



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

FRANCIS TOCAFUNDO

**AVALIAÇÃO DE ISOLADOS DE *TRICHODERMA* SPP. NO CONTROLE DE
PHYTOPHTHORA PALMIVORA EM MAMOEIRO.**

ILHÉUS - BAHIA

2008

FRANCIS TOCAFUNDO

**AVALIAÇÃO DE ISOLADOS DE *TRICHODERMA* SPP. NO CONTROLE DE
PHYTOPHTHORA PALMIVORA EM MAMOEIRO.**

Dissertação apresentada, para obtenção do título de mestre em Produção Vegetal, pela Universidade Estadual de Santa Cruz.

Área de concentração: Proteção de Plantas

Orientadora: Prof^ª. Dra. Edna Dora Martins
Newman Luz

ILHÉUS - BAHIA

2008

FRANCIS TOCAFUNDO

**AVALIAÇÃO DE ISOLADOS DE *TRICHODERMA* SPP. NO CONTROLE DE
PHYTOPHTHORA PALMIVORA EM MAMOEIRO.**

Ilhéus - BA, 20/06/2008.

Edna Dora Martins Newman Luz – Phd
UESC/CEPLAC
(Orientadora)

Jorge Teodoro de Souza – Phd
UFRB/DCAA

José Luiz Bezerra - Phd
UESC/CEPLAC

Álvaro Figueredo dos Santos - DS
EMBRAPA - CNPF

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Hugo Roberto Tocafundo e Lucia Bezerra Silva Tocafundo, pelo amor, carinho e exemplos de vida, dedico.

A meu avô José Moreira Silva, que me incentivou a prosseguir na jornada, ofereço.

AGRADECIMENTO

A Deus por ter me fornecido coragem para lutar e perseverar nessa caminhada.

A Dra. Edna Dora M. N. Luz, pela orientação, oportunidade, paciência, amizade, incentivo que foram fundamentais no cumprimento dessa jornada.

Ao Dr. Jorge Teodoro de Souza pela orientação, apoio, incentivo e conhecimentos compartilhados.

Ao Dr. José Luiz Bezerra e ao Dr. Marival Lopes pela amizade, carinho, colaboração, companheirismo e mensagens de otimismo.

A Dra. Stela Dalva Midlej e Dra. Karina Peres Gramacho pelas opiniões, incentivo, amizade e colaboração.

Ao Dr. Enilton Nascimento e a Fazenda Caliman, pelas mudas de mamoeiro cedidas para a realização do presente trabalho.

A FAPESB, pelo apoio financeiro pela concessão da bolsa de Mestrado, possibilitando o desenvolvimento da dissertação.

A Ana Rosa Niella Cerqueira, pela cooperação, amizade, paciência e carinho.

A Renatinha, Tacila e Giltemberg, pela paciência e ajuda nos momentos de mais dificuldade.

A Ananias (Seu Nani), pela amizade que me dedica e pela ajuda nas inúmeras vezes que plantamos as mudas de mamão.

As minhas amigas, Livia e Leila Lima, pela amizade, carinho.

Ao pesquisador Lindolfo Pereira Santos Filho pelo auxílio nas análises estatísticas.

Aos parceiros do laboratório de Fitopatologia: Ademilde, Cenilda, Denise, Dilze, Eduardo, Márcia, Tita, Lurdinha, Joel, Mag, Marquinhos, Aline, Dany, Elisa, Lore, Cris, Neto, que me incentivaram nas horas mais difíceis e que cooperaram para que tudo desse certo o meu obrigado de coração.

Aos colegas de turma do Programa de Pós Graduação em Produção Vegetal, pelo convívio e pela amizade.

A todos aqueles que direta e indiretamente, contribuíram para realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1.INTRODUÇÃO	1
2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Origem, descrição e importância econômica do mamoeiro.....	4
2.2. Podridão do pé e dos frutos (<i>Phytophthora palmivora</i>)	5
2.3. Métodos de controle da Podridão das raízes e dos frutos do mamoeiro.....	7
2.4. <i>Trichoderma</i> como agente de controle.....	9
3. METODOLOGIA	13
3.1. Obtenção, manutenção e multiplicação dos isolados de <i>Trichoderma</i> spp.....	13
3.2. Preparo do inóculo de <i>Trichoderma</i> spp.....	13
3.3. Seleção de isolados de <i>P. palmivora</i> para as inoculações.....	14
3.4. Crescimento micelial e produção de zoósporos de isolados de <i>P. palmivora</i> de mamoeiro.....	15
3.5. Preparo do inóculo de <i>Phytophthora palmivora</i>	18
3.6. Seleção de isolados de <i>Phytophthora palmivora</i>	18
3.7. Avaliação do efeito dos isolados de <i>Trichoderma</i> spp sobre o crescimento de <i>P.</i> <i>palmivora</i>	18
3.8. Inoculação em frutos.....	20
3.8.1. Inoculação de <i>Trichoderma</i> spp. em frutos.....	20
3.8.2. Inoculação de <i>P. palmivora</i> em frutos.....	21
3.8.3. Avaliação, número de isolados utilizados por ensaio e análise dos dados.....	22
3.8.3.1 Experimento 1.....	22
3.8.3.2 Experimento 2.....	22
3.8.3.3 Experimento 3.....	23
3.9. Inoculação em mudas de mamoeiro.....	23
3.9.1. Preparo de mudas.....	23
3.9.2. Infestação com <i>Trichoderma</i> spp.....	24
3.9.3. Inoculação das mudas com <i>Phytophthora palmivora</i>	24
3.9.4. Avaliação, número de tratamentos por experimento e análise dos dados.....	25

3.9.4.1 Experimento 1.....	25
3.9.4.2 Experimento 2.....	26
3.9.4.3 Experimento 3.....	26
4. RESULTADOS.....	28
4.1. Crescimento micelial e produção de zoósporos de isolados de <i>P. palmivora</i> de mamoeiro.....	28
4.2. Efeito <i>in vitro</i> dos isolados de <i>Trichoderma</i> spp. sobre o crescimento de <i>P. palmivora</i>	28
4.3. Escolha da concentração adequada de inóculo de <i>Phytophthora</i>	29
4.4. Efeito de isolados de <i>Trichoderma</i> na infecção causada por <i>Phytophthora palmivora</i> em frutos de mamoeiro.....	31
4.4.1. Experimento 1.....	31
4.4.2. Experimento 2.....	32
4.4.3. Experimento 3.....	35
4.5. Testes com isolados de <i>Trichoderma</i> para controle da infecção em mudas de mamoeiro inoculados com <i>P. palmivora</i>	35
5. DISCUSSÃO.....	45
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

AVALIAÇÃO DE ISOLADOS DE *TRICHODERMA* SPP. NO CONTROLE DE *PHYTOPHTHORA PALMIVORA* EM MAMOEIRO.

RESUMO

O Brasil é o maior produtor mundial de mamão. Existem várias doenças fúngicas do mamoeiro que reduzem a produção. Dentre estas doenças destacam-se, no sul da Bahia, as podridões do pé e dos frutos causadas por *Phytophthora palmivora*. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de 18 isolados de *Trichoderma* spp., (8 espécies) no controle *in vitro* e *in vivo* em frutos e mudas de mamoeiro inoculadas com *P. palmivora*. Testes *in vitro* foram realizados em BDA pareando-se os isolados de *Trichoderma* spp. com o isolado 356 de *P. palmivora*. Nos testes para avaliar o controle em frutos, estes foram tratados com *Trichoderma* através da imersão em suspensões a concentração de 1×10^7 conídios/ml, por 5 minutos, 24h antes de serem inoculados com discos de colônias de *P. palmivora*. À mudas de mamoeiro, com 60 dias de idade, aplicou-se 5mL de suspensões a concentração de 1×10^7 conídios/ml de *Trichoderma* spp. ao substrato e, uma semana depois, elas foram inoculadas com 1mL da suspensão de *P. palmivora* na concentração de 5×10^5 zoósporos/ml pelo método de imersão. Observou-se que os isolados ES6, 312, 2995, Tc26, 291, 905, Tc35, Tc25, ES5, T.atro, Tc54, SF04, ET2 e 7CC inibiram *in vitro* o crescimento micelial de *P. palmivora* (Teste Dunnett, $P > 0,05$). Em frutos, em 6 experimentos realizados, apenas os isolados 2995 e SF04 reduziram em mais de 50% as lesões causadas por *P. palmivora*. O método de inoculação e a concentração de inóculo utilizados para mudas permitiram a expressão da virulência do patógeno e todas as mudas dos tratamentos testemunha (inoculação com *Phytophthora* apenas), nos 6 experimentos realizados morreram entre 3 e 10 dias após a inoculação. As percentagens de plantas mortas nos tratamentos com *Trichoderma* spp. variaram de 50 a 100%. Nenhum dos 18 isolados testados apresentou eficiência na redução da infecção por *Phytophthora* em mudas e também, de modo geral, não atuaram positivamente no desenvolvimento das mudas em relação à testemunha sem inoculação.

Palavras - chave: *Carica papaya*; controle biológico; *Trichoderma* spp., *Phytophthora palmivora*.

EVALUATION OF *TRICHODERMA* SPP. ISOLATES TO CONTROL *PHYTOPHTHORA PALMIVORA* IN PAPAYA.

ABSTRACT

Brazil is the largest papaya producer in the world. There are several fungal diseases of papaya causing decrease in fruit production mainly foot and fruit rots caused by *Phytophthora palmivora*. This work aimed to evaluate the effect of 18 isolates of *Trichoderma* spp. (8 species) to control *P. palmivora in vivo* (fruits and seedlings) and *in vitro*. In the *in vitro* tests the *Trichoderma* isolates were paired with the 356 *P. palmivora* isolate. To evaluate control in fruits they were immersed for 5 minutes in suspensions of each of the *Trichoderma* spp. isolates (1×10^7 conidia/ml) and, 24 hours later, the fruits were inoculated with mycelial discs of *P. palmivora*. Papaya seedlings, 60 days old, were treated with *Trichoderma* (5mL of 1×10^7 conidia/ml) and 8 days later inoculated with 1ml of a *P. palmivora* suspension (5×10^5 zoospores/ml). The isolates ES6, 312, 2995, Tc26, 291, 905, Tc35, Tc25, ES5, T.atro, Tc54, SF04, ET2 e 7CC inhibited the mycelial growth of the *P. palmivora* isolate, differing significantly from the control at 5% probability by Dunnett's test. Isolates 2995 and SF04 reduced fruit lesion size in more than 50%. The inoculation method and the zoospores concentration used to inoculate papaya seedlings expressed the pathogen virulence, killing all control seedlings (only inoculated with *P. palmivora*) in all on the 6 experiments conducted. The seedlings treated with *Trichoderma* and inoculated with *P. palmivora* showed percentage of dead plants between 50% and 100%. None of the 18 *Trichoderma* spp. isolates used reduced the *Phytophthora* infection in papaya seedlings and did not improve the development of the seedlings as compared to the control plants.

Keywords: *Carica papaya*; biological control; *Trichoderma* spp., *Phytophthora palmivora*.

1. INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma das fruteiras tropicais mais cultivadas e consumidas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. O Brasil é o principal produtor mundial de mamão, representando 24,0% do total mundial. A produção de 2006 representou um recorde nacional, com 1.897.639 t e um incremento de 20,6% em relação a 2005. A área colhida somou 36.650 ha; e o rendimento médio, 51,77 kg/ha. A Bahia é o líder, com uma produção de 914.679 t de mamão, 48,2% do total nacional. Em relação a 2005, a produção baiana cresceu 25,8%. No estado, estão 13 dos 20 municípios maiores produtores de mamão (IBGE, 2007). O Brasil está entre os principais países exportadores, tendo o mercado europeu como principal alvo. No ano de 2001, o volume exportado atingiu 22.804 t, com um valor de US\$18.503 milhões (MAMÃO, 2003).

Esta cultura é atacada por uma grande diversidade de doenças fúngicas que reduzem a produção de frutos. Dentre estas doenças, destacam-se no sul da Bahia as podridões-do-pé e dos frutos causadas por *Phytophthora palmivora*, que estão entre os principais problemas fitossanitários da cultura. *Phytophthora palmivora* infecta uma ampla gama de hospedeiros entre os quais: citrus (*Citrus* spp. L), coqueiro (*Cocos nucifera* L.), seringueira (*Hevea brasiliensis* Wild. ex. Juss), abacaxi (*Ananas cosmosus* L. Merrill), algodão (*Gossypium hirsutum* L.), cacau (*Theobroma cacao* L.) e mamão (ERWIN E RIBEIRO, 1996). No Brasil, foi relatada a ocorrência desta doença em mamoeiro nos estados da Bahia, Espírito Santo, Amazonas, São Paulo, Pará, Maranhão e Pernambuco (REIS et al., 1997, SILVA, 2001). Este último autor menciona que a doença ocorre possivelmente em todos os estados brasileiros onde é cultivado o mamoeiro.

A planta com esta doença apresenta amarelimento de folhas, queda prematura de frutos, murcha do topo, tombamento e morte. Em plantas mais resistentes, pode haver infecção do caule próximo ao pedúnculo adjacente, tornando o fruto enrugado e causando sua queda prematura ao solo, onde há liberação dos esporos do patógeno, esporângios, zoósporos e clamidósporos (OLIVEIRA et al., 1999). Como há abundante esporulação nos frutos, a doença é vulgarmente conhecida como “barba de papai-noel”. Nos frutos maduros observa-se uma

podridão em que os tecidos ficam consistentes, recobertos por um micélio aéreo cottonoso (OLIVEIRA et al., 1999).

Phytophthora palmivora esporula com facilidade sobre o tecido infectado, e na presença de água libera os zoósporos, os principais propágulos infectivos que, por serem móveis em água, são disseminados facilmente por respingos de chuva ou de irrigação, infectando os frutos na mesma planta ou de uma planta para outra (LUZ e MATSUOKA, 2001; HUNTER; KUNNIMOTO 1974).

Dentre as medidas fitossanitárias para controlar esta doença são utilizados os métodos cultural, químico, genético e biológico. O método cultural consiste na remoção do material doente das áreas infectadas e em evitar o plantio em solos encharcados e com má drenagem (KO, 1994).

Há dificuldades de obter cultivares de mamoeiro resistentes e com alta produtividade restando, portanto, no uso de agroquímicos, o que representa um risco tanto ao pessoal envolvido na sua aplicação quanto aos consumidores dos frutos. Além disso, seu uso é antieconômico devido à necessidade de várias aplicações, o que onera os custos de produção e traz conseqüências ambientais indesejáveis. O uso de agentes biológicos para o controle de enfermidades possui menor restrição quanto ao impacto ambiental e o risco de contaminação é reduzido (BASTOS, 2003), no entanto, ainda não se dispõem de produtos comprovadamente eficientes para o controle da podridão das raízes e dos frutos.

O gênero *Trichoderma*, pertencente à Ordem Hypocreales, é representado por fungos não patogênicos, que habitam o solo ou encontram-se como endofíticos em plantas e que exercem antagonismo a vários fitopatógenos, através do parasitismo e/ou antibiose (KRUGNER e BACCHI, 1995), bem como, por hiperparasitismo (MELO, 1998). De um modo geral o gênero possui algumas características que são essenciais para um agente de biocontrole, tais como: ser inócuo ao ser humano e não apresentar impacto negativo ao meio ambiente; produzir propágulos (conídios e clamidósporos) em profusão principalmente em substratos naturais (SPIEGEL & CHET, 1998); apresentar rápido crescimento, poucas exigências nutricionais, e produzir enzimas líticas que digerem a parede celular de fitopatógenos (MELO, 1991). Como também possui forte habilidade competitiva, produz antibióticos e induz lise. *Trichoderma* é muito usado como agente de biocontrole para diversas enfermidades de plantas.

Espécies de *Trichoderma* sempre são associadas com raízes de planta e ecossistemas de raiz. Alguns autores definem estas espécies como simbiontes de plantas, organismos avirulentos, oportunistas, capazes de colonizar raízes de planta através de mecanismos semelhantes às micorrizas e produzir combinações que estimulam crescimento e mecanismos de defesa nas plantas (HARMAN et al., 2004).

Há dados abundantes na literatura descrevendo modificações na rizosfera por antagonistas de controle biológico – ACB do gênero *Trichoderma* impedindo a colonização de plantas por patógenos através da liberação de antibióticos e metabólitos tóxicos. A maioria das espécies produz metabólitos tóxicos voláteis e não-voláteis tais como ácido harzianico, alameticinas, tricholinas, antibióticos, 6-pentil-pirano, massoilactona, viridinas, gliovirinas, glisopreninas, ácido heptelídico e outros. A combinação de enzimas hidrolíticas e antibióticos resulta em níveis elevados de antagonismo quando comparado à ação destes isoladamente (HOWELL, 1998).

Poucos trabalhos foram encontrados na literatura relatando resultados com o uso de BCAs no controle de *Phytophthora* spp. que causam podridões de raízes em plantas. Entre os relatos encontrados destacamos os efeitos positivos de espécies de *Gliocadium* (SAWANT et al. 1995, COSTA et al. 1996), *Microthecium* (GEES e COFFEY 1989) e *Trichoderma* (KELLEY, 1976; SAWANT et al. 1995, COSTA et al. 1996) no controle de patógenos do gênero *Phytophthora*.

Os objetivos deste trabalho foram: i, avaliar a eficiência *in vitro* dos isolados de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento de *P. palmivora*; ii, avaliar o efeito de isolados de *Trichoderma* spp. no controle da podridão de frutos do mamoeiro; iii, avaliar o efeito de isolados de *Trichoderma* spp. no controle da podridão das raízes do mamoeiro.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Importância econômica do mamoeiro

O mamoeiro cientificamente denominado *Carica papaya* L., pertence à classe Dicotyledoneae, subclasse Archichalamydeae, ordem Violales, subordem Caricineae, família Caricaceae e gênero *Carica* (BADILLO,1993). Seu centro de origem é provavelmente o noroeste da América do Sul, ou mais precisamente a Bacia Amazônica superior, fato que caracteriza o mamoeiro como uma planta tipicamente tropical (SANCHES; DANTAS, 1999).

A espécie *Carica papaya* L. possui plantas dióicas, monóicas ou hermafroditas, geralmente com 3,00 m a 8,00 m de altura, caule em torno de 20 cm de diâmetro, herbáceo-lenhoso, suculento, ereto, marcado por numerosas cicatrizes foliares, com um grupo denso de grandes folhas na região apical. Possuem folhas alternadas, limbos foliares (até 0,70m de diâmetro), longo-pecioladas, ovais ou orbiculares, com 7 a 11 nervuras principais, apresentando-se mais saliente na face abaxial. Os lobos foliares são em número de 7, 9, ou mais frequentemente 11, inteiros, verde-mate na face superior e verde-pálido na face inferior. Os pecíolos são cilíndricos, geralmente com 0,50 m a 0,70 m de comprimento, podendo chegar a 1,00 m, verde-pálidos, às vezes vermelho-vinosos (BADILLO, 1993).

Segundo Luna (1980), o mamoeiro apresenta sistema radicular pivotante, com raiz bastante desenvolvida, classificada como napiforme. As raízes apresentam coloração esbranquiçada, ramificando-se de forma radial, com distribuição em maior quantidade nos primeiros 30 cm do solo (MARIN; GOMES, 1986). O Ao apresenta três tipos de flores, que leva as plantas a serem classificadas como: hermafroditas, femininas e masculinas. De maneira geral, as plantas hermafroditas têm uma inflorescência relativamente curta com predominância de flores hermafroditas; as plantas femininas têm uma inflorescência curta, a qual apresenta somente flores femininas; enquanto as plantas masculinas são caracterizadas pelo maior

comprimento do pedúnculo, com flores cimosas, com ovário estéril (MARTINS; COSTA, 2003).

O fruto é uma baga de forma variável de acordo com o tipo de flor, podendo ser arredondado, oblongo, alongado, cilíndrico e piriforme. A casca é fina, lisa, de coloração amarelo-clara a alaranjada, protegendo uma polpa de 2,5 cm a 5,0 cm de espessura e de coloração que pode variar de amarela, rosada a alaranjada. Pode atingir 50 cm de comprimento e pesar até 10 quilos. As sementes são pequenas, redondas, rugosas, recobertas por uma camada mucilaginosa, apresentando coloração de acordo com a variedade (LUNA, 1980).

2.2 Podridão do pé e dos frutos (*Phytophthora palmivora*)

O pseudofungo *Phytophthora palmivora* (syn.: *Phytophthora faberi* Maubl.), pertence ao Reino Straminipila, Filo Oomycota, Classe Oomycetes, Ordem Pythiales e Família Pythiaceae (LUZ, 2000). O patógeno é variável fisiologicamente e é capaz de infectar dezenas de outras plantas sendo o agente etiológico da podridão-das-raízes e dos frutos do mamoeiro (ZENTMYER et al., 1977).

O patógeno produz um micélio denso e cotonoso, com esporangióforos delgados, simples ou pouco ramificados. Os esporângios são papilados, caducos, ovóides, medindo em média 50 a 30 µm. Os zoósporos biflagelados são produzidos no interior dos esporângios. Clamidósporos, sempre presentes na espécie, apresentam diâmetro médio de 3,8 µm e espessura da parede de 0,2 µm (REZENDE; MARTINS, 2005).

A podridão causada por *P. palmivora* em mamoeiro foi primeiramente reportada nas Filipinas em 1916, depois no Ceilão em 1924, ocorrendo também na Malásia, Austrália, Brasil, Espanha e Taiwan (KO, 1971). No Brasil, Batista (1946) faz referência a *P. palmivora* em mamoeiros nos estados da Bahia e Pernambuco. Posteriormente, a doença foi identificada em São Paulo, Espírito Santo, Amazonas, Maranhão, Pará, Ceará, ocorrendo, possivelmente, em todas as áreas produtoras de mamão (SILVA, 2001).

A gama de hospedeiros deste patógeno é bastante ampla, afetando mais de uma centena de plantas de varias famílias botânicas (ERWIN; RIBEIRO, 1996). Além do mamoeiro, alguns exemplos de hospedeiros desse patógeno no Brasil, que possuem importância econômica são: cacau (*Theobroma cacao*), citros (*Citrus* spp.),

coqueiro (*Cocos nucifera* L.), pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.), seringueira (*Hevea brasiliensis*) entre outros (SILVA, 2001).

Plantas de mamoeiro infectadas por *P. palmivora* apresentam amarelecimento de folhas, queda prematura de frutos, murcha do topo, tombamento e morte da planta. O fruto verde é mais resistente, porém pode ser afetado caso a infecção se dê no caule, próximo ao pedúnculo adjacente. Neste caso, o fruto fica enrugado e caí no solo. Como a esporulação nos frutos é abundante, daí a denominação vulgar “barba de papai-noel”, os esporângios ficam no solo. Nos frutos maduros observa-se uma podridão em que os tecidos ficam consistentes, recobertos por um micélio aéreo cotonoso (OLIVEIRA et al., 1999). Na temperatura de 25°C há grande produção de esporângios, no entanto, em temperaturas acima de 35°C e abaixo de 15°C, a formação de esporângios é bastante reduzida (SILVA, 2001). Os zoósporos, esporos móveis, produzidos na presença de água, também desempenham um papel importante na disseminação da doença. Outro aspecto importante a ser destacado são as condições de solo com problemas de drenagem, onde o patógeno ataca as raízes das plantas com menos de três meses, acima desta idade elas se tornam mais resistentes. Chuvas e ventos são os fatores mais importantes na epidemiologia da podridão-dos-frutos. Ataques epidêmicos de *P. palmivora* nos frutos aumentam durante o tempo chuvoso. A liberação dos esporângios e dos zoósporos da superfície dos frutos contaminados ou do solo para a atmosfera requer a ocorrência de respingos de chuva (HUNTER; KUNIMOTO, 1974). No entanto, pequenos insetos também respondem por pequena parcela de disseminação das doenças causadas por *Phytophthora* spp.

Os danos econômicos desta doença variam de uma região para outra. No Brasil não há estatística a respeito, mas perdas de frutos da ordem de 7-10% têm sido relatadas (LIBERATO et al., 1993; SILVA et al., 2001). Na estação chuvosa de 1999, com índice pluviométrico acima de 2000 mm, perdas elevadas foram observadas em plantios comerciais na Ilha de São Luis, Maranhão, estimando-se entre 40 e 60% o número de plantas mortas em diversas propriedades (SILVA, 2001).

2.3 Métodos de controle da podridão do pé e dos frutos do mamoeiro

O controle da podridão do pé e dos frutos envolve os métodos cultural, químico, genético e biológico. Um aspecto importante para o desenvolvimento das

doenças causadas por *P. palmivora* é a capacidade deste patógeno em produzir grande quantidade de esporângios e de zoósporos, os quais, na presença de água causam infecções múltiplas. Evitar solos mal drenados para plantio, especialmente nas regiões de alto índice pluviométrico e incluir um sistema de drenagem são essenciais para o controle da doença (SILVA, 2001).

Em condições de viveiro, algumas medidas preventivas devem ser tomadas. O solo deve ser retirado de áreas nunca antes plantadas com mamoeiro e sem ocorrência de *P. palmivora* em outros hospedeiros. A instalação do viveiro deve ser distante de pomares que já tiveram o mamoeiro, com insolação e ventilação controladas. As regas devem ser controladas evitando o excesso de umidade e feitas com água obtida de poços profundos para evitar a contaminação com o patógeno. (SILVA, 2001). Em condições de campo a podridão de raízes em plantas jovens pode ser controlada evitando-se o plantio em solo mal drenado e em áreas cultivadas sucessivamente com mamoeiro. Além disso, devem-se erradicar plantas e frutos doentes e destruí-las com fogo (SILVA, 2001).

Caso não se disponha de solo não cultivado com mamoeiro, para ser utilizado em viveiro, todo o solo deve sofrer tratamento químico ou físico, sendo a pasteurização ou solarização as técnicas mais recomendadas (MAY et al., 2002).

Em plantas jovens e em mudas o controle químico é preventivo, e deve ser feito através de pulverizações com fungicidas à base de cobre ou metalaxil + mancozeb, para minimizar a incidência do patógeno. Em plantas adultas, se as lesões forem observadas no início da sua formação, faz-se uma pincelagem no caule com fungicida cúprico (SILVA, 2001).

Segundo Hofmeyer (1938), Storey (1953) e Horovitz (1954), existe uma grande diversidade de tipos de mamoeiro, com características desejáveis para o controle genético através de programas de melhoramento. Entretanto, existem poucas linhagens realmente melhoradas ou consideradas como variedades definidas em função da propagação de plantas por sementes durante sucessivas gerações e sem o controle das polinizações. O melhoramento genético do mamoeiro pode contribuir substancialmente para uma maior produtividade, estando basicamente voltado para a obtenção de cultivares endógamas.

Estudos estão sendo realizados pela Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical em Cruz das Almas para explorar a máxima variabilidade genética da espécie *Carica papaya* e de outros gêneros e espécies afins e a obtenção de

linhagens ou híbridos adaptados às condições edafoclimáticas, tolerantes e/ou resistentes a vírus, fungos, pragas e que apresentem características agrônômicas desejáveis (EMBRAPA, 2007). Outro tipo de controle potencialmente importante para a doença é o controle biológico que é definido como a redução do inóculo ou da atividade deletéria de um patógeno através de um ou mais organismos que não o homem, porém com a participação ativa deste (COOK & BAKER, 1983). O inóculo do patógeno em questão inclui suas estruturas vegetativas (esporângios, zoósporos, clamidósporos, micélio, etc.) e reprodutivas (oósporos), enquanto que a sua atividade deletéria envolve o seu crescimento, sua capacidade infectiva, virulência, agressividade e colonização do hospedeiro, dentre outros atributos responsáveis pelo desenvolvimento da doença. Os organismos empregados em controle biológico, também chamado de agentes de controle biológicos ou antagonistas, interferem na sobrevivência ou atividades deletérias dos patógenos e também podem agir de modo a aumentar a resistência da planta hospedeira (COOK & BAKER, 1983).

O controle biológico destaca-se por ser econômico, ambientalmente seguro e geralmente de fácil aplicação pelo produtor. Apesar de não existirem estudos em relação ao controle biológico da podridão do pé e do fruto, fungos do gênero *Trichoderma* parecem ser promissores para o combate dessa enfermidade.

Agricultores do sul da Bahia e Espírito Santo têm utilizado empiricamente agentes de biocontrole, normalmente em formulações de produtos não registrados pelo MAPA, como tentativa de controlar a podridão do pé do mamoeiro especialmente em áreas muito suscetíveis a doença tendo, segundo seus relatos, obtido relativo sucesso ou não. Alguns produtores utilizaram o Tricovab, produto composto por esporos de *Trichoderma stromaticum*, produzido pela CEPLAC/CEPEC, para o controle da vassoura-de-bruxa do cacauero, e também, segundo eles houve diminuição da incidência de *Phytophthora* em áreas tratadas. Como o biofungicida ainda não foi registrado, sua produção é controlada, não podendo atender a demanda dos produtores de mamão para tratar grandes áreas. A procura por agentes biocontroladores de *Phytophthora* em mamoeiro acentuou-se nos últimos anos no Brasil. Dianese et al. (2005) avaliou *in vitro* a eficiência de isolados de *Trichoderma* na inibição de *P. palmivora* causador da podridão do pé do mamoeiro. Foram feitas culturas pareadas de 43 isolados de *Trichoderma* com um isolado do patógeno. Mediram-se o comprimento e o diâmetro de *P. palmivora* com

7 e 10 dias após o pareamento. Todos os isolados inibiram o patógeno quanto ao comprimento.

Tatagiba et al. (2005) testou a eficiência do Trichodermil PM no controle da podridão das raízes e dos frutos causada por *P. palmivora* em mudas produzidas em tubetes. O delineamento foi em blocos casualizados com cinco repetições e seis tratamentos. Avaliou-se a percentagem de mudas com sintomas, aos seis (época 1) e dez dias (época 2) após a inoculação. Na etapa 1, os tratamentos com Trichodermil e Aliette diferiram significativamente da testemunha (Duncan, $P=0,05$), proporcionando um controle de 78,5% e 73%, respectivamente. Na etapa 2, não houve diferença significativa entre os tratamentos.

2.4. *Trichoderma* como agente de biocontrole

Segundo Ramirez et al. (1995) o gênero *Trichoderma* Persson foi descrito em 1794 para quatro espécies de fungos, e em 1969 foi novamente classificado por Rifai. De acordo com Melo (1991) as espécies de *Trichoderma* apresentam características sobrepostas, o que torna difícil a classificação de isolados. Esse gênero pertence ao Reino Fungi, Filo Ascomycota, Classe Euascomycetes, Ordem Hyproceales, Família Hypocreaceae (KRUNGER; BACCHI, 1995). Atualmente existem 75 espécies de *Trichoderma* descritas (SAMUELS, 1996).

Trichoderma é tido como um fungo saprófita que apresenta frutificações de duas naturezas, a forma teleomórfica ou sexuada e frutificações assexuadas ou clonais, a forma anamórfica. Habitualmente, para cada espécie existe uma forma anamórfica e uma forma teleomórfica (FIGUEIREDO, 2007).

O gênero *Trichoderma* é caracterizado por possuir conidióforos hialinos muito ramificados e não verticilados, fiálides individuais ou em grupo, conídios unicelulares, hialinos, ovóides e nascidos de pequenos ramos terminais (BARNETT et al., 1972). Os conidióforos não são bem definidos e os conídios tendem a acumular-se dentro de massas pulvinadas (SAMUELS, 1996).

Trichoderma spp. é um fungo micoparásita eficaz no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos (MELO, 1998). Sua ação como biocontrolador foi demonstrada pela primeira vez em 1932, por Weindling, que sugeriu seu uso no controle de doenças (SPIEGEL e CHET, 1998). Fatores como temperatura,

umidade, nutrientes, tipo de solo, microbiota, aeração, pH e teor de matéria orgânica influenciam na sobrevivência de *Trichoderma* no solo ou substrato (HOWELL, 2003).

Diferentes espécies de *Trichoderma* têm capacidade antagonista contra fungos fitopatógenos como, por exemplo, *Trichoderma harzianum* contra *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* fs. *dianthii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotrichum gloesporioides*, *Sclerotium rolfsii*, *Rosellinia bunodes*, *Phytophthora cinnamomi*, *P. cactorum*; *T. virens* contra *Botrytis cinerea*; *T. pseudokoningii* contra *Rosellinia bunodes*; *T. viride* contra *Armillaria mellea*; *T. hamatum* contra *Pythium* sp. e *Phytophthora* sp.; *T. parceromosum* contra *Cryptonectria parasítica* (ARENAS, A.V., 2007). Portanto, como se vê pelos exemplos mencionados, já existe comprovação da eficiência de algumas espécies de *Trichoderma* no controle de espécies do gênero *Phytophthora*.

A ação de *Trichoderma* como agente de biocontrole ocorre devido à associação ou não dos mecanismos de antibiose, micoparasitismo, competição e indução dos sistemas de defesa da planta (MELO, 1998).

Antibiose é definida como uma interação entre organismos na qual um ou mais metabólitos produzidos por um organismo têm um efeito danoso sobre o outro (BETTIOL, 1991). Algumas espécies de *Trichoderma* produzem metabólitos tóxicos voláteis e não-voláteis que impedem a colonização através de microorganismos antagonizados; tais como ácido harzianico, alameticinas, tricholinas, antibióticos, 6-pentil - pirano, massoilactona, viridinas, gliovirinas, glisopreninas, ácido heptelidico e outros que já foram descritos.

Micoparasitismo é o fenômeno que consiste em um microorganismo parasitar o outro. Os micoparasitas atacam hifas e estruturas de reprodução e sobrevivência dos patógenos de plantas, reduzindo a infecção e o inóculo do patógeno. *Trichoderma* spp. podem atuar em biocontrole direto, infectando uma série de fungos fitopatógenos através da ação de enzimas como quitinases, glucanases e proteases (HARMAN, 2004). O micoparasitismo realizado por *Trichoderma* ocorre sobre vários fungos, inclusive *Fusarium oxysporum*, com o enrolamento de hifas, sítios de penetração, invasão de hifas e crescimento intracelular por isolados de *Trichoderma longibrachiatum* (MELO, 1991). Já Sivan e Chet (1989) comprovaram que o isolado T-35 de *T. harzianum*, embora tenha produzido β -1, 3- glucanase e quitinase, micoparasitando *Rhizoctonia solani* e *Pythium aphanidermatum* não apresentou a mesma ação sobre *F. oxysporum*, sendo que a interferência deve ter

ocorrido em função da atuação das proteínas da parede celular do patógeno que devem ter interferido na ação das enzimas, aumentando sua resistência à lise.

A competição é um processo de interação entre dois ou mais organismos, comprometidos na mesma ação. A competição entre microrganismos ocorre principalmente por nutrientes, espaço e oxigênio (BETTIOL, 1991; BAKER, DICKMAN, 1993) e, mesmo sendo um mecanismo importante, é extremamente difícil de ser comprovado, o que não ocorre com a antibiose e o micoparasitismo (HARMAN, 2000). Segundo Harman et al. (2004), *Trichoderma* sp. compete pelos exsudatos liberados pelas sementes no processo de germinação que estimulam a germinação de propágulos de fungos fitopatogênicos. De acordo com Howell (2003), a competição é uma das principais características de isolados de *Trichoderma* usados como agentes de biocontrole, pois somente assim terão capacidade de se desenvolver na rizosfera. No caso do controle da podridão do pé do mamoeiro, o agente de biocontrole precisa ser altamente competitivo pra estabelecer-se no solo e impedir a ação do patógeno.

A indução dos sistemas de defesa da planta é um outro mecanismo utilizado por agentes de biocontrole, como *Trichoderma* spp. Esse processo ocorre quando as plantas expostas a um agente indutor têm seus mecanismos de defesa ativados, não apenas no sítio de indução como também em outros locais dele distantes, de forma mais ou menos generalizada (ROMEIRO, 1999).

O gênero *Trichoderma* spp., já foi reportado como agente de controle biológico de doenças em várias culturas, como por exemplo: citros, cacau, maçã, mamão, dentre outros.

Amorim e Itamar (1999) testaram à ação conjunta de isolados de *T. harzianum* e *T. koningii* e de uma suspensão de rizobactérias contendo *Pseudomonas putida*, *P. fluorescens* e *Bacillus subtilis* em raízes de mudas de *Citrus* sp, que foram transplantadas para substratos pré-infestados com *P. parasítica* e *P. citrophthora*. O tratamento controlou os dois patógenos.

Estudos na cultura da maçã, tiveram resultados positivos com a aplicação de *Trichoderma* sp. para o controle de *Phytophthora cactorum*. Plantas jovens foram inoculadas com *Trichoderma* sp., resultando em uma redução significativa da morte das árvores (VALDEBENITO-SANHUEZA, 1987).

Hanada et al. (2006) realizaram diversos estudos com *Trichoderma viride* para controlar a podridão-parda dos frutos causada por *P. palmivora* em cacauzeiro.

Dentre os estudos, um isolado identificado como *T. viride*, selecionado como agente biocontrolador foi cultivado em diferentes fontes de carbono visando à indução das duas principais enzimas glucanase e celulase envolvidas no processo de micoparasitismo. A produção dessas enzimas por *T. viride* foi avaliada em meio mínimo suplementado com glicose, quitina coloidal, carboximetilcelulose e micélio de *P. palmivora*. O fungo foi cultivado por oito dias sobre agitação a 25°C. O menor crescimento micelial do antagonista foi obtido no meio contendo quitina coloidal. A atividade de glucanase foi detectada em todos os meios de cultura, enquanto que a celulase foi produzida somente em meios suplementados com carboximetilcelulose e micélio de *P. palmivora*.

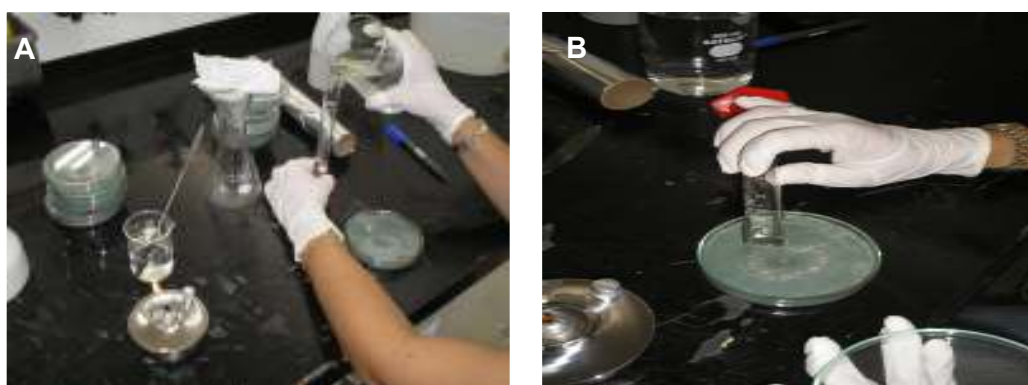
3. METODOLOGIA

3.1. Obtenção, manutenção e multiplicação dos isolados de *Trichoderma* spp.

Diversos organismos endofíticos foram coletados em áreas cultivadas com cacauero no Centro de Pesquisas do Cacau - CEPEC, durante os meses de agosto a novembro de 2005. Das 525 amostras obtidas, foram encontrados 110 isolados de *Trichoderma* sp., identificados pelo Dr. Jorge Teodoro de Souza. Dentre estes isolados de *Trichoderma*, foram selecionados 14 para serem utilizados neste trabalho. Incluíram-se também 4 isolados da coleção de fungos antagônicos da Unidade de Biocontrole do CEPEC (Tabela 1). Todos os isolados foram preservados em discos de papel filtro (DHINGRA & SINCLAIR, 1994). Os isolados foram rotineiramente cultivados em meio BDA (batata – dextrose – ágar) ou BDA 1/5.

3.2. Preparo do inóculo de *Trichoderma* spp.

Esporos dos isolados de *Trichoderma* utilizados (Tabela 1) foram produzidos em placas de Petri contendo (BDA) incubados em BOD a uma temperatura de 25°C por 10 dias. As suspensões obtidas de cada isolado foram padronizadas para a concentração 1×10^7 esporos/ml (Figura 1 a-d).



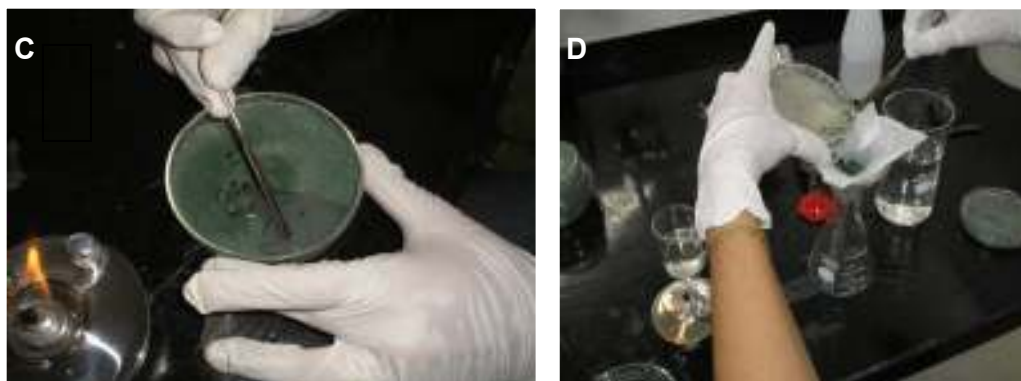


Figura 1: Adição de 8mL de água destilada em placas com isolado de *Trichoderma* spp (a, b), raspagem dos esporos (c), filtragem dos esporos (d).

3.3. Seleção de isolados de *P. palmivora* para as inoculações

Quinze isolados de *Phytophthora palmivora* da Coleção Arnaldo Medeiros do Laboratório de *Phytophthora* do CEPEC/CEPLAC (Tabela 2) foram testados. Os isolados foram repicados para placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo o meio seletivo PARPH (KANNWISCHER e MITCHELL, 1978), e em seguida foram mantidas sobre a bancada do laboratório em condições de escuro a uma temperatura de aproximadamente 25°C por cinco dias. Posteriormente discos com 9 mm de diâmetro das culturas em meio seletivo foram transferidos para placas de Petri com meio de CA e armazenados em câmara incubadora (BOD) sob luz contínua a uma temperatura de 25°C durante dez dias, para avaliação do crescimento micelial e produção de zoósporos. Para a realização dos demais experimentos, os isolados de *Phytophthora* utilizados foram mantidos nestas mesmas condições.

Tabela 1-Isolados de *Trichoderma* spp. utilizados neste estudo

Isolado	Espécie	Origem	Local e ano de coleta
Tc25	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	Tronco/cacau	CEPEC, Ilhéus - BA/2005.
Tc26	<i>Trichoderma koningiopsis</i>	Tronco/cacau	CEPEC, Ilhéus - BA/2005.
Tc35	<i>Trichoderma harzianum</i>	Tronco/cacau	CEPEC, Ilhéus - BA/2005.
Tc40	<i>Trichoderma</i> sp.	Tronco/cacau	CEPEC, Ilhéus - BA/2005.
Tc54	<i>Trichoderma harzianum</i>	Tronco/cacau	CEPEC, Ilhéus - BA/2005.
291	<i>Trichoderma asperellum</i>	Tronco/cacau	CEPEC, Ilhéus - BA/2005.
312	<i>Trichoderma asperellum</i>	Tronco/cacau	CEPEC, Ilhéus - BA/2005.
316	<i>Trichoderma asperellum</i>	Tronco/cacau	CEPEC, Ilhéus - BA/2005.
905	<i>Trichoderma viride</i>	Solo	Uruçuca - BA/1991
2995	<i>Trichoderma stromaticum</i>	Fruto	Jaguariúna-SP/2001
ES5	<i>Trichoderma</i> sp.	Tronco/cacau	CEPEC, Ilhéus - BA/2005.
ES6	<i>Trichoderma</i> sp.	Tronco/cacau	CEPEC, Ilhéus - BA/2005.
ET2	<i>Trichoderma asperellum</i>	Tronco/cacau	CEPEC, Ilhéus - BA/2005.
SF04	<i>Trichoderma asperellum</i>	Tronco/cacau	CEPEC, Ilhéus - BA/2005.
T801	<i>Trichoderma brevicompactum</i>	Tronco/cacau	CEPEC, Ilhéus - BA/2005.
T.atro	<i>Trichoderma atroviride</i>	Vassoureiro	Uruçuca - BA/1997
T.harz	<i>Trichoderma harzianum</i>	Casqueiro	CEPEC, Ilhéus - BA/1991.
7CC	<i>Trichoderma atroviride</i>	Solo	Mucugê - BA/2005

3.4. Crescimento micelial e produção de zoósporos por isolados de *P. palmivora* de mamoeiro

Para avaliação do crescimento micelial os quinze isolados de *P. palmivora* foram repicados em placa contendo meio CA utilizando para cada isolado quatro placas de Petri, armazenadas em câmara incubadora (BOD) sob luz contínua a uma temperatura de 25°C durante dez dias.

Tabela 2 – Isolados de *Phytophthora palmivora* da coleção de *Phytophthora* Arnaldo Medeiros utilizados neste estudo.

Isolado N°	Órgão infectado	Local e ano da coleta
245	Fruto	1997
250	Fruto	Faz. Deus Dará, Eunápolis - BA/1999
251	Fruto	Faz. Deus Dará, Eunápolis - BA/1999.
355	Raiz	Faz. Mucuri, Mucuri - BA/2003.
356	Raiz	Faz. Mucuri, Mucuri - BA/2003.
357	Raiz	Faz. Mucuri, Mucuri - BA/2003.
358	Plântulas	Faz. Mucuri, Mucuri - BA/2003.
359	Frutos	Faz. Mucuri, Mucuri - BA/2003.
360	Raiz	Faz. Lembrança, Itabela – BA/2003.
361	Raiz	Faz. Guairá, Itamarajú – BA/2003.
363	Raiz	Faz. Guairá, Itamarajú – BA/2003.
364	Solo	Faz. Guairá, Itamarajú – BA/2003.
365	Plantas jovens	Faz. Lembrança, Itabela – BA/2003.
839	Frutos	Roraima – RO/ 2005
847	Frutos	Linhares – ES/2005

As avaliações foram realizadas 24, 48, 72 e 96 horas após a repicagem, medindo-se o diâmetro das colônias (comprimento e largura).

Para avaliação da concentração de zoósporos/ml foram utilizadas oito placas de Petri para cada isolado, após 10 dias de crescimento nas condições mencionadas. A cada placa, adicionou-se 8mL de água destilada esterilizada gelada, em seguida, as placas foram acondicionadas em geladeira ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) por 20 minutos. Após esse período, retiraram-se as placas da geladeira deixando-as por 25 minutos na bancada em temperatura ambiente para liberação dos zoósporos. Verteu-se a seguir o líquido das placas de cada isolado em um Becker e determinou-se por meio de um hemacitômetro a concentração da suspensão de zoósporos, após adicionar a cada amostra 2 gotas de solução fixadora FAA (formol, álcool e ácido acético).

As suspensões foram armazenadas na geladeira para que os zoósporos não encistassem e germinassem, enquanto procedia-se a quantificação no hemacitômetro (Figura 2 a-f). Foram selecionados para os testes subseqüentes os isolados com maior maturação de esporângios.



Figura 2: Placas de *P. palmivora* (a), adição de 8mL de água destilada. (b e c), armazenamento em geladeira por 20 min (d), bancada por 25 min (e), liberação dos zoósporos (f).

3.5. Preparo do inóculo de *Phytophthora palmivora*

Para os experimentos de inoculação em frutos: o isolado de *P. palmivora* 356 foi repicado para placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo meio CA e, em seguida, as placas foram incubadas em câmara de crescimento (BOD) com temperatura de 25°C e luz constante durante dez dias.

Para os experimentos de inoculação em mudas, zoósporos do isolado 356 foram produzidos como descrito anteriormente e a concentração ajustada para 5×10^5 zoósporos/ml.

3.6. Seleção de isolados de *Phytophthora palmivora* e da concentração de inóculo

Os isolados (356, 358 e 360) selecionados, foram utilizados em um teste preliminar para seleção da concentração de inóculo a ser utilizada nos experimentos com mudas de mamoeiro. As concentrações de inóculo testadas foram 5×10^5 , 1×10^5 , 5×10^4 e 1×10^4 zoósporos/ml. Foram utilizadas mudas com 60 dias de idade, sendo 5 o número de mudas por tratamento. O experimento foi conduzido em delineamento fatorial com duas variedades, 3 isolados e 4 concentrações de inóculo. Este ensaio foi repetido 2 vezes.

3.7 Avaliação do efeito dos isolados de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *P. palmivora*

Cada um dos 18 isolados de *Trichoderma* spp. (Tabela 1), foram repicados para placas contendo BDA e o isolado de 356 de *P. palmivora* para CA. Após 5 dias de crescimento das colônias a temperatura ambiente do laboratório ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), discos de 0,5 cm de diâmetro das colônias de *P. palmivora* foram colocados em um dos lados de placas de Petri contendo meio de cultura CA. Quarenta e oito horas após, no lado oposto de cada placa foi colocado o disco de cultura, de igual diâmetro, de cada um dos antagonistas. Para cada pareamento (*P. palmivora* x antagonista) foram feitas 4 repetições e igual número de placas para o crescimento do isolado do patógeno usado como testemunha e de cada um dos isolados de

Trichoderma spp, também com a mesma finalidade. As placas foram colocadas em câmara de crescimento BOD a 25°C com fotoperíodo de 12h. O raio das colônias de *Phytophthora* do centro do disco para a extremidade da margem do lado ao qual foi colocado o antagonista foi medido antes de parear com os isolados de *Trichoderma*. Setenta e duas horas após o pareamento, aferiram-se o raio das colônias de *Phytophthora* (Figura 3 a-d). Os dados foram submetidos à análise de variância e o raio médio das colônias de cada tratamento comparado ao da testemunha (*P. palmivora*), pelo teste Dunnett 5%. As médias de todos os tratamentos foram comparadas entre si, pelo teste Tukey 5%, utilizando-se o procedimento GLM, do programa computacional estatístico SAS.

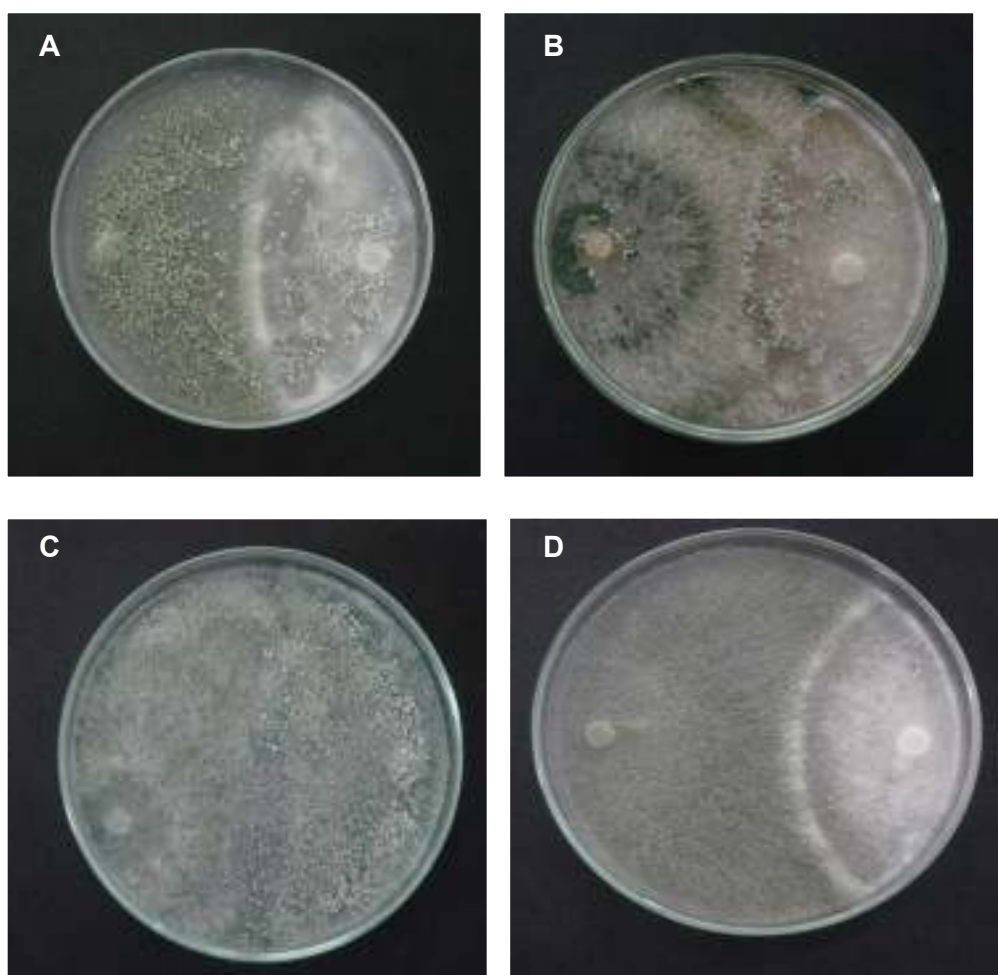


Figura 3: Pareamento do isolado 356 de *P. palmivora* com os isolados de *Trichoderma*: 312 (a), 7CC (b), 2995 (c) e SF04 (d);

3.8. Inoculação em frutos

3.8.1 Inoculação de *Trichoderma* spp. em frutos

Usaram-se frutos da variedade Golden, provenientes da região de Eunápolis/Bahia. Os frutos escolhidos estavam verdoengos, os quais foram lavados com sabão de coco, desinfetados em hipoclorito de sódio a 1%, lavados novamente e, em seguida, enxutos com papel toalha. Os frutos designados para serem tratados com cada um dos isolados de *Trichoderma* foram submersos por 5 minutos em bacias contendo as suspensões dos respectivos isolados, todos na concentração de 1×10^7 esporos/ml. Após os 5 minutos, estes frutos foram retirados das respectivas suspensões e foram colocados em câmaras úmidas, confeccionadas com sacos plásticos transparentes, vedados na extremidade, e contendo no interior um chumaço de algodão umedecido com água destilada e esterilizada (Figura 4 a-f).



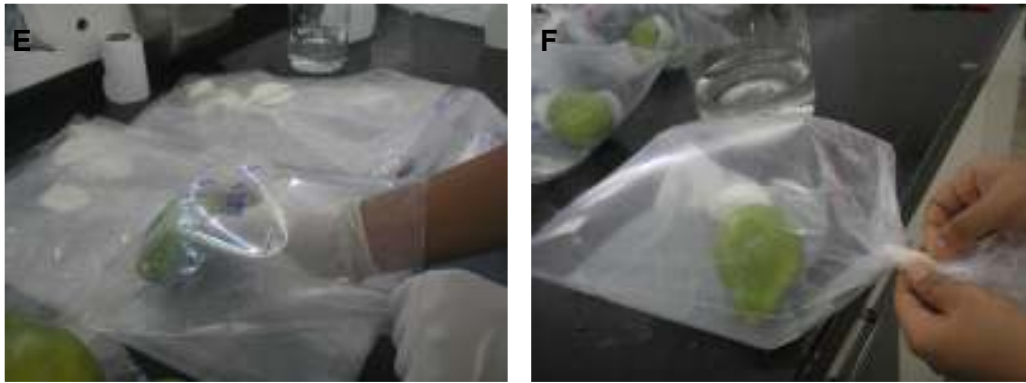


Figura 4: Lavagem dos frutos (a), desinfestação em hipoclorito de sódio por 2 min (b), imersão dos frutos no inóculo (c), retirada do inóculo (d), câmara úmida (e, f)

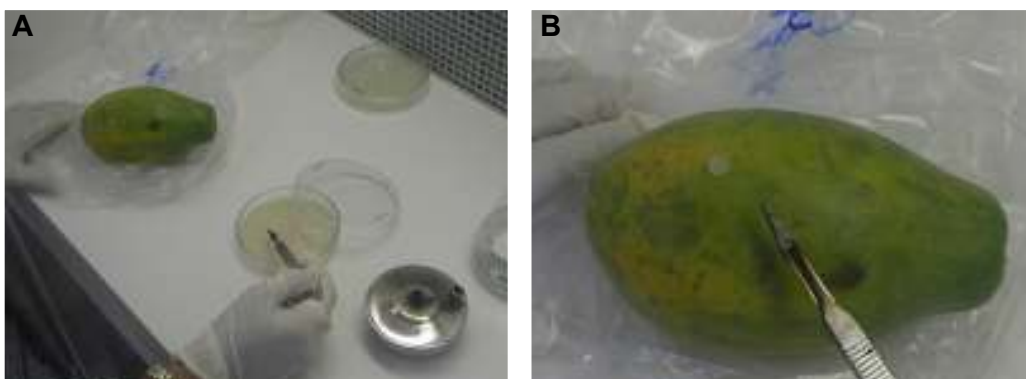
3.8.2 Inoculação de *P. palmivora* em frutos

A inoculação do isolado 356 de *P. palmivora* foi realizada 24 horas após a inoculação de *Trichoderma*, através da deposição de um disco de micélio em 2 pontos equidistantes de cada fruto. Após a inoculação, os frutos retornaram à câmara úmida por mais 72 horas, quando se avaliou a área das lesões (Figura 5 a-d). Após o período de 4 dias foram avaliadas as testemunhas, medindo-se nos frutos inoculados com *Phytophthora*, o comprimento e a largura das lesões e calculou-se a área da elipse, com a seguinte fórmula:

$$A = \pi \times \frac{b}{2} \times \frac{a}{2}$$

Onde: b= eixo maior;

a = eixo menor



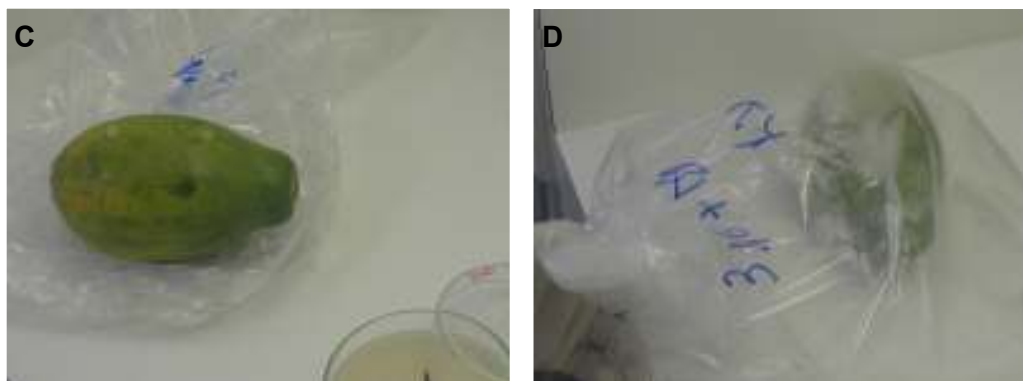


Figura 5: Discos de cultura com 5 dias (a), deposição de disco de micélio (b), câmara úmida (c), avaliação após 72 horas (d).

3.8.3 Avaliação, número de isolados utilizados por ensaio e análise dos dados

Foram realizados em condições de laboratório do CEPEC, 6 experimentos conduzidos em delineamento inteiramente casualizados com 5 repetições.

3.8.3.1 Experimento 1

No primeiro ensaio foram utilizados 6 isolados de *Trichoderma* (25, 26, 905, ET2, SF04, Tatro), totalizando 14 tratamentos, distribuídos da seguinte forma: 6 tratamentos constituídos de frutos de mamão tratados com esporos de cada um dos 6 isolados de *Trichoderma* e inoculados com *Phytophthora*; 6 tratamentos com frutos tratados apenas com *Trichoderma*; 1 tratamento controle com frutos inoculados com *Phytophthora* e a testemunha absoluta que recebeu discos com meio de cenoura. Este experimento foi repetido duas vezes em épocas diferentes.

3.8.3.2 Experimento 2

No segundo experimento foram utilizados 8 isolados de *Trichoderma* (35, 40, 54, 291, 312, 316, 801, 2995), totalizando 18 tratamentos, distribuídos da seguinte forma: 8 tratamentos constituídos de frutos de mamão tratados com cada um dos 8 isolados de *Trichoderma* e inoculados com *Phytophthora*; 8 tratamentos com frutos tratados apenas com *Trichoderma*; 1 tratamento controle com frutos inoculados com

Phytophthora e a testemunha absoluta que recebeu discos com meio de cenoura. Este experimento foi repetido duas vezes em épocas diferentes.

3.8.3.3 Experimento 3

No terceiro experimento foram utilizados 18 isolados de *Trichoderma* (25, 26, 35, 40, 54, 291, 312, 316, 801, 905, 2995, ET2, ES5, Es6, SF04, T.atro, T.harz e 7CC), incluindo os seis do primeiro do experimento, os oito do segundo experimento e mais os isolados (905, 2995, T.atro e T.harz) da Unidade de Biocontrole do CEPEC, totalizando 38 tratamentos, distribuídos de forma similar aos dois experimentos anteriores. Este último experimento foi também repetido 2 vezes, porém foram utilizados 10 frutos por tratamento, em cada repetição.

Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância sendo os efeitos dos tratamentos e interações avaliados pelo teste F, a 5%, enquanto que as médias dos tratamentos foram comparadas entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. O teste de Dunnett foi utilizado para comparar a testemunha com os demais tratamentos.

Na análise de variância utilizou-se o procedimento GLM do programa computacional estatístico SAS considerando-se um modelo fixo para todas as fontes de variação. Quando da interação significativa para comparação de médias ajustadas duas a duas utilizou-se o teste de Tukey com o procedimento lsmeans e as opções slice, adjust = tukey e pdiff = all.

Para os dois primeiros experimentos não houve interação entre ensaios sendo, portanto analisados como um único ensaio com 10 repetições.

3.9. Inoculação em mudas de mamoeiro

3.9.1. Preparo das mudas

Tubetes com volume de 288 cm³ foram preenchidos com uma mistura de solo autoclavado duas vezes por duas horas em dois dias consecutivos e Plantimax na proporção 1:1 (v/v). Três sementes de cada uma das variedades (Sunrise ou Golden) foram semeadas a 1 cm de profundidade e após a germinação foi realizado

o desbaste, permanecendo apenas uma muda por tubete. As mudas foram mantidas na casa-de-vegetação da Seção de Fitopatologia do Centro de Pesquisa do Cacau e irrigadas duas vezes por dia.

3.9.2. Infestação com *Trichoderma* spp.

Mudas com 60 dias de idade foram utilizadas em todos os experimentos. Para infestação do substrato com *Trichoderma* utilizaram-se 20 mudas de cada uma das variedades de mamoeiro (Golden e Sunrise), para cada tratamento (isolado de *Trichoderma*). A cada tubete contendo muda foram adicionados ao substrato 5 ml do inóculo de cada um dos isolados de *Trichoderma* spp. na concentração de 1×10^7 esporos/mL (Figura 6 a-b). As mudas tratadas foram mantidas na casa-de-vegetação, como descrito acima.



Figura 6: Mudas com 60 dias de idade (a), infestação do substrato com o inóculo de cada um dos isolados de *Trichoderma* spp. (b)

3.9.3. Inoculação das mudas com *Phytophthora palmivora*

Dez plantas de cada um dos tratamentos que já haviam recebido inóculo de *Trichoderma* spp. foram inoculadas 8 dias após com o isolado 356 de *P. palmivora*. Os tubetes com as mudas foram colocados em bacias contendo água corrente suficiente para que fosse atingida a saturação do substrato. Quando um filme de água formou-se sob a superfície do mesmo, procedeu-se a deposição de 1 ml da suspensão de zoósporos de *P. palmivora* nas concentrações de 5×10^5 e 1×10^5 zoósporos/ml, sobre a superfície do substrato, sem atingir a plântula (Figura 7 a-c).

Os tubetes permaneceram nas condições de saturação durante 1 hora e após, esse período, foram retirados lentamente da água e colocados novamente na casa-de-vegetação, onde só receberam irrigação após 36 horas da inoculação.



Figura 7: Mudanças de mamão em bacia com água corrente (a), mudas atingindo ponto de saturação do substrato (b), deposição de 1mL da suspensão de zoósporos de *P. palmivora* (c)

3.9.4. Avaliação, número de tratamentos por experimento e análise dos dados

Foram conduzidos em casa-de-vegetação, 3 experimentos com mudas, no delineamento inteiramente casualizado e com 10 repetições.

3.9.4.1 Experimento 1

No primeiro experimento foram utilizados 7 isolados de *Trichoderma* (35, 40, 54, 291, 312, 316, 801) e duas variedades Sunrise e Golden, totalizando 17 tratamentos, distribuídos da seguinte forma: 7 tratamentos constituídos de mudas de mamoeiro tratados com cada um dos 7 isolados de *Trichoderma* e inoculadas com *Phytophthora*; 7 tratamentos com mudas tratadas apenas com *Trichoderma*, 1 tratamento controle com mudas inoculadas apenas com *Phytophthora*; e os dois últimos tratamentos representando as testemunhas sem inoculação, porém em um desses tratamentos as mudas foram imersas até a saturação do solo permanecendo nessas condições por 1 hora, como as plantas dos demais tratamentos inoculadas com *Phytophthora*.

3.9.4.2 Experimento 2

No segundo experimento foram utilizados 14 isolados de *Trichoderma* (25, 26, 35, 40, 54, 291, 312, 316, 801, 905, 2995, ET2, T.atro e SF04) inoculados apenas na variedade Golden, totalizando 31 tratamentos, distribuídos da seguinte forma: 14 tratamentos constituídos de mudas de mamoeiro tratados com cada um dos 14 isolados de *Trichoderma* e inoculadas com *Phytophthora*; 14 tratamentos com mudas tratadas apenas com *Trichoderma*, 1 tratamento controle com mudas inoculadas apenas com *Phytophthora*; e os dois últimos tratamentos representando as testemunhas sem inoculação em um dos quais as mudas foram imersas até a saturação do solo permanecendo nessas condições por 1 hora como as plantas dos demais tratamentos inoculadas com *Phytophthora* a uma concentração de 5×10^5 zoósporos/ml.

3.9.4.3 Experimento 3

No terceiro experimento, realizado apenas com a variedade Golden e concentração de inóculo de *Phytophthora* 1×10^5 zoósporos/ml, foram utilizados 18 isolados de *Trichoderma* (Tabela 1), totalizando 39 tratamentos, distribuídos da seguinte forma: 18 tratamentos constituídos de mudas de mamoeiro tratados com cada um dos 18 isolados de *Trichoderma* e inoculadas com *Phytophthora*; 18 tratamentos com mudas tratadas apenas com *Trichoderma*, 1 tratamento controle com mudas inoculadas apenas com *Phytophthora*; e os dois últimos tratamentos representando as testemunhas sem inoculação em um dos quais as mudas foram imersas até a saturação do solo permanecendo nessas condições por 1 hora como as plantas dos demais tratamentos inoculadas com *Phytophthora*.

Após a inoculação com *Phytophthora* as plantas de todos os experimentos foram vistoriadas a cada 2 dias para o aparecimento dos sintomas e, à medida que iam morrendo, eram retiradas lavadas as raízes seccionadas e plaqueadas em PARPH para isolamento e confirmação da presença do patógeno. As plantas dos tratamentos que só receberam *Trichoderma* e as testemunhas correspondentes foram removidas 60 dias após a infestação do solo com *Trichoderma* e avaliadas a altura das plantas, o peso verde das raízes e o peso verde da parte aérea.

Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância sendo os efeitos dos tratamentos e interações avaliados pelo teste F, a 5%, enquanto que as médias dos tratamentos foram comparadas entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. O teste de Dunnett foi utilizado para comparar a testemunha com os demais tratamentos.

Na análise de variância utilizou-se o procedimento GLM do programa computacional estatístico SAS considerando-se um modelo fixo para todas as fontes de variação. Quando da interação significativa para comparação de médias ajustadas duas a duas utilizou-se o teste de Tukey com o procedimento lsmeans e as opções slice, adjust=tukey e pdiff=all.

4. RESULTADOS

4.1 Crescimento micelial e produção de zoósporos de isolados de *P. palmivora* de mamoeiro

Os diâmetros médios das colônias dos isolados crescidos em CA por 4 dias a 25°C sob luz constante variaram de 21,6 a 63,6cm (Tabela 3). De um modo geral, as colônias dos isolados 839, 363, 361, 358, 357, 359 e 356, que não diferiram entre si, de acordo com o teste de Tukey ($P>0,05$) apresentaram um crescimento mais rápido. Enquanto os isolados 360, 251, 365, 245 e 355 apresentaram os menores diâmetros médios de colônias diferindo do grupo anterior de acordo com o teste de Tukey.

Os isolados 839, 363, 250, 251, 245 e 355 não liberaram zoósporos sob as condições de cultivo utilizadas neste estudo. As concentrações de inóculo dos 8 isolados que liberaram zoósporos variaram de $6,05 \times 10^5$ zoósporos/ml a $42,3 \times 10^5$ zoósporos/ml. Os isolados 358 e 356 apresentaram as maiores concentrações de zoósporos obtidas entre os isolados testados e um crescimento micelial rápido. Por este motivo o isolado 356 foi escolhido para as inoculações de mudas (Tabela 4).

4.2. Efeito *in vitro* dos isolados de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *P. palmivora*

De acordo com o teste Dunnett ($P>0,05$) apenas os isolados 316 e 801 não causaram inibição significativa no crescimento de *P. palmivora*, pois, não diferiram da testemunha. Pelo teste Tukey, no mesmo nível de significância, os isolados 316, 801, T.harz e TC40 não tiveram efeito inibidor significativo em relação à testemunha (Tabela 4). Os percentuais de inibição para os 16 isolados que tiveram efeito significativo de acordo com o Teste de Dunnett variaram de 28,57% (isolado T.harz) a 52,04% (isolado 7CC).

Tabela 3 - Diâmetros médios das colônias e concentrações de zoósporos de 14 isolados de *P. palmivora* obtidos 4 e 10 dias, respectivamente, após a repicagem em cenoura-ágar.

Isolados de <i>P. palmivora</i>	Diâmetro das colônias (cm)	Concentração de zoósporos
839	63,6 a	—*
363	59,5 ab	—
361	57,5 abc	1,45 x 10 ⁶ /ml
358	55,1 abc	4,23 x 10 ⁶ /ml
357	54,4 abc	1,82 x 10 ⁶ /ml
359	53,2 abc	2,48 x 10 ⁶ /ml
356	51,2 abcd	3,20 x 10 ⁶ /ml
847	48,4 bcd	6,05 x 10 ⁵ /ml
250	44,8 cde	—
360	37,4 def	2,77 x 10 ⁶ /ml
251	33,7 efg	—
365	28,7 fg	1,24 x 10 ⁶ /ml
245	28,0 fg	—
355	21,6 g	—

* Não liberaram zoósporos.

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

4.3. Escolha da concentração adequada de inóculo de *Phytophthora*

As plantas inoculadas com 3 isolados de *P. palmivora* começaram a apresentar sintomas de amarelecimento e murcha 4 dias após a inoculação e morte por volta de 10 dias da inoculação. As testemunhas das duas variedades continuaram a desenvolver-se normalmente. Após o plaqueamento em meio seletivo *P. palmivora* foi isolada de todas as plantas com sintomas. Duas semanas após,

com mudas da mesma idade, o experimento foi repetido e os resultados foram similares, ocorrendo à morte de todas as plantas inoculadas independente da variedade, isolado ou concentração de inóculo.

TABELA 4 - Efeito *in vitro* dos isolados de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento de culturas de *P. palmivora* (raio das colônias em cm) *in vitro*, medido 72 horas após o pareamento.

Isolado	Espécie	Raio das colônias de <i>Phytophthora</i>	Percentual de inibição do crescimento de <i>Phytophthora</i>
316	<i>T. asperellum</i>	2,00ab	18,37
801	<i>T. brevicompactum</i>	1,95ab	20,40
T.harz	<i>T. harzianum</i>	1,75ab***	28,57
Tc40	<i>Trichoderma</i> sp.	1,65ab***	32,65
ES6	<i>Trichoderma</i> sp.	1,55b***	36,73
312	<i>T. asperellum</i>	1,55b***	36,27
2995	<i>T. stromaticum</i>	1,53b***	37,76
Tc 26	<i>T. koningiopsis</i>	1,53b***	37,76
291	<i>T. asperellum</i>	1,50b***	38,78
905	<i>T. viride</i>	1,48b***	39,80
Tc 35	<i>T. harzianum</i>	1,45b***	40,82
Tc 25	<i>T. longibrachiatum</i>	1,45b***	40,82
ES5	<i>Trichoderma</i> sp.	1,43b***	41,84
T.atro	<i>T. atroviride</i>	1,43b***	41,84
Tc 54	<i>T. harzianum</i>	1,43b***	41,84
SF04	<i>T. asperellum</i>	1,43b***	41,84
ET2	<i>T. asperellum</i>	1,43b***	41,84
7CC	<i>T. atroviride</i>	1,18b***	52,04
Testemunha		2,45 a	

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

*** Teste de Dunnett a 5%

Como as duas variedades mostraram-se igualmente suscetíveis e com a dificuldade maior em obter-se sementes de Sunrise, os experimentos posteriores foram realizados apenas com a variedade Golden, a exceção de dois experimentos testando a ação de isolados de *Trichoderma* spp. em plântulas de mamoeiro inoculadas com *Phytophthora*.

Atribuiu-se a mortalidade total das plântulas inoculadas à sua fragilidade, pois, a semeadura, germinação e cultivo foram em condições de casa-de-vegetação, com redução da luminosidade em relação ao cultivo em pleno sol. Assim, todas as plântulas apresentaram-se com os caules bem finos e poucas folhas. Tentou-se

então, melhorar as condições de cultivo para torná-las mais próximas da realidade dos viveiros aumentando a luminosidade e diminuindo o período de molhamento dos tubetes para 1 vez nos dias de sol. A rega foi suspensa nos dias chuvosos. Infelizmente as plântulas preparadas sob as novas condições foram vítimas do ataque de um outro patógeno (*Corynespora cassiicola*), antes da inoculação de *P. palmivora* e o experimento para determinação da melhor concentração não pode ser repetido.

No entanto, o isolado 356, por haver apresentado consistentemente boa produção de zoósporos foi escolhido para ser usado nos demais testes deste trabalho.

4.4. Efeito de isolados de *Trichoderma* na infecção causada por *Phytophthora palmivora* em frutos de mamoeiro

4.4.1 Experimento 1

O valor de F na Anova não foi significativo para isolados neste experimento (Tabela 5). Como o F do efeito de ensaio também não foi significativo, as médias dos dois ensaios foram somadas, usando-se 10 repetições por tratamento. O coeficiente de variação deste experimento foi de 70,37, considerando alto para um experimento de laboratório, devendo ter interferido para isso, a desuniformidade no tamanho dos frutos utilizados, embora se houvesse tentado padronizar a distribuição dos mesmos pelos tratamentos.

Tabela 5 – Efeito de seis isolados de *Trichoderma* spp. no desenvolvimento de lesões causadas por *P. palmivora* em frutos de mamoeiro inoculados

Isolados	Espécie	Área da lesão ^a (cm ²)	Percentual de desenvolvimento da lesão em relação a testemunha ^b	Percentual de controle da doença
Tatro	<i>T. atroviride</i>	20,16	102,02	0,00
ET2	<i>T. asperellum</i>	18,35	92,86	7,14
SF04	<i>T. asperellum</i>	16,40	83,00	17,00
Tc 26	<i>T. koningiopsis</i>	16,27	82,34	17,66
905	<i>T. viride</i>	15,67	79,30	20,70
Tc 25	<i>T. longibrachiatum</i>	15,36	77,73	22,27
Controle		19,76		

^a Área da lesão produzida por *Phytophthora palmivora* em frutos inoculados de mamão sob a ação antagonista de diferentes isolados de *Trichoderma* spp.

^b Percentual de desenvolvimento da lesão de *P. palmivora* sob a ação antagonista de diferentes isolados de *Trichoderma* spp. em relação a testemunha inoculada com *P. palmivora*

4.4.2 Experimento 2

Houve desenvolvimento de lesões nos frutos de todos os tratamentos inoculados com *P. palmivora* (Figura 8 a-c). Os frutos tratados com *Trichoderma* spp. e não inoculados com *P. palmivora* bem como o controle absoluto (sem *Trichoderma*) e os sem *Phytophthora* não apresentaram qualquer lesão.

O valor de F na Anova para a fonte de variação isolados foi significativo ($P < 0,05$) e o valor de F para ensaios não foi significativo. Deste modo os resultados apresentados na Tabela 6 são da média dos 2 ensaios, o coeficiente de variação do experimento foi de 35,23.

Entre os oito isolados de *Trichoderma* testados, nestes experimentos apenas o isolado 2995, reduziu significativamente a área das lesões provocadas por *Phytophthora* quando comparada ao controle (frutos inoculados com *Phytophthora*) tanto pelo teste de Dunnett, quanto pelo teste de Tukey, ambos a 5% de probabilidade (Tabela 6). As áreas das lesões variaram de 12,8 (isolado 2995) a 27,1 cm² (isolado Tc 40). Os percentuais de redução das áreas das lesões dos isolados nos frutos tratados com os diferentes isolados de *Trichoderma* variaram de 59,37 (isolado 2995) a 97,40% (isolado 312), enquanto que os isolados Tc 40 e 316, aumentaram o tamanho das lesões, apesar de não diferirem da testemunha. Conseqüentemente, os percentuais de controle da doença pelos isolados variaram de 2,60 (isolado 312) a 40,63% (isolado 2995), sendo este último o único valor estatisticamente significativo. Este experimento foi realizado duas vezes.

Tabela 6 – Efeito de oito isolados de *Trichoderma* spp. no desenvolvimento de lesões causadas por *P. palmivora* em frutos de mamoeiro.

Isolados	Espécie	Área da lesão ^a (cm ²)	Percentual de desenvolvimento da lesão em relação à testemunha ^b	Percentual de controle da doença
Tc 40	<i>Trichoderma</i> sp.	27,05 a	125,75	0,00
316	<i>T. asperellum</i>	25,21 ab	117,20	0,00
312	<i>T. asperellum</i>	20,95 abc	97,40	2,60
Tc 35	<i>T. harzianum</i>	19,75 abc	91,82	8,18
291	<i>T. asperellum</i>	19,36 abc	90,00	10,00
Tc 54	<i>T. harzianum</i>	18,06 abc	83,96	16,04
801	<i>T. brevicompactum</i>	16,67 bc	77,50	22,50
2995	<i>T. stromaticum</i>	12,77 c	59,37	40,63
Controle		21,51 ab		

^a Área da lesão produzida por *Phytophthora palmivora* em frutos inoculados de mamão sob a ação antagônica de diferentes isolados de *Trichoderma* spp.

^b Percentual de desenvolvimento da lesão de *P. palmivora* sob a ação antagônica de diferentes isolados de *Trichoderma* spp. em relação à testemunha inoculada com *P. palmivora*.

^c Médias seguidas das mesmas letras não diferiram entre si pelo Teste de Tukey a 5%.

*** Teste de Dunnett a 5%

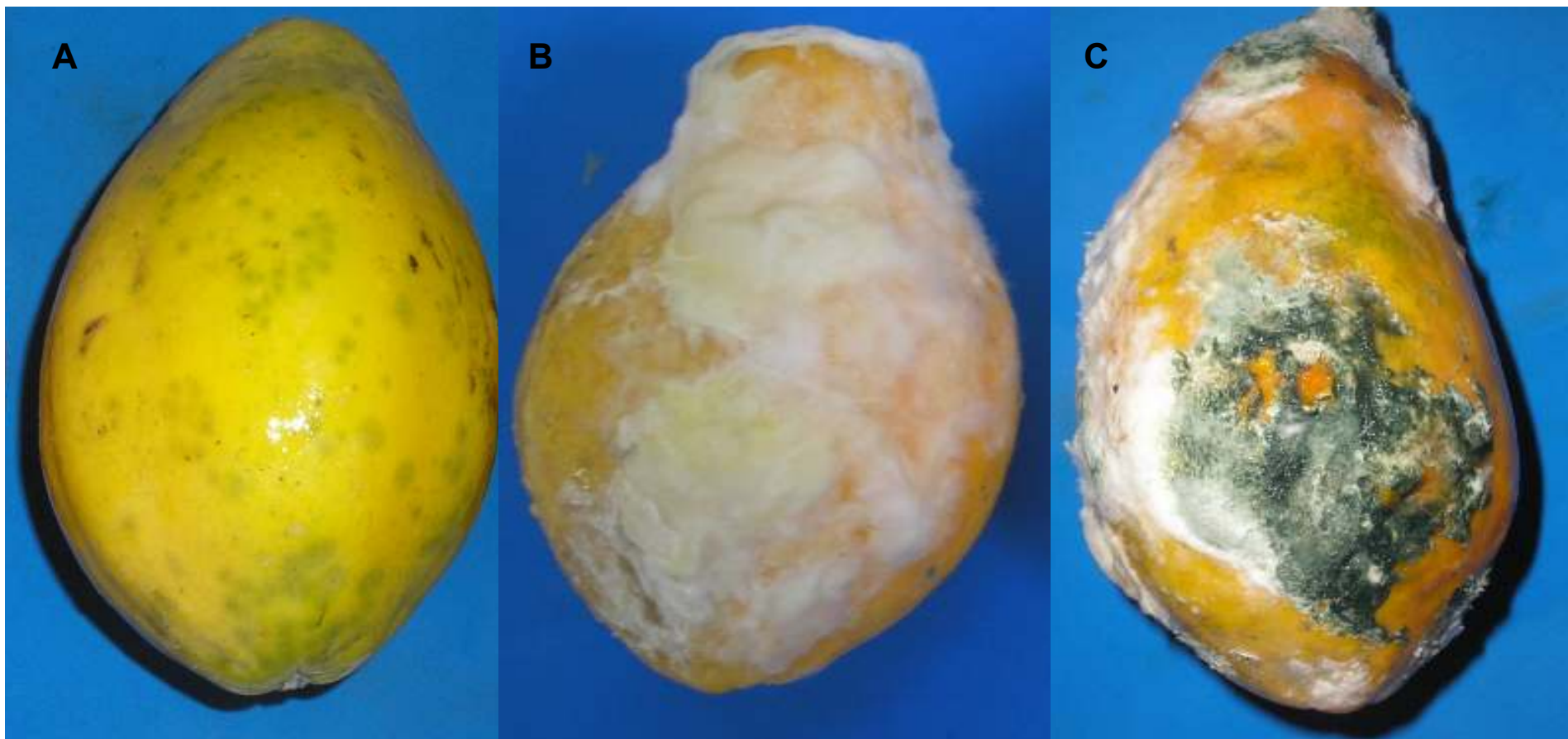


Figura 8: Fruto de mamão sadio (a); fruto infectado por *P. palmivora* (b); fruto infectado por *P. palmivora* e tratado com o isolado 2995 (*Trichoderma stromaticum*) (c).

4.4.3 Experimento 3

Quando o efeito de 18 isolados de *Trichoderma* foi avaliado, o valor F na Anova foi significativo ($P < 0,05$) e o coeficiente de variação do experimento foi de 39,90, observou-se que pelo teste de Dunnett, os isolados 2995 e SF04 reduziram significativamente o tamanho das lesões de *P. palmivora* em frutos de mamoeiro em relação à área de lesão apresentada pelo tratamento controle (inoculação com *P. palmivora* apenas). No entanto, o uso do teste de Tukey não diferenciou as médias de nenhum dos tratamentos (Tabela 7). A variação de área de lesão entre os tratamentos foi de 11,7 (isolado SF04) a 26,6 (isolado Tc 25). O percentual de controle (redução de doença dos isolados em relação à testemunha) variou de 3,83 (isolado Tc 25) a 57,7% (isolado SF04).

Nos três experimentos relatados neste estudo os frutos tratados apenas com *Trichoderma* não apresentaram lesões. Os frutos da testemunha absoluta (inoculado com disco de cenoura-ágar) também não apresentaram lesões.

4.5 Testes com isolados de *Trichoderma* para controle da infecção em mudas de mamoeiro inoculados com *P. palmivora*

As mudas do tratamento testemunha (inoculação com *Phytophthora*) de todos os 3 experimentos realizados tanto da variedade Golden como da variedade Sunrise, morreram no espaço entre uma semana e no máximo 20 dias da inoculação, inviabilizando a pesagem do sistema radicular e da parte aérea e a aferição da altura das plantas. Estas plantas, de um modo geral, apresentaram amarelecimento e murcha ou tombamento (Figura 9 a-d). Ao serem removidas, o sistema radicular apresentava escurecimento em algumas áreas, apodrecimento, e, na região do coleto, podridão aquosa, sendo esta a causa da murcha e tombamento das mesmas (Figura 10 a-d).

Quanto às mudas inoculadas com *Phytophthora* nos diferentes tratamentos em que o solo foi infestado 8 dias antes com os isolados de *Trichoderma*, a porcentagem de plantas mortas da variedade Golden variou entre os tratamentos de 50% (isolado T.atro, experimento 3) a 100% para vários isolados (Tabela 8). Como já não haviam plantas testemunhas (inoculadas só com *Phytophthora*), e, as plantas sobreviventes nos tratamentos fossem poucas, não foi feita a aferição da

Tabela 7 - Efeito de dezoito isolados de *Trichoderma* spp. no desenvolvimento de lesões causadas por *P. palmivora* em frutos de mamoeiro.

Isolados	Espécie	Área da lesão ^a (cm ²)	Percentual de desenvolvimento da lesão em relação à testemunha ^b	Percentual de controle da doença
Tc 25	<i>T. longibrachiatum</i>	26,64	96,17	3,83
7CC	<i>T. atroviride</i>	25,02	90,32	9,68
316	<i>T. asperellum</i>	24,50	88,45	11,55
Tc 40	<i>Trichoderma</i> sp.	24,12	87,08	12,92
Tc 26	<i>T. koningiopsis</i>	21,38	77,18	22,82
Tc 35	<i>T. harzianum</i>	20,22	73,00	27,00
T atro	<i>T. atroviride</i>	19,94	71,99	28,01
ES5	<i>Trichoderma</i> sp.	19,62	70,83	29,17
312	<i>T. asperellum</i>	19,28	69,60	30,40
905	<i>T. viride</i>	18,92	68,30	31,70
ET2	<i>T. asperellum</i>	17,72	63,97	36,03
Tc 54	<i>T. harzianum</i>	15,12	54,58	45,42
Tharz	<i>T. harzianum</i>	15,00	54,15	45,85
801	<i>T. brevicompactum</i>	14,78	53,35	46,65
291	<i>T. asperellum</i>	14,76	53,29	46,71
ES6	<i>Trichoderma</i> sp.	14,74	53,21	46,79
2995	<i>T. stromaticum</i>	11,80	42,60	57,40
SF04	<i>T. asperellum</i>	11,72	42,30	57,70
Controle		27,70		

^a Área da lesão produzida por *Phytophthora palmivora* em frutos de mamão inoculados com diferentes isolados de *Trichoderma* spp.

^b Desenvolvimento da lesão de *P. palmivora* em frutos tratados com diferentes isolados de *Trichoderma* spp. em relação a testemunha inoculada com *P. palmivora*.

^c Médias seguidas pelas mesmas letras não diferiram entre si pelo Teste de Tukey a 5%.

altura e do peso dessas plantas. O mesmo ocorreu na inoculação com plântulas da variedade Sunrise. No experimento 1 houve 100% de mortalidade para todos os tratamentos e no experimento 3 as porcentagens de plantas mortas variaram de 70% (isolados Tc25, 801, 2995 e T.harz) a 100% (vários isolados) (Tabela 8).

O possível efeito dos isolados de *Trichoderma* spp. no desenvolvimento das plantas foi avaliado através da comparação do peso da raiz, do peso da parte aérea e da altura das plantas, cujo solo foi infestado com *Trichoderma* spp. e que não foram inoculados com *Phytophthora* comparado a testemunha absoluta.

Para o experimento 1 os resultados da análise estatística mostraram variações significativas entre os tratamentos para as variáveis altura da planta ($P < 0,05$) e peso da raiz ($P < 0,05$), na variedade golden, e apenas para altura da

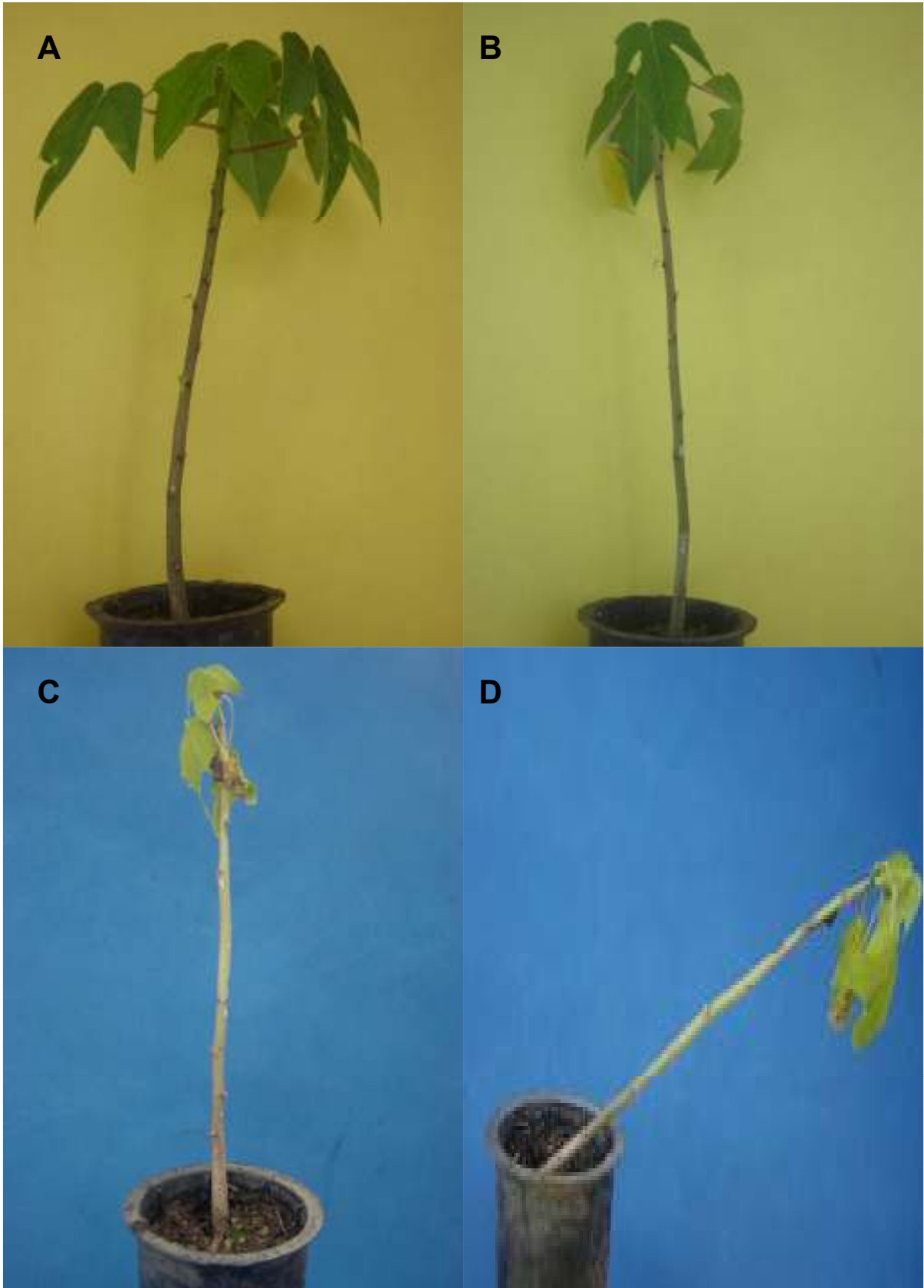


Figura 9: Plântula de mamão sadia (a); plântulas apresentando: amarelecimento (b); murcha (c) e tombamento (d) causados por infecção com *P. palmivora*



Figura 10: Plântula sadia e plântulas com dois estágios de infecção por *P. palmivora* (a); plântula com sintoma de escurecimento (b); plântulas apresentando escurecimento e apodrecimento (c).

Tabela 8 - Porcentagem de plantas mortas por *Phytophthora* por experimento das variedades Golden e Sunrise nos diversos tratamentos com isolados de *Trichoderma* e na testemunha. Os isolados de *Trichoderma* foram aplicados no solo 8 dias antes da inoculação com zoosporos de *Phytophthora*.

Isolado	Espécie	Variedade Golden			Variedade Sunrise	
		Exp.1	Exp. 2	Exp.3	Exp.1	Exp.3
Tc 25	<i>T.longibrachiatum</i>	*	80	100	*	70
Tc 26	<i>T. koningiopsis</i>	*	80	70	*	100
Tc 35	<i>T. harzianum</i>	100	60	100	100	100
Tc 40	<i>Trichoderma</i> sp.	100	80	70	100	100
Tc 54	<i>T. harzianum</i>	100	80	90	100	80
291	<i>T. asperellum</i>	100	100	100	100	100
312	<i>T. asperellum</i>	100	100	80	100	90
316	<i>T. asperellum</i>	100	100	80	100	100
801	<i>T. brevicompactum</i>	100	80	100	100	70
905	<i>T. viride</i>	*	80	80	*	100
2995	<i>T. stromaticum</i>	*	80	70	*	70
ES5	<i>Trichoderma</i> sp.	*	*	80	*	100
ES6	<i>Trichoderma</i> sp.	*	*	60	*	100
ET2	<i>T. asperellum</i>	*	100	70	*	80
SF04	<i>T. asperellum</i>	*	70	80	*	100
7CC	<i>T. atroviride</i>	*	*	100	*	80
T.atro	<i>T. atroviride</i>	*	70	50	*	80
T.harz	<i>T. harzianum</i>	*	*	100	*	70
Testemunha		100	100	100	100	100

* Isolados que não fizeram parte do experimento

planta, na variedade sunrise ($P < 0,05$). Os coeficientes de variação deste experimento tiveram valores de 6,41 e 10,07 para altura da planta; 25,08 e 28,49 para peso da raiz; e 46,44 e 43,67 para parte aérea, para as variedades golden e sunrise respectivamente.

Para a variável altura das plantas, na cultivar golden, apenas a média das plantas tratadas com o isolado 801 (11,20cm) diferiu das plantas testemunha (16,08cm) pelos testes de Tukey e Dunnett ao nível de 5% de probabilidade, com efeito negativo do tratamento (Tabela 9). Na variedade sunrise, as alturas médias das plantas dos tratamentos Tc54, 801, Tc35 e Tc40 diferiram ($P > 0,05$) daquelas das plantas testemunhas, variando os decréscimos na altura média das plantas para estes tratamentos de 27,88% (isolado Tc40) a 34,85% (isolado Tc54) (Tabela 10). Pelo teste Dunnett ($P > 0,05$), apenas o isolado Tc54 não diferiu estatisticamente da testemunha para esta variável.

Não houve efeito positivo dos isolados de *Trichoderma* para o peso das raízes, pois o único isolado que na variedade golden diferiu da testemunha, apresentou peso médio inferior ao da mesma (Tabela 9).

Para o experimento 2, realizado apenas com a variedade golden, as análises de variância para as variáveis altura da planta, peso da raiz e peso da parte aérea foram

significativas ao nível de 5%. Os coeficientes de variação foram 15,23 para altura, 43,58 para o peso da raiz e 64,10 para o peso da parte aérea.

Para a variável altura das plantas, as médias dos diferentes tratamentos não diferiram entre si pelo teste Tukey a 5%. Apenas as plantas tratadas com o isolado T.atro diferiram da testemunha. Os percentuais de aumento em relação a testemunha variaram de 9,83% (isolado Tc 40) a 31,20% (isolado T.atro). Pelo teste Dunnett, os isolados T.atro, 2995, 312, 801, Tc 35, SF04 e 316, diferiram ($P>0,05$) da testemunha. Para as variáveis peso da raiz e peso da parte aérea não houve efeito dos tratamentos em relação a testemunha (Tabela 11). Pelo teste de Dunnett diferiram da testemunha ($P>0,05$) os isolados 316, 291, ET2 e 312 para peso de raízes e Tc40 para peso de raízes e da parte aérea. As médias destes tratamentos foram menores que a da testemunha.

Para o experimento 3, o teste de F, para variável peso da raiz, na variedade golden, não foi significativo ($P>0,05$), enquanto que para a variedade sunrise, foi significativo para todas as variáveis. Os coeficientes de variação deste experimento para as variedades golden e sunrise, foram respectivamente para altura da planta 16,03 e 17,38; peso da raiz 32,15 e 37,10; e parte aérea 27,69 e 28,49.

Para a variedade golden, pelo teste Dunnet ($P>0,05$), apenas o isolado ES6 diferiu da testemunha para as variáveis altura da planta e peso da parte aérea. Pelo teste Tukey ao mesmo nível de significância, a média da testemunha não diferiu das mesmas dos isolados para nenhuma das 3 variáveis (Tabela 12).

Quanto à variedade sunrise, pelo teste Dunnett ($P>0,05$) diferiram da testemunha as plantas tratadas com os isolados Tc54 e 312, para as variáveis altura da planta e peso da parte aérea, Tc26 (altura da planta), 312 e T.atro (peso da raiz). Pelo teste Tukey ao mesmo nível de significância, somente o isolado Tc54 teve desempenho superior ao da testemunha para altura da planta, e os isolado 312 e T.atro para peso de raiz (Tabela 13).

As plantas tratadas com o isolado Tc54 apresentaram um incremento de 30,5% na altura e 56,25% no peso das raízes em relação às plantas testemunha e aquelas tratadas com Tc26, 50% de aumento no peso das raízes.

Tabela 9– Efeito de isolados de *Trichoderma* spp. usados no experimento 1 sobre o desenvolvimento de mudas de mamoeiro da variedade Golden

Isolados	Espécie	Altura da planta (cm)	Percentual de aumento em relação à testemunha ^x	Peso da raiz (g)	Peso da parte aérea (g)
Tc 40	<i>Trichoderma sp.</i>	16,50 a	2,61	1,92 a	0,60
Tc 54	<i>T. harzianum</i>	16,10 a	0,12	1,34 ab	0,64
291	<i>T. asperellum</i>	15,94 a	-0,88	1,08 ab	0,60
312	<i>T. asperellum</i>	15,72 a	-2,24	1,26 ab	0,57
Tc 35	<i>T. harzianum</i>	15,30 a	-4,86	1,08 ab	0,52
316	<i>T. asperellum</i>	15,24 a	-5,23	1,00 ab	0,72
801	<i>T. brevicompactum</i>	11,20 b	-30,35	0,84 b	0,42
Testemunha		16,08 a		1,66 a	0,86

^xAltura de plantas inoculadas cujo solo foi infestado com isolados de *Trichoderma* spp. em relação as testemunhas
Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tabela 10 – Efeito de isolados de *Trichoderma* spp. usados no experimento 1 sobre o desenvolvimento de mudas de mamoeiro da variedade Sunrise

Isolados	Espécie	Altura da planta (cm)	Percentual de aumento em relação à testemunha ^x	Peso da parte aérea (g)	Peso da parte aérea
Tc 54	<i>T. harzianum</i>	16,64 a	34,85	1,160	0,496
801	<i>T. brevicompactum</i>	15,82 ab	28,20	0,880	0,328
Tc 35	<i>T. harzianum</i>	15,82 ab	28,20	0,960	0,566
Tc 40	<i>Trichoderma sp.</i>	15,78 ab	27,88	1,100	0,590
291	<i>T. asperellum</i>	14,94 abc	21,07	1,040	0,578
316	<i>T. asperellum</i>	14,24 abc	15,40	0,820	0,420
312	<i>T. asperellum</i>	13,44 bc	8,91	1,060	0,522
Testemunha		12,34 c		1,040	0,498

^xAltura de plantas inoculadas cujo solo foi infestado com isolados de *Trichoderma* spp. em relação as testemunhas
Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tabela 11 – Efeito de isolados de *Trichoderma* spp. usados no experimento 2 sobre o desenvolvimento de mudas de mamoeiro da variedade Golden

Isolados	Espécie	Altura da planta (cm)	Percentual de aumento em relação à testemunha ^x	Peso da raiz (g)	Peso da parte aérea (g)
Tatro	<i>T. atroviride</i>	30,70 a	31,20	2,05 ab	0,78 a
2995	<i>T. stromaticum</i>	29,95 ab	27,99	1,63 bc	0,52 ab
312	<i>T. asperellum</i>	29,80 ab	27,35	0,98 c	0,49 ab
801	<i>T. brevicompactum</i>	29,15 ab	24,57	1,49 bc	0,56 ab
Tc 35	<i>T. harzianum</i>	29,10 ab	24,36	1,22 bc	0,38 ab
SF04	<i>T. asperellum</i>	28,95 ab	23,72	1,98 abc	0,92 a
316	<i>T. asperellum</i>	28,95 ab	23,72	1,20 bc	0,43 ab
Tc 54	<i>T. harzianum</i>	28,65 ab	22,44	2,82 a	0,65 ab
Tc 25	<i>T. longibrachiatum</i>	28,25 ab	20,73	1,22 bc	0,38 ab
291	<i>T. asperellum</i>	27,80 ab	18,80	1,00 c	0,54 ab
905	<i>T. viride</i>	27,40 ab	17,09	1,40 bc	0,50 ab
Tc 26	<i>T. koningiopsis</i>	27,30 ab	16,66	1,80 abc	0,68 ab
ET2	<i>T. asperellum</i>	27,10 ab	15,81	0,99 c	0,59 ab
Tc 40	<i>Trichoderma</i> sp.	25,70 ab	9,83	0,97 c	0,22 b
Testemunha		23,40 b		2,05 ab	0,71 ab

^x Altura de plantas inoculadas cujo solo foi infestado com isolados de *Trichoderma* spp. em relação as testemunhas
Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tabela 12 – Efeito de isolados de *Trichoderma* spp. usados no experimento 3 sobre o desenvolvimento de mudas de mamoeiro da variedade Golden

Isolados	Espécie	Altura da planta (cm)	Percentual de aumento em relação à testemunha ^x	Peso da raiz (g)	Peso da parte aérea (g)
ES6	<i>Trichoderma</i> sp.	14,55 a	24,46	0,61	1,77 a
Tatro	<i>T. atroviride</i>	14,14 ab	20,96	0,57	1,62 ab
Tc 26	<i>T. koningiopsis</i>	13,75 abc	17,62	0,58	1,43 abc
Tc 40	<i>Trichoderma</i> sp.	13,68 abc	17,02	0,62	1,51 ab
Tc 54	<i>T. harzianum</i>	12,99 abc	11,12	0,61	1,54 ab
Tharz	<i>T. harzianum</i>	12,96 abc	10,86	0,49	1,41 abc
ES5	<i>Trichoderma</i> sp.	12,93 abcd	10,60	0,49	1,25 abc
Tc 25	<i>T. longibrachiatum</i>	12,50 abcd	6,93	0,42	1,32 abc
Tc 35	<i>T. harzianum</i>	12,35 abcd	5,65	0,49	1,42 abc
291	<i>T. asperellum</i>	12,31 abcd	5,30	0,57	1,30 abc
801	<i>T. brevicompactum</i>	12,03 abcd	2,91	0,54	1,20 abc
SF04	<i>T. asperellum</i>	11,70 abcd	0,08	0,49	1,14 bc
905	<i>T. viride</i>	11,54 abcd	-	0,59	1,45 ab
316	<i>T. asperellum</i>	11,22 bcd	-	0,50	1,05 bc
312	<i>T. asperellum</i>	11,15 bcd	-	0,52	1,14 bc
7CC	<i>T. atroviride</i>	10,86 cd	-	0,48	1,07 bc
2995	<i>T. stromaticum</i>	10,81 cd	-	0,44	1,14 bc
ET2	<i>T. asperellum</i>	9,81 d	-	0,40	0,87 c
Testemunha		11,69 abcd		0,52	1,23 abc

^x Altura de plantas inoculadas cujo solo foi infestado com isolados de *Trichoderma* spp. em relação as testemunhas
Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tabela 13 – Efeito de isolados de *Trichoderma* spp. usados no experimento 3 sobre o desenvolvimento de mudas de mamoeiro da variedade Sunrise

Isolados	Espécie	Altura da planta (cm)	Percentual de aumento em relação à testemunha ^x	Peso da raiz (g)	Peso da parte aérea (g)
Tc 54	<i>T. harzianum</i>	13,78 a	30,50	0,75 ab	1,71 a
Tc 26	<i>T. koningiopsis</i>	13,22 ab	25,19	0,72 ab	1,35 ab
ES6	<i>Trichoderma</i> sp.	12,75 abc	20,74	0,65 ab	1,55 ab
Tc 25	<i>T. longibrachiatum</i>	12,55 abc	18,84	0,71 ab	1,59 ab
291	<i>T. asperellum</i>	11,99 abcd	13,54	0,70 ab	1,55 ab
Tc 40	<i>Trichoderma</i> sp.	11,95 abcde	13,16	0,65 ab	1,54 ab
ET2	<i>T. asperellum</i>	11,51 abcde	8,99	0,71 ab	1,40 ab
7CC	<i>T. atroviride</i>	11,18 abcde	5,87	0,71 ab	1,23 ab
T.atro	<i>T. atroviride</i>	10,94 abcde	3,60	0,89 a	1,41 ab
2995	<i>T. stromaticum</i>	10,94 abcde	3,60	0,1 ab	1,34 ab
312	<i>T. asperellum</i>	10,92 abcde	3,41	0,95 a	1,40 ab
T.harz	<i>T. harzianum</i>	10,57 bcde	0,09	0,72 ab	1,24 ab
316	<i>T. asperellum</i>	10,47 bcde	-	0,65 ab	1,40 ab
ES5	<i>Trichoderma</i> sp.	10,17 bcde	-	0,55 ab	1,16 ab
Tc 35	<i>T. harzianum</i>	10,11 cde	-	0,70 ab	1,40 ab
905	<i>T. viride</i>	9,92 cde	-	0,71 ab	1,27 ab
SF04	<i>T. asperellum</i>	9,39 de	-	0,56 ab	1,09 b
801	<i>T. brevicompactum</i>	8,88 e	-	0,58 ab	1,01 b
Testemunha		10,56 bcde		0,48 b	1,15 ab

^x Altura de plantas inoculadas cujo solo foi infestado com isolados de *Trichoderma* spp. em relação as testemunhas
Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

5. DISCUSSÃO

Devido a importância das podridões do pé e do fruto do mamoeiro causados por *P. Palmivora* e do impacto ecológico e alto custo do controle químico realizou-se a presente pesquisa visando testar algumas alternativas de controle biológico. Este trabalho abrange um estudo *in vitro* do efeito de 18 isolados de *Trichoderma* obtidos das espécies *T. asperellum* (5), *T. atroviride* (2), *T. brevicompactum* (1), *T. harzianum* (3), *T. longibrachiatum* (1), *T. longiopsis* (1), *T. stromaticum* (1), *T. viride* (1) e 4 outros isolados de espécies ainda não identificadas; sobre um isolado de *P. palmivora* (356).

Os isolados que mais produziram zoósporos foram 358,356 e 360 apresentando também crescimento micelial rápido. Os dois primeiros isolados foram obtidos no município de Mucuri e o terceiro no município de Itabela, todos no mesmo ano, após um surto de podridão de *Phytophthora* em mamoeiros, no sul da Bahia, com elevadas perdas. Os três isolados foram usados em testes para avaliação de sua agressividade e determinação da concentração de inóculo. No entanto, como as mudas de mamoeiro disponíveis para realização das inoculações estavam mal desenvolvidas ocorreu a morte de todas as plantas inoculadas das duas variedades e nas diferentes concentrações de inóculo. Esta circunstância serviu para demonstrar que os isolados mantinham-se patogênicos ao mamoeiro e que o método de inoculação de *Phytophthora* por imersão era eficiente, embora posteriormente tenha se observado ser ele bastante drástico.

Quanto ao efeito *in vitro* dos isolados de *Trichoderma* spp. sobre o desenvolvimento de *P. palmivora*, observou-se que os isolados ES6, 312, 2995, Tc26, 291, 905, Tc35, Tc25, ES5, T.atro, Tc54, SF04, ET2 e 7CC inibiram o crescimento micelial do isolado de *P. palmivora*, diferindo estatisticamente da testemunha, pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 4), sendo este, considerado um resultado animador para o prosseguimento das pesquisas.

Ao serem testados em frutos, no entanto, apenas os isolados 2995 e SF04 reduziram em mais de 50% as lesões causadas por *P. palmivora* inoculada nos frutos tratados com *Trichoderma* 24 horas antes (Tabela 6 e 7). Entretanto, no

experimento 1 (Tabela 5) onde o isolado SF04 foi também utilizado, o seu efeito não foi significativo em relação a testemunha, reduzindo o tamanho das lesões apenas 17%. Houve uma grande variação entre os experimentos. O coeficiente de variação do experimento 1 (70,4), considerado elevado para este tipo de ensaio já demonstra a interferência de fatores de variação que diminuíram no experimento 3 (CV=39,9), embora este tenha contado com maior número de isolados e portanto de tratamentos. Entre as possíveis causas de variação que podem ter influenciado estão: a) desuniformidade no tratamento e estágio de maturação dos frutos – eram frutos colhidos para comercialização e foram adquiridos, no caso dos experimentos 1 e 2 de distribuidor para o mercado de Itabuna, enquanto os frutos do experimento 3 foram doação do produtor (Algerfrutos), tendo vindo diretamente da plantação para o laboratório no mesmo dia da coleta e tratados no dia imediatamente posterior. Os que foram adquiridos do distribuidor poderiam já estar colhidos há mais dias e não foi possível fazer uma padronização melhor do tamanho de frutos. Adquiriu-se o que estava disponível; b) as condições do ambiente: embora o laboratório onde os experimentos foram realizados fosse sempre o mesmo, a Clínica fitopatológica Waldemar Tobias Lelis (CEPEC/SEFIT), nos finais de semana, o aparelho de ar-condicionado ali existente é desligado. Assim, a temperatura do laboratório fica sujeita a do ambiente externo. Os experimentos foram iniciados sempre na quinta-feira e os frutos incubados em câmara-umida durante o final-de-semana, desse modo, em épocas diferentes a temperatura é variável e as repetições dos experimentos 1 e 2 ocorreram durante o verão, quando a temperatura durante o dia é sempre superior a 30°C.

Outros fatores podem ainda ser discutidos quanto a pouca eficiência dos agentes biocontroladores usados nestes experimentos. Destacamos os seguintes: 1)na aplicação de *Trichoderma* optamos pelo método de imersão, entretanto recomenda-se que outros métodos sejam testados futuramente; 2)apesar de apenas uma concentração do inóculo de *Trichoderma* ter sido usada estamos cientes da importância de estudos de dose-resposta. Um dos possíveis efeitos das altas concentrações de inóculo é a produção de substâncias que inibem a germinação de esporos do agente de biocontrole, como o efeito constatado para o ácido nonanóico sobre a germinação de *Rhizopus oligosporus* (BREEUWER et al.,1997); 3) nos experimentos aqui relatados, *Trichoderma* foi aplicado antes de *Phytophthora*. Uma inversão da ordem de aplicação dos microorganismos deve ser testada, pois

isolados de *Trichoderma* que atuam por meio do mecanismo de micoparasitismo podem ser favorecidos. O micoparasitismo é um dos mecanismos de ação mais comuns de *Trichoderma* (BENITEZ et al., 2004; KUBICEK et al., 2001; HARMAN, 2000). Embora não tenhamos constatado microscopicamente a ocorrência deste modo de ação, a esporulação sobre colônias de *Phytophthora* pelos isolados ES6, 312, 316, Tc 40, 2995, Tc26, 291, 905, Tc35, Tc25, ES5, T.atro, T.harz, Tc54, SF04, ET2 e 7CC indica a ocorrência de micoparasitismo.

Outro mecanismo de ação comum em *Trichoderma* é a promoção de crescimento (Harman, 2000 e 2004; Kubicek et al., 2001). Infelizmente, neste estudo, nenhum dos isolados apresentou resultados consistentes quanto ao crescimento das plantas (Tabelas 9-13). Neste caso, qualquer tentativa de explicar a falta de efeitos positivos nos leva a especulações que só poderão ser provadas com experimentação.

Os testes em mudas demonstraram a fragilidade das mesmas ao ataque de *Phytophthora*, possivelmente devido ao fato das mesmas terem sido inoculadas ainda muito novas, justamente quando são mais suscetíveis (KO, 1994). Além disso, esses testes também demonstraram a incapacidade dos isolados de *Trichoderma* testados em controlar a doença. Isto pode ter ocorrido também em decorrência do intervalo de inoculação dos microorganismos que foi de uma semana. Outros tempos de inoculação no substrato devem ser testados em trabalhos futuros. Talvez o antagonista necessite de um maior período de tempo para colonizar o substrato. Além disso, vários autores já demonstraram que *Trichoderma* não é um bom colonizador de raízes (BETTIOL, 1991; SAWANT et al. 1995; AHMAD & BAKER, 1987). Outro aspecto a ser analisado é a concentração de zoósporos de *P. palmivora*. Altas concentrações de inóculo podem inundar o sistema, levando todas as plantas à morte. Portanto, estudos para a otimização da concentração de zoósporos de *Phytophthora* devem ser conduzidos. Dianese et al., (2007) em experimentos realizados com *Trichoderma* spp. em mudas de mamoeiro, demonstram a eficiência de 2 isolados cen 162 e cen 235. Respostas similares não foram obtidas no presente experimento. Este foi o único relato encontrado de uso de *Trichoderma* spp. sobre o patossistema mamoeiro x *P. palmivora*.

Este trabalho abre novas perspectivas para o uso do controle biológico na podridão dos frutos do mamoeiro. Dois isolados mostraram-se promissores. Até o momento, não se dispunha de dados sobre a aplicação de antagônicos para o

controle de *Phytophthora* em frutos, pelo menos, não encontramos relatos na literatura. Pesquisas deverão ser realizadas para confirmar e otimizar o uso de *T. stromaticum* e *T. asperellum* para o controle da podridão-dos-frutos visando a sua aplicação a campo. Outros isolados de *T. stromaticum* devem ser testados, uma vez que só um isolado desta espécie foi utilizado neste experimento, e demonstrou alguma eficiência nos testes em frutos de mamoeiro.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. Entre os 14 isolados de *Phytophthora palmivora* testados, 356, 358 e 360, apresentaram maior esporulação e crescimento micelial. Estes três isolados não diferiram em agressividade à mudas de mamoeiro;
2. Nos testes *in vitro* os isolados de *Trichoderma* spp., Tc25, Tc26, Tc35, Tc54, 291, 312, 905, 2995, ES5, ES6, ET2, T.atro, SF04 e 7CC, inibiram o crescimento micelial de *P. palmivora*;
3. O isolado de *Trichoderma stromaticum*, 2995 e um dos isolados de *T. asperellum*, SF04 foram promissores no controle de *P. palmivora* em frutos;
4. Não houve efeito dos isolados de *Trichoderma* spp., testados no controle de *P. palmivora* em mudas de mamoeiro, e nem ação positiva deles no crescimento das mudas tratadas em relação aquelas da testemunha sem tratamento;
5. Evidenciou-se a necessidade da continuidade das pesquisas para o uso de *Trichoderma* spp. como agentes de biocontrole das podridões do fruto e das raízes do mamoeiro.

7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, J. S.; BAKER, R. Rhizosphere competence of *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**, v.77, nº2, p. 182-189. 1987.
- AMORIM, E. P. R.; ITAMAR, S. D. Efeito da associação de antagonistas no controle de *Phytophthora parasitica* e *P. citrophthora* em plântulas de citrus. **Summa Phytopathologica**. 25(4): 335-338. 1999.
- ARENAS, A. V. *Trichoderma pers.* Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible. Ing. Agrónomo. MSc. Villavicencio. Colômbia Disponível em <<http://www.oriusbiotecnologia.com/site/index.php?docs>>. Acesso em 10 de outubro de 2007.
- BADILLO, V. M. Caricaceae: Segundo esquema. **Revista de la Facultad de Agronomia**, Maracay, v. 43, p. 111, 1993.
- BAKER, R.; AHMAD, J. S. Rhizosphere Competence of *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**. V. 77, nº 21, 182-189, 1987.
- BAKER, R.; DICKMAN, M. B. Biological control with fungi. In: METTING JR; F.B. (Ed.) **Soil Microbial Ecology**: applications in agricultural and environmental management. New York: Dekker, p. 275-305, 1993.
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. *Illustrated genera of imperfect fungi* (3^a ed). Minneapolis: Burgess Publishing Company,. 1972.
- BASTOS, C. N. Estratégias de controle biológico de fitopatógenos do cacauzeiro. VII Reunião de Controle Biológico de Fitopatógenos. Ilhéus, **Anais**. p. 25-27, 2003.

BATISTA, A. C. Principais doenças das plantas no Nordeste, **Boletim S.A.I.C.**, Recife, p. 195-252, 1946.

BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M. M. LIMÓN; C.; CÓDON, A. C. Biocontrol mechanisms of Trichoderma strains. **International microbiology** 7:249-260, 2004.

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

BREEUWER, P.; DE REU, J. C.; DROCOURT JEAN-LOUIS; ROMBOUITS, F. M.; ABEE. T. Nonanoic Acid, a Fungal Self-Inhibitor, Prevents Germination of *Rhizopus oligosporus* Sporangiospores by Dissipation of the pH Gradient. **Applied and environmental microbiology**, p. 178–185, 1997.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. The nature and practice of biological control of plant pathogens. St. Paul, **APS**, 539p, 1983.

COSTA, J. C. B., BEZERRA, J. L., CAZORLA, I. M. Controle biológico da vassoura-de-bruxa do cacauzeiro na Bahia com *Trichoderma polysporum*. **Fitopatologia Brasileira**, 21, 397, 1996.

DHINGRA, O.D.; SINCLAIR, J.B. Basic plant pathology methods. 2 edição, Lewis Publishers, London, 434p., 1994.

DIANESE, A. C.; BLUM, L. E. B.; DUTRA, J. B.; FREITAS, L. F., LOPES, L. F.; SENA, M. C.; & MELLO, S. C. Avaliação in vitro de *Trichoderma* para o controle de *Phytophthora palmivora*. Brasília, **Fitopatologia Brasileira**, 30: S78, 2005.

EMBRAPA, 2007. Disponível em:
<http://www.cpatsa.embrapa.br/catalogo/livrorg/mamao.pdf>. Acesso em 21 de novembro de 2007.

ERWIN, D. C e RIBEIRO, O. K. *Phytophthora* diseases worldwide. St. Paul, USA, **The American Phytopathological Association**, p. 562, 1996.

FIGUEIREDO, M. B., 2007 Disponível em: <<http://www.geocities.com/~esabio/>>. Acesso em 01 de julho de 2007.

GEES, R. e COFFEY. M. D. Evaluation of a Strain of *Myrothecium roridum* as a Potential Agent against *Phytophthora cinnamomi*, **Phytopathology**, vol. 79, p. 1079-1084, 1989.

HANADA, E. H.; PIROVANI, C. P.; POMELLA, A. W. V.; PEREIRA, J. O. Produção de glucanase e celulase em meios de cultura por *Trichoderma viride*, potencial agente de biocontrole da podridão-parda do cacau. Brasília, **Fitopatologia Brasileira**, 31, 2006.

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

HARMAN, G. E. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature**, v. 2, p. 43-56, 2004.

HOFMEYER, J. D. J. **Genetical studies of carica papaya L.** African Dept. Agric. For. Sci., Bull., v.187, p.1-64, 1938.

HOROVITZ, S. Determinacion del sexo em carica papaya L. Estructura hipotetica de los cromossomos sexuales. **Agronomia Tropical**, v.3, p.229-249, 1954.

HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. **Plant Disease** 87 (1): 4-10, 2003.

HUNTER, J. E & KUNIMOTO, R. K. Dispersal of *Phytophthora palmivora* sporangia by wind-blown rain, St. Paul, **Phytopathology**, 64 (2): 202-206. 1974.

IBGE, **Produção agrícola municipal**. Disponível em: http://www.ibge.com.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=998&id_pagina=1. Consultado em 21 de novembro de 2007.

KANNWISCHER, M. E. e MITCHELL, D. J. The influence of a fungicide on the epidemiology of black shank of tobacco. **Phytopathology**, v. 68, p. 1760-1765, 1978.

KELLEY, W.D. Evaluation of *Trichoderma harzianum* impregnated clay granules as a biocontrol for *Phytophthora cinnamomi* causing damping-off of pine seedlings. **Phytopathology** 66, p.1023-1027, 1976.

KO, W. H. Biological control of seedling root rot of papaya caused by *Phytophthora palmivora*. **Phytopathology** 61:780-782, 1971.

KO, W. H. *Phytophthora* fruit rot and root rot. In: Ploetz, Ploetz, R. C., Zentmyer, G. A., Nishijima, W. T., Rohrbach, K. G., Ohr, H. D (Eds.) Compendium of tropical fruit diseases. St. Paul. APS Press. P. 61-62, 1994.

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

KUBICEK, C. P.; MACH, R. L. ; PETERBAUER, C. K.; LORITO, M. *Trichoderma*: from genes to biocontrol. **Journal of Plant Pathology**. 83 (2) p, 11-23, 2001.

LIBERATO, J. R; VANETTI, C.; RODRIGUES, C. H.; DIAS, V. P. Ocorrência de *Phytophthora* em mamoeiro (*Carica papaya* L.) no Estado do Espírito Santo. Brasília, **Fitopatologia Brasileira**, n. 18, p. 324, 1993.

LUNA, J. V. U. **Instruções práticas para a cultura do mamoeiro**. Salvador: EPABA, 14p, 1980.

LUZ, E. D. M. N.; SANTOS, A. F.; MATSUOKA, K.; BEZERRA, J. L.; **Doenças causadas por Phytophthora no Brasil**. Livraria e Editora Rural – LTDA., p. 413, 2001.

MAMÃO. **Agrianual 2003**, São Paulo, p. 378-389, 2003.

MARIN, S. L. D.; GOMES, J.A. Morfologia e biologia floral do mamoeiro. **Informe Agropecuário**, Belo horizonte, v.12, n.134, p. 10-14, 1986.

MARTINS, D. dos S.; COSTA, A. de F. S. da. **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória, ES: Incaper, 497p, 2003.

MAY-DE MIO, L. L.; GUINI, R.; KIMATI, H. Solarização para controle de *Phytophthora parasitica* em mudas de citrus. Brasília. **Fitopatologia Brasileira**, 27(3), p. 254-258, 2002.

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

MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. (Eds.) **Controle biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998.

OLIVEIRA, A. A. R., BARBOSA, C. de J., SANTOS FILHO, H. P.; MEISSNER FILHO, P. C. Doenças e seu controle. IN: **O cultivo do Mamão**. (EMBRAPA – CNPMF, Circular Técnico, 34). Cruz das Almas, BA: EMBRAPA – CNPMF, p. 44 – 55, 1999.

RAMIREZ, I. S. et al. ***Trichoderma harzianum* (Cepa A34): un biopreparado de amplio espectro para micopatologías del tomate y del pimiento**. Habana: INISAV, (CID-INISAV Boletín Técnico, 4), 36p, 1995.

REIS, A., ROSA, L. R. MARIANO, S. J. M., MENEZES, M., *Phytophthora palmivora*, agente de podridão de raiz e frutos de mamão em Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**. 22(4), 565, 1997.

REZENDE, J. A. M.; MARTINS, M. C. **Doenças do Mamoeiro**. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Eds.) Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2, p. 435-443, 2005.

ROMEIRO, R. S. **Indução de resistência em plantas a patógenos**. Viçosa: Ed. UFV, (Caderno Didático nº 56), 45p, 1999.

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

SANCHES, N. F.; DANTAS, J. L. L. **O Cultivo do Mamão**. Cruz das Almas-BA, 105p. 1999.

SAWANT, I. S.; SAWANT, S. D. & NANAYA, K. A. Biological control of *Phytophthora* root rot of coorg mandarin (*Citrus reticulada*) by *Trichoderma* species grown on coffee waste. **Indian Journal of Agricultural Sciences** 65(11): 842-846. 1995.

SILVA, G. S, Podridão das raízes e dos frutos. In. LUZ, E.D.M.N., SANTOS, A.F.; MATSUOKA, K.; BEZERRA.J.L. (eds). **Doenças causadas por Phytophthora no Brasil**. Livraria e Editora Rural – LTDA., p. 413-423. 2001.

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

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

STOREY, W. B. Genetics of papaya. **Journal of Heredity**, Washington, v.44, p. 70-78, 1953.

TATAGIBA, J. S.; OLIVEIRA, K. V.; & AGUILAR, M. A. Avaliação da eficiência do Trichodermil PM no controle da Podridão de *Phytophthora* na cultura do mamão. Brasília. **Fitopatologia Brasileira**, 30, S79, 2005.

VALDEBENITO-SANHUENZA, R. M. Uso de formaldeído e *Trichoderma* para prevenir a recolonização de solo por *Phytophthora* em pomares de macieira). **Anais**, II Reunião de Controle Biológico de Doenças de Plantas. Campinas, Fundação Cargil, p.55, 1987.

ZENTMYER, G. A., KAOSIRI, T. e IDOSU, G. Taxonomic variants in the *Phytophthora palmivora* complex. **Trans. Br. Mycol. Soc.** 69: 329-332, 1977.