizado em autoclave durante três dias consecutivos a temperatura 120°C e pressão de 1atm por 20 minutos, antes da inoculação dos fungos.

Uma semana após a inoculação do patógeno e do antagonista no meio de cultura iniciou-se os tratamentos: foram acrescentados 10 discos de Tri-81 em 10 sacos contendo Foc (Foc1°) e 10 discos de Foc em 10 sacos contendo Tri-81 (Tri1°). Após duas semanas mais 10 sacos contendo apenas Foc foram inoculados com 10 discos de Tri-81 (Foc2°) e 10 contendo apenas Tri-81 foram inoculados com 10 discos de Foc (Tri2°). O último tratamento foi realizado após três semanas, onde se inoculou 10 discos de Tri-81 em 10 sacos contendo apenas Foc (Foc3°) e 10 discos de Foc em 10 sacos contendo meio de cultura inoculado apenas com Tri-81 (Tri3°). Os 20 sacos restantes, dos quais 10 contendo apenas Foc e 10 apenas Tri-81 foram utilizados como testemunhas.

Os sacos contendo Foc e/ou Tri-81 permaneceram incubados em BOD a 25°C e fotoperíodo de 12 horas, durante 30 dias a partir da primeira infestação do meio de cultura com o antagonista ou o patógeno. Após esse período o substrato areia-fubá com *T. harzianum* e/ou *F. oxysporum* f. sp. *cubense* raça1 foi transferido para copos plásticos de 200 ml, em casa de vegetação, onde foram cultivadas mudas de bananeira. Foram utilizadas mudas micropropagadas da cultivar 'Maçã' (Grupo AAB) altamente suscetível ao Foc (Cordeiro, et al., 1993), com 15 cm de altura.

A avaliação da severidade da doença se deu com a observação dos sintomas externos, a qual foi avaliada a partir de 34 dias após plantio (DAP), em intervalos de sete dias durante 86 dias, seguindo a metodologia de escala de notas proposta por Dita, et al., (2014), sendo: 1: sem sintomas; 2: amarelecimento inicial em folhas velhas; 3: amarelecimento de folhas velhas com descoloração

inicial em folhas jovens; 4: todas as folhas com intenso amarelecimento; 5: planta morta. Já a avaliação da descoloração do rizoma foi realizada no decorrer do experimento, após a morte das mudas, e ao final dos 86 DAP, por meio da escala de notas descrita por Cordeiro *et. al.* (1993), variando de 0 a 5 onde: 0 - rizoma completamente sadio; 1 – pontos isolados de infecção; 2 – infecção atingindo até 1/3 do anel (região de formação das raízes, onde a infecção se estabelece no rizoma); 3 – infecção atingindo de 1/3 a 2/3 do anel; 4 – infecção atingindo mais de 2/3 do anel e 5 – infecção generalizada. A partir dessas notas, foram calculados os índices da doença (ID), para sintomas externos e internos, utilizando a formula de Mckinney's (Mckinney, 1923), onde $ID (\%) = 100 \cdot \frac{\sum(f.v)}{(n.x)}$, sendo ID - índice de doença; f - numero de plantas com a mesma nota; v – nota observada; n - numero total de plantas avaliadas e x - nota máxima da escala. Para o desenvolvimento da doença ao longo do tempo (sintomas externos), calculou-se a área abaixo da curva de progresso de severidade da doença.

O experimento foi delineado em blocos casualizados (DBC) com oito tratamentos e cinco repetições, sendo que cada repetição era composta por duas unidades amostrais. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas mediante teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, com o auxílio do programa SISVAR (Ferreira, 2011).

RESULTADOS

Testes de antagonismo *in vitro*: pareamento direto, antibiose e compostos voláteis.

Os tratamentos controles apresentaram um crescimento radial regular, no entanto, para os tratamentos duplos foram observados diferentes graus de colonização dos patógenos pelo isolado 81 de *T. harzianum* (Figura 1).

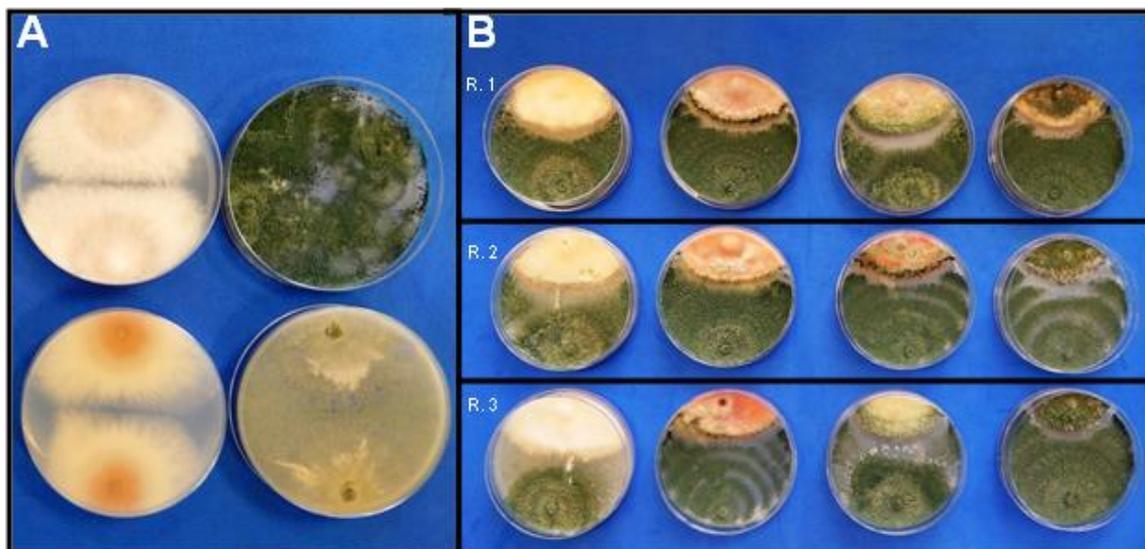


Figura 1. Padrão de colonização de *Trichoderma harzianum* e *Fusarium* spp. após 12 dias de crescimento. A – Tratamentos controle com crescimento radial regular, frente e verso da placa, à esquerda *Fusarium* spp. e a direita *T. harzianum*. B - Diferentes interações em pareamento duplo de *T. harzianum* x *Fusarium* spp. (R1, R2 e R3) repetições.

O grau de antagonismo de *T. harzianum*, independente do tempo de avaliação, variou de acordo com cada isolado de *Fusarium* spp., não sendo evidenciados os graus quatro e cinco, que consistem na colonização de pelo menos 2/3 e total da placa, respectivamente, pelo patógeno (Tabela 2). Com quatro dias os efeitos antagônicos sobre os patógenos foram observados em 26 isolados, dos 35 testados. Apenas nove isolados (Foc212A, Foc217B, Foc139C, Foc41B, Foc21B, Foc273A, Foc33A, Foc61A e CMM0732) não sofreram nenhum efeito do antagonista na primeira avaliação. No entanto, na segunda avaliação com oito dias, esse número reduziu em apenas três isolados (Foc33A, Foc61A e CMM0732). Na última avaliação, aos 12 dias após o pareamento, o antagonismo foi mais pronunciado, sendo observado o grau um de antagonismo, que consiste na colonização total do patógeno pelo antagonista, em 12 dos 37 isolados testados.

Após 12 dias, da montagem do experimento, o antagonista reduziu acima de 90% o crescimento micelial de 17 isolados patogênicos dos 35 testados (Tabela 1). Sendo que desses, 12 tiveram 100% de redução na colonização do meio de cultura. Apenas seis isolados de *Fusarium* spp. (Foc21B, CMM0732, Foc273A, CMM3576, Foc33A e Foc61B), não tiveram o crescimento micelial afetado pelos efeitos antagônicos, em relação às testemunhas. Quanto à ação de

antibióticos e compostos voláteis, não se verificou efeitos sobre o crescimento micelial de *Fusarium* spp. (Figura 2 e 3).

Tabela 2. Grau de antagonismo (GA) em diferentes tempos de acordo com escala de Bel et al. (1982) e percentagem de inibição da colonização (%IC) de *Fusarium* spp., exercido por *Trichoderma harzianum*.

Tratamentos	<i>Trichoderma harzianum</i>			% IC
	GA 4ºDIA	GA 8ºDIA	GA 12ºDIA	
Foc 15B	2,0	2,0	1,0	100 a
Foc 264B	2,4	2,0	1,0	100 a
Foc 0801	2,6	2,4	1,0	100 a
Foc 227A	2,0	2,0	1,0	100 a
Foc 283A	2,0	2,0	1,0	100 a
<i>F. guttiforme</i>	2,0	2,0	1,0	100 a
Foc 83A	2,2	2,0	1,0	100 a
Foc 168C	2,4	2,2	1,0	100 a
Foc 218A	2,4	1,8	1,0	100 a
Foc 240B	2,8	2,4	1,0	100 a
CMM 0005	2,2	2,0	1,0	100 a
<i>F. solani</i>	1,6	1,6	1,0	100 a
Foc 212A	3,0	2,0	1,2	96,5 a
Foc 172A	2,4	1,4	1,2	91,4 a
Fop 04	1,8	1,6	1,4	91,4 a
Foc 259C	2,2	2,0	1,4	90,8 a
Foc 287B	2,2	2,0	1,6	90,3 a
Foc 140A	2,0	1,6	1,6	81,1 b
CMM 4115	2,2	1,6	1,6	65,1 b
Foc 306B	1,8	1,8	1,8	82,3 b
Foc 294C	2,0	2,0	1,8	76,6 d
Foc 260B	2,2	2,0	2,0	47,4 c
Foc 217B	3,0	2,0	2,0	47,4 c
Foc 114A	2,2	2,0	2,0	44,3 c
Foc 127A	2,0	2,0	2,0	42,6 c
CMM 1437	2,4	2,4	2,0	41,7 c
Foc 165B	2,8	2,4	2,4	34,8 d
Foc 139C	3,0	3,0	2,4	27,4 d
Foc 41B	3,0	2,8	2,6	29,1 d
Foc 21B	3,0	2,6	2,6	15,4 e
CMM 0732	3,0	3,0	2,8	17,1 e
Foc 273A	3,0	2,8	2,8	16,6 e
CMM 3576	2,8	2,8	2,8	10,8 e
Foc 33A	3,0	3,0	3,0	8,0 e
Foc 61A	3,0	3,0	3,0	7,7 e
Testemunha	3,0	3,0	3,0	0,0 e
<i>T. harzianum</i>	3,0	3,0	3,0	0,0 e
CV(%)				16,92

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

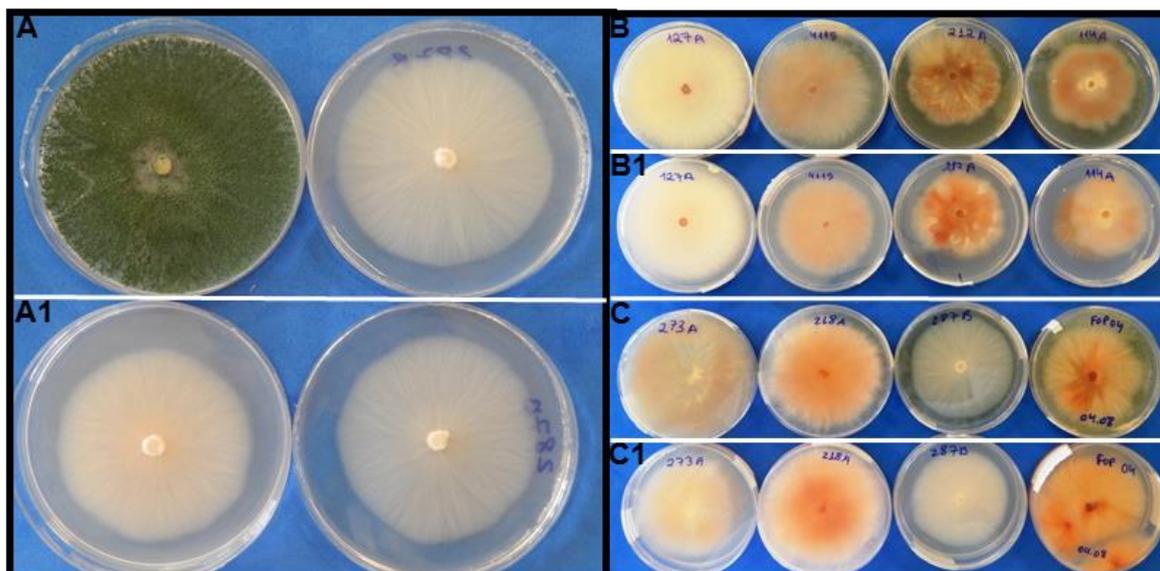


Figura 2. Efeito de compostos voláteis de *T. harzianum* sobre diferentes espécies e formas especiais de *Fusarium*. A - Teste com *T. harzianum* na base da placa e Foc na tampa; A1 - Controle com Foc na base e na tampa da placa; B e C - Testes com *T. harzianum* na base e *Fusarium spp.* na tampa; B1 e C1 - Controle com *Fusarium spp.* na base e na tampa da placa de Petri.

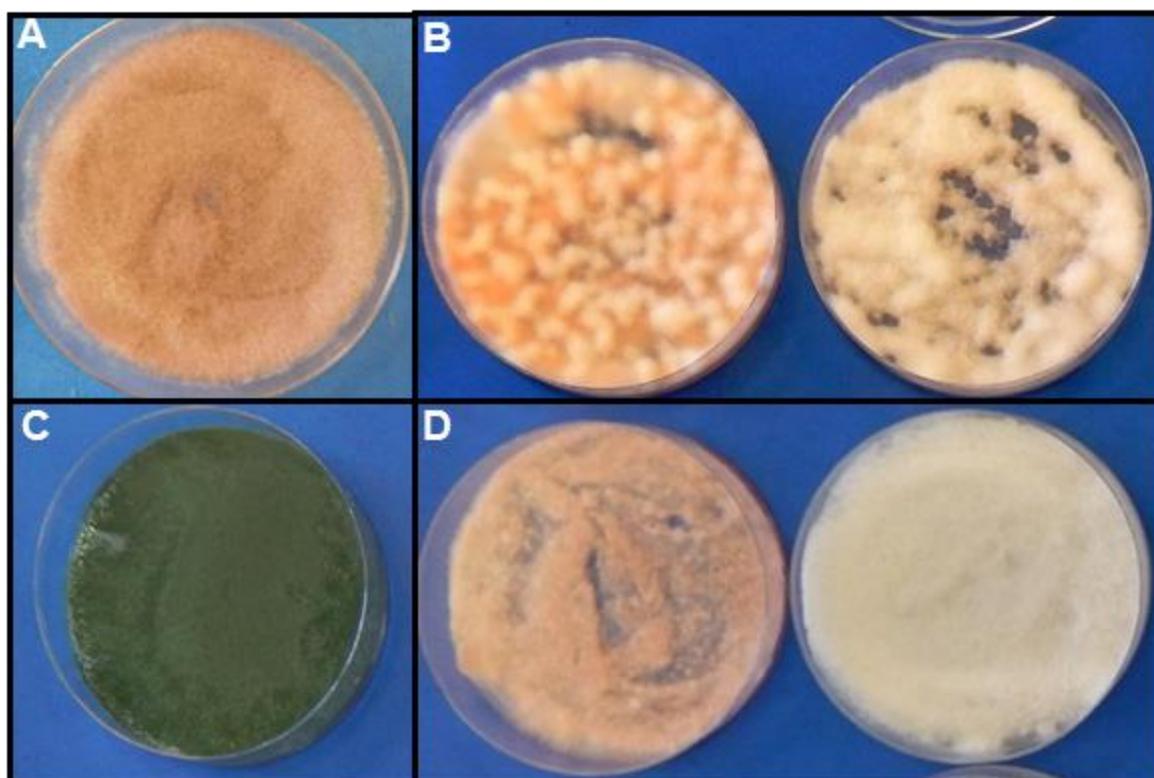


Figura 3. Teste de antibiose em meio de cultura BDA, a 25°C e fotoperíodo de 12 horas. A - Crescimento micelial de *Fusarium spp.* após o cultivo de *Fusarium spp.* sobre celofane em meio de cultura BDA; B e D - Crescimento micelial de *Fusarium spp.* após o cultivo de *T. harzianum* sobre celofane em meio de cultura BDA; C - Crescimento micelial de *T. harzianum* após o cultivo de *T. harzianum* sobre celofane em meio de cultura BDA.

Teste de antagonismo em casa de vegetação

Com 34 dias após o plantio (DAP) os primeiros sintomas externos de mal-do-Panamá foram observados na testemunha Foc e nos tratamentos, Foc1° e Foc3°, os quais apresentaram um índice de doença (ID) de 40, 15 e 10%, respectivamente (Figura 4). Aos 40 DAP o tratamento Foc2° apresentou os primeiros sintomas externos do patógeno com 2,5% de ID, seguido do Tri1° que 48 DAP apresentou ID de 2,5%. Os tratamentos Tri2° e Tri3° retardaram em 41 e 34 dias, respectivamente, a manifestação de sintomas externos e reduziram em 80% o ID em relação à Foc e Foc3° aos 89 DAP. Os maiores ID, em relação aos sintomas externos, foram apresentados por Foc, Foc1° e Foc3°, os quais apresentaram as maiores AACPD, 89 DAP (Figura 4 e 5).

Os tratamentos Foc2° e Tri1° reduziram a AACPD em relação à Foc, Foc1° e Foc3°. Entretanto as menores AACPD foram observadas nos tratamentos Tri2° e Tri3°, que reduziram em 44,5 e 27,6 vezes, respectivamente, o valor da AACPD em relação à testemunha Foc (Figura 5). Não foram observados sintomas externos de mal-do-Panamá na testemunha Tri.

Em relação ao ID para sintomas internos, não houve diferença significativa entre a testemunha Foc e os tratamentos Foc1°, Foc2° e Foc3° (Figura 6). Já os tratamentos Tri1° e Tri3° reduziram significativamente o ID em relação à testemunha em 50 e 54%, respectivamente. O menor ID entre os tratamentos foi observado no Tri2°, com uma redução de 64% em relação à testemunha Foc. A testemunha Tri não foi inoculada com o patógeno, conseqüentemente apresentou 0% de ID (Figura 6).

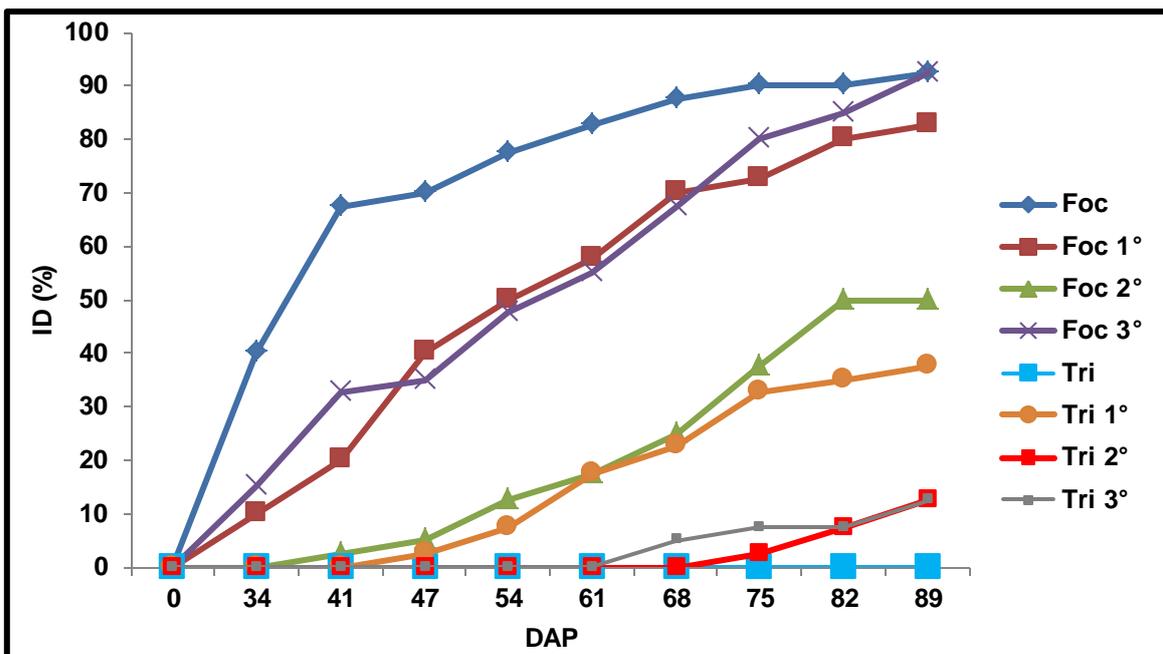


Figura 4. Curvas de progresso da doença expressas em percentagem do índice de doença (ID) calculado a partir de sintomas externos de Foc em mudas de bananeira 'Maçã', cultivadas em casa de vegetação durante 89 dias.

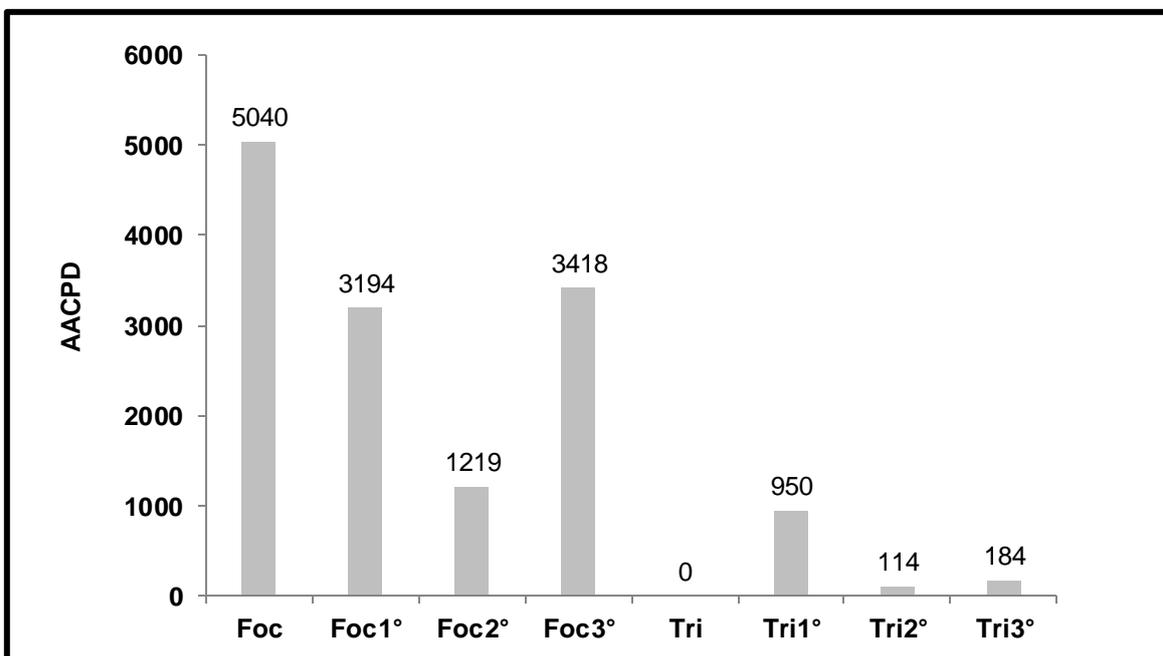


Figura 5. Áreas abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), calculadas a partir do índice de doença para sintomas externos de Foc em mudas de bananeira 'Maçã', cultivadas em casa de vegetação durante 89 dias.

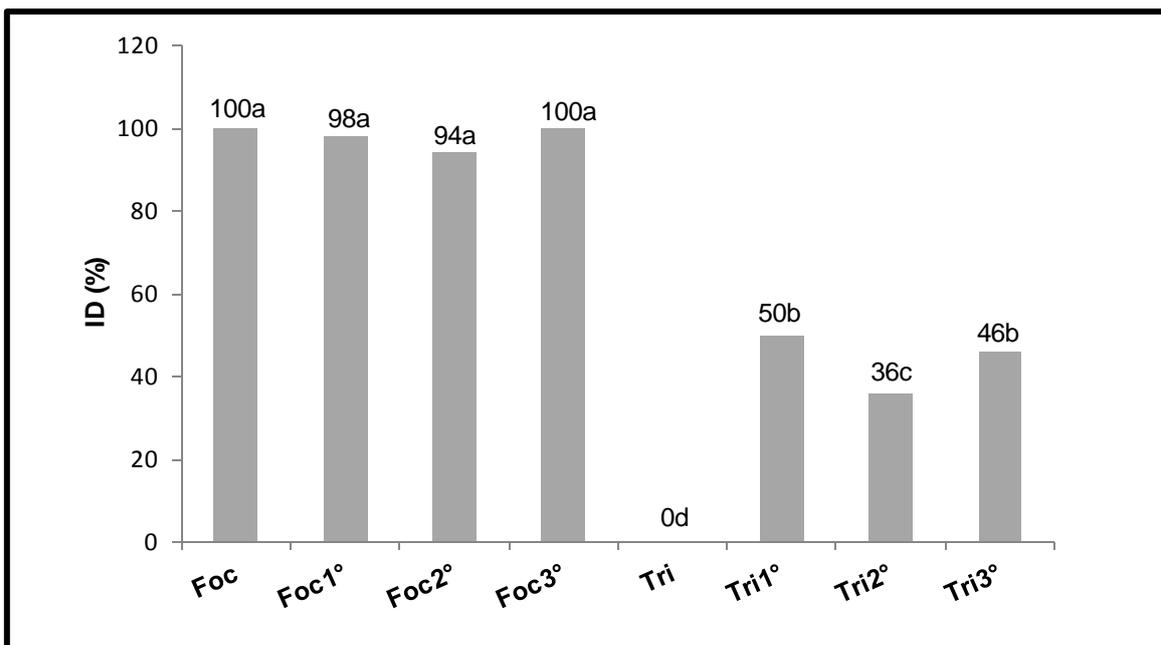


Figura 6. Índices de doença (ID) calculados a partir de sintomas internos de Foc em mudas de bananeira 'Maçã' cultivadas em casa de vegetação, 89 DAP.

DISCUSSÃO

Em ensaios de biocontrole com o uso de *Trichoderma* spp., os testes *in vitro* são práticos, rápidos e essenciais em identificar o potencial do isolado, seja por meio da produção de antibióticos, metabólitos voláteis, micoparasitismo ou competição direta por nutrientes. De acordo com Gang et al. (2013) apenas os isolados que exibem características antagônicas em meio de cultura, devem ser escolhidos para a próxima etapa, *in vivo*. Entretanto, nem sempre o potencial dos agentes de biocontrole, observado *in vitro*, se repete em casa de vegetação ou campo. Uma vez que os mecanismos empregados pelos agentes de biocontrole são complexos e dependem da interação entre antagonista, patógeno e planta hospedeira (Howell et al., 2003).

Neste trabalho os resultados *in vitro* mostraram que o agente de biocontrole testado apresentou diferentes graus de antagonismo sobre os isolados de *Fusarium* spp., através do micoparasitismo e/ou competição por nutrientes. Durante o processo de vida do antagonista os mecanismos de controle biológico podem ocorrer simultaneamente (Martins-Corder e Melo, 1998). O micoparasitismo pode fazer com que ocorra a desintegração das paredes celulares do micélio fitopatogênico e causar a morte do patógeno (Howell, 2003; Woo et al, 2006; Vinale et al, 2008).

Os resultados obtidos nesse trabalho são coerentes com os resultados obtidos por Carvalho et al. (2011), que verificaram atividade antagonista de seis isolados de *T. harzianum* sobre *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*, sendo que destes, três apresentaram colonização total sobre o patógeno. De acordo com Vinale et al., (2008) a redução do crescimento de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* em meio de cultura está associada ao micoparasitismo e/ou competição por nutrientes. O antagonismo *in vitro*, também foi verificado por El_komy et al, (2015) quando avaliaram isolados de *T. asperellum* pareados com isolados de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Os mesmos autores verificaram que seis dos 30 isolados testados, reduziram em média, 68 a 71% o crescimento micelial do patógeno. De forma análoga, Louzada et al. (2009), verificaram antagonismo de 50 isolados de *Trichoderma* contra *Fusarium solani*. Em relação à Foc, Chaves et al. (2016) comprovaram, *in vitro*, o potencial de isolados de *Trichoderma asperellum* na inibição do crescimento micelial.

Várias substâncias com atividade antibiótica (Gliotoxina, viridina, trichodermina, suzucacilina, alameticina e dermadina), produzidas por *Trichoderma* são relatadas na literatura (Bastos, 1991). De acordo com Martins-Corder e Melo, (1998) a capacidade em produzir tais substâncias e o seu efeito fungicida pode variar entre espécies e entre isolados da mesma espécie de antagonista. A antibiose tem sido considerada um dos principais mecanismos de ação desses microrganismos (Reino et al., 2008). Mas, especificamente para esse trabalho não foi verificado efeito desses metabólitos sobre os isolados patogênicos, avaliados através de teste de antibiose e compostos voláteis. Ao contrário do trabalho de Dubey et al. (2007), onde relataram resultados positivos de metabólitos voláteis, produzidos por *T. harzianum* sobre *F. oxysporum* f.sp. *ciceris*. O efeito antagônico exercido por fungos do gênero *Trichoderma*, através da antibiose e metabólitos bioativos, também foi verificado por Isaias, et al. (2014), sobre os fitopatógenos *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae*. Quando vários mecanismos de ação estão presentes em um mesmo isolado, maior será a chance de eficácia no controle do fitopatógeno (Infante et al., 2009).

Os diferentes graus de antagonismo de *T. harzianum* sobre os isolados de Foc, observados no pareamento direto, está relacionado com a variabilidade genética e agressividade dos isolados, observado por Costa et al (2015). Eles avaliaram a estrutura genética de 214 isolados de Foc, dentre eles os avaliados

neste trabalho, obtidos de diferentes regiões do Brasil e concluíram que todos os isolados compreendem uma única população predominantemente clonal. Com isso fica claro que a ação de antagonistas, *in vitro*, pode variar entre diferentes espécies de *Fusarium* ou dentro da mesma espécie e *formae specialis*.

Os resultados em casa de vegetação mostraram a capacidade de colonização saprofítica de Foc quando colocado em um solo sem a presença de outro microrganismo. E a importância do mecanismo de competição por nutriente ou espaço desempenhado pelo antagonista em condições naturais. Entretanto, no campo essa colonização homogênea do patógeno não repetirá esse mesmo padrão, pois devido à heterogeneidade do ambiente, o Foc não ocupará todo o solo e possibilitará a colonização do antagonista em locais favoráveis. Isso acarretará no aumento populacional e poder de competição do agente de biocontrole sobre o patógeno.

Nos tratamentos com inoculação de Foc antes de *T. harzianum*, a falta de nutrientes no meio de cultura, causada pela rápida colonização do patógeno, impediu que o antagonista se estabelecesse e que o inóculo inicial do patógeno fosse reduzido satisfatoriamente. De acordo com Silva Borges et al., (2007) o controle biológico se torna inviável quando o inóculo inicial do patógeno na rizosfera se encontra em alta densidade. Como o antagonista colonizou 100% o isolado Foc0801, *in vitro*, não se pode correlacionar à falta de colonização de *T. harzianum* nos tratamentos Foc1°, Foc2° e Foc3° com a ação de metabólitos tóxicos produzidos pelo patógeno. A redução da AACPD observado no tratamento Foc2° em relação ao Foc1° e Foc3°, mas não correspondida no ID para sintomas internos, está relacionado com o aumento do período de incubação do patógeno, possivelmente ocasionado pelo *T. harzianum*.

Com relação aos tratamentos Tri1°, 2° e 3°, observou-se que a chegada antecipada do antagonista não impede a infecção da hospedeira, quando esta é altamente suscetível ao Foc, mas diminui o ID por dificultar o estabelecimento do patógeno e reduzir seu inóculo inicial. Entretanto, o uso de *T. harzianum* integrado ao uso de cultivares menos suscetíveis ao patógeno, em comparação à bananeira 'Maçã' altamente suscetível (Cordeiro et al. 1993), pode proporcionar melhores resultados. Pérez et al. (2009) relataram o controle total do mal-do-Panamá em mudas de clone Burro Criollo (Bluggoe ABB), cultivadas em vasos, com a aplicação de *T. harzianum* uma semana antes de Foc. O efeito positivo com a

aplicação do antagonista também foi observado pelos mesmos autores em campo, com redução da doença em 95%, em plantações de clones Burro CEMSA e Fhia 03, suscetíveis ao mal-do-Panamá.

Os ensaios realizados neste trabalho, *in vitro* e casa de vegetação, são necessários para a compreensão dos mecanismos de ação utilizados por esse isolado de *T. harzianum* sobre patógenos de solo, em especial Foc. Pois permite, de forma prática e rápida, avaliar o potencial do antagonista sobre o fitopatógeno, visando garantir maior sucesso em ensaios posteriores a campo.

CONCLUSÕES

- Os mecanismos de ação utilizados pelo isolado 81 de *T. harzianum* sobre patógenos de solo é o micoparasitismo e a competição por nutrientes e espaço.
- A pré-colonização de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* em ambiente homogêneo e estéril impede que o *T. harzianum* se estabeleça e que reduza seu inóculo.
- A pré-colonização de *T. harzianum* em ambiente homogêneo e estéril reduz o inóculo inicial e a severidade de Foc em cultivar de bananeira 'Maçã'.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASTOS, C.N. Possibilidade do controle biológico da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciososa*) do cacaueteiro. In: Bettiol, W. (Org.) - **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna, Embrapa- -CNPDA, 1991, p.333-344.
- BELL, D.K.; WELLS, H.D.; MARKHAN, C.R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal pathogens. **Phytopathology**, v. 72, p. 379-382, 1982.
- CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; LOBO JUNIOR, M.; SILVA, M. C. Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* *in vitro* e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical plant pathology**, v.36, n.1, p.28-34, 2011.

CHAVES, N. P.; STAVER, C.; DITA, M. A. Potential of *Trichoderma asperellum* for biocontrol of Fusarium wilt in banana. In: Proceedings. IX International Symposium on Banana: ISHS-ProMusa Symposium on Unravelling the Banana's Genomic Potential. (Smith, M. et al (eds.)) **Acta Horticulturae**, 1114: p. 261-266, 2016.

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

COSTA, S. N., BRAGANÇA, C. A. D., RIBEIRO, L. R., AMORIM, E. P., OLIVEIRA, S. A. S., DITA, M. A., HADDAD, F. Genetic structure of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* in different regions from Brazil. **Plant Pathology**, v. 64, p.137-146, 2015.

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: II. Production of volatile antibiotics. **Transactions British Mycological Society**, Manchester, v. 57, n. 11, p. 41-48, 1971.

DITA, M.A.; PÉREZ VICENTE, L.; MARTINEZ DE LA PARTE, E. Inoculation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* causal agent of fusarium wilt in banana. In: PÉREZ-VICENTE, L., DITA M.A., MARTINEZ-DE LA PARTE. E. **Technical Manual**: Prevention and diagnostic of Fusarium Wilt (Panama disease) of banana caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Tropical Race 4 (TR4), 74p, 2014.

DUBEY, S. C.; SURESH, M.; SINGH, B. Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* for integrated management of chickpea wilt. **Biological Control**, v. 40, p.118-127, 2007.

EL KOMY, M. H.; SALEH, A. A.; ERANTHODI, A.; MOLAN, Y. Y. Characterization of novel *Trichoderma asperellum* isolates to select effective biocontrol agents against tomato fusarium wilt. **The Plant Pathology Journal**, v.31, p. 50-60, 2015.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

GAG, G.; BIZUN, W.; WEIHONG, M.; XIAOFEN, L.; XIAOLIN, Y.; CHAOHUA, Z.; JIANHONG, M.; HUICAI, Z. Biocontrol of Fusarium wilt of banana: Key influence factors and strategies. **African Journal of Microbiology Research**, v. 7, p. 4835-4843, 2013.

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

INFANTE, D.; MARTINEZ, B.; GONZALEZ, N.; REYES, Y. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. **Revista de Protección Vegetal**. 2009, vol.24, n.1, pp. 14-21.

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

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

MARTINS-CORDER, M. P.; MELO, I. S. Antagonismo "in vitro" de *Trichoderma* spp. a *Verticillium dahliae* Kleb. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 55, p. 1-7, 1998.

MCKINNEY, R.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, v.6, p.195-218, 1923.

MENTEN, J. O. M.; MINUSSI, C. C.; CASTRO, C.; KIMATI, H. Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid. "in vitro". **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 1, n. 2, p. 57-66, 1976.

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

SILVA BORGES, A. J., TRINDADE, A. V., DE MATOS, A. P., DA SILVA PEIXOTO, M. D. F. Redução do mal-do-panamá em bananeira-maçã por inoculação de fungo micorrízico arbuscular. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, 42(1), 35-41, 2007.

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

Woo, S. L., Scala, F., Ruocco, M., Lorito M. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. **Phytopathology**, v. 96, p. 181-185, 2006.

ARTIGO 2**REAÇÃO DE CULTIVARES DE BANANEIRA AO COMPLEXO**
Meloidogyne x Fusarium¹

¹Artigo submetido ao Comitê Editorial do periódico científico Caatinga, em versão na língua inglesa.

**Reação de cultivares de bananeira ao complexo
*Meloidogyne x Fusarium***

RESUMO: A interação *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* (Foc) x nematoide e a variabilidade genética de Foc são os principais problemas com potencial de afetar o uso de variedades resistentes no manejo do mal-do-Panamá. O objetivo do trabalho foi avaliar a interação entre Foc e *Meloidogyne javanica* (Mj) sobre as cultivares de bananeiras, 'Prata Anã', 'Grande Naine' e 'BRS Princesa'. O experimento foi montado em DBC, com 10 repetições e seis tratamentos, os quais se diferenciaram no tempo de inoculação de cada patógeno. Inoculação simultânea de Foc e Mj, inoculação de Foc uma semana antes de Mj e inoculação de Mj uma semana antes de Foc. Além das testemunhas, Foc isolado, Mj isolado e cultivares sem patógenos. O mudas foram plantadas em vasos de três litros com solo estéril infestado com 40 gramas de inóculo de Foc na concentração de 1×10^6 UFC/grama e 1000 ovos e J2 de Mj. Os tratamentos envolvendo 'Grande Naine' apresentaram os maiores fatores de reprodução de Mj. Em 'Prata Anã' não foi observado interação entre Foc x Mj. Ao final de 56 dias, os tratamentos com inoculação simultânea dos dois patógenos e com Foc uma semana antes, em 'BRS Princesa, apresentaram os maiores ID externos, o que proporcionou as maiores AACPD. Os maiores ID internos foram observados nos tratamentos, Foc+nema+Grande Naine, Foc+nema+BRS Princesa, Nema+Grande Naine+Foc e Foc+BRS Princesa+nema. A presença conjunta de Mj e Foc aumenta a severidade do mal-do-Panamá nas cultivares 'Grande Naine' e 'BRS Princesa'.

Palavras chaves: *Musa* spp., murcha de Fusarium, nematoides das galhas, interação, mal-do-Panamá.

Reaction of banana cultivars to *Meloidogyne x Fusarium* complex

ABSTRACT: The interaction *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (Foc) x nematode and the genetic variability of Foc are the main problems with the potential to affect the use of resistant varieties in the management of Panama disease. The objective of this study was to evaluate the interaction between Foc and *Meloidogyne javanica* (Mj) on the cultivars banana trees, 'Prata Anã', 'Grande Naine' and 'BRS Princesa'. The experiment was conducted in a randomized block with 10 replicates and six treatments, which differed in each time pathogen inoculation. Simultaneous inoculation Foc and Mj, Foc inoculated a week earlier Mj and inoculation of Mj a week before Foc. In addition to the witnesses, Foc isolated, Mj isolated and cultivars without pathogens. The seedlings were planted in three-liter pots with sterile soil infested with 40 grams of inoculum Foc at the concentration of 1×10^6 UFC/gram and 1000 eggs and J2 of Mj. Treatments involving 'Grande Naine' showed the highest Mj reproductive factors. In 'Prata anã' was not observed interaction between Foc x Mj. At the end of 56 days treatment with simultaneous inoculation of both pathogens and Foc a week earlier, in 'BRS Princesa', showed the highest external ID, which provided the largest AACPD. The largest internal ID were observed in treatments Foc+nema+Grande Naine, Foc+nema+BRS Princesa, Nema+Grande Naine+Foc e Foc+BRS Princesa+nema. The conjunct presence of Mj and Foc increases the severity of Panama disease in 'Grande Naine' and 'BRS Princesa' cultivars.

Keywords: *Musa* spp., Fusarium wilt, root-knot nematode, interaction, Panama disease.

INTRODUÇÃO

A bananicultura brasileira se destaca entre as cinco maiores do mundo com uma produção aproximada de 6,8 milhões de toneladas em 464,5 mil hectares plantados (IBGE, 2016). Atualmente o cultivo brasileiro é baseado em cultivares do subgrupo Prata, com destaque a ‘Prata-Anã’ (AAB) clone Gorutuba e Catarina. No entanto o plantio das cultivares ‘Grande Naine’, ‘Nanica’ e ‘Nanicão’ pertencentes ao subgrupo Cavendish, principal fruto de exportação, com aproximadamente 40% da produção mundial (Ploetz, 2015), também se destacam em plantios do Sudeste e Sul do Brasil.

Cultivada em todo território brasileiro, com destaque ao Nordeste e Sudeste, onde são produzidos 32,7% do volume total (IBGE, 2016), a cultura é afetada por problemas fitossanitários constantes e de ampla distribuição geográfica, com destaque aos fungos e nematoides. Entretanto para a cultura da bananeira os maiores problemas fitossanitários são decorrentes dos fungos causadores da Sigatoka amarela (*Mycosphaerella musicola*), negra (*Mycosphaerella fijiensis*) e do mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*). Nos principais polos de bananicultura irrigada do Brasil, as maiores perdas na produção estão relacionadas com o mal-do-Panamá, as quais são agravadas com a presença de nematoides. Principalmente do gênero *Meloidogyne*, presente nas principais regiões produtoras de banana. Cofcewicz et al. (2004) constataram *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita* em 61,7 e 32,2%, respectivamente, das amostras retiradas de solos de bananais, nos estados de Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul.

A resistência genética é a opção de manejo mais eficaz e sustentável para o mal-do-Panamá (Stover, 1986; Jones, 2000; Ploetz e Pegg 2000; Hwang e Ko, 2004). No entanto, o uso de variedades resistentes no controle da doença está limitado, devido à variabilidade genética do patógeno (variantes) e a suplantação da resistência ocasionada pela infecção por nematoide. A interação entre nematoide e Foc, em bananeira, necessita de informações e estudos mais detalhados, a fim de elucidar os principais fatores envolvidos nesse complexo. E, portanto desenhar um sistema de manejo mais eficiente ao patossistema. O objetivo do trabalho foi avaliar a interação entre Foc e *M. javanica* sobre as

principais bananeiras cultivadas no Brasil, 'Prata Anã' e 'Grande Naine', e uma nova cultivar tipo maçã, 'BRS Princesa'.

MATERIAL E MÉTODOS

Condução do experimento e material disponível

O experimento foi conduzido na casa de vegetação da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas-BA, durante os meses de junho e julho, período no qual foram observadas temperaturas variando de 20,2°C a 27,3°C com uma média de 23,0°C (Estação Meteorológica Convencional de Cruz das Almas).

No experimento foi utilizado o isolado 218A de Foc, obtido em cultivar Nanica, devido à sua maior agressividade, observada em ensaios preliminares, pertencente à Coleção Biológica de trabalho de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* do Laboratório de Fitopatologia. A população de *Meloidogyne javanica* foi obtida da Coleção Biológica de trabalho de Fitonematoides da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Foram utilizadas mudas de bananeira micropropagadas das cultivares, 'Prata Anã' (Grupo AAB), suscetível ao mal-do-Panamá e moderadamente resistente ao *M. javanica*, 'Grande Naine' (Grupo AAA), resistente ao mal-do-Panamá e suscetível a *M. javanica* e 'BRS Princesa' (Grupo AAAB) com resistência quantitativa ao mal-do-Panamá e moderadamente resistente ao *M. javanica* (Cofcewicz et al., 2004; Cordeiro et al., 2016; Costa et al., 2016, Costa et al., 2015).

Obtenção do inóculo de Foc

O isolado 218A de Foc foi multiplicado em placas de Petri com meio de cultura BDA durante 10 dias, em BOD a 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Após esse período dez discos de micélio de 5 mm de diâmetro da colônia de Foc foram transferidos para o meio de cultura areia-fubá (FA) em sacos plásticos (250g de areia lavada + 50g de fubá de milho + 50 ml de água destilada esterilizada, autoclavados durante três dias consecutivos a 120°C e 1atm por 20 minutos). Em seguida os sacos foram colocados em BOD a 25°C e fotoperíodo de 12 horas,

onde permaneceram por 30 dias, para favorecer a produção de clamidósporos. Antes de ser utilizado na infestação do solo, o inóculo foi quantificado através de diluição seriada e contagem de unidades formadoras de colônias (UFC). A diluição consistiu em colocar 10 gramas de inóculo em 90 ml de água destilada e esterilizada (ADE) e em seguida um ml foi retirado da primeira suspensão e diluído em nove ml de ADE, refazendo esse processo até a diluição de 10^{-5} . Da última diluição foram retirados 200 μ L, os quais foram espalhados com ajuda de uma alça de Drigalski, em uma placa de Petri com meio de cultura BDA, em 3 replicatas. Em seguida as placas foram incubadas em BOD a temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas, e após 48 horas procedeu à contagem das UFC. O inóculo final foi ajustado para 10^6 UFC/grama de substrato.

Obtenção do inóculo de *M. javanica*

Populações puras de *M. javanica*, obtidas da cultura da bananeira, foram multiplicadas em tomateiro e após sessenta dias, procedeu-se à extração de ovos e juvenis de segundo estágio J2 segundo a metodologia de Hussey e Barker modificada por Boneti e Ferraz (1981) e, em câmara de Peters, calibrou-se a suspensão para 1.000 ovos e J2/mL em microscópio óptico.

Material vegetal

Para montagem do experimento foram utilizadas mudas de bananeira micropropagadas, das cultivares 'Grande Naine', 'Prata Anã' e 'BRS Princesa'. Antes de serem transplantadas ao experimento, às mudas foram aclimatizadas em tubetes contendo substrato vegetal.

Montagem do experimento

As mudas já aclimatizadas das cultivares de bananeira foram transplantadas em vasos de 3 litros contendo uma mistura esterilizada de solo (50%), esterco (25%) substrato industrializado (15%), e fibra de coco (10%). Após o plantio das mudas iniciou a infestação do solo com os inóculos de Foc (218A) e *M. javanica*, de acordo com cada um dos tratamentos: Foc e *M. javanica*

inoculados ao mesmo tempo (Foc + Nema + Cultivar); Foc inoculado uma semana antes da inoculação de *M. javanica* (Foc + Cultivar + Nema) e Foc inoculado uma semana após a inoculação de *M. javanica* (Nema + Cultivar + Foc). Para inoculação foram depositados 40 gramas do inóculo de FOC e um ml de suspensão de ovos e J2 de *M. javanica* em orifícios ao redor das plantas. Os tratamentos controles foram: inoculação de plantas com 40 gramas de FA sem Foc mais um ml de água sem nematoide (Cultivar), inoculação individual de Foc (Foc + Cultivar) e inoculação individual de *M. javanica* (Nema + Cultivar). O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados (DBC), com seis tratamentos por cultivar e 10 repetições. As plantas permaneceram por 56 dias em casa de vegetação, sendo irrigadas diariamente. Cada uma das três cultivares, 'Grande Naine', 'Prata Anã' e 'BRS Princesa' foram avaliadas em experimentos independentes.

A severidade do mal-do-Panamá (sintomas externos) foi avaliada a partir da primeira semana após plantio (DAP), em intervalos de sete dias durante 56 dias, seguindo escala de notas de cinco classes proposta por Dita, et al., (2014), sendo: 1: sem sintomas; 2: amarelecimento inicial em folhas velhas; 3: amarelecimento de folhas velhas com descoloração inicial em folhas jovens; 4: todas as folhas com intenso amarelecimento; 5: planta morta). A avaliação da descoloração do rizoma foi realizada no decorrer do experimento, após a morte das mudas, e ao final dos 60 DAP, através da escala de notas descrita por Cordeiro *et. al.* (1993), variando de 0 a 5 onde: 0 - rizoma completamente sadio; 1 - pontos isolados de infecção; 2 - infecção atingindo até 1/3 do anel (região de formação das raízes, onde a infecção se estabelece no rizoma); 3 - infecção atingindo de 1/3 a 2/3 do anel; 4 - infecção atingindo mais de 2/3 do anel e 5 - infecção generalizada. A partir dessas notas, foram calculados os índices da doença (ID), para sintomas externos e internos, utilizando a fórmula de McKinney's (McKinney, 1923), onde $ID (\%) = 100 \cdot \frac{\sum(f \cdot v)}{n \cdot x}$, sendo ID - índice de doença; f - número de plantas com a mesma nota; v - nota observada; n - número total de plantas avaliadas e x - nota máxima da escala. Para o desenvolvimento da doença ao longo do tempo (sintomas externos), calculou-se a área abaixo da curva de progresso de severidade da doença.

A avaliação nematológica foi realizada 56 DAP através do número de ovos mais J2 por sistema radicular, número de juvenis de segundo estágio (J2) no

solo e fator de reprodução pela fórmula $FR = Pf/Pi$, onde FR = fator de reprodução; Pf = população final do nematoide (raiz e solo) e Pi = população inicial. Os ovos foram quantificados após a extração, de acordo com a técnica de Hussey e Barker (1973), modificada por Boneti e Ferraz (1981), em câmara de Peters em microscópio óptico. O número de J2 de *M. javanica* presente no solo foi obtido após a extração destes em 200 cm³ de solo, de acordo com a técnica de Jenkins (1964) e contagem em câmara de Peters, em microscópio óptico.

A reação das cultivares de bananeira ao *M. javanica* foi determinada por meio dos critérios de Moura e Régis (1987), que levam em consideração a redução do fator de reprodução ($RFR = (FR \text{ padrão} - FR \text{ tratamento}) / FR \text{ padrão}$) do nematoide em relação ao hospedeiro avaliado mais suscetível. De acordo com Moura e Régis (1987), plantas que proporcionam RFR do nematoide de 100 % são classificadas como altamente resistentes ou imunes (AR ou I), de 96 a 99 % resistentes (R), de 76 a 95 % moderadamente resistentes (MR), de 51 a 75 % pouco resistentes (PR), de 26 a 50 % como suscetíveis (S) e 25 % são classificadas como altamente suscetíveis (AS). Para o cálculo da RFR, tomou-se o maior valor médio de FR como padrão de suscetibilidade, considerado como 0 % de redução.

Os cálculos referentes à análise estatística foram executados, utilizando-se do *software* "Sisvar" (Ferreira, 2011). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias, comparadas por teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

RESULTADOS

O maior fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne javanica* (Mj) foi observado na inoculação isolada do nematoide em plantas da cultivar 'Grande Naine' (Tabela 1). Em comparação as outras cultivares, 'Prata Anã' e 'BRS Princesa', com inoculação apenas de Mj o FR foi 3,64 e 4,36 vezes maior, respectivamente. Independentemente da inoculação antes, depois ou em conjunto de Mj e Foc, os maiores FR foram observados nos tratamentos com a cultivar 'Grande Naine'. Em 'BRS Princesa' inoculada com os dois patógenos, independente da alternância, observou-se os menores FR de Mj. Na cultivar

‘Prata Anã’ a inoculação isolada do Mj proporcionou o mesmo FR dos três tratamentos com inoculação conjunta, com uma variação de 7,13 a 7,66.

Tabela 1. Valores médios do fator de reprodução (FR) e percentagem de redução do fator de reprodução (RFR) de *M. javanica* em cultivares de bananeiras, com inoculação simultânea e alternada de *M. javanica* e Foc.

Tratamentos	FR - <i>Meloidogyne javanica</i>	RFR (%)
Foc + BRS Princesa	0 a	-
BRS Princesa	0 a	-
Prata Anã	0 a	-
Grande Naine	0 a	-
Foc + Grande Naine	0 a	-
Foc + Prata Anã	0 a	-
Foc + BRS Princesa + Nema	0.04 a	99,93
Foc + nema + BRS Princesa	0.08 a	99,74
Nema+ BRS Princesa + Foc	1.56 a	94,4
Nema + BRS Princesa	6.38 b	77,07
Foc + nema + Prata Anã	7.13 b	74,38
Nema + Prata Anã + Foc	7.23 b	74,01
Nema + Prata Anã	7.63 b	72,58
Foc + Prata Anã + Nema	7.66 b	72,47
Foc + Grande Naine + Nema	10.60 c	61,91
Nema + Grande Naine + Foc	14.56 d	47,67
Foc + nema + Grande Naine	14.90 d	46,44
Nema + Grande Naine	27.82 e	0,00
CV (%)	25,39	

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

RFR = Redução do fator de reprodução = (FR padrão – FR tratamento) / FR padrão.

Para a classificação da resistência das cultivares em relação ao nematoide o controle nema + Grande Naine foi considerado como 0% de redução do fator de reprodução (RFR) por apresentar o maior FR (Tabela 2). Por isso, nesse tratamento a ‘Grande Naine’ foi classificada, de acordo com os critérios de Moura e Régis (1987), como altamente suscetível ao *M. javanica*. Já as cultivares ‘Prata Anã e ‘BRS Princesa’ inoculadas apenas com Mj, foram classificadas como pouco resistente (PR) e moderadamente resistente (MR), respectivamente. A inoculação de Foc não interferiu no FR de Mj, na cultivar ‘Prata Anã’ que permaneceu como PR em relação ao nematoide. Entretanto, quando se inoculou Foc ao mesmo tempo que Mj ou uma semana após a inoculação do nematoide, a

‘Grande Naine’ passou de AS para suscetível (S), e de AS para PR quando inoculado Foc uma semana após Mj. Em ‘BRS Princesa’ a presença do fungo, inoculado em conjunto ou uma semana antes de Mj resultou na classificação da cultivar como resistente.

Tabela 2. Comportamento de cultivares de bananeira a *M. javanica*, avaliadas aos 60 dias após a inoculação simultânea e alternada de *M. javanica* e Foc.

Tratamentos	C.M.R
Foc + BRS Princesa + Nema	R
Foc + nema + BRS Princesa	R
Nema + BRS Princesa+Foc	MR
Nema + BRS Princesa	MR
Foc + nema + Prata Anã	PR
Nema + Prata Anã + Foc	PR
Nema + Prata Anã	PR
Foc + Prata Anã + Nema	PR
Foc + Grande Naine + Nema	PR
Nema + Grande Naine + Foc	S
Foc + nema + Grande Naine	S
Nema + Grande Naine	AS

C.M.R – Comportamento segundo Moura e Régis (1987), em que: AS = altamente suscetível; S = suscetível; PR = pouco resistente; MR = moderadamente resistente; R = resistente e I = imune.

Na cultivar ‘Grande Naine’, com sete dias após o plantio (DAP) os primeiros sintomas externos de mal-do-Panamá foram observados na inoculação isolada de Foc, simultânea com Mj e com Foc inoculado uma semana antes de Mj (Figura 1). Entretanto a inoculação isolada de Foc e ao mesmo tempo com Mj proporcionou um aumento médio do ID acima de 3% por dia, nas primeiras três semanas de avaliação, o que proporcionou as maiores AACPD desses tratamentos 56 DAP. Na inoculação das mudas de ‘Grande Naine’ com Foc uma semana antes de Mj, o baixo ID observado durante todo o experimento proporcionou uma AACPD seis vezes menor que as AACPD dos tratamentos com inoculação isolada de Foc e conjugada com Mj (Figura 1). Nos tratamentos, Grande Naine sem inoculação de Foc e Mj, Grande Naine inoculada com Mj e Grande Naine inoculada com Mj uma semana antes de Foc, não se observou sintomatologia externa de mal-do-Panamá (Figura 1).

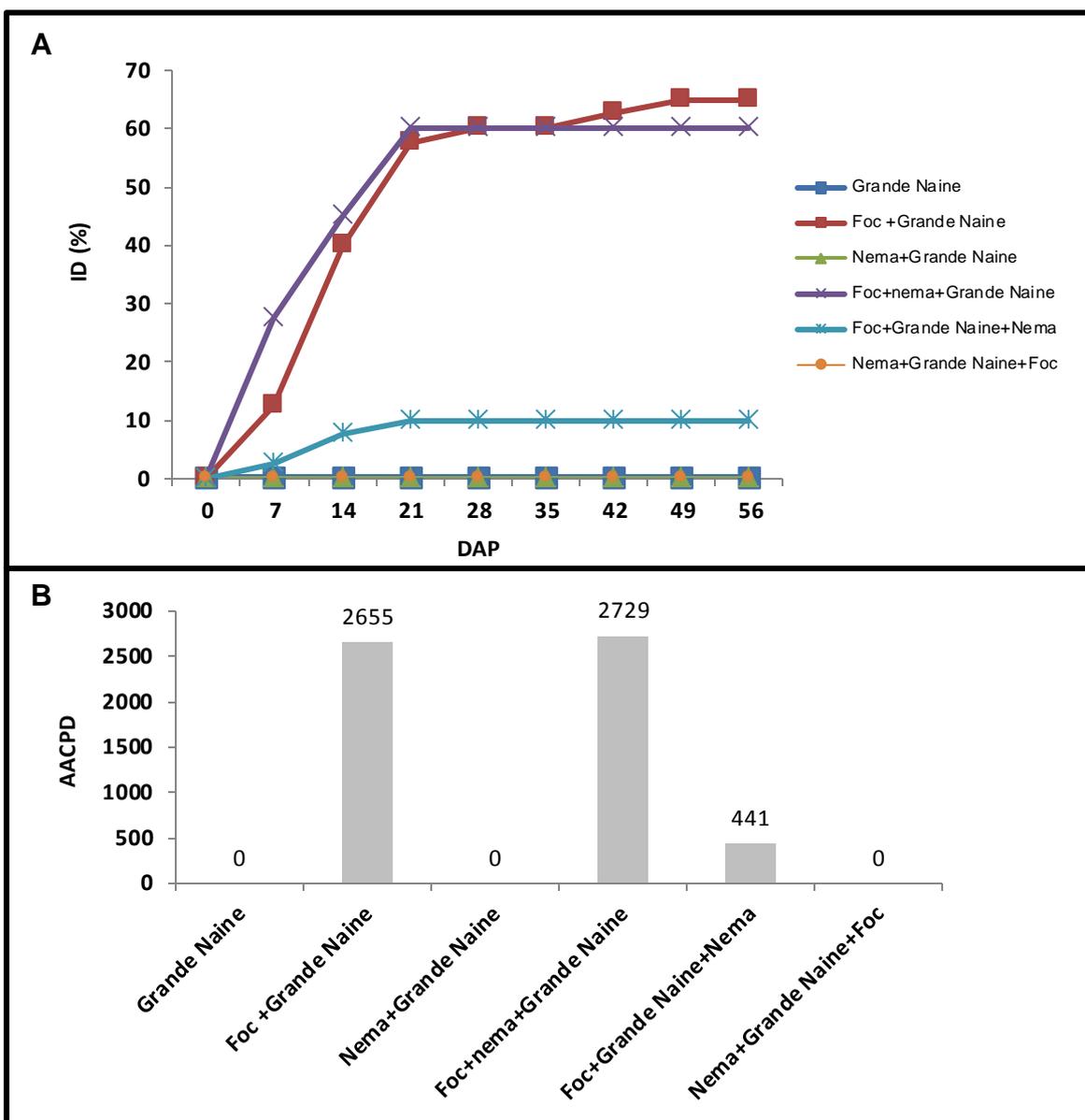


Figura 1. Curvas de progresso da doença e áreas abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), calculadas a partir dos ID para sintomas externos de mal-do-Panamá em mudas de bananeira 'Grande Naine', cultivadas em casa de vegetação durante 56 dias. A - Curvas de progresso da doença expressas em porcentagem do ID; B - AACPD calculadas a partir dos ID.

Em 'BRS Princesa', sete DAP foram observados os primeiros sintomas de mal-do-Panamá na inoculação isolada de Foc, ao mesmo tempo com Mj e com Foc inoculado uma semana antes de Mj, (Figura 2). No decorrer dos 56 dias, os tratamentos com inoculação simultânea dos dois patógenos e com Foc uma semana antes, em mudas de 'BRS Princesa', apresentaram os maiores ID, o que proporcionou as maiores AACPD (Figura 2). Os tratamentos controle, BRS Princesa sem inoculação dos patógenos e BRS Princesa com inoculação de Mj não apresentaram sintomatologia do mal-do-Panamá.

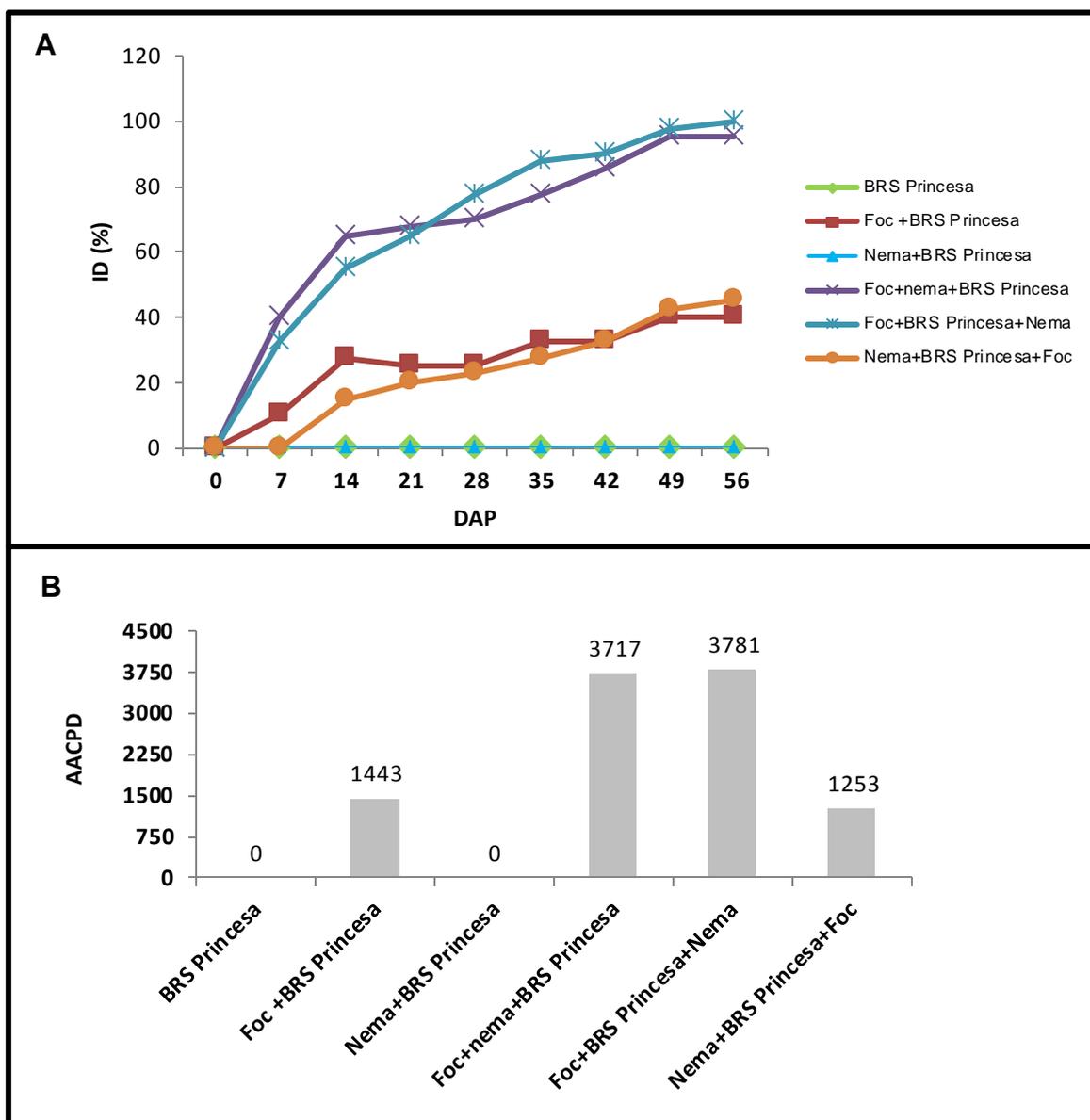


Figura 2. Curvas de progresso da doença e áreas abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), calculadas a partir dos ID para sintomas externos de mal-do-Panamá em mudas de bananeira 'BRS Princesa', cultivadas em casa de vegetação durante 56 dias. A - Curvas de progresso da doença expressas em percentagem do ID; B - AACPD calculadas a partir dos ID.

Na cultivar 'Prata Anã, todos os tratamentos com Foc manifestaram sintomas do mal-do-Panamá no décimo quarto dia, exceto o tratamento com inoculação de Foc uma semana antes de Mj, onde os primeiros sintomas de mal-do-Panamá foram observados no vigésimo primeiro dia (Figura 3). O tratamento Prata Anã inoculada com Mj uma semana antes de Foc apresentou os maiores ID no decorrer do experimento, o que proporcionou a maior AACPD (Figura 3). Os demais tratamentos com inoculação de Foc apresentaram o mesmo ID 56 DAP, mas diferentes AACPD em decorrência dos distintos ID observados nas

avaliações realizadas de 7 a 49 DAP. Não se observou sintoma de mal-do-Panamá nos tratamentos sem inoculação de Foc (Figura 3).

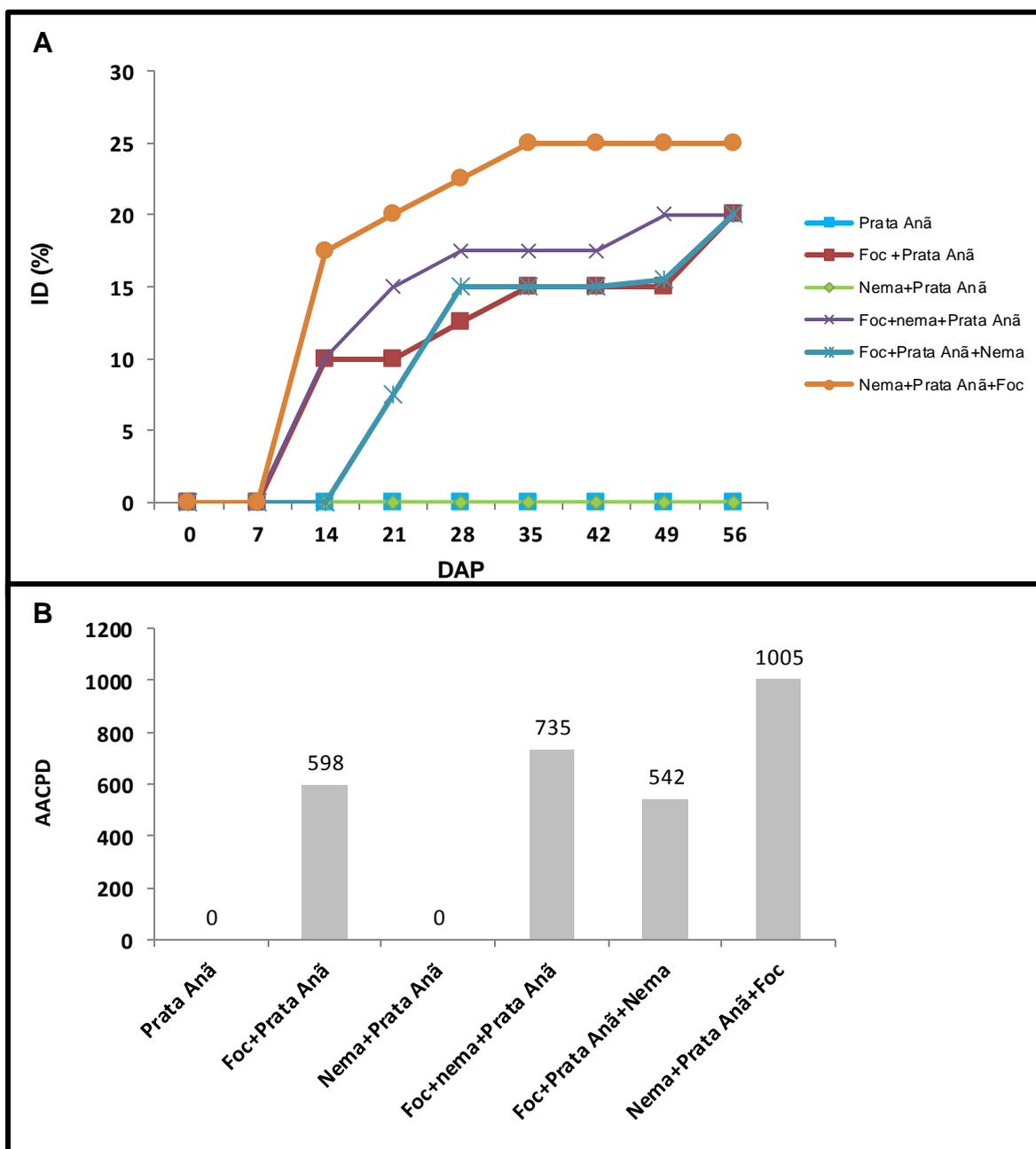


Figura 3. Curvas de progresso da doença e áreas abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), calculadas a partir dos ID para sintomas externos de mal-do-Panamá em mudas de bananeira 'Prata Anã', cultivadas em casa de vegetação durante 56 dias. A - Curvas de progresso da doença expressas em percentagem do ID; B - AACPD calculadas a partir dos ID.

Na cultivar 'Grande Naine' os maiores ID relacionados aos sintomas internos de Foc foram observados nos tratamentos com inoculação simultânea e anterior do nematoide (Figura 4). Nesses tratamentos o aumento médio do ID foi

de 23 e 29% em comparação aos tratamentos, Grande Naine inoculada apenas com Foc e Foc inoculado uma semana antes do nematoide, respectivamente.

Em mudas de bananeira 'BRS Princesa' a inoculação de Foc e Mj ao mesmo tempo apresentou o maior ID, seguida da inoculação de Foc anterior a Mj. Os tratamentos com inoculação isolada de Foc e Foc posterior ao Mj reduziram o ID em 24 e 36%, respectivamente, em relação ao tratamento com inoculação simultânea de Foc e Mj (Figura 5).

Os ID para sintomas internos em 'Prata Anã' apresentaram o mesmo padrão observado em sintomas externos, não sendo observado interferência do nematoide sobre a agressividade do Foc. A diferença entre a média dos tratamentos inoculados com os dois patógenos e o controle, somente Foc, foi de apenas 2,6% (Figura 6).

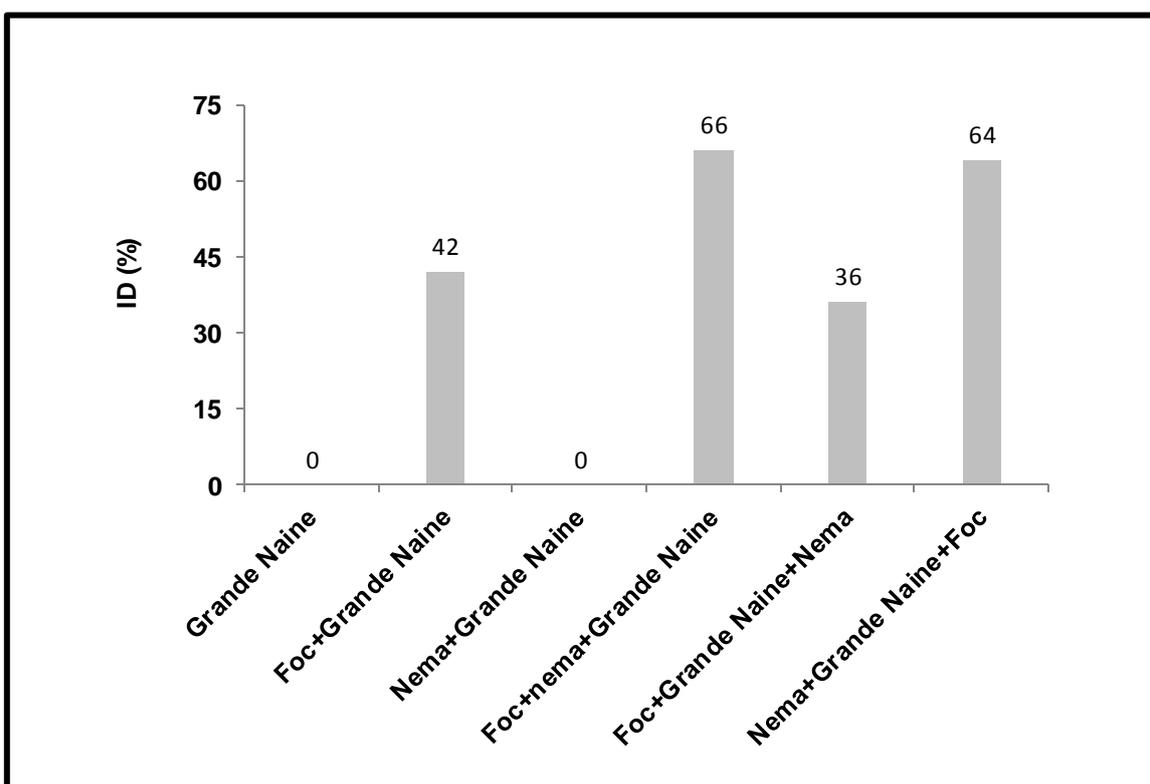


Figura 4. Índices de doença (ID) calculados a partir de sintomas internos de mal-do-Panamá em mudas de bananeira 'Grande Naine' 56 DAP em casa de vegetação.

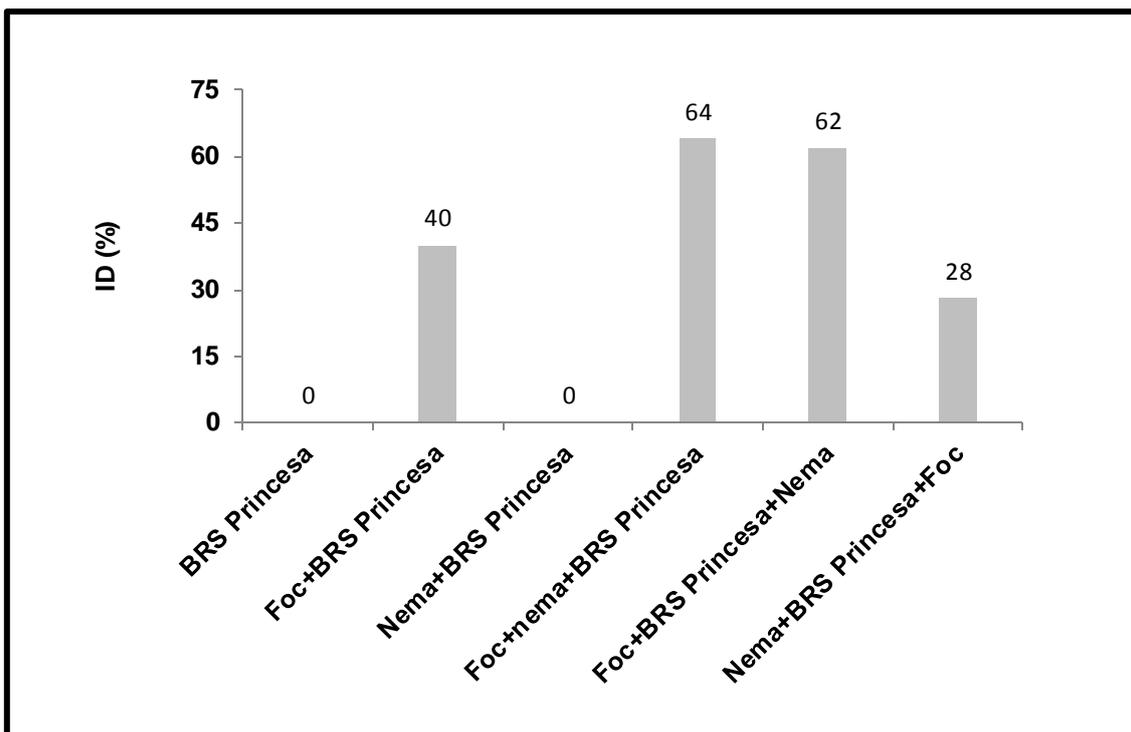


Figura 5. Índices de doença (ID) calculados a partir de sintomas internos de mal-do-Panamá em mudas de bananeira 'BRS Princesa' 56 DAP em casa de vegetação.

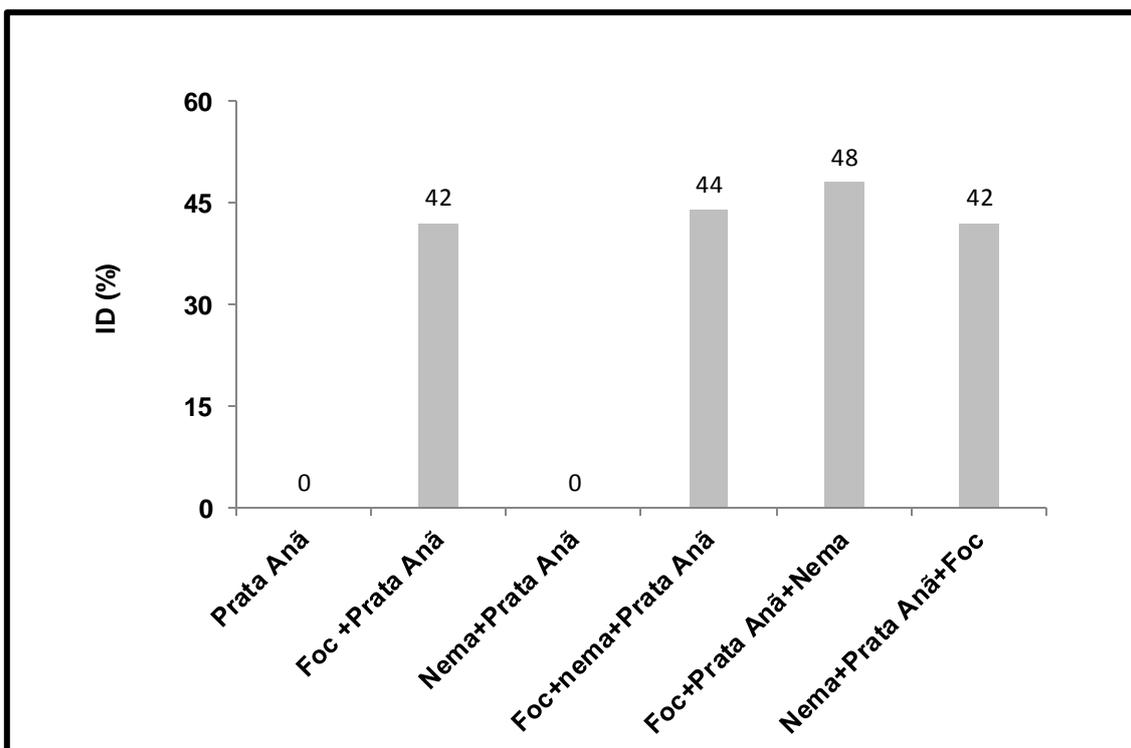


Figura 6. Índices de doença (ID) calculados a partir de sintomas internos de mal-do-Panamá em mudas de bananeira 'Prata Anã' 56 DAP em casa de vegetação.

Não foram observadas diferenças significativas dos tratamentos nas médias de altura e diâmetro das três variedades (dados não apresentados).

DISCUSSÃO

O Foc e o *M. javanica* são fitopatógenos que penetram nas raízes novas, na região da coifa e na zona de alongamento das plantas (Brandes, 1919; Campos et al., 2011). A penetração de Foc no sistema radicular de bananeiras ocorre através da ação mecânica das hifas e/ou de ferimentos, provocados principalmente por nematoides, dentre eles *M. javanica*. Além de facilitar a penetração do Foc, pelos ferimentos acarretados nas raízes, os nematoides predisõem fisiologicamente a hospedeira à infecção do fungo, interferindo diretamente na severidade de Foc. No processo de infecção da hospedeira o fitonematoide sedentário altera a expressão de genes e o metabolismo das células vegetais, devido à produção e secreção de proteínas de parasitismo (Hussey et al., 2004; Davis et al., 2000; Davis et al., 2004).

A intensificação da severidade de *F. oxysporum*, observada por Silva e Pereira (2008) na inoculação conjunta com *M. incognita* em quiabeiro, com um aumento significativo de plantas mortas, também, foi observada na interação simultânea de *M. javanica* e *F. oxysporum* f. sp. *cubense* nas cultivares 'Grande Naine' e 'BRS Princesa'. Fato igualmente relatado por Simão et al. (2010), quando avaliaram o complexo *F. oxysporum* x *M. javanica* em cultivares e linhagens de feijoeiro.

Na inoculação do nematoide uma semana após a infestação com Foc, em 'Grande Naine', não se observou a mesma severidade do mal-do-Panamá, pois a pré-infecção do fungo afetou a ação do nematoide, e com isso reduziu os danos sobre a hospedeira. Na cultivar 'BRS Princesa' a presença do fungo também interferiu na interação nematoide-planta e reduziu a reprodução de *M. javanica*. Possivelmente, a presença de Foc alterou a produção e liberação de compostos orgânicos radiculares como exsudatos, essenciais na atração do nematoide e reconhecimento da planta hospedeira, e competiu por sítio de infecção e alimentação.

Ribeiro et al., (2012) correlacionaram o efeito negativo de Foc sobre a reprodução *M. javanica* à competição no sítio de infecção ou no sítio de alimentação, visto que os dois são parasitas vasculares. A liberação frequente de toxinas ou compostos análogos a hormônios pelo *F. oxysporum* após penetração, alteram a fisiologia da hospedeira para seu benefício próprio (Knogge, 1996).

Essas alterações podem afetar a formação de células gigantes ou a manutenção de tais células, reduzindo a população do nematoide (Ribeiro et al., 2012). A redução na reprodução do nematoide com a presença do fungo, também, foi relatada por, Griffin e Thyr (1988), no patossistema *M. hapla* x alfafa, previamente infectado com *F. oxysporum* f. sp. *medicaginis*.

Na cultivar 'Prata Anã', não houve competição entre os patógenos, a reprodução de *M. javanica* e a severidade do Foc se apresentaram normalmente, comparado ao controle onde se inoculou apenas Foc ou *M. javanica*. Provavelmente, não houve competição entre os dois patógenos pelos sítios de infecção e/ou alimentação. As possíveis alterações na expressão de genes e no metabolismo das células vegetais influenciadas pelo nematoide não interferiu na severidade do Foc, bem como não houve efeito de toxinas ou compostos análogos a hormônios produzidos pelo Foc sobre o processo de parasitismo do nematoide. Resultados semelhantes foram observados por Fischer et al. (2010), onde o efeito da interação nematoide x *Fusarium* não foi observado na cultivar de maracujá Maguari resistente ao nematoide.

O fato das cultivares 'Grande Naine' e 'BRS Princesa' resistentes ao Foc terem apresentado o mesmo ID que a 'Prata Anã' na presença isolada do fungo, pode ser explicada pela agressividade do isolado. Este isolado foi obtido a partir de sintomas de mal-do-Panamá em cultivar Nanica, plantada em Eldorado-SP, e de acordo com o trabalho de Costa et al. (2015) existe uma grande variabilidade genética entre isolados de Foc obtidos de diferentes regiões do Brasil. Isso pode estar relacionado com o potencial evolutivo de Foc, o que proporciona o surgimento de novas variantes mais agressivas, capazes de infectar cultivares resistentes. Apesar de 'BRS Princesa' ser considerada com um elevado grau de resistência, Costa et al. (2015), também, relataram sua infecção com isolados de Foc mais agressivos, os quais foram considerados pelos autores como variantes. Os autores relatam ainda que apesar de não existir nenhuma informação de mal-do-Panamá afetando 'BRS Princesa' em campo, os testes preliminares indicaram que sua resistência é quantitativa. Com isso a presença de isolados mais agressivos ou alta pressão de inóculo inicial pode acarretar a infecção da cultivar 'BRS Princesa'.

A ausência de sintomas externos no tratamento Grande naine inoculada com Foc uma semana após a infestação do solo com *M. javanica*, apesar do alto

ID observado 56 DAP, é explicada pelo aumento do período de incubação do fungo. Isso ocorreu devido à competição com o nematoide que já havia penetrado e estabelecido seu sítio de alimentação, o que dificultou a colonização do fungo, ocorrida provavelmente mais tardia que nos demais tratamentos. No entanto, as aberturas no sistema radicular e possíveis alterações no metabolismo celular e expressão de genes da hospedeira, ocasionadas pelo *M. javanica*, e a agressividade do isolado de Foc, promoveram o aumento significativo do ID ao final de 56 dias.

Já a redução do ID interno em 'Grande Naine' inoculada com Foc uma semana antes do nematoide, em relação aos outros tratamentos de 'Grande Naine' contendo nematoide, ocorreu por fatores relacionados à resistência da hospedeira. Em resposta a infecção inicial de Foc a hospedeira inicia um processo de produção de tiloses, gomas e géis na cavidade do xilema, na tentativa de barrar a progressão do patógeno. Além disso, em cultivares resistentes esses produtos são produzidos mais cedo e mais rapidamente do que nas cultivares suscetíveis, e com isso, a infecção sistêmica no pseudocaule é bloqueada (Ploetz, 2015). Então, por mais que a presença do nematoide tenha favorecido a entrada do Foc, a planta já tinha estabelecido barreiras para impedir o progresso interno da doença. Com isso o ID desse tratamento foi condicionado mais pela agressividade do isolado do que pela interação Foc x *M. javanica*.

Na cultivar BRS Princesa o nematoide e a agressividade do isolado de Foc proporcionaram o aumento da severidade do mal-do-Panamá. Por apresentar uma resistência quantitativa (Costa et al., 2015), a presença antecipada do Foc na cultivar, possivelmente induziu a formação de barreiras, mas não impediu a colonização interna do fungo. Que após a infecção do nematoide, aumentou sua severidade, devido o menor poder de competição da hospedeira. Entretanto o menor ID no tratamento onde o fungo foi acrescentado somente uma semana após o nematoide, possivelmente, ocorreu pela competição por espaço e nutriente entre os dois patógenos, uma vez que o nematoide já tinha estabelecido seu espaço e sítio de alimentação. Como a 'BRS Princesa' é menos suscetível que a 'Grande Naine' ao *M. javanica*, houve menor interferência do nematoide no ID final, o qual foi dependente da agressividade do fungo. A maior suscetibilidade da cultivar 'Grande Naine' ao nematoide das galhas, observada neste trabalho corrobora com os resultados de Tenete et al. (2008).

Com base nos resultados obtidos, sugere-se que em cultivares de bananeiras a interação entre Foc e *M. javanica* envolve modificações de processos celulares, moleculares e metabólicos na planta, bem mais complexos que o simples processo da abertura de ferimentos na raiz. No entanto, para que esses processos sejam particularizados, a biologia sistêmica desse patossistema deve ser priorizada em novos estudos.

CONCLUSÕES

- Na cultivar 'Prata Anã' a interação entre *M. javanica* e *F. oxysporum* f. sp. *cubense* não interfere na reprodução do nematoide e na severidade de Foc.
- A presença conjunta de *M. javanica* e Foc aumenta a severidade do mal-do-Panamá nas cultivares 'Grande Naine' e 'BRS Princesa'.
- Em cultivares de bananeira, 'BRS Princesa' e 'Grande Naine', a interação *M. javanica* x Foc, reduz a reprodução do nematoide.
- A cultivar 'Grande Naine' apresenta maior suscetibilidade ao *M. javanica* que 'Prata Anã' e 'BRS Princesa'.
- A cultivar 'BRS Princesa' apresenta maior resistência ao *M. javanica* que 'Prata Anã' e 'Grande Naine'.
- As cultivares de bananeira, 'BRS Princesa', 'Grande Naine' e 'Prata Anã', são suscetíveis ao isolado 218 de Foc.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COFCEWICZ, E.T.; CARNEIRO, R.M.D.G.; CORDEIRO, C.M.T.; QUÉNÉHERVÉ, P., FARIA, J. L. C. Reação de cultivares de bananeira a diferentes espécies de nematóides das galhas. **Nematologia Brasileira**, v. 28, p. 11-22, 2004.

BONETI, J.I.S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 6, p. 553, 1981.

BRANDES, E. W. Banana wilt. **Phytopathology**, v. 9, p.339-389, 1919.

CAMPOS, H.D., CAMPOS, V.P., SILVA, J.R.C., SILVA, L.H.C.P., COSTA, S.A.S., TERRA W.C. Atração e penetração de *Meloidogyne javanica* e *Heterodera glycines* em raízes excisadas de soja. **Ciencia Rural**, v. 41, p. 1496-1502, 2011.

CORDEIRO, Z.J.M.; MATOS, A.P.; HADDAD, F. Doenças Fúngicas e bacterianas. In: FERREIRA, C.F.; SILVA, S.O.; AMORIM, E.P.; SANTOS-SEREJO, J.A. **O agronogócio da banana**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. 832p.

COSTA, D.C.; CARES, J.E.; ALVES, F.R.; SANTOS, J.R.P.; MONTEIRO, J.M.S.; NEVES, W. S. Nematoides. In: FERREIRA, C.F.; SILVA, S.O.; AMORIM, E.P.; SANTOS-SEREJO, J.A. **O agronogócio da banana**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. 832p.

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

DAVIS, E. L.; HUSSEY, R. S.; BAUM, T. J.; BAKKER, J.; SCHOTS, A.; ROSSO, M. N.; ABAD, P. Nematode Parasitism Genes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 38, p. 365-396, 2000.

DAVIS, E.L.; HUSSEY, R.S.; BAUM, T.J. Getting to the roots of parasitism by nematodes. **Trends in Parasitology**, v.20, p.134-141, 2004.

DITA, M.A.; PÉREZ VICENTE, L.; MARTINEZ DE LA PARTE, E. Inoculation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* causal agent of fusarium wilt in banana. In: PÉREZ-VICENTE, L., DITA M.A., MARTINEZ-DE LA PARTE. E. **Technical Manual: Prevention and diagnostic of Fusarium Wilt of banana caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 (TR4)**, 74p, Food and Agriculture Organization of the United Nations 2014.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FISCHER, I. H., BUENO, C. J., DE MARCHI GARCIA, M. J., ALMEIDA, A. M. Reação de maracujazeiro-amarelo ao complexo fusariose-nematoide de galha. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 32, n.2, p. 223-227, 2010.

GRIFFIN, G.D.; THYR, B.D. Interaction of *Meloidogyne hapla* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis* on alfafa. **Phytopathology**, v.78, p. 421-425, 1988.

HUSSEY, R.; DAVIS, E.; BAUM, T. Secrets in secretions: genes that control nematode parasitism of plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 14, n. 3, p. 183-194, 2002.

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

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/home/>>. Acesso em 08 de agosto de 2016.

JENKINS, W.R. A rapid centrifugal- flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, St Paul, v. 48, p. 692, 1964.

JONES, D. R. Diseases of Banana, Abacá and Enset. **CABI Publishing**, Wallingford, UK, 2000.

KNOGGE, W. Fungal infection of plants. **The Plant Cell**. v. 8, p.1711-1722, 1996.

MCKINNEY, R.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, v.6, p.195-218, 1923.

MOURA, R.M.; REGIS, E.M.O. Reações de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) em relação ao parasitismo de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* (Nematoda: Heteroderidae). **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 10, p. 215-225, 1987.

PLOETZ, R.C. Management of Fusarium wilt of banana: A review with special reference to tropical race 4. **Crop Protection**, USA, p.1-9, 2015.

PLOETZ, R. C., PEGG, K. G. Fusarium wilt. In: JONES, D. R. **Diseases of Banana, Abacá and Enset**. CABI Publishing, Wallingford, UK, p. 143-159, 2000.

RIBEIRO, R. C. F., CAMPOS, V. P., XAVIER, A. A., ROCHA, L. S., RIBEIRO, H. B., AGUIAR, F. M.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Rizobactérias no controle de *Meloidogyne javanica* e mal-do-Panamá em bananeira. **Nematropica**, v. 42, n. 2, p. 218-226, 2012.

SIMAO, G.; ORSINI, I.P.; SUMIDA, C.H.; HOMECHIN, M.; SANTIAGO, D.C.; CIRINO, V.M. Reação de cultivares e linhagens de feijoeiro em relação a *Meloidogyne javanica* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Ciência Rural**, v. 40, n. 5, p. 1003-1008, 2010.

STOVER, R. H.; BUDDENHAGEN, I. W. Banana breeding: Polyploidy, disease resistance and productivity. **Fruits**, v. 41, p. 175-191, 1986.

TENENTE, R. C.; FÔNSECA, M. B.; SOUSA-VILARDI, A. I.; SILVA, S. O.; DA SILVA NETO, S. P.; SILVA, E. G.; ARAYA, M. Reaction of Different Banana (*Musa* spp.) Cultivars to *Meloidogyne incognita* Races 1 and 4. **Nematologia Brasileira**, v. 32, p. 285-293, 2008.

ARTIGO 3**MANEJO DA MURCHA DE FUSARIUM DE BANANEIRA EM
MINAS GERAIS, BRASIL¹**

¹Artigo submetido e aprovado pelo Comitê Editorial do periódico científico *Acta Horticulturae* em versão língua inglesa.

Manejo da murcha de fusarium de bananeira em Minas Gerais, Brasil

RESUMO: O Norte de Minas Gerais se destaca entre as principais regiões produtoras de banana do Brasil. As cultivares Prata Anã, ‘clone Gorutuba’ e a ‘Prata Catarina’, predominantes em mais de 70% da área plantada nessa região estão sendo seriamente afetadas pelo *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) e a falta de métodos de controle eficientes vem agravando ainda mais esse problema. Com isso, o objetivo do trabalho foi avaliar diferentes estratégias de manejo integrado para o mal-do-Panamá. O experimento foi montado em uma área altamente infestada com Foc e foram utilizadas mudas micropropagadas de ‘Maçã’ (AAB, altamente suscetível), ‘Prata Anã’ (AAB, suscetível) e ‘BRS Princesa’ (AAAB, resistência qualitativa), avaliadas em quatro tratamentos. O tratamento top consistiu na aplicação de silício, Trichoderma, esterco bovino, fontes diferenciadas de NPK e plantio de cobertura com *C. juncea*. O médio e mínimo seguiram o modelo top com redução gradual e para o controle adotou-se o manejo convencional. Os primeiros sintomas de doença foram observados três MAP na ‘Maçã’, que após nove meses apresentou 100% de incidência em todos os tratamentos. Na ‘Prata Anã’ os primeiros sintomas surgiram com seis meses e ao final do 12º mês o top apresentou uma redução de 30% em relação ao tratamento controle, com apenas 14% de incidência. Em relação ao ID em ‘Prata Anã’ a redução foi de 58% no índice da doença em relação ao controle e proporcionou um aumento de 157,3% na produtividade, que foi de 22,9 t/ha. Os resultados preliminares indicam que a adoção de práticas que favorecem a saúde do solo permite que a ‘Prata Anã’ seja cultivada em solos infestados com Foc, com produtividade satisfatória. Não podendo deixar de destacar a importância da resistência genética da ‘BRS Princesa’, que garantiu 0% de incidência do mal-do-Panamá e a necessidade de monitorar e reduzir o inóculo inicial presente na área.

Palavras chaves: *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, *Musa* spp., mal-do-Panamá, Saúde do solo.

Management of Fusarium wilt of banana in Minas Gerais, Brazil

ABSTRACT: The Northern of Minas Gerais out among the main banana producing regions of Brazil. The cultivars 'Prata Anã 'clone Gorutuba' and 'Catarina', prevalent in more than 70% of the planted area in this region are seriously affected by *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) and the lack of effective control methods is aggravated this problem further. Thus, the objective of this study was to evaluate different integrated management strategies for Panama disease. The experiment was riding in a highly infested with Foc and plantlets were used in 'Silk' (AAB, highly susceptible), 'Prata Anã' (AAB, susceptible) and 'BRS Princesa' (AAAB, qualitative resistance), valued at four treatments. The top treatment consisted of silicon application, Trichoderma, manure, different sources of NPK and planting cover with *C. juncea*. The average minimum and followed the top model with gradual reduction and control adopted the conventional management. The first symptoms of disease were observed in three MAP 'Silk', that after nine months showed 100% incidence in all treatments. In 'Prata Anã' the first symptoms appeared six months and the 12th month of the end of the top decreased by 30% compared to the control treatment, with only 14% incidence. Regarding the ID in 'Prata Anã' the reduction was 58% in the disease rate in the control and provided an increase of 157.3% in productivity, which was 22.9 t / ha. Preliminary results indicate that the adoption of practices that promote soil health allows the 'Prata Anã' are grown in soil infested with Foc, with satisfactory productivity. Can not fail to highlight the importance of genetic resistance 'BRS Princesa', which guaranteed 0% incidence of Panama disease and the need to monitor and reduce the initial inoculum present in the area.

Keywords: *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, *Musa* spp. Panama disease, Soil health.

INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se entre os cinco maiores produtores mundiais de banana, com uma produção aproximada de 6,8 milhões de toneladas em 464,5 mil hectares plantados (IBGE, 2016). A banana se destaca como a segunda fruta mais consumida no Brasil perdendo apenas para laranja (Treichel et al., 2016).. Dentre os principais polos brasileiros de produção, está à região Norte de Minas Gerais (NMG), com aproximadamente 16 mil ha (IBGE, 2016). A maioria (70%) da área plantada no NMG corresponde a variedades tipo Prata (AAB), com destaque para os clones 'Prata anã', 'Prata Gorutuba' e 'Prata Catarina'. O maior problema fitossanitário dessas variedades é sua susceptibilidade à Fusariose da bananeira (FB), causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc).

A FB é considerada uma das seis doenças de maior importância mundial (Ploetz e Pegg, 1997) e a mais destrutiva entre as que atacam a bananeira (Stover, 1972; Ploetz, 1994;). *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* é um patógeno habitante de solo de elevada capacidade saprofitica e de alta variabilidade genética (Ploetz, 2006; O'Donnell et al., 2009;). Uma vez que o solo está infestado por Foc o plantio de variedades suscetíveis é inviável, pois o fungo permanece viável no solo por décadas (Stover, 1962; Stover e Ploetz, 1990). A Fusariose é atualmente o principal problema fitossanitário enfrentado pelos produtores de banana no Norte de Minas Gerais, acarretando perdas econômicas de até 100%. Até o presente momento nenhum método de controle foi eficaz para o manejo de Foc nessas condições. É de consenso que o controle químico, cultural e biológico individualmente aplicados não são eficientes no controle da FB (Ploetz 2006). No NMG alguns produtores têm derrubados os bananais tipo 'Prata' com alta incidência de mal-do-Panamá e plantado cultivares do subgrupo Cavendish (AAA), resistentes ao Foc. No entanto, as variedades tipo Cavendish apresentam menor valor de mercado nessa região e em condições de alta densidade de inóculo podem ser afetadas e favorecer o surgimento de novas populações do patógeno, mais agressivas e com virulência diferenciada.

Estratégias de controle da Fusariose integrando práticas de manejo que aumentam a saúde de solo e raízes e o uso de variedades com resistência quantitativa poderiam não só reduzir o potencial de inóculo do patógeno no solo, mas fortalecer as defesas da resistência da planta. Todavia esse tipo de

abordagem nunca foi estudado no NMG. Neste trabalho se relatam resultados utilizando diferentes estratégias de manejo para reduzir as perdas provocadas pela FB no NMG, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Área experimental

O experimento foi conduzido na Fazenda IV da Empresa Borborema, no projeto Jaíba, MG, em uma área de 5437 m², antes cultivada com bananeira 'Prata Catarina', a qual foi dizimada pelo mal-do-Panamá. A área de latossolo vermelho com textura argilosa está localizada geograficamente a 15° 20' 14" sul e 43° 41' 9" oeste, com 475 metros de altitude. De acordo com Köppen a classificação do clima é Aw: clima tropical com estação seca de inverno. Durante o período compreendido entre o plantio das mudas e a colheita do primeiro ciclo as temperaturas variaram de 21°C a 33°C com uma média de 26,6°C e a precipitação acumulada foi de 609 mm, sendo que somente em janeiro foram registrados 404 mm (INMET, 2016).

Antes do plantio foram retiradas amostras de solo na profundidade de 0-20 cm para análise química e no preparo da área de plantio foram realizadas aração, gradagem e abertura de sulco.

Delineamento experimental

O experimento foi estabelecido em blocos casualizados, com quatro repetições (blocos) e 12 parcelas por bloco. Cada quatro parcelas (tratamentos) por bloco correspondia a uma determinada cultivar, 'Maçã' (AAB), 'Prata-anã' (AAB) e 'BRS Princesa' (AAAB), avaliadas independentemente. As parcelas eram compostas por 20 plantas e em cada parcela foram avaliadas as seis plantas centrais, totalizando 24 plantas úteis de cada cultivar por tratamento (Tabela 1).

Tabela 1. Composição de cada tratamento aplicado no experimento. *Trichoderma harzianum* (*T. harzianum*); Silício (Si); Matéria orgânica (MO); Nitrato de cálcio (NC); Sulfato de potássio (SP); Sulfato de amônio (AS); Cloreto de Potássio (CP); Yoorin Master (YM); Mono amônio fosfato (MAP) e *Crotalaria juncea* (*C. juncea*).

Tratamentos	Aplicação de Si no plantio	Aplicação <i>T. harzianum</i>	Aplicação MO	Adubações de N/K	Adubação de P	Plantio cobertura
Top	100% da dose	Intervalo de três meses (1×10^6 UFC)	20 litros /ano 4x	100% NC/SP	100% de YM	<i>C. juncea</i>
Médio	50% da dose	Intervalo de seis meses (1×10^6)	10 litros/ano 4x	50% NC+ 50% AS/ 50% SP + 50% CP	50% YM + 50% MAP	Não
Mínimo	25% da dose	No plantio e antes da floração (1×10^6)	5 litros/ano 4x	25% NC + 75% SA /25% SP + 75% CP	25% YM + 75% MAP	Não
Controle	0% da dose	Sem aplicação	Sem aplicação	100% SA /100% CP	100% MAP	Não

Implantação do experimento

O experimento foi implantado no dia 02/03/2015 com mudas micropropagadas de bananeira das cultivares 'Prata Anã', 'Maçã' e 'BRS Princesa' em local de ocorrência do mal-do-Panamá.

O espaçamento utilizado foi de 3,75 m x 1,45 m, sendo 3,75 m entre ruas e 1,45 m entre plantas, totalizando 1840 plantas/ha. No plantio, de acordo com cada tratamento (Tabela 1), foi realizada a aplicação de matéria orgânica (esterco bovino) na dose máxima de 5 litros para o top e redução gradativa para os demais tratamentos. Para a adubação fosfatada foi utilizado MAP (44% de P₂O₅/10% de N) e Yoorin master 1 (17,5% de P₂O₅; 18% Ca; 7% Mg; 0,1% B; 0,05% Cu; 0,3% Mn; 10% Si; 0,55% Zn). No tratamento top utilizou-se uma dose de 100 g/cova de termofosfato e para os demais tratamentos foram utilizadas doses proporcionais ao fornecimento de fósforo recebido pelo top. A adubação fosfatada foi repetida na mesma quantidade no sétimo mês após o plantio. A aplicação da dose máxima de agrosilício (Pó de Rocha Ipirá, com 54% SiO₂) foi estabelecida em 500 g/cova no top, com redução para os demais tratamentos de acordo com o manejo adotado. Além das adubações o tratamento top recebeu plantio de cobertura

vegetal com *Crotalaria juncea* cultivar IAC-KR1, nas entrelinhas e após o plantio das bananeiras. O corte da *C. juncea* foi realizado dois meses após o plantio, e depositada no sulco e na linha de irrigação. Como método de controle biológico (CB) foi realizada a aplicação de *T. harzianum* um dia após o plantio na concentração de 1×10^6 /g de solo, nos tratamentos top, médio e mínimo. Para o preparo do inóculo de *Trichoderma* utilizou-se areia lavada (250g), fubá de milho (50g) e água destilada esterilizada (50 ml). Antes de ser utilizado, o inóculo foi quantificado através de diluição seriada e contagem de unidades formadoras de colônias (UFC). As demais aplicações seguiram o cronograma para cada tratamento.

As adubações, nitrogenada e potássica, foram iniciadas um mês após o plantio e como fonte de nitrogênio e potássio foram utilizados os adubos nitrato de cálcio (15,5%N; 19% Ca), nitrato de amônio (30%N), sulfato de amônio (18%N), sulfato de potássio (51,5% K₂O; 18% S) e cloreto de potássio (60%K₂O). A dose total de N e K₂O aplicada foi de 400 e 800 kg/ha/ano, respectivamente, parcelada em 12 meses. Entretanto, a partir do quarto mês, a adubação da cultivar BRS Princesa foi reduzida em 50% em relação a 'Prata Anã', devido ao seu alto vigor vegetativo. Com isso a quantidade final de N e K₂O aplicada na BRS Princesa foi de 250 e 460Kg/ha/ano, respectivamente. No sétimo, oitavo e décimo mês não foram realizadas as adubações, devido as altas temperaturas registradas na região. A porcentagem de adubos para esses meses foi redistribuída para o nono, décimo primeiro e décimo segundo mês.

Para os tratos culturais: desbaste de plantas, controle de plantas invasoras, retirada de folhas senescentes, retirada do coração e de pencas, foi adotado o manejo da Fazenda IV da Borborema. A condução do bananal foi estabelecida de acordo com as cultivares. Para a 'Prata Anã' seguiu o método tradicional com mãe, filha e neta, enquanto que para cultivar BRS Princesa foi estabelecido um manejo com dois seguidores (mãe, duas filhas e duas netas). A severidade da Sigatoka amarela foi monitorada de acordo com o cronograma da Fazenda e não foi necessária a aplicação de fungicida. O controle de plantas daninhas foi realizado com roçada manual, exceto nos meses de setembro e novembro, onde foi necessária a aplicação de helmoxone, herbicida de contato (Ingrediente ativo: dicloreto de paraquate; Grupo químico: bipyridílio; Nome químico: 1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride).

Avaliações

Desenvolvimento das plantas de bananeira e produção de frutos

Para a avaliação do desenvolvimento das bananeiras foram coletados dados referentes à altura das plantas, diâmetro do pseudocaule, número de folhas vivas e ciclos da planta, conforme metodologia descrita a seguir.

Para a altura e circunferência das plantas, foram realizadas medições a cada três meses, a partir do 3º mês até a emissão da inflorescência, tomando-se como referência o nível do solo até a inserção da última folha para altura e 30 cm acima do nível do solo para a circunferência do pseudocaule. As medições foram realizadas com auxílio de uma fita métrica e de uma trena. Após as medições os dados de circunferência foram transformados para diâmetro. O Número de folhas ativas foi contabilizado no florescimento das plantas e consideraram-se apenas as folhas que apresentavam mais da metade do limbo verde. O ciclo vegetativo foi contabilizado com relação ao número de dias entre o plantio e o florescimento da planta enquanto que para o reprodutivo foram considerados os dias entre o florescimento e a colheita dos cachos. A soma dos dois ciclos contabilizou os dados para ciclo total. Para os parâmetros de produção avaliaram-se a massa fresca dos frutos comercializáveis, produtividade ($\text{ton}\cdot\text{ha}^{-1}$), número total de pencas e frutos por cacho, massa fresca e número de frutos da 2ª penca, comprimento e diâmetro de frutos.

Incidência e severidade da Fusariose da bananeira

A incidência da FB foi avaliada mensalmente, a partir do terceiro mês do plantio, com base na expressão dos sintomas externos da doença. Na colheita, a severidade interna foi avaliada mediante cortes transversais do rizoma e exame da descoloração vascular causada pela infecção por Foc, atribuindo-se notas conforme a escala proposta por Cordeiro et al. (1993), como segue: (0) ausência de descoloração vascular, planta sadia; (1) pontos isolados de descoloração no câmbio vascular; (2) descoloração correspondente a até 1/3 do câmbio vascular; (3) descoloração entre 1/3 e 2/3 do câmbio vascular; (4) descoloração superior a 2/3 do câmbio vascular, e (5) descoloração total do câmbio vascular. A partir

dessas notas, foram calculados os índices da doença (ID), para sintomas internos, utilizando a fórmula de McKinney's (McKinney, 1923), onde $ID (\%) = 100 \cdot \Sigma[(f.v)/(n.x)]$, sendo ID - índice de doença; f - número de plantas com a mesma nota; v - nota observada; n - número total de plantas avaliadas e x - nota máxima da escala. A partir dos sintomas o patógeno foi isolado e a confirmação do agente causal foi feita através dos Postulados de Koch.

Os cálculos referentes à análise estatística, para as variáveis agrônomicas, foram executados utilizando-se do *software* "Sisvar" (FERREIRA, 2011). Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância, e as médias, comparadas por teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro. Para fins estatísticos cada bloco foi considerado como uma repetição, totalizando quatro repetições por tratamento e seis plantas úteis por repetição.

RESULTADOS

Todos os resultados relatados são referentes ao primeiro ciclo de cultivo. Das três cultivares avaliadas apenas duas, Prata Anã e BRS Princesa, resistiram à pressão do inóculo inicial de Foc, e completaram seus ciclos, vegetativo e reprodutivo. Com três meses após o plantio (MAP), os primeiros sintomas externos da FB foram observados na cultivar Maçã. Os valores de incidência variaram de 14% (Top) a 30% (Médio), sendo que os tratamentos, mínimo e controle apresentaram 25% e 23% de incidência, respectivamente (Figura 1). Aos seis MAP houve um aumento drástico de incidência da doença na 'Maçã', com mais de 60% de plantas infectadas, independentemente do tratamento. A maior incidência foi observada no tratamento controle com 83%, seguido do médio 81%, mínimo 80% e o Top com 61%.

Os primeiros sintomas externos na cultivar Prata Anã, só foram observados a partir do sexto MAP, com valores de incidência bem inferiores ao observado para cultivar Maça. Com seis meses o valor máximo de incidência para 'Prata Anã' foi de 8% no tratamento mínimo, sendo que os tratamentos top e controle apresentaram 6% e o médio 5% (Figura 1). Aos nove MAP a incidência de mal-do-Panamá em 'Maçã' atingiu 100% em todos os tratamentos. Em 'Prata Anã' houve um aumento expressivo nos tratamentos testemunha e mínimo, que apresentaram 15% de incidência, enquanto que no top e médio ocorreu um

pequeno aumento de 2% e 3%, respectivamente, do sexto para o nono mês. O aumento de incidência em ‘Prata Anã’ ocorreu de forma mais acentuada entre o nono e o décimo segundo mês, principalmente no controle, onde se observou 44% de plantas com sintomas de FB. Para os tratamentos mínimo, médio e top os valores de incidência foram de 35%, 19% e 14%, respectivamente. Mesmo sob a alta pressão de inóculo de Foc presente na área do experimento, não foram observados sintomas (externos ou internos) da doença em ‘BRS Princesa’, em nenhum dos tratamentos.

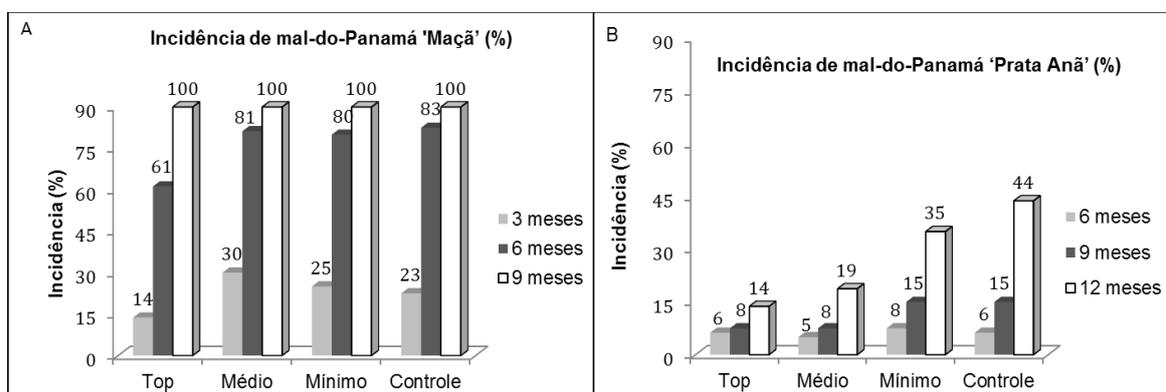


Figura 1. Incidência de mal-do-Panamá. A – Incidência em cultivar de bananeira ‘Maçã’ no período de 3, 6 e 9 MAP. B - Incidência em cultivar de bananeira ‘Prata Anã’ no período de 6, 9 e 12 MAP.

A cultivar ‘BRS Princesa’ não apresentou nenhum índice de doença (ID), em relação à avaliação de sintomas internos, independentemente do tratamento. Em ‘Prata Anã’ houve diferença significativa no ID, com destaque para os tratamentos Top e médio, que apresentaram os menores índices de doença, 23 % e 26%, respectivamente (Figura 2). Isto corresponde a uma redução no ID de 58% e 55%, respectivamente, em relação ao tratamento controle, que apresentou um ID de 81%. Já o tratamento mínimo, apesar de apresentar um ID superior aos tratamentos top e médio (57%), reduziu a intensidade da FB em 24% quando comparado com o tratamento controle.

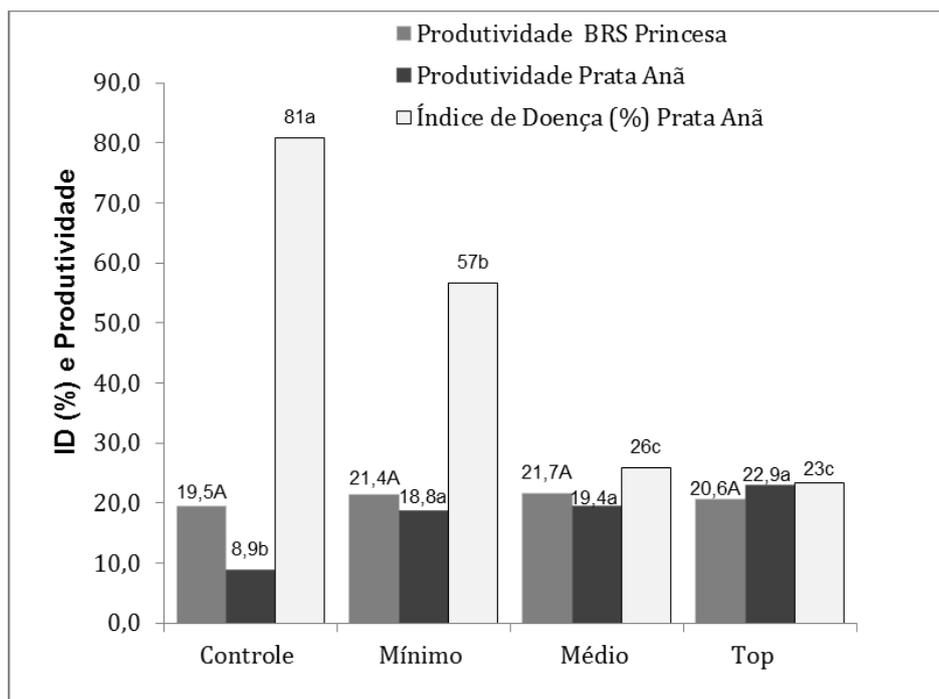


Figura 2. Índice de mal-do-Panamá e produtividade (t/ha) de bananeira ‘Prata Anã’ e ‘BRS Princesa’, cultivadas em diferentes sistemas de manejo. Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

Com relação à produtividade, estatisticamente não houve diferença significativa entre os tratamentos para a cultivar ‘BRS Princesa’ (Figura 2). Já em ‘Prata Anã’ o tratamento top proporcionou um aumento de 157,3% na produtividade (22,9t/ha) quando comparado com o tratamento controle (8,9t/ha). As produtividades dos tratamentos médio (19,4t/ha) e mínimo (18,8t/ha) não diferiram estatisticamente do top (Figura 2).

Quanto às variáveis altura e diâmetro, não houve diferença significativa entre os tratamentos da cultivar ‘Prata Anã’, independentemente do tempo de avaliação. Já para ‘BRS Princesa’, no terceiro e sexto MAP, as plantas dos tratamentos controle e mínimo apresentaram uma maior altura e diâmetro, em relação ao top e médio (Figura 3). No entanto, aos nove MAP não houve diferença significativa entre os tratamentos de ‘BRS Princesa’, para altura e diâmetro. A altura média e diâmetro médio da cultivar ‘BRS Princesa’ ao final do ciclo vegetativo, considerando os quatro tratamentos, foi de 3,5 m e 70,6 cm, respectivamente. A ‘Prata Anã’ chegou a 2,61 m de altura e 71,39 cm de diâmetro.

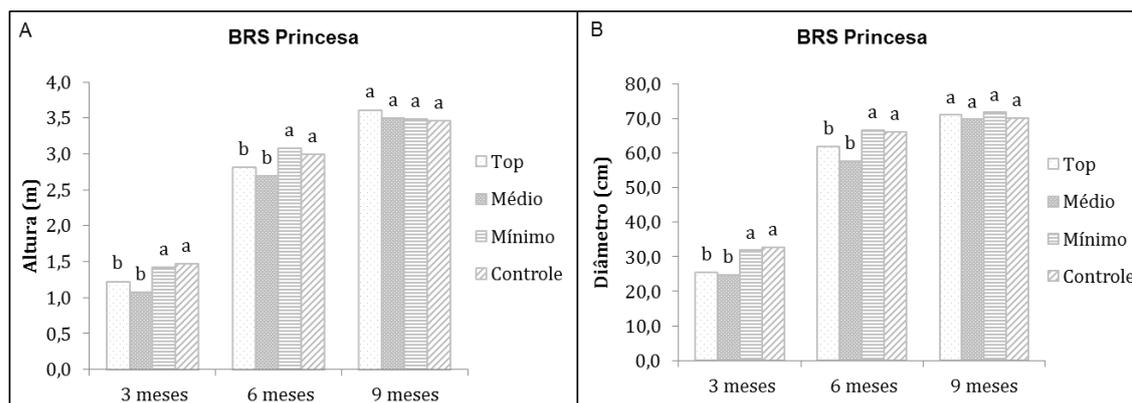


Figura 3. Altura e diâmetro de bananeiras BRS Princesa submetidas a diferentes tipos de manejo. A – Altura média aos três, seis e nove meses após o plantio; B - Diâmetro médio aos três, seis e nove meses após o plantio. Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

A 'BRS Princesa' apresentou os maiores ciclos, vegetativo e total, no tratamento mínimo e controle, e maior ciclo reprodutivo no tratamento top (Tabela 2). Na variedade 'Prata Ana' não foi observado diferença nos tratamentos para o ciclo vegetativo, entretanto para o ciclo reprodutivo, os tratamentos top e controle proporcionaram um aumento médio significativo de 10 dias em relação aos demais tratamentos (Tabela 2). Em relação ao ciclo total, o tratamento top apresentou o maior valor, 387dias.

Tabela 2. Médias do ciclo vegetativo (CV), ciclo reprodutivo (CR) e ciclo total (CT) para as cultivares BRS Princesa e Prata Anã ao final do primeiro ciclo de cultivo.

Tratamentos	BRS Princesa		
	CV	CR	CT
Top	214,62b	104,99a	319,62b
Médio	229,04b	98,12b	327,16b
Mínimo	243,04a	98,45b	341,50a
Controle	255,71a	94,37b	350,08a
CV (%)	4,47	3,22	3,25
	Prata Anã		
Top	244,33a	143,12a	387,45a
Médio	237,71a	136,70b	374,00b
Mínimo	238,54a	132,99b	369,54b
Controle	227,08a	146,41a	373,49b
CV (%)	4,29	3,89	1,97

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

Nos parâmetros de produção da 'BRS Princesa', o tratamento top proporcionou um aumento significativo no número de pencas de 0,58; 0,88 e 1,57

em relação aos tratamentos, médio, controle e mínimo, respectivamente (Tabela 3). O menor comprimento de frutos foi observado no tratamento controle, com uma redução média de 0,74 cm em relação à média dos outros tratamentos, os quais não diferiram estatisticamente. Para a cultivar Prata Anã observou-se diferenças significativas entre os tratamentos para as variáveis: total de frutos comerciais (TFC), total de frutos segunda penca (TFSP), número de pencas (NP) e comprimento de frutos (CF) (Tabela 3). Os tratamentos top e mínimo apresentaram, respectivamente, um aumento significativo de 15,81 e 9,35 no TFC e de 0,96 e 0,59 no NP em relação às médias dos outros dois tratamentos que não diferenciaram entre si. Para o TFSP foi verificada uma redução significativa de 1,46 frutos no tratamento médio em relação à média dos demais tratamentos, que estatisticamente não diferenciaram entre si. O top aumentou significativamente o comprimento dos frutos (CF) de Prata Anã em 1,07; 1,02 e 1,24 cm em relação aos tratamentos médio, mínimo e controle, respectivamente. Quanto as variáveis, peso da segunda penca (PSP), diâmetro de frutos (DF) e número de folhas (NF), em ambas as cultivares, não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 3). Também não foi observada diferença significativa dos tratamentos para as variáveis: TFC e TFSP para a 'BRS Princesa'.

Tabela 3. Médias do total de frutos comerciais (TFC), peso da segunda penca (PSP), total de frutos da segunda penca (TFSP), número de pencas (NP), comprimento de frutos (CF), diâmetro de frutos (DF) e número de folha (NF) para as cultivares BRS Princesa e Prata Anã ao final do primeiro ciclo de cultivo.

Tratamento	BRS Princesa						
	TFC	PSP	TFSP	NP	CF(cm)	DF(cm)	NF
Top	133,25a	1,67a	17,29a	9,08a	13,06a	3,61a	11,74a
Médio	125,62a	1,93a	17,29a	8,50b	13,04a	3,70a	12,96a
Mínimo	114,83a	2,14a	17,58a	7,51c	13,40a	3,81a	11,70a
Controle	118,62a	1,67a	21,12a	8,20b	12,43b	3,71a	11,46a
CV (%)	6,4	12,89	10,64	5,15	2,67	4,29	8,74
Tratamento	Prata Anã						
	TFC	PSP	TFSP	NP	CF(cm)	DF(cm)	NF
Top	130,00a	1,78a	14,54a	9,37a	14,55a	3,51a	13,04a
Médio	113,59b	1,59a	13,26b	8,66b	13,48b	3,39a	14,25a
Mínimo	123,54a	1,54a	14,62a	9,00a	13,53b	3,35a	13,70a
Controle	114,79b	1,38a	15,04a	8,17b	13,31b	3,25a	13,04a
CV (%)	4,11	8,5	2,43	4,18	3,1	6,33	10,42

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos devem ser considerados como preliminares, uma vez que os dados coletados são referentes, somente ao primeiro ciclo reprodutivo. No entanto, foi possível visualizar o potencial de práticas estabelecidas nesse experimento, para o manejo da FB em área altamente infestada com Foc. A homogeneidade do inóculo de Foc na área do experimento foi comprovada com a manifestação consistente dentro de todos os blocos da FB em na cultivar Maçã.

A falta de eficiência de todos os tratamentos, no manejo da FB em 'Maçã' pode ser relacionada à alta densidade de inóculo inicial de Foc presente na área, bem como à alta suscetibilidade dessa cultivar. Estes resultados indicam que a utilização de cultivares altamente suscetíveis à FB, como a 'Maçã', deve-se utilizar área sem histórico da doença ou interferir de forma preventiva em áreas infestadas, na tentativa de aumentar a supressão do inóculo inicial e aumentar a saúde do solo. Assim, a busca por estratégias de manejo que visem à saúde do solo é importante mesmo para genótipos que no momento apresentam resistência à doença.

Os valores de incidência da FB observada em 'Prata Anã' indica o nível de susceptibilidade desta cultivar quando comparada com 'Maçã'. Os tratamentos top e médio retardaram o período de incubação do patógeno em 'Prata Anã', visualizado com o aparecimento mais tardio dos sintomas externos. Esse comportamento sugere que o conjunto de práticas usadas nesses tratamentos pode ter resultado em menor êxito do patógeno na infecção da planta, diminuição do número de propágulos de Foc viáveis, ou mesmo um fortalecimento das defesas da planta. Se esses fatores atuaram em conjunto ou de maneira isolada precisa ser melhor pesquisado. Similarmente, não é possível identificar se esses resultados são o produto da integração das medidas adotadas em cada tratamento ou de um fator isolado dentro dos tratamentos.

No entanto, entre os fatores que podem ter interferido na infecção de Foc, as doses de silício e matéria orgânica aplicadas na cova de plantio e o *T. harzianum* ganham destaque por agirem diretamente na estrutura morfológica da planta, na microbiota do solo e sobre o patógeno, respectivamente. Fortunato et al., (2012) atribuíram a redução da FB em 'Maçã' ao aumento da concentração de silício presente no sistema radicular e pseudocaule das plantas. A redução na

incidência da FB foi relatada por Thangavelu et al. (2004), com a aplicação de *T. harzianum*. Entretanto a eficácia do biocontrole de Foc por longos períodos em campo, ainda é dependente de estudos mais detalhados (Ploetz, 2004). Wen et al. (2015) verificaram a redução da FB, com a aplicação preventiva de matéria orgânica associada com inundação do solo, 15 dias antes do plantio. Os demais fatores incorporados nos tratamentos top e médio, não devem ser descartados com relação à redução da incidência da FB, pois atuam diretamente sobre a planta.

Verificou-se que a resistência completa da cultivar BRS Princesa nas condições estudadas. No entanto a durabilidade dessa resistência pode estar condicionada à população do patógeno presente na área. Dessa maneira o uso de práticas que suprimam o patógeno e aumentem ou a defesa da planta devem ser integradas ainda que a variedade tenha se comportando como resistente.

O aumento significativo da altura e diâmetro em BRS Princesa durante os seis primeiros meses, no tratamento mínimo e controle, está diretamente relacionado com os fertilizantes e doses utilizados. O mono-amônio-fosfato (MAP) utilizado no controle e em maior dose no mínimo proporciona um rápido desenvolvimento radicular, o que favorece a absorção de nutrientes, água e também a infecção de Foc. Já o termofosfato é solúvel na presença dos ácidos fracos do solo e das raízes, disponibilizando os nutrientes de acordo com a necessidade da planta, o que proporciona o desenvolvimento gradual do sistema radicular. Em se tratando de um híbrido tetraploide que necessita de menos fertilizantes para seu desenvolvimento, a aplicação de MAP, impulsionou o desenvolvimento inicial da BRS Princesa. A disponibilização dos nutrientes de forma mais eficiente, devido à fonte de fertilizante utilizada, e o aumento de matéria orgânica e microbiota benéfica do solo provavelmente garantiu a redução do ciclo vegetativo da BRS Princesa no top e médio.

Na variedade 'Prata Anã' a infecção mais acentuada do patógeno no tratamento controle e mínimo, pode explicar a igualdade das variáveis altura e diâmetro, entre todos os tratamentos. Possivelmente a infecção impediu o rápido desenvolvimento das plantas em função da fonte de adubo utilizada, como observado para cultivar BRS Princesa. A altura da planta interfere diretamente na densidade de plantio, produção e manejo da cultura, por isso é considerada uma das principais características de interesse fitotécnico e do melhoramento genético

(Belalcázar Carvajal, 1991). O diâmetro médio de 'Prata Anã', independentemente do tratamento, foi superior ao observado por Marques et al. (2011), na avaliação de bananeira tipo Prata sob diferentes sistemas de irrigação. De acordo com Lopes et al. (2014), o diâmetro é uma característica varietal que sofre influência do ambiente e do manejo.

O aumento do ciclo reprodutivo para 'Prata Anã' e 'BRS Princesa' cultivadas no tratamento top ocorreu em função do excesso de manganês observado na parcela dentro do bloco quatro. O efeito negativo do nutriente foi observado a partir do ciclo reprodutivo, com manifestação de queima das bordas foliares, sintoma típico causado pelo excesso do nutriente. Em função desse evento ocorreu um aumento no tempo de enchimento dos frutos bem como uma queda na qualidade dos cachos. O que acarretou na redução da produtividade das plantas de bananeira 'Prata Anã' e 'BRS Princesa' quando cultivadas no tratamento top, em virtude do bloco quatro não apresentar o mesmo potencial observado nos demais blocos. Já o aumento no ciclo reprodutivo do tratamento controle decorreu em função do alto índice de severidade da doença observado em 'Prata Anã'. Os efeitos negativos da infecção do patógeno se tornam mais evidentes quando a planta inicia seu ciclo reprodutivo, pois há um aumento na necessidade nutricional da hospedeira. No entanto essa exigência não é correspondida, pois o patógeno obstrui o sistema vascular da planta, impedindo a passagem desses minerais e água. Com isso, os cachos demoram mais tempo para serem formados e perdem a qualidade, diminuindo a quantidade de frutos comerciais ou sendo completamente descartados. Isso foi evidenciado na baixa produtividade de Prata Anã quando cultivada em sistema convencional (controle). Lopes et al. (2014) associaram a redução dos cachos de banana em função da colonização de Foc, observada nas plantas avaliadas.

Considerando apenas a produtividade da cultivar 'BRS Princesa' sem analisar a influência dos manejos utilizados ou uma possível suplantação de resistência da planta pelo patógeno, o tratamento mínimo seria o mais indicado. Pois a produtividade de 1,9t/ha a mais em relação ao tratamento controle proporcionaria um aumento significativo da receita, cobrindo o custo adicional desse sistema de manejo em relação ao controle. A produtividade média de 'Prata Anã' observada nos tratamentos top, médio e mínimo foi superior à média nacional de 14,74t/ha (IBGE, 2016). Quanto aos parâmetros de produção, em

relação à 'BRS Princesa', as pequenas variações observadas para número de pencas e comprimento de frutos, foi em função do sistema de manejo adotado e interferência de fatores ambientais não controlados. Em 'Prata Anã' além desses fatores também teve a influência do patógeno para esses e os demais parâmetros. O número médio de folhas de 'Prata Anã' observado neste trabalho está acima do mínimo requerido para enchimento normal dos frutos, que segundo Rodrigues et al. 2009, é de 12 folhas vivas.

Apesar de serem dados preliminares e não conclusivos, foi verificado o potencial das práticas adotadas, e a importância dos tratamentos visando à saúde do solo como fator essencial na redução da intensidade da FB em Prata Anã e no aumento da produtividade. Não podendo deixar de destacar a importância da resistência genética, observada na cultivar BRS Princesa.

CONCLUSÕES

- A cultivar BRS Princesa, do tipo Maçã mostrou altos níveis de resistência à FB nas condições estudadas, mostrando-se como uma alternativa de exploração comercial no NMG;
- As práticas utilizadas permitiram cultivar 'Prata Anã' em solos infestados com *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* e obter níveis aceitáveis de produtividade. Tratamentos continuados visando à saúde do solo e da planta podem eventualmente resultar em ambientes supressivos para Foc.
- As práticas utilizadas não foram suficientes para cultivar a variedade 'Maçã', totalmente dizimada pela FB. Práticas que visem maior supressão do inóculo de Foc nas etapas pré-plantio, bem como fortaleçam as defesas do material de plantio como o uso de microrganismos endofíticos devem ser estudadas em experimentos multi-ciclos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Belalcázar Carvajal, S.L. El cultivo del plátano em el trópico. Cali: Imprenta Feriva, 1991. 376p.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/home/>>. Acesso em 08 de agosto de 2016.

INMET-Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=home/page&page=rede_estacoes_conv_graf> Acesso em 08 de agosto de 2016.

Lopes, O. P., Maia, V. M., Xavier, A. A., Costa, M. R. D., & Rodrigues, M. G. V. (2014). Genetic diversity, growth and production of genotypes of banana'Prata-Anã'in area with Panama disease. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(4), 924-939.

Marques, P. R. R.; Donato, S.L.R.; Pereira, M. C. T.; Coelho, E. F.; Arantes, A. de M. (2011). Características Agronômicas de bananeiras tipo Prata sob diferentes sistemas de irrigação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 46 (8), 852-859.

McKinney, R.H. (1923). Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. *Journal of Agricultural Research*, 6, 195-218.

O'Donnell, K., et al. (2009). A two locus DNA sequence database for typing plant and human pathogens within the *Fusarium oxysporum* species complex. *Fungal Genetics and Biology*. 46, 936–948.

Pérez, L., Batlle, A., Chacón, J., UBPC, C. D. S., Montenegro, V. (2009). Eficacia de *Trichoderma harzianum* a34 en el biocontrol de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, agente causal de la marchitez por Fusarium o mal de panamá de los bananos en Cuba. *Fitosanidad*, 259-263.

Ploetz, R.C., (2004). Biological control of Fusarium wilt: a review and an evaluation. In: *Abstr. Booklet, Intl. Congr.on Musa: Harnessing Research to Improve Livelihoods*, p. 141.

Ploetz RC, (2006). Fusarium wilt of banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Phytopathology* 96, 653–656.

Ploetz, R.C., Herbert, J., Sebasigari, K., Hernandez, J.H., Pegg, K.G., Ventura, J.A., Mayato, L.S. Importance of Fusarium wilt in different banana-growing regions. In: Ploetz, R.C. (Ed.), *Fusarium Wilt of Banana*. APS Press, St. Paul, MN., USA, pp. 9-26, 1990.

Ploetz, R. C., Pegg, K. G. (1997). Fusarium wilt of banana and Wallace's line: Was the disease originally restricted to his Indo-Malayan region? *Australasian Plant Pathology*, 26, 239-249.

Ploetz RC, Zentmyer GA, Nishijima W, Rohrbach K, Ohr HD. *Compendium of Tropical Fruit Diseases*. St. Paul, MN, APS Press, The American Phytopathological Society, p. 111, 1994.

Rodrigues, M.G.V.; Dias, M.S.C.; Pacheco, D.D. (2009). Influência de diferentes níveis de desfolha na produção e qualidade dos frutos da bananeira 'Prata Anã'. *Revista Brasileira de Fruticultura* 31, 755-762.

Stover, R. H. 1972. *Banana, Plantain, and Abaca Diseases*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England.

Stover, R. H. *Fusarial Wilt (Panama Disease) of Bananas and Other Musa Species*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England, 1962.

Stover, R.H, Ploetz, R.C, Fusarium wilt of banana: some history and current status of the disease. *Fusarium Wilt of Banana*. APS Press, p 1–7, 1990.

Thangavelu R, Palaniswami A, Velazhahan R (2004). Mass production of *Trichoderma harzianum* for managing Fusarium Wilt of banana. *Agr. Ecosyst. Environ.* 103:259-263.

Treichel, M.; Kist, B. B.; Santos, C. E.; Carvalho, C.; Beling, R. R. Anuário brasileiro da fruticultura. Santa Cruz do Sul, 2016, 88 p.

Wen, T., Huang, X., Zhang, J., Zhu, T., Meng, L., & Cai, Z. (2015). Effects of water regime, crop residues, and application rates on control of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. *Journal of Environmental Sciences*, 31, 30-37.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A falta de medidas de controle eficientes para o mal-do-Panamá e a exigência mundial por sustentabilidade faz com que à busca por novas estratégias de manejo sejam desenhadas em cima de métodos sustentáveis. Este trabalho buscou integrar a resistência genética, opção de manejo mais eficaz e sustentável, com a saúde do solo e o biocontrole, em um único sistema de manejo capaz de minimizar perdas de produção e de área plantada, além de contribuir para uma produção de alimentos saudáveis, livres de resíduos e de agrotóxicos.

Os resultados obtidos neste trabalho contribuíram significativamente para a bananicultura brasileira, pois demonstram que é possível manejar o Foc, com a adoção de um sistema integrado de medidas, sem afetar o meio ambiente, além de favorecer economicamente e socialmente os polos produtores de banana.