

GILTEMBERGUE MACEDO TAVARES

**PODRIDÃO DO PÉ DO MAMOEIRO: INFESTAÇÃO EM SOLOS DE CULTIVO,
CONTROLE ALTERNATIVO COM INDUTORES DE RESISTÊNCIA E
TRICHODERMA E AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS DE DEFESA ENVOLVIDOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Fitopatologia da Universidade Federal Rural
de Pernambuco, como parte dos requisitos para
obtenção do grau de Doutor em fitopatologia.

RECIFE-PE

MARÇO, 2009

Ficha catalográfica

T231p Tavares, Giltembergue Macedo
Podridão do pé do mamoeiro: infestação em solos de cultivo, controle alternativo com indutores de resistência e *Trichoderma* e avaliação dos mecanismos de defesa envolvidos / Giltembergue Macedo Tavares. -- 2009.
113 f. : il.

Orientador : Delson Laranjeira.
Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Agronomia.
Inclui bibliografia.

CDD 632

1. *Phytophthora palmivora*
2. Controle biológico
3. Podridão das raízes
4. Mamão
5. Indução de resistência
6. Levantamento
- I. Laranjeira, Delson
- II. Título

GILTEMBERGUE MACEDO TAVARES

**PODRIDÃO DO PÉ DO MAMOEIRO: INFESTAÇÃO EM SOLOS DE CULTIVO,
CONTROLE ALTERNATIVO COM INDUTORES DE RESISTÊNCIA E
TRICHODERMA E AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS DE DEFESA ENVOLVIDOS**

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO

Professor Dr. Delson Laranjeira – Orientador

Pesquisadora Dra. Edna Dora Martins Newman Luz – Co-orientadora

RECIFE-PE

MARÇO, 2009

“Cada um que passa em nossa vida... leva um pouco de nós mesmos, deixa um pouco de si mesmo, há os que deixam muito, há os que não deixam nada. Há os que levam muito, há os que não levam nada. Essa é a maior responsabilidade de nossas vidas e, prova evidente de que duas almas não se encontram por acaso”

(Antonie de Saint-Exupery)

Aos meus pais e aos meus irmãos
por todo apoio. Sem suas presenças
esta etapa não estaria concluída.

DEDICO

A minha esposa Flávia Fernandes
Lopes por todo esforço e apoio
incondicional.

OFEREÇO

A minha Co-orientadora
Dra. Edna Dora M. Newnan Luz

Agradeço em especial

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guardar e conduzir minha vida.

À Universidade Federal de Rural de Pernambuco e ao Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, pela oportunidade para realizar o Doutorado.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa Científica pela concessão da Bolsa e financiamento do projeto

A CEPLAC, pela concessão da infra-estrutura para realização dos experimentos.

A Dra. Edna Dora Martins Newman Luz pelos ensinamentos e oportunidade de trabalho.

Aos professores Delson Laranjeira, Rildo Sartori, Samir Michereff, Egidio Bezerra, Rosa Mariano, Sônia Oliveira, Maria Menezes e Newton Stamford pelos ensinamentos.

Aos meus tios Eurotides e Josefa por todo apoio e incentivo, pois, sem eles não teria atingido este objetivo.

Aos amigos Valéria, Rinaldo, Josi, Kêda, Dani e Rosemberg pelo companheirismo.

A minha amiga e irmã Paula Radaelli pelos bons e difíceis momentos vividos.

A funcionária Darci pela ajuda e bons momentos compartilhados.

Aos amigos da CEPLAC dos Laboratórios de Biocontrole, *Phytophthora* e da Clínica de Fitopatologia, ao pessoal de campo e, em especial a Lurdinha e Lindolfo por todo apoio.

Aos Prof. Carlos Priminho e Mario Lúcio por abrir as portas dos seus laboratórios para execução de parte dos trabalhos.

A todas pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para realização dos meus estudos. Meu sincero agradecimento e reconhecimento.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	01
ABSTRACT.....	03
CAPITULO 1: Podridão do pé do mamoeiro: infestação em solos de cultivo, controle alternativo com indutores de resistência e <i>Trichoderma</i> e avaliação dos mecanismos de defesa envolvidos.....	05
INTRODUÇÃO GERAL.....	06
O mamoeiro e sua importância.....	06
A doença e o patógeno.....	07
Ciclo da doença	10
Métodos de controle de <i>Phytophthora palmivora</i>	11
Mecanismos envolvidos na indução de resistência.....	13
Indutores de resistência.....	16
Controle biológico com <i>Trichoderma</i> spp.....	19
<i>Trichoderma</i> no desenvolvimento vegetal.....	21
Esfermosfera e rizosfera.....	23
Controle biológico da <i>Phytophthora</i> sp.....	25
<i>Trichoderma</i> sp.....	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
CAPÍTULO 2: Diagnóstico da infestação por <i>Phytophthora palmivora</i> em solos de pomares de mamoeiro no sul da Bahia.....	45
RESUMO.....	46
ABSTRACT.....	47
INTRODUÇÃO.....	48
MATERIAL E MÉTODOS.....	49
Local e procedimentos de coletas.....	49
Métodos de detecção de <i>P. palmivora</i>	51
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
AGRADECIMENTOS.....	59
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
CAPITULO 3: Ativação de defesa por indutores bióticos e abióticos contra a podridão radicular em mamoeiro.....	62
RESUMO.....	63
ABSTRACT.....	64
INTRODUÇÃO.....	65
MATERIAL E MÉTODOS.....	67
RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
AGRADECIMENTOS.....	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
GRÁFICOS E TABELAS.....	78
CAPITULO 4: Ação antagonista de <i>Trichoderma</i> spp. contra <i>Phytophthora palmivora</i> e seu efeito no desenvolvimento de plântulas de mamoeiro.....	83
RESUMO.....	84
ABSTRACT.....	85
INTRODUÇÃO.....	86
MATERIAL E MÉTODOS.....	89
Obtenções dos isolados de <i>Trichoderma</i> spp.....	89

Testes <i>in vitro</i>	91
Testes em mudas.....	92
Mecanismos de ação dos agentes de biocontrole.....	95
Análises estatísticas dos dados	96
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	96
Teste <i>in vitro</i>	96
Testes em mudas de mamoeiro.....	102
CONCLUSÕES.....	108
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	109

RESUMO

O Brasil é o principal produtor de mamão (*Carica papaya* L.) do mundo ocupando a primeira posição com uma produção de 1,65 milhão de toneladas, sendo assim, uma importante cultura tanto de valor econômico como social, e a Bahia se destaca como o maior Estado produtor brasileiro com uma produção de 724 mil toneladas. Várias doenças causam danos à cultura aumentando o custo de produção, sendo em alguns casos limitantes a exploração da cultura, dentre essas doenças podemos destacar a podridão do pé do mamoeiro causada por *Phytophthora palmivora*. Os objetivos do presente estudo foram: 1) realizar o nível de infestação de *P. palmivora* em solos de plantações de mamoeiros comerciais na região Extremo Sul da Bahia, para melhor subsidiar as medidas de controle; 2) avaliar a ação de indutores biótico e abióticos na redução da podridão de raízes em mudas de mamoeiro inoculadas com *P. palmivora*, na atividade das enzimas de defesa, β 1,3-glucanase, peroxidase e quitinase, assim como no teor de lignina das raízes; e 3) avaliar o efeito de espécies de *Trichoderma* spp. sobre controle de *P. palmivora* agente etiológico da podridão radicular do mamoeiro. Para a avaliações dos resultados de infestação do solo de pomares de mamoeiro observou-se que das 33 áreas avaliadas apenas em duas não se constatou a presença de *P. palmivora*. Também não houve diferenças significativas ($p < 0,05$) para incidência do patógeno, quanto às variedades de mamoeiro plantadas nas amostras de solos avaliados. Em todos os oito municípios que tiveram pomares amostrados foi detectada a presença do patógeno, atestando sua ampla distribuição no Extremo Sul da Bahia. Para avaliação do controle da podridão do pé em mudas de mamoeiro constatou-se que os tratamentos com ASM, com exceção da dosagem 0,15 g/L 6 dias antes da inoculação, apresentaram níveis de controle superiores aos demais indutores. Plantas pulverizadas com ASM apresentaram aumento de

atividade da peroxidase e β 1,3-glucanase e maior concentração de lignina em relação à testemunha. No entanto, estes tratamentos não tiveram efeito sobre a atividade da quitinase. O ASM é um potencial indutor de resistência a *P. palmivora* para ser usado no manejo da podridão de raízes do mamoeiro. Quanto a avaliação dos agentes de biocontrole observados ou-se que 33 isolados de *Trichoderma* utilizados apenas 2 isolados (T70 - *T. Harzianum*, T68 - *T. virens*) não diferiram estatisticamente do tratamento com o fungicida padrão, apresentaram o percentual de sobrevivência de 58,3 e 52,4 respectivamente. Foi avaliado também o efeito destes dois isolados de *Trichoderma* sobre incremento de massa seca e fresco em mudas de mamoeiro e constatou-se que dois isolados apresentaram maiores aumentos nestes dois parâmetros quando comparados com testemunha. O isolado T70 e T68 de apresentaram um incremento de massa fresca e seca total de 110; 73% e 59; 59% respectivamente, comparados com a testemunha apenas plantadas no solo. Os isolados de *T. harzianum* e *T. virens* apresentaram potencial com agente biocontrolador de *P. palmivora* para ser usado no manejo da podridão de raízes do mamoeiro.

Palavras-chave: *Carica papaya*, *Phytophthora palmivora*, mamão, levantamento, controle biológico, indução de resistência, podridão de raízes, gomose, podridão de raízes.

ABSTRACT

Brazil is the main papaya's producer in the world (*Carica papaya* L.) and it occupies the first position producing 1,65 million tones, thus, it is an important production with economic and social value, and, in this meaning, Bahia stands out as the largest producing state with a Brazilian production of 724 tons. Many diseases cause damage to the crop by increasing the cost of production, in some cases limiting the exploitation of that production, among those we can highlight diseases like papaya root damage caused by *Phytophthora palmivora*. This present study aimed: 1) to achieve the level of infestation of *P. palmivora* in soils of plantations of papaya commercial in the Extreme South of Bahia, to better support the measures of control; 2)) to evaluate the action of biotic and abiotic inducers in order to increase the root rot in seedlings of papaya inoculated with *P. palmivora*, in the activity of enzymes of defense, β 1,3-glucanase, peroxidase and chitinase, as well as the lignin content of roots; and 3) to analyze the effect of species of *Trichoderma spp.* on control of *P. palmivora* etiologic agent of root rot of papaya. In evaluating of the results of infestation of the soil of papaya orchards, it was showed that in those 33 areas assessed, only two of them, the presence of *P. palmivora* was not found. There was also no significant differences ($p < 0.05$) for incidence of that pathogen, as those varieties of papaya grown in samples soil evaluated. In all eight municipalities that had sampled orchards the presence of the pathogen was detected, and it showed its wide distribution in the Extreme South of Bahia. To evaluate the control of foot rot in papaya seedlings, it was noted that the treatments using ASM, except the dosage 0.15 g / L 6 days before inoculation, showed levels of larger control to the other inducers. Plants sprayed with ASM showed increased activity of peroxidase and β -1,3-glucanase and a highest concentration of lignin in relation to the witness. However,

these treatments have no effect on the activity of chitinase. The ASM is a potential inducer of resistance to *P. palmivora* for using it in the management of root rot of papaya. As the assessment of agents of biocontrol happened it was noted that as using 33 isolated of *Trichoderma* only 2 isolated (T70 - *T. harzianum*, T68 - *T. virens*) did not differ statistically from that treatment with the standard fungicide and showed the percentage of survival of 58.3 and 52.4 respectively. The effect of these two isolated of *Trichoderma* on increase of dry mass and fresh in seedlings of papaya was also evaluated and it was noted that those two isolates showed higher increases in these parameters when compared with witness. The isolated T70 and T68 showed an increase of fresh and dry mass total of 110, 73% and 59; 59% respectively, compared with those witnesses only planted in the soil. The isolates of *T. harzianum* and *T. virens* presented potential with biocontrol agent of *P. palmivora* for being used in the management of root rot of papaya.

Key words: *Carica papaya*, *Phytophthora palmivora*, papaya, levantamento, biologic control, resistance induced, root rot, gummosis, root rot.

CAPITULO I

INTRODUÇÃO GERAL

**PODRIDÃO DO PÉ DO MAMOEIRO: INFESTAÇÃO EM SOLOS DE
CULTIVO, CONTROLE ALTERNATIVO COM INDUTORES DE
RESISTÊNCIA E *TRICHODERMA* E AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS
DE DEFESA ENVOLVIDOS**

INTRODUÇÃO GERAL

1. O mamoeiro e sua importância

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) cultivado comercialmente insere-se na classe Dicotyledoneae, subclasse Archichlamydeae, ordem Violales, subordem Caricineae, família Caricaceae e gênero *Carica* (MANICA, 1982). Tem como centro de origem muito provavelmente, o Noroeste da América do Sul, vertente oriental dos Andes, ou mais precisamente, a Bacia Amazônica Superior, onde a diversidade genética é máxima, o que caracteriza o mamoeiro como planta tipicamente tropical (SILVA, 2001). De acordo com Badillo (1993), segundo o esquema de taxonomia por ele apresentado, o gênero *Carica*, possui duas seções: *Vasconcella*, com 20 espécies, e *Carica*, com uma espécie *C. papaya*, que é comercialmente explorada.

O mamão é uma importante fonte de energia, cálcio, fósforo, proteínas, vitaminas A e C, além de possuir propriedades digestivas e medicinais (INEGI, 1995). Os frutos de mamão apresentam um conteúdo de umidade variando entre 87 a 94% e carboidratos de 2 a 12%. O conteúdo de sacarose, glicose e frutose flutuam de 7 a 50%, 14 a 78%, e 13 a 50%, respectivamente, do total de açúcares. Em frutos maduros, o açúcar predominante é a sacarose (48,3%). A quantidade de matéria seca na colheita do fruto é de 13%. Durante o processo de maturação, os sólidos insolúveis em álcool, amido e vários minerais decrescem, Enquanto, ocorre um incremento no conteúdo de açúcares totais. A acidez total, e os teores dos ácidos orgânicos, málico e cítrico são reduzidos desde a colheita até a maturação completa do fruto, enquanto os volumes de vitamina A e proteínas se elevam com o amadurecimento do fruto. Cem gramas de

polpa de mamão contém 39 calorias, 10 g de carboidratos, 1,1 g de gordura, 0,6 g de proteínas e 0,9 g de fibra (SANLUNKHE; DESAI, 1992; SANKAT; MAHARAJ, 1997).

O mamão brasileiro apresenta excelente qualidade, tais como, ótimo sabor e boa aparência, podendo ser exportado durante os 12 meses do ano. Essa regularidade de suprimento é uma das grandes vantagens competitivas do fruto brasileiro, diante dos demais países produtores.

O Brasil é o primeiro produtor mundial de mamão, com produção estimada de 1,6 milhões de toneladas por ano, situando-se entre os principais países exportadores, principalmente para o mercado europeu. O mamoeiro é cultivado em quase todo território brasileiro, merecendo destaque os Estados da Bahia, Espírito Santo e Ceará, responsáveis por cerca de 90% da produção nacional (IBGE, 2007). A Bahia atualmente faz parte do seletivo grupo de estados autorizados a exportar mamão para os EUA juntamente com o Espírito Santo e o Rio Grande do Norte. A região do extremo sul baiano produz 78% do total do produto comercializado em todo o estado, com escoamento diário em torno de 1.560 toneladas, o que representa 55% da produção brasileira de mamão. Com os plantios irrigados, o oeste baiano passou a ocupar posição destacada no cenário estadual produzindo atualmente quase 20% do mamão colhido na Bahia (SANTOS; FERRAZ, 2007).

2. A doença e o patógeno

O mamoeiro apresenta diversos problemas fitossanitários, tais como pragas e várias doenças fúngicas. Dentre as doenças fúngicas, a podridão de raízes e dos frutos é uma das principais a nível mundial, chegando a causar 60% de perda da produção (SILVA, 2001). No Brasil o principal patógeno responsável por essa queda na produção é o fungo *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler, que causa em frutos os sintomas conhecidos como barba de papai Noel

devido a formação de micélio aéreo de cor branca e da podridão de colo e das raízes em plantas (SILVA, 2001). Outros patógenos também têm sido associados às podridões de raízes, ocasionando perdas de plantas em viveiro. Dentre eles podemos destacar: *Rhizoctonia* sp., *Pytium* sp. e *Fusarium* sp.

A podridão de raízes e dos frutos do mamoeiro é considerada uma das principais enfermidades da cultura. Os danos econômicos variam grandemente de uma região para outra. No Brasil não há estatística a respeito, porém, perdas de frutos da ordem de 7-10% foram relatadas (LIBERATO et al., 1993; SILVA et al., 1999). 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). No Pará, município de Capanema, principal produtor de mamão havaí naquele Estado, Trindade e Poltronieri (2002), encontraram perdas de cerca de 20% dos frutos em uma propriedade. Em Taiwan, já foram registradas perdas da ordem de 20% das plantas destruídas por *Phytophthora* na região central em anos chuvosos (KO, 1994). Esta enfermidade ocorre nas Filipinas (onde primeiro foi relatada em 1916), no Ceilão, na Malásia, no Havaí, na Austrália, na Espanha, no Sri Lanka, em Taiwan, na República Dominicana, na Índia, nas Ilhas Maurício, na Indonésia, em Papua Nova Guiné, na Costa Rica e no México (KO, 1994; ERWIN; RIBEIRO, 1996). No Brasil, o primeiro registro de ocorrência desta doença foi em São Paulo, no ano de 1951. Há registros posteriores em vários estados brasileiros: Pernambuco, Minas Gerais, Espírito Santo (MENDES et al, 1998), Maranhão, Bahia, Ceará, Alagoas e Pará (SILVA, 2001). É provável que a doença esteja espelhada por toda a região nordeste do país onde o mamoeiro é cultivado

As plantas são suscetíveis à infecção por *P. palmivora* em qualquer idade, porém, a suscetibilidade é ainda maior da emergência até os três meses de idade. Quando há excesso de

umidade no solo durante este período de desenvolvimento da planta, as perdas podem ser totais em algumas áreas no sul da Bahia. Se, ao período de intensa chuva sobrevêm dias de sol, a planta pode crescer normalmente e não há avanço da doença. No entanto, como o sistema radicular está parcialmente destruído há normalmente uma curvatura do caule e as plantas na época da frutificação intensa tombam com facilidade (KO, 1994). Os frutos próximos à maturação são mais suscetíveis que os verdes por causa da redução do teor da enzima proteolítica papaína (HINE et al., 1965).

Inicialmente, o agente causal destas doenças do mamoeiro foi considerado como *P. parasítica* (Dastur). Posteriormente, reconheceu-se o erro e os isolados do mamoeiro foram classificados como *P. palmivora*. Embora *P. capsici* também tenha sido isolada de frutos no Havaí (KO, 1994), *P. palmivora* é a principal espécie patogênica ao mamoeiro. Esta espécie é polífaga e cosmopolita, sendo considerada uma das espécies do gênero mais prevalentes no Brasil em número de hospedeiros e em assinalamento pelo país, em culturas de relevância econômica (LUZ; MATSUOKA, 2001; LUZ, 2006).

Como todos os oomicotas, esta espécie é dependente de água tanto no solo como na superfície das plantas para formação dos esporângios, liberação dos zoósporos e disseminação. Assim, a chuva e o vento são sempre os maiores agentes de disseminação das doenças causadas por *Phytophthora*. A chuva projeta o inóculo de um fruto para o outro e para o solo e deste para o ar, onde o vento dispersa as gotículas de água com esporângios ou zoósporos para outras plantas dentro da plantação (KO, 1994). Por esta razão, a podridão do pé ou das raízes está relacionada a períodos chuvosos e solos pesados, excessivamente úmidos e mal drenados. A mobilidade dos zoósporos nestas condições e o quimiotaxismo de atração para as raízes aumentam a severidade da doença.

Temperaturas entre 25 a 32°C são favoráveis ao desenvolvimento da doença. O patógeno geralmente esporula abundantemente na superfície dos frutos a temperaturas entre 25 e 30°C (LUZ; CAMPELO, 1985) o que normalmente se reflete na severidade da doença. A sobrevivência do patógeno ocorre em restos de cultura e no solo. Esporângios e zoósporos sobrevivem no solo por um curto período, sendo os clamidósporos as principais estruturas de sobrevivência do fungo. Os clamidósporos, na presença de água, germinam e produzem os esporângios. A doença pode ser introduzida em uma nova área através de mudas doentes (VENTURA et al., 2003).

3. Ciclo da doença

Durante o período chuvoso e quente do ano, as raízes infectadas produzem esporângios que, por sua vez, irão liberar os zoósporos móveis. Estes são atraídos pelas novas raízes, especialmente na região de alongação onde nutrientes são exsudados. Após os contatos com as raízes, zoósporos encistam, germinam e infectam novas raízes mantendo-se no solo por repetidas infecções. O ciclo pode se repetir tantas vezes quantas forem as condições predisponentes e tecidos susceptíveis estejam disponíveis. Uma vez que o fungo penetrou na ponta da raiz, a infecção progride até o córtex, daí resultando em podridão das radículas e de todo sistema radicular (SILVA, 2001)

Na estação seca do ano, micélio, clamidósporos e zoósporos dormentes permanecem no solo. Após o início das chuvas, essas estruturas germinam formando os esporângios que produzirão grande quantidade de zoósporos, reiniciando o ciclo da doença. Do ponto de vista da sobrevivência de *P. palmivora* no solo, os clamidósporos são as estruturas mais importantes. Eles

são estimulados a germinar em condições de alta umidade do solo, coincidindo com o crescimento mais intenso das raízes do mamoeiro (AGRIOS, 2005).

Na podridão dos frutos, a doença tem início quando esporângios disseminados pelos ventos em dias chuvosos chegam a superfície dos frutos. Com o progresso da doença, o patógeno cresce rapidamente e produz abundante quantidade de esporângios que, por sua vez, serão disseminados para pomares vizinhos ou, dentro do pomar, para outras plantas. Frutos atacados caem e as estruturas do fungo passam para o solo, contribuindo para a infecção das raízes (SILVA, 2001).

Os clamidósporos são esporos assexuados de parede dupla formados diretamente de uma célula de hifa vegetativa em posição terminal ou intercalar. Comportam-se como esporos de resistência e podem sobreviver no solo por longos períodos. Tem paredes lisas com até 2 µm de espessura, são esféricos ou raramente elipsóides. Os esporângios são estruturas, geralmente em forma de saco, onde todo protoplasma se converte em indefinido número de esporos assexuais endógenos os zoósporos, os quais são principalmente terminais, mas algumas vezes apresentam-se intercalares ou laterais. O zoósporo é um esporo desprovido de parede celular que se desloca no meio pela atividade de flagelos; em número de dois, sendo um em forma de chicote e o outro em forma de escova (LUZ et al, 2008).

4. Métodos de controle de *Phytophthora palmivora*

Em condições de viveiro, onde o fungo causa tombamento de mudas, diversas medidas devem ser tomadas para prevenir a doença. As plântulas devem ser obtidas em solos tratados pelo calor ou produtos químicos ou, quando isso não for possível, utilizando-se solo retirado de área nunca cultivada com mamoeiro e sem histórico da ocorrência de *P. palmivora* em outros

hospedeiros. O local para instalação do viveiro também merece atenção especial. Deve-se dar preferência a uma área distante de pomares antigos de mamoeiro, com insolação e ventilação adequadas. As regas devem ser feitas com todo o cuidado, evitando-se o excesso de umidade. A água de irrigação deve ser obtida de poços profundos para evitar contaminação por fungos e nematóides (SILVA, 2001).

Para um controle eficiente, devem-se adotar medidas como drenagem adequada do terreno, evitar ferimentos e fazer pulverizações no colo das plantas (quinzenal ou mensal) com fungicidas a base de cobre, mancozeb e chlorothalonil.

Nos frutos, medidas na pós-colheita como tratamento com água quente podem minimizar o problema. Porém, há hipótese da existência de espécies de *Phytophthora* tolerantes a altas temperaturas. Sendo necessária, portanto, recomendações padrões de tempo e temperatura de acordo com cada espécie e conforme seu ponto térmico letal específico, que em *P. palmivora* é de 35 °C (LUZ; CAMPELO, 1985).

Oliveira (2005) cita diferentes medidas de controle que incluem: 1 - Evitar plantios em solos pesados, nas regiões com alta pluviosidade e em áreas com plantios sucessivos de mamão; 2 - Utilizar solos virgens para encher a cova ou sulco de plantio, ou seja, solos removidos de campos que nunca foram ocupados com a cultura do mamoeiro; 3 - Caso os sintomas indiquem que as plantas não poderão se recuperar, elas devem ser erradicadas. Para a reutilização da cova, o solo deverá ser tratado por solarização, e receber uma calagem pesada (2kg de cal/m²), ficando em repouso por um período de no mínimo dois meses; 4 - Pulverizar as plantas com fosetil-Al na dosagem de 250g/100l de água, em três aplicações anuais. A primeira deve ser efetuada no período de maior desenvolvimento vegetativo e no surgimento dos primeiros sintomas; a segunda, 90 dias após e a terceira, somente se for necessária, no caso em que alguma planta ainda manifeste sintomas. Deve ser observado o período de carência de 30 dias; 5 - Efetuar tratamento

cirúrgico das lesões, caracterizado pela raspagem das áreas afetadas e aplicação de pasta cúprica a 5%; 6 - Aplicar nas lesões dos frutos, preventivamente, produtos à base de cobre, como sulfato de cobre tribásico ou mancozeb.

Embora a podridão das raízes e dos frutos seja uma doença de importância econômica mundial e que no Brasil ocorre em todos os estados produtores de mamão (Silva et al., 1999). O controle de *P. palmivora* é feito basicamente com fungicida a base mancozeb+metalaxyl. Poucos são os trabalhos que oferecem alternativas para o controle das doenças de podridão de raízes e de frutos do mamoeiro. O desenvolvimento de métodos alternativos tem sido necessário para a produção.

5. Mecanismos envolvidos na indução de resistência

A indução de resistência em plantas a patógenos é conhecida desde o século XX e, nos dias atuais, fitopatologistas já conseguem perceber a imensa possibilidade da indução de resistência para o controle de enfermidades de plantas (ROMEIRO, 1999; KUC, 2001).

O termo indução de resistência pode ser utilizado para designar uma proteção local, isto é, a indução de resistência apenas nos tecidos onde se efetuou o tratamento com o agente indutor, como também pode indicar uma resistência sistêmica, que se manifesta à distância do local de aplicação do indutor (STICHER et al., 1997; HEIL; BOSTOCK, 2002).

No Brasil, experimentos de laboratório e campo têm demonstrado a viabilidade do emprego dos métodos de indução de resistência em diversas culturas, como café, cacau, melão, mamão e outros (RIZZO et al., 2003; BENELLI et al., 2004; DANTAS et al., 2004; CAVALCANTI; RESENDE, 2005). O maior interesse sobre o uso de controles alternativos se concentra na

possibilidade de imunização de plantas, o que significa um controle que perdure por todo o ciclo vital do hospedeiro.

A resistência induzida é dependente do intervalo de tempo entre o tratamento inicial (tratamento indutor) e a subsequente inoculação do patógeno (tratamento desafiador). Essa dependência indica que mudanças específicas no metabolismo da planta, envolvendo a síntese e/ou acúmulo de substâncias são importantes no fenômeno da resistência induzida (PASCHOLATI; LEITE, 1995). A duração pode ser de poucos dias a algumas semanas, ou mesmo durar todo o ciclo de vida da planta, passando neste caso a ser um mecanismo de defesa constitutivo (MÉTRAUX et al., 2002; DURRANT; DONG, 2004).

As plantas desenvolveram vários mecanismos de defesas ao longo da coevolução com os microrganismos que lhes incitam doenças. Estas defesas podem ser estruturais e bioquímicas. Barreiras estruturais evitam que o patógeno obtenha nutrientes do hospedeiro, enquanto as bioquímicas atuam na síntese de metabólitos secundários tóxicos aos patógenos, como espécies reativas de oxigênio, ativação de genes que codificam para PR-proteínas, etc. PR-proteínas são proteínas que se acumulam em resposta ao ataque de um microrganismo, ao tratamento com indutores de resistência ou outro tipo de estresse. Dentre as PR-proteínas, as glucanases e quitinases possuem atividade antifúngica sinérgica. (STICHER et al., 1997).

As peroxidases (POXs) apresentam várias funções na defesa celular, pela sua participação na lignificação, suberização e metabolismo de parede celular, sendo classificadas por Van Loon e Van Strien (1999) como proteínas relacionadas a patogênese (PR-proteínas) pertencentes a família PR-9. A expressão das POXs também está correlacionada com a ocorrência de infecção por patógenos. O papel destas no processo de defesa é reforçar a parede celular a partir da formação de lignina, suberina, polissacarídeos ferulicolados e glicoproteínas ricas em hidroxiprolina (BOWLES, 1990; FRY, 1986), aumento na produção de EAO que apresentam

ação antimicrobiana, bem como atuam na sinalização (KAWANO; MUTO, 2000; WOJTASZEK, 1997), induzindo a formação de fitoalexina (KRISTENSEN; BLOCH; RASMUSSEN, 1999), participam também na peroxidação de lipídios que apresentam papel na sinalização, induzindo o acúmulo de AS (LÉON; LAWTON; RASKIN, 1995).

A enzima β 1,3-glucanase é uma proteína relacionada com a patogênese (PR-2), atuando diretamente nas células fúngicas, liberando fragmentos de oligossacarídeos da parede celular e, podendo elicitar repostas secundárias de defesa das plantas (VAN LOON, 1997; STANGARLIN; PASCHOLATI, 2000).

As PR-proteínas, quitinases, tem sido detectadas em várias plantas após a ativação da SAR e são capazes de degradar quitinas, presentes nas paredes celulares de muitos fungos. As quitinases da classe III, pertencente à família de PR-proteínas, PR-8, possuem atividade enzimática adicional similar a lisozima, catalizando a hidrólise do polímero polipeptídeoglucano, componente estrutural das paredes celulares das bactérias (FRITIG et al., 1998; VAN LOON et al., 1994)

Após o contato com o hospedeiro uma cascata de eventos ocorre em rotas específicas para cada patógeno. O gene NPR1 e seus fatores de transcrição TGA1 regulam a transdução da resistência sistêmica, ativando a síntese de PR-proteínas (PIETERSE; VAN LOON, 2004) e funciona também como intercomunicador no citoplasma entre a rota dependente do ácido jasmônico e a dependente do ácido salicílico (AS). Estas duas rotas têm importância significativa na sinalização que leva à Resistência Sistêmica adquirida – RSA (RODRIGUES et al., 2006).

A lignificação da parede celular, barreira física ao avanço do patógeno, impede que as enzimas hidrolíticas secretadas por estes dissolvam as células vegetais. A indução da lignificação está relacionada à resposta de defesa em hospedeiros suscetíveis (STICHER et al., 1997;

ARNOLD; MAUSETH, 1999). Assim, a ativação do sistema de defesa da planta por vários meios resulta na produção de substâncias tóxicas ao patógeno, impedindo o seu estabelecimento (RODRIGUES et al., 2006).

6. Indutores de resistência

A resistência induzida em plantas pode ser ativada por uma série de substâncias, entre as quais, o ácido salicílico e seus análogos (GUZZO, 2004). O ácido salicílico (AS) foi o primeiro composto derivado de plantas comprovado como indutor de resistência sistêmica adquirida (RSA). Posteriormente, um análogo de AS, ácido 2,6 dicloroisonicotínico (INA) foi o primeiro composto sintético a ativar RSA (KESSMAN et al., 1994; OOSTENDORP et al., 2001). Recentemente, outro análogo do AS, éster S-metil do ácido benzo-(1,2,3)-thiadiazole-7-carbotióico (BTH), comportou-se como ativador potente de RSA, possibilitando a proteção em condições de campo, contra um amplo espectro de doenças em diversas plantas (CASTRO et al., 2000; PEREZ et al., 2003; CIA, 2005; TÖFOLI; DOMINGUES, 2005).

Os indutores abióticos ativam RSA atuando de diferentes formas no sistema de defesa das plantas. Os mais utilizados são o acibenzolar-S-metil (ASM), ácido β -aminobutírico (BABA) e quitosana (BENHAMOU; BÉLANGER, 1998; COLE, 1999). Porém, apenas o ASM é liberado para uso comercial (RESENDE et al., 2000). O ASM é um análogo do ácido salicílico - AS, que age induzindo a ativação de genes que codificam PR-proteínas e enzimas relacionadas com a produção de fitoalexinas e lignina (COLE, 1999; RESENDE et al., 2000).

Dentre as proteínas PR ativadas pelos indutores encontram-se as hidrolases β -1,3-glucanase e quitinase, que promovem a desorganização da parede celular dos patógenos, as peroxidases, e a

fenilalanina amônia liase (PAL) envolvidas no processo de lignificação da parede celular (DANN; DEVERALL, 2000; LATUNDE-DADA; LUCAS, 2001).

O indutor biótico Agro-Mós, que é um mananoligossacarídeo fosforilado derivado da parede da levedura *Saccharomyces cerevisiae* 1026 (Hansen), (Improcrop Brasil, Curitiba-PR) tem demonstrado eficiência no controle de doenças (DI PIERO et al., 2002). Entre os indutores bióticos, a literatura apresenta vários estudos onde microrganismos mostraram-se efetivos em induzir resistência em plantas. Metabólitos produzidos por microrganismos saprofíticos proporcionaram um alto grau de controle a campo do oídio em pepino (*Cucumis sativus* L.) e especialmente em trigo [*Triticum aestivum* (L.) Thell.], onde a doença foi reduzida em mais de 90% (Schönbeck et al., 1982). Roveratti (1989) demonstrou que a ferrugem do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) podia ser controlada através do uso de *Saccharomyces cerevisiae* Meyen. A linhagem Pf1 de *Pseudomonas fluorescens* Migula, utilizada em formulação comercial (10g/Kg) no tratamento de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.), controlou eficientemente a bruzone (VIDHYASEKARAN et al., 1997). Em tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), alface (*Lactuca sativa* L.), pimentão (*Capsicum annum* L.), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e fumo (*Nicotiana tabacum* L.), a aplicação de *Trichoderma harzianum* Rifai T39 em sítios espacialmente separados a partir da inoculação com *Botrytis cinerea* Pers. & Fr., resultou em uma redução de 25-100% nos sintomas de mofo cinzento, em função do atraso ou supressão na velocidade de formação das lesões (DE MEYER et al., 1998).

Elicidores sintéticos, como o ASM, parecem atuar similarmente ao ácido salicílico e também induzem RSA contra bactérias, fungos e vírus (COLE, 1999; RESENDE et al., 2002). Semelhante ativação do sistema de defesa de planta ocorre mediante a aplicação exógena de quitosana, ou certos químicos, tais como, ácido 2,6 dicloro isonicotínico (INA); ácido beta-aminobutírico (BABA) e metil-jasmonato (MeJA) (HWANG et al., 1997).

Na cultura do mamoeiro, a ocorrência de doenças fúngicas em nível de dano é muito freqüente, sendo que um dos fatores limitantes à produção é a presença das podridões de *Phytophthora*, da pinta preta ou varíola e das podridões pós-colheita (OLIVEIRA; SANTOS FILHO, 2000). Para o controle destas doenças, diversas medidas são recomendadas, sendo que a mais utilizada pelos produtores tem sido o tratamento com fungicidas. No entanto, em longo prazo, além do surgimento de isolados dos patógenos resistentes às substâncias químicas utilizadas, os resultados para a sociedade como um todo e para o ambiente podem se tornar negativos, devido a poluição causada pelos resíduos (VENTURA et al., 2003). Visando eliminar estes inconvenientes, um dos métodos preconizados tem sido o da utilização de indutores de resistência.

Entre os indutores abióticos, destaca-se o ASM, um produto que interfere nos processos fisiológicos/bioquímicos das plantas, podendo ativar resistência sistêmica aos agentes patogênicos. Esse ingrediente ativo pertence à classe química benzothiadiazole e é o primeiro representante de uma nova categoria de produtos utilizados na proteção de plantas, também chamados de ativadores de plantas ou indutores de resistência (LAWTON et al., 1996; YAMAGUCHI, 1998). O mesmo vem sendo avaliado em diversas culturas, entre elas a do mamoeiro (BENATO et al., 2002; ZHU et al., 2003; CIA, 2005; OLIVEIRA, 2005).

O fosfito de potássio é utilizado no controle de doenças de plantas arbóreas causadas por *Pythium* spp., *Phytophthora* spp. e fungos causadores de podridões do colo, raízes, tronco e frutos (MCDONALD et al., 2001). Além do efeito direto do fosfito no metabolismo de *Phytophthora* ele também ativa o sistema de defesa natural das plantas (SMILLIE et al., 1989; RIBEIRO Jr. et al., 2006). Estudo preliminar realizado no Brasil com a aplicação de diferentes doses de fosfito para reduzir a podridão do pé do mamoeiro demonstraram que 10% P₂O₅ + 6% Ca – 400mL.hL⁻¹ em uma aplicação semanal foi efetivo no controle da doença e em duas aplicações semanais todas

as dosagens estudadas diferiram da testemunha, porém, 40% P_2O_5 + 20% K_2O – 150mL.hL⁻¹ foi o que mais reduziu a doença (DIANESE et al., 2007).

7. Controle biológico com espécies de *Trichoderma* spp.

O controle biológico 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). Os organismos empregados em controle biológico, também chamados de agentes de controle biológico ou antagonistas, interferem na sobrevivência ou atividades deletérias dos patógenos, (crescimento, infectividade, virulência, agressividade) e também podem agir de modo a aumentar a resistência da planta hospedeira (AGRIOS, 2005).

O controle biológico é atualmente uma das alternativas utilizadas para o manejo de *P. palmivora* em mamoeiro e antagonistas como *Trichoderma* spp. são encontrados em formulações comerciais nacionais e internacionais, porém praticamente não há estudos sobre o potencial da microbiota, que atua no biocontrole de *P. palmivora* na região sul da Bahia. As pesquisas na área de controle biológico são fundamentais, pois a introdução de antagonistas ao ambiente do patógeno é um aspecto relevante para a otimização desta medida de controle (DIANESE, 2006; ETHUR, 2006).

Segundo Papavizas et al. (1982) um grande número de cepas fúngicas do gênero *Trichoderma* atua como agentes de controle biológico (BCAs) e cujas propriedades antagônicas se baseiam na ativação de mecanismos muito diversos. Espécies deste gênero são usados no controle de fitopatógenos devido a sua ubiquidade, à facilidade de serem cultivados e observados, seu crescimento rápido em um grande número de substratos e o fato de não serem patógenos de plantas superiores.

Os mecanismos antagônicos de *Trichoderma* spp. a fitopatógenos podem ser: fungistase, competição por nutrientes, biofertilização e estimulação dos mecanismos de defesa da planta, modificações na rizosfera, antibiose e micoparasitismo. As espécies de *Trichoderma* crescem bem no solo porque resistem a muitas combinações tóxicas, inclusive herbicidas, fungicidas e inseticidas (CHET et al., 1997). Também se recuperam rapidamente depois da adição de doses subletais de algumas destas combinações, podendo ser assim usados com eficiência no controle de diversos fitopatógenos, alternando sua aplicação a de defensivos químicos (VYAS et al., 1995). O gênero *Trichoderma* apresenta ainda alta capacidade de mobilização dos nutrientes do solo comparado a outros organismos.

Espécies de *Trichoderma* sempre são associadas com raízes de planta e ecossistemas de raiz. Alguns autores definem estas espécies como simbioses 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 - BCAs 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).

Trichoderma spp também podem atuar diretamente infectando vários fitopatógenos através da ação de enzimas como quitinases, glucanases e proteases (HARMAN et al., 2004).

8. *Trichoderma* no desenvolvimento vegetal

A promoção de crescimento ocasionada por microrganismos do solo ocorre devido a ação de vários fatores ainda pouco conhecidos. Pode envolver a produção de hormônios vegetais, produção de vitaminas ou conversão de materiais a uma forma útil para planta, absorção e translocação de minerais e controle de patógenos (KLEIFELD; CHET, 1992).

A promoção de crescimento de plantas promovida pelo isolado T-22 de *T. harzianum* está na habilidade de solubilizar muitos nutrientes importantes para a planta (ALTOMARE et al., 1999). No solo macro e micronutrientes sofrem um equilíbrio dinâmico complexo de solubilização e insolubilização, fortemente influenciado pelo pH e pela microflora e sua disponibilidade e influência nas doenças em plantas. O manganês é um micro elemento essencial para diversas funções fisiológicas das plantas, inclusive crescimento e resistência a doenças (ALTOMARE et al., 1999). Com a aplicação de nitrogênio ao solo juntamente com a utilização do isolado T-22 do *T. harzianum* (HARMAN, 2000), constatou que inicialmente não ocorreram diferenças entre áreas com e sem nitrogênio, mas na presença do nutriente, plantas adultas apresentaram maiores médias de diâmetro de talos e rendimentos de grãos e silagem.

Interferência de *Trichoderma* spp. no crescimento de plantas e aumento na produtividade ocorrem, segundo Harman et al. (2004), devido à capacidade em colonizar as raízes. Como exemplo o isolado T-22 de *T. harzianum* foi efetivo na indução a formação de raízes em tomateiro, tanto quanto, um hormônio comercial, e também ocorreram aumentos no comprimento de raízes de soja e milho tratados com o referido isolado e, maior produtividade de pimentão (*Capsicum annum*), comparada a testemunhas não tratadas (HARMAN, 2000). Sivan & Arman (1991), tratando sementes de milho e algodão com os isolados T12, T95 e T22 (fusão dos dois anteriores) de *T. harzianum* observaram que o isolado T22 promoveu o crescimento das raízes,

em relação a testemunha, de 31% em milho e de 60% em algodoeiro. Chang et al. (1986), utilizando tratamento de solo com suspensão de conídios de *T. harzianum* observaram promoção de crescimento através do peso de massa seca superior a testemunha, no feijoeiro de 10%, no rabanete de 8%, no tomateiro de 8%, na pimenteira de 42% e no pepineiro de 93%. Também foram encontrados resultados positivos por Imbar et al. (1994), em tratamento de solo com o isolado *T. harzianum*, nos quais o pepineiro (aos 18 dias) e a pimenteira (aos 30 dias) tiveram aumento significativo quanto à altura das plantas (24 e 27%) e peso de massa seca (25 e 29%), respectivamente.

Kleifeld e Chet (1992) obtiveram resultados positivos na promoção de crescimento de pepineiro (massa seca) por *T. harzianum* tanto em solo autoclavado (26%) quanto em solo não autoclavado (43%). Já Ousley et al., (1993), observaram que em alface apenas um dos dois isolados de *T. harzianum* testados apresentou 5% do aumento de massa seca em relação a testemunha.

Isolados de *Trichoderma* spp. podem agir como promotores de crescimento, mesmo na presença de fungos micorrízicos. Calvet et al. (1993), aplicaram fungo micorrízico *Glomus mosseae*, o antagonista *T. aureoviride* e o fitopatógeno *Pythium ultimum* em *Tagetes erecta*, e observaram que *G. mosseae* + *T. aureoviride* aumentaram o peso da massa seca em 100% e a área foliar em 55%, comparando com a testemunha.

A contribuição de *Trichoderma* spp. na germinação também é comprovada. Kelifeld & Chet (1992) observaram ação positiva de um isolado de *T. harzianum* aplicando ao solo e na germinação das sementes cinco dias após a semeadura, em feijão (77 e 100%), rabanete (58 e 100%), tomate (70 e 100%) respectivamente, o que evidenciou que as variações nos resultados, neste experimento, são decorrentes da forma de tratamento e da cultura. Já Ousley et al. (1993)

observaram que alguns isolados de *T. harzianum* auxiliaram e outros inibiram a germinação de semente de alface.

9. Espermosfera e rizosfera

A semente, ao sair da fase de repouso ou dormência e iniciar o processo de germinação, exsuda compostos metabólicos que são responsáveis pelas interações plantas-microrganismos e microrganismos-microrganismos (LUZ, 1998). De acordo com Nelson (2004), a zona microbiológica dinâmica em torno de uma semente em processo de germinação no solo é chamada de espermosfera e pode se estender de 1-20 mm da semente (KENNEDY, 1998). O termo espermosfera foi primeiramente mencionado por Slykhuis (1947), que observou o desenvolvimento de *Fusarium culmorum* em torno de sementes em processo de germinação e constatou que foi diferente daquele encontrado no solo (NELSON, 2004). Os fungos constituem a maior parte da biomassa microbiana da espermosfera, embora sejam encontrados em menor número do que as bactérias e, podendo também estar presentes protozoários, microalgas e nematóides (LUZ, 1998).

Fatores como umidade, temperatura, tipo de solo, exsudato da semente, fertilizantes e produtos empregados no tratamento de semente interferem na microbiota da espermosfera, microbiota e interação de fatores ambientais (LUZ, 1998; NELSON, 2004). A concentração de componentes específicos do exsudato na espermosfera é particularmente importante para o crescimento e desenvolvimento da microbiota, sendo comprovado para patógenos como *Phytophthora* spp. que quanto maior a concentração de exsudatos, maior a incidência da doença (NELSON, 2004).

O termo rizosfera foi usado, primeiramente, em 1904 para descrever a zona do solo sob a influência das raízes. A rizosfera é difícil de ser demarcada e é a área de maior atividade microbiana do solo, sendo considerada, boa para o desenvolvimento dos microrganismos do solo (KENNEDY, 1998). De acordo, com Fitter & Garbaye (1994), exceto na superfície, onde existe matéria orgânica, a maior atividade biótica no solo está na rizosfera, simplesmente porque não há disponibilidade de alimento para os microrganismos que é escasso no restante do solo. Bonkowski et al. (2000), observando a biomassa microbiana, encontraram cerca de 1030 μg de $C_{\text{mic}}\cdot\text{g}^{-1}$ em solo rizosférico de cevada e 590 μg de $C_{\text{mic}}\cdot\text{g}^{-1}$ em solo não rizosférico. Foram encontradas 4×10^2 , e $1,5\times 10^2$ CFU de *Trichoderma* spp. em solo rizosférico e não rizosférico, respectivamente, no cultivo do meloeiro (SIVAN; CHET, 1989).

A rizosfera é uma zona de alta diversidade tanto em número quanto em atividade microbiana, sendo complexa a interação entre os microrganismos e as raízes, o que influencia diretamente o desenvolvimento das plantas. Os efeitos benéficos se refletem na simbiose, antibiose, biocontrole, fixação de nitrogênio, promoção de crescimento, estabilização do solo e disponibilidade de água; enquanto os efeitos prejudiciais relacionados a esta associação originam as doenças e fitotoxicidades e há ainda os chamados efeitos neutros ou variáveis como fluxo de nutrientes, liberação de enzimas, alelopatia e competição (KENNEDY, 1998).

Assim como na espermosfera, na rizosfera existem fatores que influenciam a população microbiana, como as propriedades químicas e físicas do solo, a umidade, a textura do solo, a temperatura, o pH, a microbiota e o tipo e quantidade de exsudatos liberados pelas raízes (KENNEDY, 1998).

De acordo com Luz (1998), muitos microrganismos são encontrados tanto na espermosfera quanto na rizosfera, sendo que a colonização da primeira por microrganismos geralmente apresenta-se como determinante para a colonização da segunda. Segundo Howell

(2003), *Trichoderma* spp. adicionado no solo ou aplicado no sementes, cresce rapidamente acompanhando o desenvolvimento da raiz.

10. Controle biológico de *Phytophthora* sp.

O controle da podridão de raiz do mamoeiro é difícil de ser realizada porque o patógeno sobrevive bem por longo tempo no solo sem os hospedeiros.

Em trabalhos realizados para avaliar a eficiência de *Trichoderma harzianum* no controle de *P. capsici* em plantas de pimentão inoculadas com o patógeno, constatou-se redução da podridão de raízes entre 24 e 76% (SID AHMED, 2003).

O uso de *Trichoderma* sp. segundo Roiger e Jeffers (1994) constitui importante opção para auxiliar no manejo integrado da podridão do colo da macieira (*Phytophthora* spp.), primeiro com a desinfestação do solo com produtos químicos, como o formol, e, posteriormente a colonização do solo com o antagonista. Entretanto, para Boneti & Katsurayama (2001) o uso de microrganismos antagonistas nem sempre tem proporcionado bons resultados à campo.

Os isolados cen162 e cen235 de *Trichoderma* spp. foram eficientes no controle de *P. palmivora* em mudas de mamoeiro (DIANESE et al., 2007). Tocaundo (2008) testou a ação de 18 isolados de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento de mudas de mamoeiro infectadas com *P. palmivora* e não observou ação consistente dos mesmos nem no controle da doença e nem no desenvolvimento de mudas tratadas somente com os BCAs em relação a testemunha. Surpreendentemente, dois isolados um de *T. stromaticum* e outro de *T. harzianum* diminuíram significativamente o tamanho das mudas.

11. *Trichoderma* sp.

Segundo Ramirez *et al.* (1995), o gênero *Trichoderma* Person foi descrito em 1974. De acordo com Melo (1991), as espécies de *Trichoderma* dentro de um mesmo grupo ou secção, apresentam características sobrepostas, o que torna difícil a classificação de isolados. Esse gênero é classificado como anamórfico, pertencendo a Sub-divisão Deuteromycotina, ordem Hifomicetes e família Moniliaceae.

Trichoderma spp. é frequentemente isolado de solos em diferentes temperaturas e, em solos tropicais, pode-se encontrar de 10^1 a 10^3 unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de solo (HARMAN *et al.*, 2004). A sua fase teleomórfica é o gênero *Hypocrea*, o qual é encontrado colonizando restos vegetais de plantas lenhosas e herbáceas, classificado como ascomiceto da ordem Hypocreales (KRUGNER; BACCHI, 1995). Porém, na natureza, a fase anamórfica, parece ser um estágio independente da teleomórfica, seja em nível de indivíduos ou de populações (HARMAN, 2004). Por este motivo Melo (1991) suspeitou que algum outro mecanismo deve ocorrer em espécies de *Trichoderma* spp. Em meio de cultura, as colônias de *Trichoderma* crescem rapidamente, apresentando, inicialmente, superfície lisa e quase translúcida, tornando se posteriormente floculosas ou compactadas. A coloração da colônia em vários tons de verde (às vezes, muito clara – cor gelo) é, normalmente, devido a pigmentação dos conídios e à quantidade de conídios produzidos, podendo ainda ser influenciada pelo pH e o meio de cultura. O micélio é composto por hifas hialinas muito ramificadas e de parede lisa. Clamidósporos estão presentes na maioria das espécies, intercalados nas hifas ou, ocasionalmente, terminais (HOWELL, 2003).

As diferentes espécies sobrevivem em variadas temperaturas sendo que o *T. harzianum* segundo Eastburn & Butler (1991), apresentou maior crescimento micelial *in vitro* entre 27 e 30 °C, em testes, porém, no solo, a temperatura ideal para a colonização de restos de cultura, ação saprofítica, ficou entre 15 e 20 °C.

Isolados de *Trichoderma* spp. são conhecidos pela habilidade em produzir enzimas que degradam celulose e quitina (HARMAN et al., 2004), utilizados no antagonismo contra fungos patogênicos e na biodegradação de celulose de papel (VAN WIK; MOHULATSI, 2003).

Um estudo de métodos alternativos para serem usados no manejo integrado da podridão-das-raízes e do fruto do mamoeiro é evidentemente necessário.

Este trabalho teve como objetivos: Levantar a distribuição de *P. palmivora* em plantações comerciais de mamão no sul da Bahia; avaliar o efeito *in vitro* e em mudas de mamoeiro de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *P. palmivora*; e avaliar a eficiência de indutores de resistência (bióticos e abióticos) no controle de *P. palmivora* em mudas de mamoeiro, caracterizando a reação de resistência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 5th Ed. Amsterdam. Elsevier Academic Press, 922p. 2005.

ALTAMORE, C., et al. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, p. 2926-2933, 1999.

ARNOLD, D. H.; MAUSETH, J. D. Effects of environmental factors on development of wood. **American Journal of Botany**, v. 86, p. 367-371, 1999.

BADILLO, V.M. *Caricácea*: segundo esquema. **Revista de la Facultad de Agronomía**, v. 43, p.111, 1993.

BENATO, E.A.; PASCHOLATI, J.M.M.; SIGRIST, J.M.M.; CIA, P.; SANTANA, S.L.; CAMILI, E.C.; SILVA, C.A.R. Viabilidade do controle de antracnose em mamão pós-colheita através de indução de resistência por acibenzolar-S methyl. **Fitopatologia Brasileira, Brasília**, v. 27, suplemento, p. S84, 2002. (Resumo)

BENELLI, A.I.H., DENARDIN, N.D.; FORCELINI, C.A. Ação do acibenzolar-S-metil aplicado em tubérculos e plantas de batata contra canela preta, incitada por *Pectobacterium carotovorum* subsp. atrosepticum atípica. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p.263-267. 2004.

BENHAMOU, N.; BÉLANGER, R. R. Benzothiadiazole mediated induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis-lycopersici* in tomato. **Plant Physiology**, Rockville, v. 118, n. 4, p. 1203-1212, 1998.

BONETI, J. I. S.; KATSURAYAMA, Y. Podridão do colo da macieira (*Phytophthora* spp.). In: LUZ, E.D.M.N.; SANTOS, dos A.F.; MATSUOKA, K.; BEZERRA, L.J. **Doenças causadas por Phytophthora no Brasil**. Livraria e Editora Rural, p.413-432, 2001.

BONKOWSI M. et al. Microbial-Faunal interactions in the rhizosphere and effects on plant growth. **European Journal Soil Biology**, v. 36, p. 135-147, 2000.

BOWLES, D.J. Defense-related proteins in higher plants. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 59, p. 837-907, 1990.

CALVET, C.; PERA, J.; BAREA, J.M. Growth response of marigold (*Tagetes erectas* L.) to inoculation with *Glomus mosseae*, *Trichoderma aureoviride* and *Pytium ultimum* in a peat-perlite mixture. **Plant and Soi**, v. 147, p. 1-6, 1993.

CASTRO, R.M.; VIEIRA, M.; SCANAVACHI, V.; GUICHERIT, E. Redução na severidade de doenças e incremento da produção e qualidade dos frutos de tomate estaqueado em áreas comerciais através da aplicação do ativador de plantas acibenzolar-methyl. **Fitopatologia Brasileira, Brasília**, v.25, p.457, 2000. Suplemento.

CAVALCANTI, L.S.; RESENDE, M.L.V. Efeito da época de aplicação e dosagem do acibenzolar-S-metil na indução de resistência à murcha-de-*Verticillium* em cacauero. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, n.1, p.67-71. 2005.

CHANG, YA-CHUN et al. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. **Plant Disease**, v. 70, p. 145-148, 1986.

CHET, I; INBAR, J; HADAR, I. Fungal antagonists and mycoparasites. In: **Wicklow DT, Söderström B (eds) The Mycota IV: Environmental and microbial relationships**. Springer-Verlag, p. 165-184, 1997.

CIA, P. **Avaliação de agentes bióticos e abióticos na indução de resistência e no controle pós-colheita de antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) em mamão (*Carica papaya*)**. 2005. 197 p., Tese (Doutorado). ESALQ, Piracicaba, 2005.

COLE, D.L. The efficacy of acibenzolar-S-methyl, an inducer of systemic acquired resistance, against bacterial and fungal disease of tobacco. **Crop Protection**, v. 18, p. 267-273. 1999.

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

DANN, E. K.; DEVERALL, B. J. Activation of systemic disease resistance in pea by an avirulent bacterium or a benzothiadiazole, but not by a fungal leaf spot pathogen. **Plant Pathology**, v. 49. p. 324-332, 2000.

DANTAS, S.A.F.; OLIVEIRA, S.M.A.; BEZERRA NETO, E.; COELHO, R.S.B.; SILVA, R.L.X. da. Indutores de resistência na proteção do mamão contra podridões pós-colheita. *Summa Phytopathologica*, v.30, p.314-319, 2004.

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

DIANESE, A. de C. **Variabilidade e controle de *Phytophthora palmivora* (Podridão-do-pé) e controle da varíola (*Aperisporium caricae*) do mamoeiro (*Carica papaya*)**. 2006. 109p. Tese (Doutorado) – Universidade de Brasília, Brasília.

DIANESE, A.C.; BLUM, L.E.B.; DUTRA, J.B.; LOPES, L. F.; SENA, M.C.; FREITAS, L.F.; YAMANISHI, O.K. Redução da Podridão do Pé (*Phytophthora palmivora*) do Mamoeiro (*Carica papaya*) por Fosfitos. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, p.166, 2007.

DIANESE, A. C.; BLUM, L. E. B., DUTRA, J. B.; LOPES, L. F.; SENA, M. C.; FREITAS, L. F.; MELO, S. C. Uso de *Trichoderma* para o controle da podridão do mamoeiro causada por *Phytophthora palmivora*. In: **XL Congresso Fitopatologia Brasileira** p.132, 2007. (Resumo).

DI PIERO, ROBSON M.; PASCHOLATI, SÉRGIO F. Effect of the *Cyanobacteria Synechococcus leopoliensis* and *Nostoc* sp. on *Colletotrichum sublineolum* and on the interaction of the fungus with sorghum plants. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, p. 163-169, 2002.

DURRANT W. E.; DONG, X. Systemic acquired resistance, **Annual Review of Phytopathology**, v. 42, p. 185-209, 2004.

EASTBURN, D. M.; BUTLER, E. E. Effects of soil moisture and temperature on the saprophytic ability of *Trichoderma harzianum*. **Mycologia**, v. 83, p 257-263, 1991.

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

ERWIN, D. C.; RIBEIRO, O. K. ***Phytophthora* Diseases Worldwide**, The American Phytopathological Society, p. 408-422, 1996.

FITTER, A. H.; GARBAYE, J. Interaction between mycorrhizal fungi and other soil organisms, **Plant and Soil**, v. 159, p. 123-132, 1994.

FRITIG, B.; HEITZ, T.; LEGRAND, M. Antimicrobial proteins in induced plant defense. **Current Opinion in Immunology**, v. 10, p.16-22, 1998.

FRY, S.C. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 37, p. 165-186, 1986.

GUZZO, S. D. **Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix***. 2004. 236p. Tese – (Doutorado) – USP, Piracicaba, 2004.

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

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

HEIL, M.; BOSTOCK, R. M. Induced systemic (ISR) in the context of induced plant defenses. **Annals of Botany**, v.89, p.503-512, 2002.

HINE, R. B.; HOLTZMANN, O. V.; RAABE, R. D. Diseases of papaya (*Carica papaya* L.) in Hawaii. **Hawaii Agric. Exp.**, 136p. 1965.

HOWELL, C.R. The role of antibiosis in biocontrol. In: **Harman GE, Kubicek CP (eds) *Trichoderma & Gliocladium***, Taylor & Francis, Padstow, v. 2, 173-184, 1998.

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

HWANG, B.K.; SUNWOO, J.Y.; KIM, Y.J.; KIM, B.S. Accumulation of β -1,3-glucanase and chitinase isoforms, and salicylic acid in the DL- β -amino-n-butyric acid-induced resistance response of pepper stems to *Phytophthora capsici*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.51, p.305-322, 1997.

IBGE-INSTTUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção agrícola municipal. Rio de Janeiro: IBGE. Disponível em: Acesso em 20 jun. 2007.

IMBAR, J. et al. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. **European Journal Plant Pathology**, v. 100, p. 337-346, 1994.

INEGI. **Exportaciones en Anuário Estatístico del Comercio Exterior de los Estados Unidos Mexicanos.** México: D.F., 21p., 1995.

KAWANO, T.; MUTO, S. Mechanism of peroxidase actions for salicylic acid-induced generation of active oxygen species and an increase in cytosolic calcium in tobacco cell suspension culture. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, p. 685-693, 2000.

KENNEDY, A. C. The rhizosphere and spermosphere. In: SYLVIA, D. M. et al. **Principles and Applications of Soil Mycrobiology**, v. 38, p. 389-407, 1998.

KESSMAN, H.; STAUB, T.; HOFFMAN, C.; MAETZKE, T.; HERZOG, J.; WARD, E.; UKNES, S.; RYALS, J. Induction of systemic acquired resistance in plants by chemicals. **Annual Review of Phytopathology**, v.32, p.439-459, 1994.

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

KO, W. H. *Phytophthora* fruit rot and root rot In: Ploetz, R.C. et al. **Compendium of tropical fruit diseases**, American Phytopathological Society, p. 61-62, 1994.

KRISTENSEN, B.K.; BLOCH, H.; RASMUSSEN, S.K. Barley coleoptile peroxidases. Purification, molecular cloning, and induction by pathogens. **Plant Physiology**, Rockville, v. 120, p. 501-512, 1999.

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

KUC, J. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. **European Journal of Plant Pathology**, v.107, p.7-12, 2001.

LATUNDE-DADA, A.O. & LUCAS, J.A. The plant defense activator acibenzolar-S-methyl primes cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] seedlings for rapid induction of resistance. Physiological Walp.] seedlings for rapid induction of resistance. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 58, p. 199-208. 2001.

LAWTON, A.; FRIEDICH, L.; HUNT, M.; WEYMANN, K.; DELANEY, T.; KESSMANN, H.; STAUB, T.; RYAL, J. Benzothiadiazole induces disease resistance in Arabidopsis by activation of the systemic acquired resistance signal transduction pathway. **Plant Journal**, v. 10, p.71–82, 1996.

LÉON, J.; LAWTON, M.A.; RASKIN, I. Hydrogen peroxide stimulates salicylic acid biosynthesis in tobacco. **Plant Physiology**, v. 108, p. 1673-1678, 1995.

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

LUZ, W. C. Ecologia da esferosfera. In: MELO, I. S., AZEVEDO, J. L. (Eds.). **Ecologia Microbiana**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente: p. 167-185, 1998.

LUZ, E.D.M.N.; MATSUOKA, K. Phytophthora: Fungo protista ou Chromista? In: **Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil**. Livraria e Editora Rural, p.1-21, 2001.

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

LUZ, E.D.M.N., O Gênero *Phytophthora* no Brasil. In: XXXIX Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Salvador–BA, **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 80, 2006.

LUZ, E.D.M.N; SILVA, S.D.V.M.; BEZERRA, J.L.; SOUZA, T.S.; SANTOS, A.F. (Eds), **Glossário ilustrado de *Phytophthora*: Técnica especiais para o estudo de oomicetos**, p. 16-75, 2008.

MANICA, I. **Fruticultura tropical**: 3. Mamão. São Paulo: Agronômica Ceres, p.276, 1982.

McDONALD, A. E.; GRANT, B. R.; PLAXTON, W. C. Phosphite (phosphorous acid): its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. **Journal of Plant Nutrition**, v. 24, p. 1505-1519, 2001.

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

MENDES, M. A. S.; SILVA, V. L.; DIANESE, J. C. [et al.] **Fungos em plantas no Brasil**, EMBRAPA/CENARGEN, p. 53-54, 1998.

MÉTRAUX, J-P.; NAWRATH, C.; GENOUD, T. Systemic acquired resistance. **Euphytica** v.124, p.237-243, 2002.

NELSON, E. B. Microbial dynamics and interactions in the spermosphere. **Annual Review Phytopathology**, v. 42, p. 271-309, 2004.

OLIVEIRA, A. A. R. Developing disease resistance in *Carica papaya* L. Against fungal diseases. **College of Tropical Agriculture and Human Resources**, 47p., 2005.

OLIVEIRA, A.A.R.; SANTOS FILHO, H.P. Doenças do mamoeiro. SOUZA, J. da S.; RITZINGER, C. H. S. P. (Org.), **Mamão Fitossanidade**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, v.11, p.37-46, 2000.

OUSLEY, M.A., LYNCH, J.M. & WHIPPS, J.M. Effect of *Trichoderma* on plant growth: a balance between inhibition and growth promotion. **Microbial Ecology**, v.26, p.277-285, 1993.

OOSTENDORP, M.; KUNZ, W.; DIETRICH, B.; STAUB, T. Induced disease resistance in plants by chemicals. **European Journal of Plant Pathology**, v. 107,p. 19-28, 2001.

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

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, v.1, p.193-217, 1995.

PEREZ, L.; RODRIGUEZ. M. E.; RODRIGUEZ, F.; ROSON, C. Efficacy of acibenzolar-S-methyl, an inducer of systemic acquired resistance against tobacco blue mold caused by *Peronospora hyoscyami* f. sp. *Tabacina*. **Crop Protection**, v.22, p.405–413, 2003.

PIETERSE, C. M. J.; VAN LOON, L. C. Npr1: the spider in the web of induced resistance signaling. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 7, p. 456-464, 2004.

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

RESENDE, M.L.V. NOJOSA, J.B.A., AGUILAR, M.A.G., SILVA, L.H.C.P., NIELLA, G.R., CARVALHO, G.A., GIOVANNI, G. & CASTRO, M.C. Perspectivas da indução de resistência em cacauero contra *Crinipellis pernicioso* através do benzotiadiazole (BTH). **Fitopatologia Brasileira**, v. 25, 149-156. 2000.

RESENDE, M.L.V.; NOJOSA, G.B.A.; CAVALCANTI, L.S.; AGUILAR, M.A.G.; SILVA, L.H.C.P.; PEREZ, J.O.; ANDRADE, G.C.G.; CARVALHO, G.A.; CASTRO, R.M. Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis pernicioso* and *Verticillium dahliae* by acibenzolar-S-methyl (ASM). **Plant Pathology**, v.51, p.621-628, 2002.

RIBEIRO JÚNIOR, P. M.; RESENDE, M. L. V. DE; PEREIRA, R. B.; CAVALCANTI, F. R.; AMARAL, D. R.; PÁDUA, M. A. de., Fosfito de potássio na indução de resistência a *Verticillium dahliae* kleb., em mudas de cacauero (*Theobroma cacao* L.), **Ciência e Agrotecnologia** v. 30, p. 629-636, 2006.

RIZZO, A.A.N.; FERREIRA, M.R.; BRAZ, L.T. Ação de acibenzolar-s-methyl (BTH) isolado e em combinação com fungicidas no controle do cancro da haste em melão rendilhado. **Horticultura Brasileira**, v. 21, p. 238-240, 2003.

RODRIGUES, A.A.C.; NETO, E. B.; COELHO, R.S.B. Indução de Resistência a *Fusarium Oxysporum* f. sp. *Tracheiphilum* em Caupi: Eficiência de Indutores Abióticos e Atividade Enzimática Elicitada, **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 492-499, 2006

ROIGER, D.J.; JEFFERS, S. N. Evaluation of *Trichoderma* spp. For biological control of Phytophthora crown rot of apple seedlings, **Phytopathology**, v. 81, p. 910-917, 1994.

ROMEIRO, R.S. Indução de resistência em plantas a patógenos. Viçosa: **Imprensa Universitária da UFV**, 45p., 1999.

ROVERATTI, D.S. **Proteção de plantas de café (*Coffea arabica* L.) contra *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. por *Saccharomyces cerevisiae***. 1989. 78p. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP. Piracicaba

SANKAT, C. K.; MAHARAJ, R. Papaya. In: **Postharvest Physiology and Storage of Tropical and Subtropical Fruits**, p. 167-186, 1997.

SANLUNKHE D. K.; DESAI, B. B. Papaya. In: **Postharvest Biotechnology of Fruits**.CRC-PRESS, v.2, p. 13-26, 1992.

SANTOS, E. de O.; FERRAZ, Z.M. de L. Disponível em: <<http://www.todafruta.com.br>>.

Acesso em: jun. 2007.

SCHÖNBECK, F., DEHNE, H. & BALDER, H. The efficiency of induced resistance under practical culture conditions. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**. v. 89, p. 177-184, 1982.

SID AHMED, A.; EZZIYYANI, M.; PÉREZ SÁNCHEZ, C.; CANDELA, M.E. Effect of chitin on biological control activity of *Bacillus spp.* and *Trichoderma harzianum* against root rot disease in pepper (*Capsicum annuum*) plants. **European Journal of Plant Pathology**, v. 109, p. 418-426, 2003.

SILVA, G. S.; URBEN, A. F.; DOIHARA, I. P. Ocorrência de *Phytophthora palmivora* em mamoeiro no Estado do Maranhão. Brasília, **Fitopatologia Brasileira**, n. 18, p. 32, 1999.

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

SIVAN, A, HARMAN, G.E. Improved rhizosphere competence in a protoplast fusion progeny of *Trichoderma harzianum*. **Journal of General Microbiology**, v. 137, p.23-29, 1991.

SLYKHUIS, J.T. Studies on *Fusarium culmorum* blight of crested wheat and brome grass seedlings, **Can. J. Res.**, v. 15, p. 15-80, 1947.

SMILLIE, R.; GRANT, B. R.; GUEST, D. The mode of action of phosphite: evidence for both direct and indirect modes of action on three *Phytophthora* spp in plants. **Phytopathology**, v. 79, p. 921-926, 1989.

STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Atividade de ribulose-1,5-bifosfato carboxilase-oxigenase (rubisco), clorofilase, β -1,3-glucanase e quitinase e conteúdo de clorofila em cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) infectados com *Uromyces appendiculatus*. **Summa Phytopathologica**, v. 26, p. 34-42, 2000.

STICHER, L., B. Mauch Mani, and J. P. METRAUX.. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology** v. 35, p. 235-270, 1997.

TOCAFUNDO, F. **Avaliação de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *Phytophthora palmivora* em mamoeiro.** 2008. 54p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itabuna.

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J. Controle da pinta preta do tomateiro com o uso de acibenzolar-S-metil isolado, em mistura com fungicidas e em programas de aplicação. **Arq. Inst. Biol.**, v.72, p.481-487, 2005.

TRINDADE, D.R.; POLTRONIERE, L.S.; *Phytophthora palmivora* causando podridão dos furtos em mamoeiro no Pará, **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p.422, 2002.

VAN LOON, L. C.; PIERPOINT, W.C.; BOLLER, T.H.; CONEJERO, V. Recommendations for naming plant pathogenesis-relateds proteins. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 12, p. 245-264, 1994.

VAN LOON, L. C. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. **European Journal of Plant Pathology**, v. 103, p. 753-765, 1997.6

VAN LOON, L.C.; VAN STRIEN, E.A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 55, p. 85-97, 1999.

VAN WIK, J.P.H.; MOHULATSI, M. Biodegradation of wastepaper by cellulase from *Trichoderma viride*, **Bioresource Technology**, v. 86, p. 21-23, 2003.

VENTURA, J. A.; COSTA, H.; TATAGIBA, J. S. Manejo das doenças do mamoeiro. In: **A Cultura do Mamoeiro – Tecnologias de Produção**. Martins, D. S. & Costa, A. F. S. (Eds.), Vitória, ES: Incaper, p. 231-308, 2003.

VIDHYASEKARAN, P., RABINDRAN, R., MUTHAMILAN, M., NAYAR, K., RAJAPPAN, K., SUBRAMANIAN, N. & VASUMATHI, K. Development of a powder formulation of *Pseudomonas fluorescens* for control of rice blast. **Plant Pathology** v. 46, p. 291-297, 1997.

VYAS, S.C.; VYAS, S. Integrated control of dry root of soybean. In: LYR H, RUSSELL P.E.; SISLER, H.D. (Eds) **Modern fungicides and antifungal compounds**, p. 565-572, 1995.

WOJTASZEK, P. Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection. **Biochemistry Journal**, London, v. 322, p. 681-692, 1997.

YAMAGUCHI, I. Activators for systemic acquired resistance. In: HUTSON, D.& M YAMAMOTO, J. (Eds.). **Fungicidal activity**, p.193-121, 1998.

ZHU, Y.J., QIU, X., MOORE, P.H., BORTH, W., HU, J., FERREIRA, S. & ALBERT, H.H. Systemic acquired resistance induced by BTH in papaya. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 63, p.237-248, 2003.

CAPITULO 2

INFESTAÇÃO POR *Phytophthora palmivora* EM SOLOS DE POMARES DE MAMOEIRO NO SUL DA BAHIA.

Autores: Giltembergue Macedo Tavares, Delson Laranjeira, Edna Dora Martins Newman Luz,
Stela Dalva Vieira Midlej Silva, Tacila Ribeiro Silva

Infestação por *Phytophthora palmivora* em solos de pomares de mamoeiro no sul da Bahia.**Infestation for *Phytophthora palmivora* in soils of papaya plantations in the South of Bahia.**

Giltembergue Macedo Tavares^I, Delson Laranjeira^I, Edna Dora Martins Newman Luz^{II}, Stela Dalva Vieira Midlej Silva^{II}, Tacila Ribeiro Silva^{II}

⁽¹⁾Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Fitopatologia, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000 Recife, PE. e-mails: gilfito@yahoo.com.br, laranjeira@ufrpe.depa.br,

⁽²⁾Comissão Executiva de Plano da Lavoura cacaeira, Seção de Fitopatologia, Ilhéus-BA e-mails: ednadora@yahoo.com.br, stela@ceplac.gov.br, tacila.ribeiro@yahoo.com.br, Caixa Postal 07, CEP 45.600-970. Parte da tese do primeiro autor apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco.

RESUMO

A podridão de raízes do mamoeiro causada por *Phytophthora palmivora* tem contribuído para o aumento do custo de produção no Brasil e principalmente na Bahia. Visando diagnosticar o nível de infestação em algumas áreas plantadas com mamoeiro na região Extremo Sul da Bahia, realizou-se amostragens em 33 pomares comerciais de mamoeiro, selecionados aleatoriamente nos municípios de Eunápolis, Porto Seguro, Teixeira de Freitas, Mucuri, Prado, Nova Viçosa, Alcobça e Santa Cruz de Cabrália e cultivados com as variedades Formosa, Golden e Sunrise Solo. As amostras de solo das áreas foram coletadas com auxílio de um trado na profundidade de 0-20 cm, fazendo-se cinco amostras, compostas cada uma, por três sub-amostras, obtidas em pontos aleatoriamente distribuídos em cada área. As amostras simples foram recolhidas em vasos

plásticos, misturadas, homogeneizadas e retirada uma alíquota composta para cada local, sendo então acondicionadas em sacos de polietileno devidamente etiquetados e transportadas para o Laboratório de *Phytophthora* do CEPEC. Duas técnicas foram utilizadas para diagnosticar a presença do patógeno no solo: diluição em placas com meio seletivo (PARPH) e iscas com discos (1cm) de mamão verdes. Das 33 áreas avaliadas apenas em duas não se constatou a presença de *P. palmivora*. Também não houve diferenças significativas para incidência do patógeno, quanto as variedades de mamoeiro plantadas nas amostras de solos avaliados. Em todos os oito municípios que tiveram pomares amostrados foi detectada a presença do patógeno, atestando sua ampla distribuição no Extremo Sul da Bahia.

Palavras-chave adicionais: Podridão de raiz, Levantamento, Detecção, isolamento, *Carica papaya*

ABSTRACT

The root rot of papaya caused by *Phytophthora palmivora* has contributed for the increase of the production costs in Brazil mainly in Bahia. Seeking to diagnose the infestation level of some areas planted with papaya in the South Extreme of Bahia, samplings samples were performed in 33 commercial orchards of papaya, randomly selected in the municipalities of Eunápolis, Porto Seguro, Teixeira de Freitas, Mucuri, Prado, Nova Viçosa, Alcobaça and Santa Cruz de Cabrália and cultivated with the varieties Formosa, Golden and Sunrise Solo. The soil samples were collected with soil sampler in A depth of 0-20 cm being made five samples, composed each one, for three sub-samples, obtained in points randomly distributed in each area. The simple samples were collected in plastic vases, mixed, homogenized and a composed sample of each place, was obtained. Each sample was placed inside of a polyethylene bag properly labeled and transported

to the Laboratory of *Phytophthora* at CEPEC/CEPLAC. Two techniques were used to diagnose the pathogen presence in the soil: dilution plates with selective medium (PARPH) and soil baits with disks (1cm) of green papaya fruits. *P. palmivora* was detected in 31 of the 33 orchards evaluated. There were no significant differences for the pathogen incidence in relation to the papaya varieties planted in sampled orchards. In all the eight municipalities that had orchards sampled the root rot pathogen was detected, attesting its wide distribution in the south of Bahia.

Additional key words: Root rot, rising, detection, isolation, *Carica papaya*.

1. INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.), possivelmente originário da América Central é uma das plantas tropicais de maior importância na produção brasileira e mundial de fruteiras (Nakasone, 1994). O Brasil é o primeiro produtor mundial de mamão, com produção safra de 1,6 milhões de toneladas por ano, situando-se entre os principais países exportadores, principalmente para o mercado europeu. O mamão é cultivado em quase todo o território brasileiro, merecendo destaque os estados da Bahia, Espírito Santo e Ceará, responsáveis por cerca de 90% da produção nacional (IBGE, 2007).

O Oomicota *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler, é o agente etiológico da podridão das raízes e dos frutos do mamoeiro. Atualmente, este patógeno está classificado no reino Straminipila, filo Oomycota, Classe Oomycetes, Ordem Pythiales e Família Pythiaceae (Luz & Matsuoka, 2001).

A podridão das raízes e dos frutos, também conhecida como podridão-do-pé ou gomose do mamoeiro é considerada uma das principais doenças da cultura. Os danos econômicos variam grandemente de uma região para outra. Esta doença tem sido relatada em vários países, com

grande intensidade em algumas localidades, podendo acarretar perdas acentuadas na produção. Na Austrália, em dois anos, cerca de 8000 plantas foram destruídas pelo ataque de *P. palmivora* (Teakle, 1957). Em Puna, Havai, Ko et al (1971) relataram que mais de 4.000 ha de terras cultivadas com mamão foram abandonados. Já Alvarez & Nelson (1982) reportaram que esta doença chegou a dizimar 181.000 plantas no Havaí, no ano de 1979, reduzindo a produção em 35%. Também foram registrados sérios ataques nas Filipinas, Taiwan, Sri Lanka e Ilhas Canárias. A podridão das raízes do mamoeiro é agravada por chuvas frequentes especialmente em áreas com solos mal drenados e quando as plantas ainda estão no período de maior suscetibilidade até os três meses de idade, quando o sistema radicular pode ser totalmente destruído pelo patógeno.

No Brasil, embora hajam queixas frequentes dos produtores sobre graves prejuízos com esta doença, principalmente na região sul do estado da Bahia, não há registro da quantificação das perdas nesta região. No Maranhão Silva et al. (1999) e Silva (2001) relataram perdas na produção de frutos de 7 a 48%.

Este trabalho objetivou fazer um diagnóstico parcial da infestação de *P. palmivora* em solos de plantações de mamoeiros comerciais na região Extremo Sul da Bahia, para melhor subsidiar as medidas de controle.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e procedimentos de coletas

As coletas de solo foram realizadas entre março e junho de 2007, em pomares comerciais situados na região Extremo Sul da Bahia. As demais etapas foram conduzidas no Laboratório de *Phytophthora* do CEPEC/CEPLAC/PHYTOLAB.

Para avaliação da infestação de solos por *P. palmivora* foram selecionados aleatoriamente 33 pomares de mamoeiros comerciais cultivado com as variedades Formosa, Golden e Sunrise Solo situados na região Extremo Sul da Bahia nos municípios de Eunápolis (11), Porto Seguro (7), Teixeira de Freitas (3), Mucuri (4), Prado (2), Nova Viçosa (2), Alcobaça (2) e Santa Cruz de Cabrália (2). Em cada propriedade coletaram-se informações sobre a forma de plantio, o histórico de incidência da doença na área, a ocorrência ou não de sintomas no plantio atual e as coordenadas geográficas (Tabela 1).

Tabela 1 – Localização, coordenadas geográficas, variedade cultivada, área de plantio e idade das plantas de cada um dos 33 pomares amostrados quanto à infestação do solo por *P. palmivora*.

Municípios	Coordenadas geográficas		Variedade	Idade (meses)	Área (há)
	SUL	OESTE			
Eunápolis 1	Lat. 16 ⁰ 16'30,4''	- Long. 39 ⁰ 29'32,1''	S. Solo	12	6
Eunápolis 2	Lat. 16 ⁰ 12'29,2''	- Long. 39 ⁰ 29'59,2''	S. Solo	5	21
Eunápolis 3	Lat. 16 ⁰ 31'53,6''	- Long. 39 ⁰ 60'28,3''	S. Solo	8	21
Eunápolis 4	Lat. 16 ⁰ 20'53,8''	- Long. 39 ⁰ 60'32,2''	Formosa	12	20
Eunápolis 5	Lat. 16 ⁰ 28'58,8''	- Long. 39 ⁰ 60'31,3''	S. Solo	6	23
Eunápolis 6	Lat. 16 ⁰ 20'57,2''	- Long. 39 ⁰ 31'25,7''	Golden	6	10
Eunápolis 7	Lat. 16 ⁰ 21'03,3''	- Long. 39 ⁰ 31'26,3''	S. Solo	18	10
Eunápolis 8	Lat. 16 ⁰ 23'31,6''	- Long. 39 ⁰ 28'48,9''	S. Solo	18	5
Eunápolis 9	Lat. 16 ⁰ 23'29,9''	- Long. 39 ⁰ 28'30,0''	Formosa	9	19
Eunápolis 10	Lat. 16 ⁰ 23'28,9''	- Long. 39 ⁰ 25'14,6''	Golden	12	14
Eunápolis 11	Lat. 16 ⁰ 23'20,9''	- Long. 39 ⁰ 25'06,3''	Formosa	12	20
Porto Seguro 12	Lat. 16 ⁰ 22'25,9''	- Long. 39 ⁰ 25'10,6''	Formosa	14	18
Porto Seguro 13	Lat. 16 ⁰ 21'20,9''	- Long. 39 ⁰ 25'16,3''	Golden	11	28
Porto Seguro 14	Lat. 16 ⁰ 29'16,1''	- Long. 39 ⁰ 08'51,9''	S. Solo	24	30
Porto Seguro 15	Lat. 16 ⁰ 29'50,0''	- Long. 39 ⁰ 08'27,4''	Formosa	6	15
Porto Seguro 16	Lat. 16 ⁰ 34'25,4''	- Long. 39 ⁰ 09'03,8''	S. Solo	22	22
Porto Seguro 17	Lat. 16 ⁰ 27'46,3''	- Long. 39 ⁰ 08'52,5''	Formosa	4	12
Porto Seguro 18	Lat. 16 ⁰ 27'37,1''	- Long. 39 ⁰ 09'08,1''	¹ S. Solo	4	13
² T. de Freitas 19	Lat. 17 ⁰ 31'15,2''	- Long. 39 ⁰ 21'08,6''	S. Solo	15	40
T. de Freitas 20	Lat. 17 ⁰ 29'27,1''	- Long. 39 ⁰ 43'49,6''	Formosa	28	7
T. de Freitas 21	Lat. 17 ⁰ 22'47,5''	- Long. 39 ⁰ 39'17,7''	S. solo	24	70
Mucuri 22	Lat. 18 ⁰ 03'42,8''	- Long. 39 ⁰ 57'04,9''	Golden	30	17
Mucuri 23	Lat. 18 ⁰ 03'45,2''	- Long. 39 ⁰ 57'16,4''	Formosa	19	9
Mucuri 24	Lat. 17 ⁰ 59'20,5''	- Long. 39 ⁰ 50'55,8''	Formosa	27	20

Tabela 1. Continuação

Municípios	Coordenadas geográficas		Variedade	Idade (meses)	Area (ha)
	SUL	OESTE			
Mucuri 25	Lat. 18 ⁰ 59'29,0'' - Long. 39 ⁰ 51'05,7''		Golden	27	50
Prado 26	Lat. 17 ⁰ 06'56,8'' - Long. 39 ⁰ 18'58,9''		Formosa	16	16
Prado 27	Lat. 17 ⁰ 03'48,8'' - Long. 39 ⁰ 18'22,3''		S. Solo	12	11
Nova Viçosa 28	Lat. 17 ⁰ 56'33,9'' - Long. 39 ⁰ 53'27,7''		Formosa	18	12
Nova Viçosa 29	Lat. 17 ⁰ 56'33,4'' - Long. 39 ⁰ 53'40,6''		Golden	19	25
Alcobaça 30	Lat. 17 ⁰ 31'15,2'' - Long. 39 ⁰ 21'08,6''		S. solo	19	83
Alcobaça 31	Lat. 17 ⁰ 04'46,8'' - Long. 39 ⁰ 19'03,1''		S. Solo	5	40
³ S. C. de Cabrália 32	Lat. 16 ⁰ 20'54,5'' - Long. 39 ⁰ 14'34,8''		S. Solo	46	2,5
S. C. de Cabrália 33	Lat. 16 ⁰ 21'55,7'' - Long. 39 ⁰ 14'30,1''		Formosa	23	8

¹ Sunrise solo

² Teixeira de Freitas

³ Santa Cruz de Cabrália

As amostras de solo das áreas foram coletadas com auxílio de um trado na profundidade 0-20 cm, fazendo-se aleatoriamente cinco amostras compostas por três sub-amostras simples para cada área/pomar. As amostras simples foram recolhidas em vaso plástico. Em seguida misturadas e homogeneizadas para retirada de uma alíquota composta de aproximadamente 500 gramas, que foi armazenada em sacos de polietileno, devidamente etiquetados e transportados para o Phytolab.

2.2 Métodos de detecção de *P. palmivora*

Para diagnosticar a presença ou não de *Phytophthora* spp. nas amostras de solo foram utilizados dois métodos: Método 01- Diluição do solo para isolamento em meio seletivo PARPH (Kannwischer & Mitchell, 1978). Método 02 – iscas com disco de frutos verdes de mamão. Para isolamento em meio seletivo foi preparado uma mistura de 16 mL de agar-água à 0,2% com 4 g de solo, agitada por 60 segundos até homogeneização total, deixada em repouso por mais 60 segundos, após o que foram vertidos 2 mL da suspensão por cada uma das placas de Petri

contendo aproximadamente 15 mL de meio seletivo e espalhados cuidadosamente com auxílio de bastão de vidro. As placas foram então incubadas sobre a bancada do laboratório e cobertas com pano preto para evitar a degradação dos antibióticos sensíveis a luz e assim permaneceram à temperatura de $24^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas. Após esse período procedeu-se a lavagem em água corrente da superfície do meio seletivo nas placas e a contagem do número de colônias para posterior isolamento em PARPH. Foram preparadas 5 placas para cada amostra de solo. Após a contagem do número de colônias os dados foram transformados para unidade formadora de colônia (UFC) por grama de solo.

Para o método de detecção através de iscas foi preparada uma suspensão de solo obtida pela mistura de 90 mL de ágar-água a 0,2% e 10 g do solo. A mistura foi agitada durante um minuto para homogeneização e, em seguida distribuídos 15 mL da suspensão/placa de Petri. Frutos verdoengos de mamão Sunrise Solo, obtidos em plantio comercial, foram cuidadosamente transportados para o laboratório, lavados em água corrente, desinfestados e novamente lavados com água destilada esterilizada. Em seguida, com o auxílio de um furador de cortiças, removidos discos com 1 cm de diâmetro. Sobre a superfície da suspensão de solo/ágar-água em cada uma das 5 placas foram depositados equidistantemente 10 discos de frutos. Para cada amostra foram vertidas em cinco placas com um total de 50 discos. A avaliação foi feita 48, 72 e 96 horas após a incubação no escuro, examinando-se cada disco para presença de lesões típicas de *P. palmivora*.

De todas as iscas com lesões foram retiradas porções para isolamento em meio seletivo PARPH para confirmação da presença de *P. palmivora*.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas 33 áreas avaliadas foi constatada a presença de *P. palmivora* no solo de 31 das plantações de mamoeiro amostradas (Tabela 2), portanto, apenas em dois pomares (Porto Seguro 17 e Teixeira de Freitas 19) o patógeno não estava presente. Assim, aproximadamente 94% dos pomares estavam infestados com *P. palmivora*. Nos 31 pomares onde o patógeno foi constatado verificou-se variação significativa no nível de infestação, avaliado pelo número de unidades formadoras de colônias por grama de solo (UFC/g), que variou de 0,1 (Porto Seguro 18, Alcobaça 30 e 31, Nova Viçosa 29 e Mucuri 24) a 36,4 UFC/g de solo (Porto Seguro 13) (Tabela 2). O isolamento em meio seletivo das amostras de solo dos diferentes pomares avaliados permitiu através da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) a constatação de maior número de UFC, indicando, portanto, maior infestação nos pomares Porto Seguro 13, 12 e 16, Eunápolis 3 e Prado 27, com 36,4; 13,2; 13,2; 31,6 e 24,2 UFC/g de solo, respectivamente. Com base no teste de médias foi possível ainda observar a formação de três grupos por níveis de infestação. O primeiro grupo, formado pelos pomares já mencionados, cujo nível de infestação do solo variou de 13,2 a 36,4 UFC/g de solo; o segundo, com nível de infestação intermediária, variando de 4,8 a 8,8 UFC/g de solo, englobou os pomares Eunápolis 2, 5 e 7, Mucuri 23 e Prado 26 e o terceiro grupo composto de 20 pomares, apresentaram baixo nível de infestação, variando de 0,1 a 2,3 UFC/g de solo.

Tabela 2 – Número médio de UFC/g de solo e porcentagem de iscas infectadas detectadas em pomares comerciais de mamoeiro no extremo sul da Bahia, amostrados pelos métodos de diluição em placas de meio seletivo e iscas de frutos verdes de mamão.

Municípios	UFC/g. solo	Municípios	Discos infectados (%)
Porto Seguro 13	36,4 a	Prado 27	97 a
Eunápolis 3	31,6 ab	Porto Seguro 16	96 a
Prado 27	24,2 abc	Eunápolis 2	95 a
Porto Seguro 12	13,2 abc	Porto Seguro 13	92 a
Porto Seguro 16	13,2 abc	Mucuri 23	89 ab
Eunápolis 2	8,8 cd	Eunápolis 3	86 abc
Mucuri 23	8,6 cd	T. de Freitas 21	85 abc
Eunápolis 5	6,0 cd	Porto Seguro 12	72 abcd
Eunápolis 7	5,3 cd	Eunápolis 7	65 abcde
Prado 26	4,8 cd	Eunápolis 1	63 abcdef
Eunápolis 6	2,3 d	Mucuri 22	59 abcdef
Eunápolis 1	2,2 d	Prado 26	58 abcdef
S. C. de Cabrália 32	2,2 d	S. C. de Cabrália 32	45 bcdefg
T. de Freitas 21	1,9 d	Eunápolis 9	42 bcdefg
Eunápolis 4	1,4 d	Eunápolis 6	41cdefg
Eunápolis 9	1,3 d	Nova Viçosa 28	37 defg
Eunápolis 11	1,3 d	Eunápolis 5	30 defg
Porto Seguro 14	1,1 d	Eunápolis 11	29 defg
Nova Viçosa 28	1,0 d	S. C. de Cabrália 33	27 defg
S. C. de Cabrália 33	0,8 d	Alcobaça 31	25 defg
Eunápolis 10	0,8 d	Mucuri 24	24 efg
Eunápolis 8	0,8 d	Eunápolis 10	23 efg
Mucuri 22	0,6 d	Porto Seguro 14	22 efg
T. de Freitas 20	0,2 d	Eunápolis 8	22 efg
Porto Seguro 15	0,2 d	Eunápolis 4	1,6 fg
Mucuri 24	0,1 d	Porto Seguro 15	10 g
Nova Viçosa 29	0,1 d	T. de Freitas 20	9 g
Alcobaça 31	0,1 d	Nova Viçosa 29	6 g
Alcobaça 30	0,1 d	Porto Seguro 18	4 g
Porto Seguro 18	0,1 d	Mucuri 25	2 g
Porto Seguro 17	0 d	Porto Seguro 17	0 g
Mucuri 25	0 d	Alcobaça 30	0 g
T. de Freitas 19	0 d	T. de Freitas 19	0 g

Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Quanto ao método de iscas, por não ser quantitativo, foi utilizado o número de discos de frutos infectados por amostra, transformado na variável porcentagem de infecção (número de

discos infectados x 100/número total de discos/amostra). Como na ANOVA observou-se significância para o teste de F, indicando variação entre os tratamentos, foi realizada a comparação das médias desta variável pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A percentagem de discos infectados por amostra de solo separou os pomares em aproximadamente três grupos distintos (Tabela 2). Um grupo com maiores percentagens de discos infectados composto apenas pelos pomares Prado 27, Porto Seguro 16 e 13 e Eunápolis 2 (de 92% a 97%), O segundo grupo com oito pomares – Mucuri 23 e 22; Eunápolis 3, 7 e 1; Teixeira de Freitas 21; Porto Seguro 12 e Prado 26 (de 58% a 89%) e, o terceiro com 18 pomares cujas percentagens de iscas infectadas variaram de 0% a 45%.

Embora não seja possível uma comparação direta entre os dois métodos de detecção do patógeno utilizados neste estudo, foi observado que com exceção dos pomares Mucuri 25 (detectado apenas pelo método de iscas) e Alcobaça 30 (detectado apenas pelo método de diluição em placas de meio seletivo) os dois métodos foram igualmente eficientes na detecção do patógeno e na separação em níveis de infestação do solo, conforme observado na Tabela 2. Os pomares Porto Seguro 13 e 16 e Prado 27 encontram-se entre aqueles que apresentaram maiores números de UFC/g de solo e também maior percentagem de iscas infectadas. Além desses, os pomares Eunápolis 2 e 3 e Mucuri 23 também apresentaram resultados similares pelos dois métodos entre aqueles com níveis mais altos de infestação.

Em pomares de oito municípios amostrados quanto à infestação por *P. palmivora* em todos apresentaram áreas infestadas. Apenas em dois pomares, um situado no município de Porto Seguro (Pomar 17) e outro em Teixeira de Freitas (Pomar 19) não detectou-se a presença do patógeno (Tabela 3). Segundo dados da ADAB - Agência de Defesa Agropecuária da Bahia existem nestes oito municípios 8.811 pomares de mamoeiro plantadas com as variedades Formosa, Golden e Sunrise Solo. Como se vê, a amostragem realizada em 33 pomares, dos quais,

94% estavam infestados, é muito pequena em relação ao total de áreas plantadas com mamão no sul da Bahia, não permitindo inferências sobre a incidência geral do patógeno nessa região. No entanto, dos 14 municípios (Eunápolis, Porto Seguro, Teixeira de Freitas, Mucuri, Prado, Nova Viçosa, Alcobaça, Santa Cruz de Cabrália, Belmonte, Caravelas, Ibirapuã, Itabela, Vereda e Itamarajú) que produzem mamão na região, oito (57%), foram amostrados tendo sido positivos quanto à presença de *P. palmivora*.

Os municípios Prado e Porto Seguro são os que detém maior número de pomares de mamoeiro com 3.735 e 2.063 áreas, respectivamente. Nestes dois municípios apenas 9 pomares foram amostradas, sendo sete em Porto Seguro e dois em Prado. Fica evidenciado a necessidade de uma maior prospecção, principalmente nestes dois municípios. Das sete áreas amostradas em Porto Seguro em apenas uma o patógeno não foi isolado.

Santos & Luz (2006), realizaram um levantamento da ocorrência de *Phytophthora* spp. em acácia-negra (*Acacia mearnsii* Wild.) em municípios do Rio Grande do Sul em que esta espécie florestal é cultivada encontraram 100% de infestação das áreas avaliadas. Os autores atribuíram essa elevada infestação, provavelmente, à ampla gama de hospedeiros alternativos, apresentadas pelas espécies de *Phytophthora* que atacam aquela cultura (*P. nicotianae* e *P. boehmeriae*).

Para avaliação da infestação das 33 áreas nos municípios avaliados, não constatou-se a presença do patógeno apenas em dois pomares um situado no município de Porto Seguro e outro em Teixeira de Freitas.

Com relação as três variedades de mamão presentes nos pomares que foram inspecionados não constatou-se diferenças significativas ($p < 0,05$) para a variável variedade na ANOVA para os dois métodos avaliadas (método de disco e meio seletivo) (Figura 3).

A variedade Sunrise Solo, a mais cultivada no sul da Bahia (75,8%), estava presente em 15 dos pomares amostrados neste trabalho, enquanto as variedades Formosa e Golden estavam cultivadas em 12 e 6 pomares respectivamente (Tabela 1). Observou-se que na Figura 3A o número de UFC/g. de solos amostrados seguiu o mesmo padrão de distribuição em relação as três variedades, embora as diferenças entre elas não tenham sido significativas. O mesmo foi observado na Figura 3B para o método de detecção por meio do de iscas. Isto leva a sugerir que as três variedades não produzem metabólitos que inibam o desenvolvimento do patógeno, ou seja, nenhuma deve apresentar genes ligados a este mecanismo de resistência ao patógeno. Não existem relatos na região quanto a resistência ao patógeno em relação a estas três variedades que, portanto, são consideradas suscetíveis a *P. palmivora* (Dianese et al., 2007).

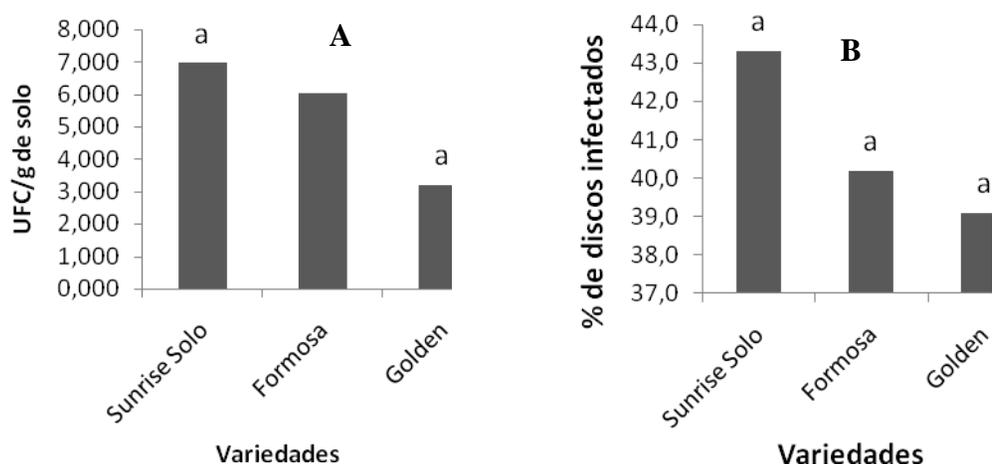


Figura 3 - Infestação de *Phytophthora palmivora* em solos cultivados com mamoeiro com as variedades Sunrise Solo, Formosa e Golden: (A) Isolamento em meio seletivo, (B) Isolamento através de iscas com discos frutos de mamão.

Sabe-se, que existem plantas que contém nos exsudatos radiculares, moléculas capazes de estimular a germinação de esporos e o crescimento de fungos. Estas moléculas não são sintetizadas ou são inativadas em plantas não hospedeiras. Estudos já desenvolvidos, em

condições de campo, demonstram que o cultivo de leguminosas (*Leucaena leucocephala*, *Crotalaria spectabilis*, *C. breviflora*, *C. mucronata*, *Mucuna aterrima*, *M. pruriens* e *Vigna unguiculata*) favorece a esporulação e a diversidade de espécies de micorrizas (Colozzi-Filho e Balota, 1994). Segundo estes autores o cultivo com a leguminosa *Crotalaria mucronata* favoreceu a maior abundância de esporos de fungos micorrizicos no solo. Como estas variedades de plantas são capazes de produzir metabólitos secundários em abundância, como por exemplo os aromáticos biologicamente ativos (Siqueira et al., 1991), seu envolvimento nas relações ecológicas com estes fungos merece considerações, uma vez que certos metabólitos, como os flavonóides, exercem efeitos diferenciados sobre tais fungos (Baptista & Siqueira, 1994; Romero & Siqueira, 1996, Benedetti et al., 2005).

Não foram encontrados relatos do efeito destas plantas no patossistema *P. palmivora* e mamoeiro o que, certamente pode vir a ser investigado futuramente.

Este trabalho possibilitou demonstrar a importância de *P. palmivora* para a cultura do mamoeiro no extremo sul da Bahia, evidenciando a necessidade de uma pesquisa minuciosa para quantificação das perdas causadas pelas podridões de raízes e dos frutos à produção agrícola do Estado considerando a importância do mamoeiro para esta região.

Ficou evidenciada também a necessidade de desinfestação do solo dos pomares de mamoeiro antes do replantio das áreas. Normalmente é feita a rotação com pastagens, o que pode ser importante se leguminosas foram utilizadas. Ações de controle biológico incorporando à matéria orgânica utilizada no plantio, também podem trazer resultados positivos e devem ser investigados.

4. AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo apoio financeiro e a concessão de bolsa, e a Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira por ceder suas estruturas físicas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ, A.M. & NELSON, M.O. Control of *Phytophthora palmivora* in papaya orchards with weekly sprays of chlorothalonil. **Plant Disease**, v. 87, p.37-39, 1982.

BAPTISTA, M. J. ; SIQUEIRA, J. O. Efeito dos flavanóides na germinação de esporos e no crescimento assimbiótico do fungo micorrizico arbuscular *Gigaspora gigantea* **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 6, p. 127-134, 1994.

BENEDETTI, T.; ANTONIOLLI, Z.I.E.; GIRACCA, M.N.; STEFFEN, R.B. Diversidade de fungos micorrizicos abusculares na cultura do milho após uso de espécies de plantas de cobertura de solo. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.4, p. 44-51, 2005.

COLOZZI-FILHO, A.; BALOTA, E.L. Micorrizas arbusculares. *In*: Hungria, M.; Araújo, R.S. (Eds.). **Manual de métodos empregados em estudos em Microbiologia Agrícola**. EMBRAPA, Brasília, p. 383-418, 1994.

DIANESE, A.C.; BLUM, L.E.B.; DUTRA, J.B.; LOPES, L.F.; SENA, M.C.; FREITAS, L.F.; YAMANISHI, O.K. Reação de genótipos de mamoeiro à varíola e à podridão-do-pé **Revista de Fitopatologia Brasileira**, v.32, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção agrícola municipal. Rio de Janeiro: **IBGE**. Disponível em: Acesso em 20 jun. 2007.

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

KO, W.H; KUNIMOTO, R.K.; NISHIJIMA, W.T. Fruit rot of guava by *Phytophthora citricola*. **Plant Disease**, v.66, n.9, p.854-5, 1971.

LUZ, E.D.M.N.; MATSUOKA, K. *Phytophthora*: Fungo protista ou Chromista? In: LUZ, E.D.M.N; SANTOS, A.F. dos; MATSUOKA, K.; BEZERRA, J.L. **Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil**. Livraria e Editora Rural, p. 1-21, 2001.

NAKASONE, H.Y. Papaya, In: **Compendium of tropical fruit diseases**, The American Phytopathological society, p. 56-64, 1994.

ROMERO, A.G. F.; SIQUEIRA J.O. Atividade de flavonóides sobre esporos do fungo micorrízico *Gigaspora gigantea* in vitro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 517-522, 1996.

SANTOS, A.F. dos; LUZ, E.D.M.N. Distribuição de *Phytophthora nicotianae* e *P. boehmeriae* nas plantações brasileiras de acácia-negra. **Fitopatologia Brasileira** v.31, p. 398-400. 2006.

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

SILVA, G. S.; URBEN, A. F.; DOIHARA, I. P. Ocorrência de *Phytophthora palmivora* em mamoeiro no Estado do Maranhão. Brasília, **Fitopatologia Brasileira**, p. 32, 1999.

SIQUEIRA, J. O.; NAIR, M.G.; HAMMERSHIMIDT, R. SAFIR, G.R. Significance of Phenolic compounds in plant- soilmicrobial systems. **Rev. Plant Science** v. 10, p. 63-121, 1991.

TEAKLE, D.S. Papaw root rot caused by *Phytophthora palmivora* Butl. **Queensland J. Agric. Sci.**, v.14, p.81-91, 1957.

CAPITULO 3

ATIVACÃO DE DEFESA POR INDUTORES BIÓTICOS E ABIÓTICOS CONTRA A PODRIDÃO RADICULAR EM MAMOEIRO.

Autores: Giltembergue Macedo Tavares, Delson Laranjeira, Edna Dora Martins Newman Luz,
Tacila Ribeiro Silva, Carlos Priminho Pirovani, Mário Lúcio Vilela de Resende e Pedro Martins

Ribeiro Júnior

Ativação de defesa por indutores bióticos e abióticos contra a podridão radicular em mamoeiro

Giltembergue Macedo Tavares⁽¹⁾, Delson Laranjeira⁽¹⁾, Edna Dora Martins Newman Luz⁽²⁾, Tacila Ribeiro Silva⁽²⁾, Carlos Priminho Pirovani⁽³⁾, Mário Lúcio Vilela de Resende⁽⁴⁾ e Pedro Martins Ribeiro Júnior⁽⁴⁾

⁽¹⁾Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Fitopatologia, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000 Recife, PE. e-mails: gilfito@yahoo.com.br, laranjeira@ufrpe.depa.br,

⁽²⁾Comissão Executiva de Plano da Lavoura cacaueira, Seção de Fitopatologia, Ilhéus-BA e-mails: ednadora@yahoo.com.br, tacila.ribeiro@yahoo.com.br, Caixa Postal 07, CEP 45.600-970,

⁽³⁾Universidade Estadual do de Santa Cruz, Departamento de Ciências Biológicas - Centro de Biotecnologia e Genética, e-mail: pirovani@uesc.br, CEP 45.662-000, ⁽⁴⁾Universidade Federal de Lavras, Departamento de Fitopatologia, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000 Lavras, MG. e-mails: mlucio@ufla.br, ribeirojuniorpm@yahoo.com.br.

Resumo - O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de indutores bióticos e abióticos na redução da incidência podridão radicular do mamoeiro, e na ativação da atividade da β -1,3-glucanase, peroxidase e quitinase e no acúmulo de lignina. Mudanças de mamoeiro foram pulverizadas com os fungicidas fosetil-Al, metalaxyl+mancozeb (2 g/L) e com os indutores abióticos: fosfito de potássio (2,5 e 5 mL/L), ácido salicílico 0,15 e 0,30%, acibenzolar-S-metil-ASM (0,15 e 0,3 g/L), reforce+ácido salicílico e o biótico *Saccharomyces cerevisiae* (3 e 6 mL/L), 3 e 6 dias antes da inoculação com 1 mL de suspensão de 10^5 zoósporos/mL de *Phytophthora palmivora*. Todos os tratamentos tiveram efeito no controle da podridão de raízes, em relação à testemunha, com exceção do reforce+ácido salicílico (6 mL/L) 3 dias antes da

inoculação. Os tratamentos com ASM, com exceção da dosagem 0,15g/L 6 dias antes da inoculação, apresentaram níveis de controle superiores aos demais indutores. Plantas pulverizadas com ASM apresentaram aumento de atividade da peroxidase e β 1,3-glucanase e maior concentração de lignina em relação à testemunha. No entanto, estes tratamentos não tiveram efeito sobre a atividade da quitinase. O ASM é um potencial indutor de resistência a *P. palmivora* para ser usado no manejo da podridão de raízes do mamoeiro.

Termos para indexação: *Carica papaya*, *Phytophthora palmivora*, lignina, peroxidase, glucanase, quitinase.

Defense activation by biotic and abiotics elicitors against the root rot of papaya tree

Abstract - The objective of this work was to evaluate the potential of biotic and abiotic elicitors to reduce the root rot of papaya tree, and to induce the activities of β 1,3-glucanase, peroxidase and chitinase and also the lignin content. Papaya seedlings were sprayed with the fungicides Fosetil-Al, metalaxyl+mancozeb (2 g/L) and treated by the abiotic elicitors: potassium phosphite (2,5 and 5 mL/L), salicylic acid 0,15 e 0,30%, acibenzolar-S-methyl-ASM (0,3 and 0,15 g/L), reinforce+salicylic acid, and the with biotic, *Saccharomyces cerevisiae*. The elicitors were applied at 3 and 6 mL/L and 3 and 6 days before the inoculation with 1 mL of suspension of 10^5 zoospores/mL of *P. palmivora*. All of the treatments were effective in controlling papaya root rot, as compared to the control, except for the treatment reinforce+salicylic acid (6 mL/L), 3 days before the inoculation. The treatment with the elicitors ASM, except in for dosage 0,15 g/L 6 days before the inoculation, showed levels of larger control to the other inductors. Plants sprayed with ASM showed an increase of the peroxidase and β 1,3-glucanase activities besides larger lignin concentration in relation to the control. However this treatment didn't show effect on the

chitinase activity. ASM is a potential resistance elicitor to used for managing the *P. palmivora* root rot of papaya tree.

Index terms: *Carica papaya*, *Phytophthora palmivora*, lignin, peroxidase, glucanase, chitinase.

Introdução

O mamoeiro é uma planta tropical, que encontra excelentes condições de desenvolvimento em várias regiões do Brasil. A participação brasileira na produção mundial de mamão é da ordem de 24%, com um volume de 1,6 milhões de toneladas de frutos (FAO, 2007).

A podridão de raízes e dos frutos do mamoeiro causada por *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. é considerada uma das principais doenças da cultura. Os danos econômicos variam grandemente de uma região para outra. No Brasil não há estatística a respeito, porém, perdas de frutos da ordem de 7-10% foram relatadas (Silva et al., 1999). 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).

O controle das doenças podridão de raízes e de frutos do mamoeiro é realizado com fungicidas. O uso de produtos químicos constitui sério risco para o meio ambiente e à saúde humana, pela presença de resíduos tóxicos. Além disso, alguns fungos que causam doenças ao mamoeiro já adquiriram resistência aos fungicidas, principalmente, aos sistêmicos, limitando o uso desses produtos e exigindo o desenvolvimento de pesquisas que visem integrar métodos alternativos ao manejo das doenças (Roberts & Kucharek, 2005). Uma tecnologia emergente que tem a capacidade de reduzir as podridões causadas por *Phytophthora* spp. em plantas é o emprego de indutores de resistência bióticos e abióticos (Jackson et. al, 2000; Dianese et. al., 2007)

Indutores podem ser usados para ativação de mecanismos de defesa em plantas por agirem diretamente como moléculas sinais ou induzirem a ativação de genes que codificam a síntese de fatores de resistência. Na indução de resistência, mecanismos latentes de defesa da planta são ativados por meio do tratamento com agentes indutores biológicos, físicos ou químicos (Ghaouth et al., 1998). A resistência induzida é um fenômeno biológico complexo que envolve a ativação de vários processos, incluindo: hipersensibilidade, barreiras estruturais, aumento da síntese de fitoalexinas e acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese (PRs- proteínas), como a hidrolase β 1,3-glucanase que degrada paredes celulares de patógenos fúngicos (Hammerschmidt, 1999).

O indutor abiótico acibenzolar-S-methyl (Bion®, Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, São Paulo-SP), considerado ativador de plantas, possui propriedades de eliciar respostas de resistência em plantas contra um amplo espectro de patógenos. Entre os indutores bióticos, o Agro-Mos® que é um mananoligossacarídeo fosforilado derivado da parede da levedura *Saccharomyces cerevisiae* 1026 (Hansen), Improcrop Brasil, Curitiba-PA, tem demonstrado eficiência no controle de doenças (Dantas et al., 2004). O fosfito de potássio é indicado no controle de oomycetos como *Phytium* spp. e *Phytophthora* spp. e de fungos causadores de podridões do colo, raízes, tronco e frutos (McDonald et al., 2001).

Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar a ação de indutores biótico e abióticos na redução da podridão de raízes em mudas de mamoeiro inoculadas com *P. palmivora*, na atividade das enzimas de defesa, β 1,3-glucanase, peroxidase e quitinase, assim como no teor de lignina das raízes.

Material e Métodos

Dois experimentos sucessivos foram montados para alcançar os objetivos propostos, sendo a produção de mudas desenvolvida em bancadas com sistema misto de cobertura e pleno sol, e as análises bioquímicas realizadas no Laboratório de *Phytophthora* do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC) na CEPLAC, no Laboratório de Genética da UESC em Ilhéus – BA e no Laboratório de Resistência de Plantas da UFLA, em Lavras-MG de setembro de 2007 a agosto de 2008.

Mudas de mamoeiro da var. Golden foram preparadas em tubetes dispostos em bandejas para 54, cada um com capacidade para 288 cm³ de substrato, contendo a mistura de 50 % Plantimax floresta + 50 % solo esterilizado. Foram plantadas três sementes/tubete a aproximadamente 1 cm de profundidade. Após a germinação, realizou-se o desbaste deixando apenas uma muda/tubete.

O experimento foi montado em blocos casualizados, com quatro repetições de 15 plantas para cada tratamento. Os tratamentos foram: T0 – Testemunha sem inoculação, T1 - Testemunha Inoculada, T2 - Fosetil Al (2 g/L), T3 – metalaxyl+mancozeb (2 g/L), aplicado 3 dias antes da inoculação (DAI); T4 - fosfito de potássio 40/20 (2,5 mL/L), 3 DAI; T5 - fosfito de potássio 40/20 (5 mL/L), 3 DAI; T6- fosfito de potássio 40/20 (2,5 mL /L), 6 DAI; T7 - fosfito de potássio 40/20 (5 mL /L), 6 DAI; T8 - ácido salicílico 0,15%, 3 DAI; T9 - ácido salicílico 0,30%, 3 DAI; T10 - ácido salicílico 0,15%, 6 DAI; T11 - ácido salicílico 0,30%, 6 DAI; T12 reforce + ácido salicílico (3 mL/L), 3 DAI; T13 - reforce + ácido salicílico (6 mL/L), 3 DAI; T14 - reforce + ácido salicílico (3 mL/L), 6 DAI; T15 - reforce + ácido salicílico (6 mL/L), 6 DAI; T16 - Agro-Mós® (3 mL/L), 3 DAI; T17 - Agro-Mós® (6 mL/L), 3 DAI; T18 - Agro-Mós® (3 mL/L), 6 DAI; T19 - Agro-Mós® (6 mL/L), 6 DAI; T20 - acibenzolar-S-methyl (ASM), (0,15 g/L) 3 DAI; T21 ASM (0,3 g/L), 3 DAI; T22 - ASM (0,15 g/L), 6 DAI; T23 - ASM (0,3 g/L), 6 DAI.

As aplicações dos indutores e dos fungicidas foram realizadas por meio da pulverização foliar das plantas com auxílio de um borrifador.

Aos 45 dias após o plantio procedeu-se a inoculação com *P. palmivora* utilizando o isolado 356 da coleção de *Phytophthora* Arnaldo Medeiros, do CEPEC, comprovadamente patogênico, cultivado em meio de cultura cenoura-ágar (CA) durante sete dias, a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, sob luz contínua. O inóculo foi obtido segundo procedimento descrito por Luz et al. (2008). A concentração da suspensão aferida em hemacitômetro, foi posteriormente ajustada para 10^5 zoósporos/mL, conforme Tocafuldo (2008). O substrato de cada tubete foi infestado com 1 mL da suspensão de zoósporos de *P. palmivora* com auxílio de uma pipeta automática. Em seguida as plantas foram levadas para casa de vegetação climatizada onde permaneceram por três dias, depois retornaram para as bancadas aonde se encontravam anteriormente.

A avaliação da incidência da podridão-de-raízes foi realizada diariamente até 30 dias após a inoculação. Cada planta morta teve o sistema radicular plaqueado em meio seletivo para confirmação da presença de *P. palmivora* como agente etiológico. Os níveis de controle foram estimados pelo percentual de sobrevivência das mudas.

Foram coletadas 1,5 gramas de folhas das plantas de cada tratamento para quantificação de proteínas totais e atividade das enzimas β 1,3- glucanase, peroxidase e quitinase aos 5 e 10 dias após a inoculação do patógeno. Imediatamente após cada coleta, as folhas foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -20°C até o momento da maceração. Para avaliação das atividades enzimáticas 1,5 g de folhas de cada tratamento foi macerado em almofariz com 15 mL tampão acetato de sódio 50 mM, pH 5,2; com 0,07g de antioxidante polivinilpirrolidone (PVP). Em seguida, a mistura foi filtrada em pano de trama fina e a suspensão foi centrifugada a 14.000 g por 15 min, a 4°C . O sobrenadante coletado de cada amostra para ser usado como fonte enzimática foi transferido para micro-tubos 2 mL e mantido a -80°C até o momento das análises.

As proteínas solúveis contidas nos extratos foram aferidas pelo ensaio de Bradford (1976), utilizando-se um padrão de albumina de soro bovino (BSA).

As atividades de peroxidases foram determinadas de acordo com o método de Kar & Mishra (1976), utilizando-se, guaiacol na presença de peróxido de hidrogênio, sendo os resultados expressos em unidade de atividade enzimática por miligrama de proteína por minuto. A atividade de quitinases foi determinada pela adição de 70 μL do extrato enzimático à solução com 100 μL de acetato de sódio 50 mM, pH 5,2 e 50 μL de CM-Chitin-RBV (2 mg mL⁻¹), substrato específico para quitinase fornecido por Loewen Biochemica GmbH, em microplacas de 96 cavidades, com capacidade de 350 μL . Depois da incubação a 38^oC, por 120 min, as amostras foram acidificadas com 50 μL de HCl 1 N, resfriadas em banho de gelo por 10 min e centrifugadas a 1.450 g por 10 min. Uma alíquota de 200 μL do sobrenadante de cada amostra foi transferida para novas microplacas para leitura a 492 nm, em um leitor EIA-compatível (Wirth & Wolf, 1990).

As atividades de β 1,3-glucanases foi medida seguindo método análogo, apenas com a troca do substrato para CM-Curdlan-RBB (4 mg mL⁻¹) e com o ajuste da alíquota do extrato enzimático para 100 μL (deduzido o volume do tampão acetato, a fim de se ajustar o volume final em 310 μL por cavidade). Para promover a ação hidrolítica da β 1,3-glucanase foi adotado tempo de incubação de 38^oC por 120 min. As amostras foram então medidas fotometricamente em filtro de 620 nm de um leitor EIA. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

O segundo experimento, baseado nos dados do experimento anterior foi composto por dois tratamentos: Um com aplicação do indutor ASM (0,3 g/L) e inoculação de *P. palmivora* e o outro a testemunha inoculada com o patógeno pulverizada apenas com água destilada. O experimento foi montado em blocos casualizados, com três repetições com quatro plantas repetição. As mudas de mamoeiro do tratamento com o indutor foram pulverizadas com um

borrifador e a testemunha foi pulverizada apenas com água destilada esterilizada, cinco dias antes da inoculação com *P. palmivora*, realizada conforme descrito para o experimento 01. Procedeu-se a coleta das folhas de mamoeiro em diferentes épocas (Figura 1) para determinar a atividade enzimática (β 1-3 glucanase, peroxidase e quitinase). Já para a determinação de lignina coletou-se amostras de raízes no momento da pulverização e dez dias após a mesma.

O conteúdo de lignina foi determinado como descrito por Stadnik (1999), por meio do ensaio com ácido tioglicólico (Monties, 1989) e os resultados expressos em miligrama de lignina por grama de matéria fresca.

Os dados das mudas/tratamentos e atividade enzimática foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey e Scott-Knot ao nível de 5% de probabilidade por meio do programa estatístico SAS e SISVAR.

Resultados e Discussão

No experimento 01 de forma geral, nas plantas pulverizadas com os indutores de resistência, os valores da incidência da doença atingiram um patamar máximo entre o 10^o e o 15^o DAI (dias após a inoculação de *P. palmivora*), tendo alcançado a mortalidade das plantas até o 30^o DAI, quando atingiram 100% em uma repetição da testemunha apenas inoculada com o patógeno (T1). Nesse período, o maior percentual de mortalidade 91,7 % foi constatado nas testemunhas apenas inoculadas com *P. palmivora*.

Todas as substâncias testadas reduziram o avanço da mortalidade das plantas causada por *P. palmivora* (Figura 2). No entanto, a redução da incidência da doença foi mais notada nos tratamentos com o indutor ASM nas diferentes doses e épocas de aplicação. As porcentagens de sobrevivência para os tratamentos com este indutor foram de 66,8% para os tratamentos T21 (0,3 g/L, 3 DAI) e T20 (0,15 g/L, 3 DAI), 65,0% para o T23 (0,3 g/L, 6 DAI) e 56,7% para o T22

(0,15g/L, 6 DAI). Todos os tratamentos diferiram estatisticamente do fungicida padrão (metalaxyl+mancozeb – T3), utilizado no controle de doenças causadas por *Phytophthora* spp. cuja eficiência de controle foi de 83,3% (Figura 2). O tratamento 22 embora tenha tido uma eficiência estatisticamente menor dos tratamentos T20, T21 e T22 com ASM; apresentou um nível de controle similar ao do fungicida fosetil-Al (T2) também utilizados no controle de *P. palmivora* em mamoeiro. Todos os tratamentos, com exceção do T14 (reforce+ácido salicílico 3 mL/L, 6 DAI) diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) da testemunha inoculada apenas com *P. palmivora* (T1) cuja taxa de sobrevivência das plantas nesta mesma época, foi da ordem de 8,3%. As plantas mortas da testemunha inoculada T1 e dos demais tratamentos que foram plaqueadas em meio seletivo desenvolveram colônias de *P. palmivora*. Nenhuma planta do tratamento T0 morreu ou apresentou sintomas.

Resultados similares foram encontrados por Rodrigues et al. (2006) quando utilizou o ASM, em caupi aos cinco dias após a germinação, que proporcionou um controle da murcha de *Fusarium* nas duas cultivares testadas, sendo que a cultivar BR-17 Gurguéia, suscetível à murcha de *Fusarium*, apresentou um controle de 68,90%, enquanto a cultivar IPA-206, com resistência intermediária, apresentou 71,59% de controle.

Paralelamente à redução da incidência da podridão de raízes das plantas de mamoeiro inoculadas com *P. palmivora* promovida pelo ASM nas diferentes doses e intervalos (T20, T21 e T23) sobre as plantas de mamoeiro observou-se também, nas folhas coletadas 5 dias após a inoculação (coleta de folha 1), o efeito dos mesmos tratamentos provocando o aumento das atividades da β 1,3-glucanases. Além do tratamento com ASM, o tratamento 6 também mostrou aumento da atividade dessa enzima na mesma coleta (Figura 3A). Já na 2ª coleta de folhas, 10 dias após a inoculação, (Figura 3B) observou-se uma redução na atividade de β 1,3-glucanases, em todos tratamentos em relação a 1ª coleta, de 10 vezes aproximadamente. Entretanto, ainda

assim, os valores obtidos para os tratamentos com ASM (T20, T21, T22 e T23), induziram aumento de β 1,3-glucanases em relação aos demais tratamentos, diferindo estatisticamente dos demais ($p < 0,05$), que comportaram-se similarmente as testemunhas.

Na avaliação para determinação da atividade das enzimas peroxidases na 1ª coleta de folhas (Figura 4A) constatou-se que os tratamentos com aplicação de ASM demonstraram maior atividade dessas enzimas que os demais tratamentos, com destaque para o tratamento 23 (ASM 0,3 g/L e 6 DAI) que diferiu estatisticamente dos demais, seguido pelos tratamentos T20, T21 e T22, respectivamente. Na 2ª coleta de folhas constatou-se que as atividades dessas enzimas mantiveram-se praticamente constantes. O ASM apresentou uma atividade significativamente mais elevada que os demais tratamentos, tendo sido os tratamentos T23 (0,3 g/L e intervalo 6 DAI) e T20 (0,15 g/L e intervalo 3 DAI) e T22 (0,15 g/L e intervalo 6 DAI) os melhores para este parâmetro que os demais indutores. Os tratamentos 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 17 e 19 foram similares as testemunhas (Figura 4B). Cavalcanti et al. (2006) trabalhando com o patossistema tomateiro e *Xanthomonas vesicatoria* constataram também aumento da atividade da enzima peroxidase após a pulverização com o ASM.

O acibenzolar-S-metil (ASM) tem sido exaustivamente estudado ao longo dos anos, como potencial indutor químico de resistência e iniciador de RSA (Resende et al., 2002; Cavalcanti et al., 2006). Resultados deste trabalho indicam que ASM, quando pulverizado em plantas, antes da inoculação de *P. palmivora*, promove aumento nas atividades das peroxidases e β 1,3-glucanases.

Com relação às respostas afirmativas, uma correlação estreita entre as enzimas estudadas e suas funções hidrolíticas, no contra-ataque da planta à infecção causada por *P. palmivora*, ainda é pouco conhecida. No entanto, segundo Cavalcanti et al. (2006) pode-se afirmar que os mecanismos de defesa foram elicitados depois da pulverização das plantas com o ASM.

No segundo experimento quando foi usado como indutor apenas o ASM (0,6 g/L), constatou-se que as plantas de mamoeiro da var. Golden pulverizadas com ASM apresentaram aumentos da atividade da enzima β 1,3 glucanases a partir do primeiro DAP com o indutor. A atividade máxima dessa enzima foi aos 5 DAP. Já as plantas testemunhas pulverizadas apenas com água destilada esterilizada e submetidas à inoculação manifestaram uma baixa tendência de aumento de atividade de β 1,3-glucanases aos 5,25 DAP (Figura 5). Constatou-se também que níveis elevados na atividade da β 1,3-glucanase foram associados à redução substancial da podridão de raízes do mamoeiro, o que denota um provável envolvimento de β 1,3-glucanase na redução da doença no experimento 1.

Plantas pulverizadas com ASM também iniciaram aumento de atividade das peroxidases a partir do primeiro dia após a pulverização (DAP), Apresentaram maior atividade ao terceiro DAP. A partir do quarto DAP teve início a redução de atividade, porém ainda com atividade muito superior ao controle (Figura 6). As plantas testemunhas, que foram apenas inoculadas com o patógeno, apresentaram aumento da atividade de peroxidase somente após a inoculação do patógeno, indicando estímulo à presença do mesmo. A curva de atividade das peroxidases na testemunha, no entanto, é bem mais baixa que o tratamento com ASM (Figura 6). A atividade de peroxidase tem sido associada a uma variedade de processos relacionados à defesa em plantas, até mesmo reações de hipersensibilidade, lignificação e suberização (Silva, 2007). Pereira et al. (2008) observaram picos de atividade de peroxidase aos 8 e 18 DAP, em plantas de cacau tratados com ASM visando o controle da *murcha-de-verticilium*.

De fato, medidas de atividades das peroxidases e β 1,3-glucanases foram os primeiros indicativos da ativação de respostas de defesa das plantas, a partir da aplicação do eliciador em teste.

Não houve efeito do elicitor em relação a atividade da quitinase (figura 7) as curvas da plantas tratadas e não tratadas foram similares. Após a inoculação do fungo houve nos dois casos. O fato do ASM não induzir a atividade das PRs-proteínas quitinases, é muito importante, pois, *P. palmivora* não possui quitina na sua parede celular, e a ativação dessas enzimas pode acarretar em um custo energético para planta (Heil et al, 2000).

Em relação às concentrações de lignina total, plantas tratadas com ASM apresentaram concentrações de lignina superiores à testemunha apenas na segunda coleta de raízes, 10 DAP (Figura 8). Tal fenômeno pode ter ocorrido em virtude do efeito do indutor e do reconhecimento do patógeno pelo hospedeiro. Segundo Kúc (2001), a lignificação da parede celular é caracterizada como uma das reações desencadeadas pelo sistema de defesa da planta no sentido de impedir a penetração ou restringir a colonização dos tecidos por patógenos.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo apoio financeiro e concessão de bolsas de Doutorado (Tavares, G.M.) e de Pesquisadora (Luz, E.D.M.N), Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira por ceder suas estruturas físicas e a CALIMAN AGRÍCOLA pelo fornecimento de sementes e mudas de mamoeiro.

Referências

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

CAVALCANTI, F.R.; RESENDE, M.L.V. de, PEREIRA, R.B., COSTA, J., de C., do B., CARVALHO, C.P. da S. Atividades de quitinase e beta-1,3-glucanase após eliciação das defesas do tomateiro contra a mancha-bacteriana, **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.41, p.1721-1730, 2006

DIANESE, A.C.; BLUM, L.E.B.; DUTRA, J.B.; LOPES, L. F.; SENA, M.C.; FREITAS, L.F.; YAMANISHI, O.K. Redução da Podridão do Pé (*Phytophthora palmivora*) do Mamoeiro (*Carica papaya*) por Fosfitos. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, p.166, 2007.

FAO. **Papaya production and harvested area**. Apresenta informações sobre produção e produtividade de mamão no mundo. vel em: <<http://faostat.fao.org/>. Acesso em: 19 mar. 2007.

GHAOUTH, A.; WILSON, C.L.; WISNIEWSKI, M. Ultrastructural and cytochemical aspects of the biological control of *Botrytis cinerea* by *Candida saitoana* in apple fruit. **Phytopathology**, v.88, p.282-291, 1998.

HAMMERSCHMIDT, R. Induced disease resistance: how do induced plants stop pathogens? **Physiology and Molecular Plant Pathology**, v.55, p.77-84, 1999.

HEIL, M.; HILPERT, A.; KAISER, W.; LINSENMAIR, K.E. Reduced growth and seed set following chemical induction of pathogen defense: does systemic acquired resistance (SAR) incur allocation costs? **Journal of Ecology**, v. 88, p.645-654, 2000.

KAR, M.E.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, v.57, p.315-319, 1976.

KÚC, J. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. **European Journal of Plant Pathology**, v.107, p.7-12, 2001.

LUZ, E.D.M.N.; SILVA, S.D.V.M.; BEZERRA, J.L.; SOUZA, J. de T.; SANTOS A.F. dos, Glossário Ilustrado de *Phytophthora*: Técnicas especiais para o estudo de oomicetos, Itabuna, p. 95-118, 2008.

McDONALD, A.E.; GRANT, B.R.; PLAXTON, W.C. Phosphite (phosphorous acid): its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. **Journal of Plant Nutrition**, v. 24, p. 1505-1519, 2001.

MONTIES, B. Lignins. In: DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. (Eds.). **Methods in plant biochemistry**. New York: Academic, 1989, p. 113-158.

PEREIRA, R. B.; RESENDE, M. L. V. DE; RIBEIRO JÚNIOR, P. M.; AMARAL D. R. LUCAS, G. C.; CAVALCANTI, F. R. Ativação de defesa em cacaueiro contra a murcha-de-verticílio por extratos naturais e acibenzolar-S-metil. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.43, p.171-178, 2008.

RESENDE, M.L.V.; NOJOSA, G.B.A.; CAVALCANTI, L.S.; AGUILAR, M.A.G.; SILVA, L.H.C.P.; PEREZ, J.O.; ANDRADE, G.C.G.; CARVALHO, G.A.; CASTRO, R.M. Induction of

resistance in cocoa against *Crinipellis pernicioso* and *Verticillium dahliae* by acibenzolar-S-methyl (ASM). **Plant Pathology**, v.51, p.621-628, 2002.

ROBERTS, P.; KUCHARREK, T. **Florida Plant Disease Management Guide: Cucumber**, Cooperative Extension Service/Institute of Food and Agricultural, Jan. 2005. Disponível em <<http://edis.ifas.ufl.edu>> Acesso em setembro de 2005.

RODRIGUES, A.A.C.; NETO, E. B.; COELHO, R.S.B. Indução de Resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* em Caupi: Eficiência de Indutores Abióticos e Atividade Enzimática Elicitada, **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 492-499, 2006

SILVA, G.S.; URBEN, A.F.; DOIHARA, I.P. A ocorrência de *Phytophthora palmivora* em mamoeiro no Estado do Maranhão. Brasília, **Fitopatologia Brasileira**, v. 18, p. 32, 1999.

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

SILVA, R.F. **Indução de resistência em plantas de berinjela e tomate por *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra bactérias causadoras de murchas (*Rizoctonia solanacearum*) e cancro (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)**. 2007. 109p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

STADNIK, M.J. **Induction of resistance in wheat by a benzothiadiazole derivative against the powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*): practical aspects and mechanisms of action.** 1999. 138p. Thesis (Ph.D) - University of Hohenheim, Stuttgart.

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

WIRTH, S.J.; WOLF, G.A. Dye-labelled substrates for the assay and detection of chitinase and lysozyme activity. **Journal of Microbiological Methods**, v. 12, p. 197-205, 1990.

Gráficos e Tabelas

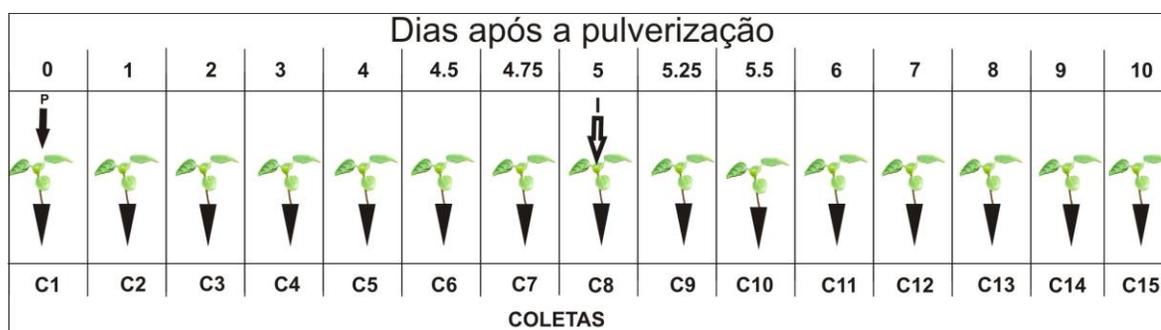


Figura 1 - Esquema das coletas (C1 a C15) de tecido vegetal das mudas de mamoeiro da variedade Golden para análise de atividade de peroxidase de guaiacol, quitinases, β -1,3-glucanases e determinação de lignina. (P) pulverização dos tratamentos e (I) inoculação de *P. palmivora*.

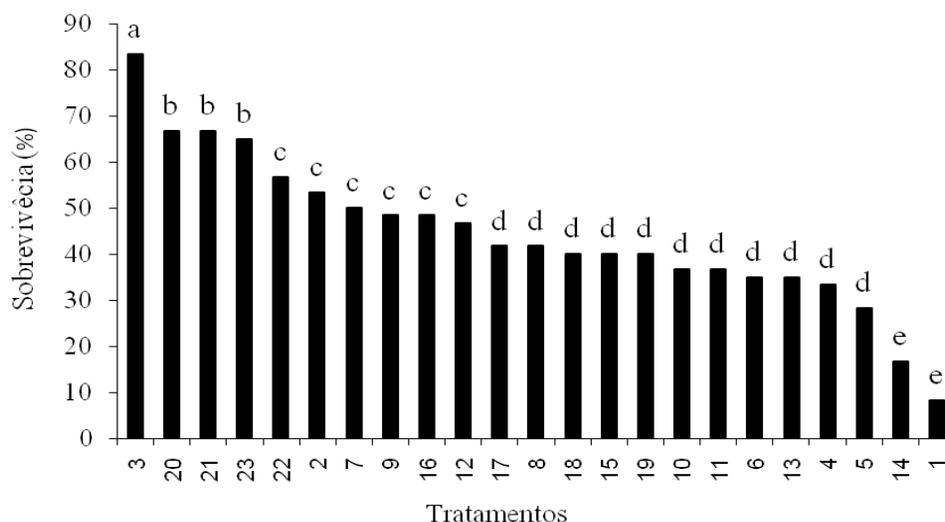


Figura 2. Sobrevivência de plantas de mamoeiro da var. Golden 30 dias após a inoculação com *Phytophthora palmivora*. As substâncias testadas foram pulverizadas nas folhas três e seis dias antes da inoculação do patógeno. Colunas com letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

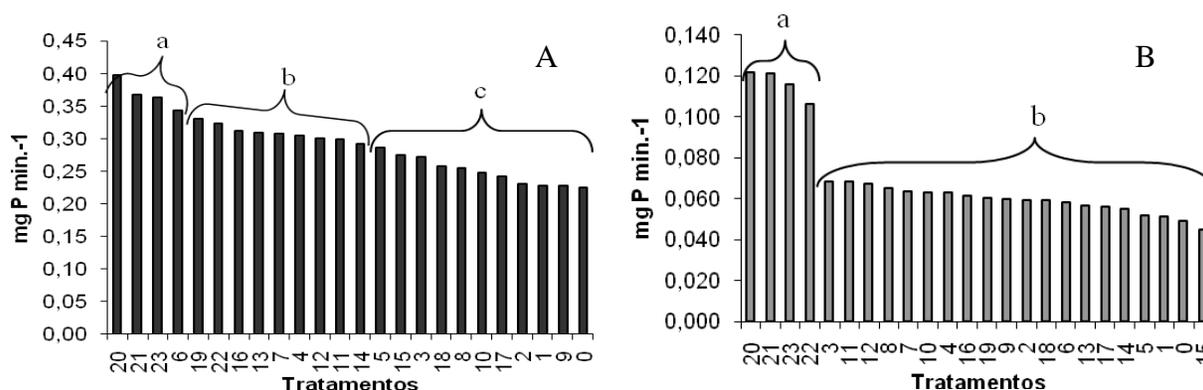


Figura 3. Atividade de β 1,3 glucanases (UA por mg de proteína por min.) em folhas de mamoeiro da var. Golden, inoculadas com *Phytophthora palmivora*, e com os produtos três e seis dias antes da inoculação: **A** - em folhas coletadas 5 dias após a inoculação e **B** - em folhas coletadas 10 dias após a inoculação. Colunas com letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade (dados transformados para raiz quadrada de x).

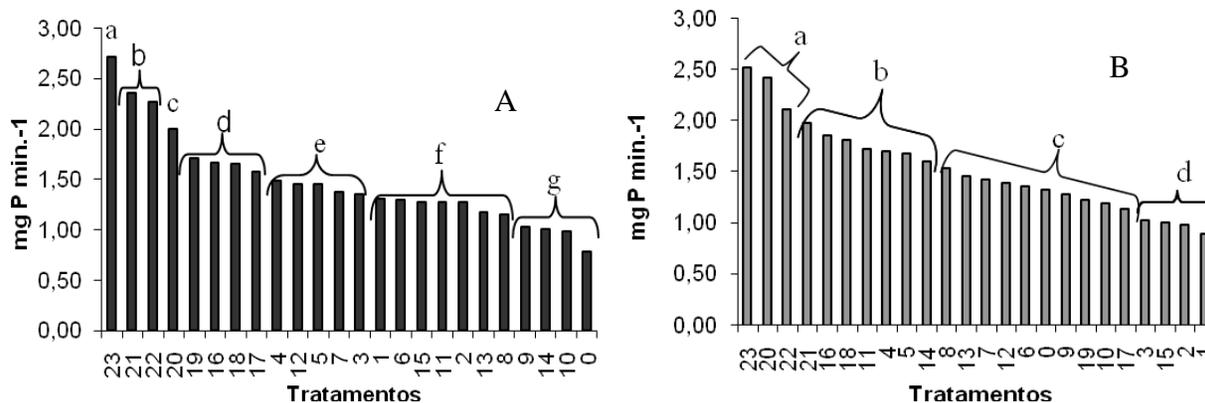


Figura 4. Atividade de peroxidases (UA por mg de proteína por min.) em folhas de mamoeiro da var. Golden, inoculadas com *Phytophthora palmivora* e pulverizadas com os indutores três e seis dias antes da inoculação: **A**; coleta das folhas 5 dias após a inoculação e **B**; coleta das folhas 10 dias após a inoculação. Colunas com letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade (dados transformados para raiz quadrada de x).

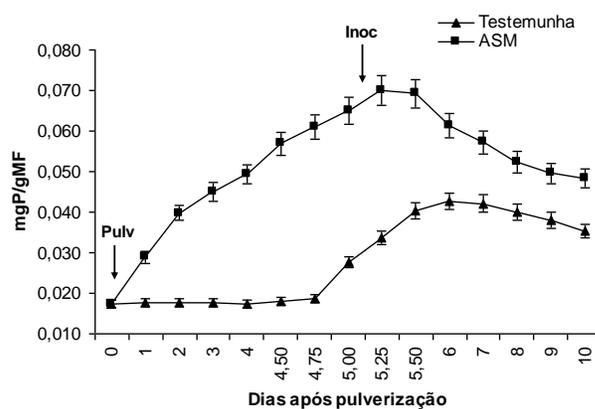


Figura 5. Atividade de β 1,3-glucanases em folhas de mamoeiro da var. Golden, inoculadas com *Phytophthora palmivora* 5 dias após a pulverização com o indutor ASM e com água ocorrida 45 dias após o plantio: Respostas enzimáticas foram avaliadas 0; 1; 2; 3; 4; 4,5; 4,75; 5; 5,25; 5,5; 6; 7; 8; 9 e 10 dias após a pulverização. Barras de erros indicam desvio-padrão da média. Setas indicam o momento da pulverização (Pulv) e da inoculação do patógeno (Inoc).

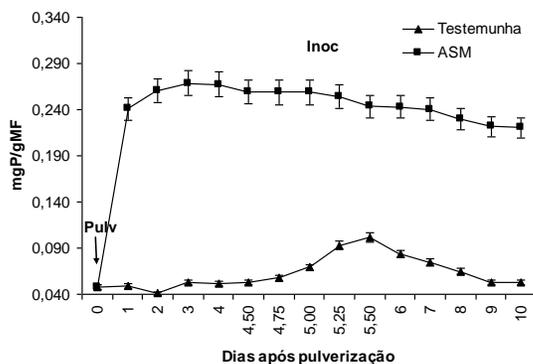


Figura 6. Atividade das peroxidases em folhas de mamoeiro da var. Golden, inoculadas com *Phytophthora palmivora*. 5 dias após a pulverização com o indutor ASM e com água ocorrida 45 dias após o plantio: Respostas enzimáticas foram avaliadas 0; 1; 2; 3; 4; 4,5; 4,75; 5; 5,25; 5,5; 6; 7; 8; 9 e 10 dias após a pulverização. Barras de erros indicam desvio-padrão da média. Setas indicam o momento da pulverização (Pulv) e da inoculação do patógeno (Inoc).

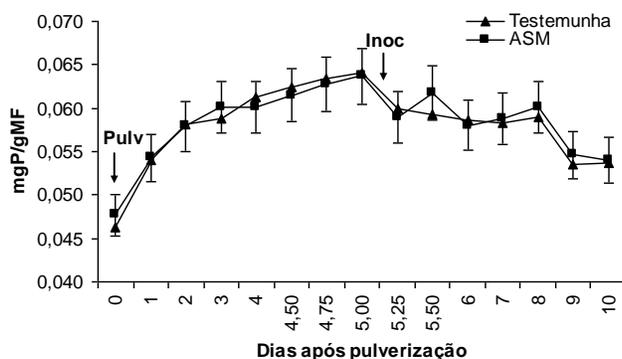


Figura 7. Atividade da quitinase em folhas de mamoeiro da Variedade Golden, inoculadas com *Phytophthora palmivora*. 5 dias após a pulverização com o indutor ASM e com água ocorrida 45 dias após o plantio: Respostas enzimáticas foram avaliadas 0; 1; 2; 3; 4; 4,5; 4,75; 5; 5,25; 5,5; 6; 7; 8; 9 e 10 dias após a pulverização. Barras de erros indicam desvio-padrão da média. Setas indicam o momento da pulverização (Pulv) e da inoculação do patógeno (Inoc).

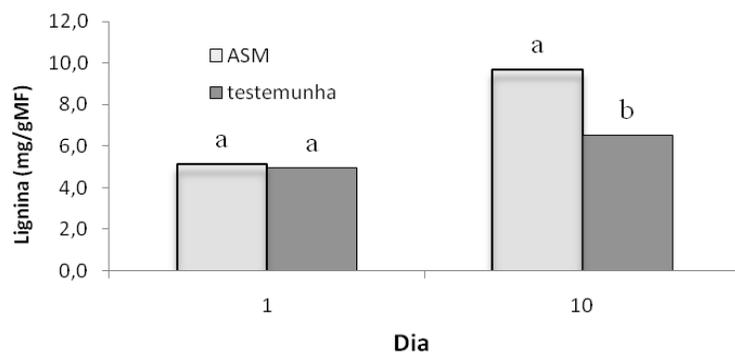


Figura 8. Concentração de lignina ácido solúvel em raízes de mamoeiro variedade Golden em 0 e 10 dias após pulverização com os tratamentos: ASM, acibenzolar-S-metil e testemunha com inoculação. Colunas com letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de T, a 5% de probabilidade.

CAPITULO 4

AÇÃO ANTAGÔNICA DE *TRICHODERMA* SPP. CONTRA *Phytophthora palmivora* E SEU EFEITO NO DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE MAMOEIRO.

Autores: Giltembergue Macedo Tavares, Delson Laranjeira, Edna Dora Martins Newman Luz,
Gilvado Rocha Niella, Tacila Ribeiro Silva

RESUMO- Este trabalho foi realizado com o objetivo de se avaliar a atividade antagônica de isolados de *Trichoderma* spp. a *Phytophthora palmivora*. Para tanto, foram realizados testes *in vitro* pelo método de pareamento de discos de micélio de *P. palmivora* e 71 isolados de *Trichoderma* spp., também foram realizados testes para avaliar a capacidade de colonização desses isolados em solo no sentido horizontal em placas e vertical em tubos de ensaio. Para avaliar o controle da podridão de raízes em mudas utilizou-se 36 tratamentos, sendo 33 isolados de *Trichoderma* spp., um com o fungicida padrão (mancozeb+Metalaxyl) e duas testemunhas sendo uma inoculadas apenas com o patógeno e a outra testemunha absoluta. Os testes *in vitro* serviram de base para seleção dos 33 isolados de *Trichoderma* spp. para realizar os teste *in vivo*. Dos 33 isolados de *Trichoderma* utilizados apenas dois (T70 - *T. harzianum*, T68 - *T. virens*) não diferiram estatisticamente do tratamento com o fungicida padrão e apresentaram percentuais de sobrevivência de 58,3 e 52,4 respectivamente. Foi avaliado também o efeito destes dois isolados de *Trichoderma* sobre incremento de massas seca e fresca em mudas de mamoeiro e constatou-se que dois isolados apresentaram maiores aumentos nestes dois parâmetros quando comparados com a testemunha. Os isolados T70 e T68 apresentaram um incremento de massas fresca e seca total de 110; 73% e 59; 59% respectivamente, comparados com a testemunha. Os isolados de *T. harzianum* e *T. virens* apresentaram potencial como agentes biocontroladores de *P. palmivora* para serem usados no manejo da podridão de raízes do mamoeiro.

Palavravra-chaves: Controle biológico, Podridão de raízes, gomose, mamão.

ABSTRACT- This work was carried out in order to evaluate the antagonistic activity of isolated of *Trichoderma spp.* to the *Phytophthora palmivora*. Thus, tests were performed *in vitro* by the method of matching of discs of mycelium of *P. palmivora* and 71 isolated of *Trichoderma spp.* Tested were also performed to assess the ability of colonization of these isolates in the soil in the horizontal direction and vertical plates in test tubes. To evaluate the control of root rot in seedlings 36 treatments were used, with 33 isolated of *Trichoderma spp.* One of them, as using a standard fungicide (mancozeb+Metalaxyl) and two witnesses, as being one inoculated with only one pathogen and the other one absolute. Tests *in vitro* served as a basis for selection of those 33 isolated of *Trichoderma spp.* to perform the test *in vivo*. From those 33 isolated of *Trichoderma* only 2 were used (T70 - *T. harzianum*, T68 - *T. virens*) and they did not differ statistically from that treatment using the standard fungicide, and they showed the percentage of survival of 58,3% and 52,4% respectively. It was also evaluated the effect of these two isolated of *Trichoderma* on increase in dry weight and fresh weight in seedlings of papaya and it was noted that two isolated showed higher increases in these parameters when compared with witness. The isolated of T70 and T68 showed an increase in total fresh and dry weights of 110, 73% and 59, 59% respectively, when it was compared with the control only planted in the soil. The isolated *T. harzianum* and *T. virens* presented potential biocontrol agent of *P. palmivora* in order to be used in the management of root rot of papaya.

Key words: biologic Control, *gummosis*, *Trichoderma*, papaya.

1. INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.), possivelmente originário da América Central é uma das plantas tropicais de maior importância na produção brasileira e mundial de fruteiras (NAKASONE, 1994).

O Brasil é o maior produtor mundial de mamão e o terceiro maior exportador, depois de México e Malásia. A região Nordeste é responsável por 73,1% da área plantada no país, com 29 mil hectares e colheita anual de 1,14 milhões de toneladas. Os principais estados produtores são Bahia, Espírito Santo, Paraíba, Ceará, Pará e Rio Grande do Norte. A Bahia é o primeiro produtor brasileiro do fruto, atingindo 954.439 toneladas, com destaque para a região Extremo Sul (OLIVEIRA; ANJOS, 2008).

O mamoeiro apresenta diversos problemas fitossanitários, tais como pragas e várias doenças fúngicas. Dentre as doenças fúngicas, a podridão de raízes e dos frutos é uma das principais a nível mundial, chegando a causar 60% de perda da produção (SILVA, 2001). O agente etiológico da podridão das raízes e dos frutos do mamoeiro é *P. palmivora* (Butler) Burtler, que possui vários outros hospedeiros entre as plantas cultivadas no sul da Bahia incluindo o cacaueteiro, a seringueira, o coqueiro e a pupunheira (LUZ; MATSUOKA, 2001).

Este patógeno caracteriza-se pela formação, além dos esporângios, que liberam os zoósporos, de clamidósporos que são esporos de resistência, podendo sobreviver em restos de culturas ou associados à hospedeiros secundários. Os clamidósporos em condições favoráveis ao patógeno, alta umidade no solo e temperaturas em torno de 27 °C, germinam e produzem esporângios, que, em presença de água livre, liberam os zoósporos. Estes propágulos são atraídos quimiotaticamente para as raízes das plantas hospedeiras (LUZ; MATSUOKA, 2001). Os mecanismos de sobrevivência e esporulação com liberação ativa de propágulos fazem das

espécies do gênero *Phytophthora* patógenos altamente eficientes. Por esta razão no caso específico do mamoeiro, quando o solo foi anteriormente plantado com mamão ou outra cultura hospedeira o potencial de inóculo latente pode causar epidemias, se as plantas se encontram na fase de maior susceptibilidade, até os três meses de idade (KO, 1994).

Normalmente, fungicidas são utilizados no controle das podridões de raízes e de frutos do mamoeiro. Porém, trata-se de um método de controle dispendioso e que pode deixar resíduos tóxicos nos frutos. Há ainda outros inconvenientes como: desenvolvimento de resistência por parte do patógeno; baixa eficiência de controle quando não aplicados adequadamente; contaminação ambiental e danos a saúde humana. Desta forma, técnicas alternativas para o controle integrado dessas doenças são necessárias (ROBERTS; KUCHARÉK, 2005).

O controle biológico tem sido estudado e utilizado no manejo integrado de várias doenças, sendo já, informalmente utilizado na região Sul da Bahia embora pesquisas direcionadas para essa área no mamoeiro ainda sejam incipientes.

O gênero *Trichoderma* está bem documentado como agente de controle biológico eficiente para patógenos de solo, com potencial de utilização em doenças de fruteiras causadas por *Phytophthora* spp. como por exemplo, no patossistema macieira (*Malus* sp.) e *Phytophthora cactorum* (ALEXANDER et al., 2001).

Um grande número de cepas do gênero *Trichoderma* atua como agente de controle biológico (BCAs), cujas propriedades antagônicas se baseiam na ativação de mecanismos muito diversos. As espécies do gênero *Trichoderma* são os fungos mais usados no controle de fitopatógenos devido a sua ubiquidade, à facilidade de serem cultivados e observados, seu crescimento rápido em um grande número de substratos e, o fato de não serem patógenos de plantas superiores (PAPAVIZAS et al., 1982).

Este trabalho teve como objetivos: avaliar o efeito de espécies de *Trichoderma* no controle *in vitro* de *P. palmivora* e *in vivo* da podridão radicular do mamoeiro; determinar os mecanismos de ação dos agentes biocontroladores e, também, o seu efeito na promoção de crescimento das plântulas de mamoeiro.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos sobre bancadas com sistema misto de cobertura e pleno sol, nos Laboratórios de *Phytophthora* e Biocontrole do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC) na CEPLAC, em Ilhéus – BA e em propriedades agrícolas situadas no Extremo Sul da Bahia.

2.1 Obtenções dos isolados de *Trichoderma* spp.

Solos de 31 pomares comerciais de mamoeiro cultivado com as variedades Formosa, Golden e Sunrise Solo, escolhidos aleatoriamente, na região extremo sul da Bahia, foram coletados na profundidade 0-20 cm. Foram realizadas cinco amostras compostas por três sub-amostras simples para cada área. Após as coletas, as amostras de solo devidamente identificadas foram levadas ao Laboratório de Biocontrole para isolamento de *Trichoderma* spp.

Para isolamento de *Trichoderma* spp. foi utilizado o método de diluição em série, a partir de 90 mL de água destilada esterilizada e 10 gramas de solo de cada amostra, mantida sobre agitação por um minuto, deixada em repouso por um minuto e, em seguida, retiradas alíquotas sucessivas para obter a diluição de 10^4 . Desta diluição foram retirados 2 mL e adicionados a cada uma de duas placas de Petri contendo como substrato batata-dextrose-ágar (BDA) e o antibiótico amoxicilina. A repicagem das colônias formadas em BDA foi realizada 96 horas após. As culturas puras das espécies de *Trichoderma* spp. assim obtidas foram preservadas na coleção pelo método Castellani.

Foram utilizados nos experimentos realizados 71 isolados de *Trichoderma* spp. sendo 58 deles pertencentes à coleção de fungos antagonistas do Laboratório de Biocontrole da CEPLAC e 13 obtidos através das coletas de solos de pomares de mamoeiro (Tabela 1).

Tabela 1. Isolados, referências na coleção, espécies de *Trichoderma*, cultura e local de coleta

Trat.	N ^o isolado	Espécie	Cultura	Local	Origem
T1	3921	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	Eunápolis	CEPLAC
T2	1110	<i>Trichoderma</i> sp.	Cacau	Ilhéus	CEPLAC
T3	3734	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	Itamarajú	CEPLAC
T4	TSC	<i>T. harzianum</i>	Cana	Úna	CEPLAC
T5	114C3	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	Eunápolis	COLETA
T6	4078	<i>Trichoderma</i> sp.	substrato	Paraná	CEPLAC
T7	3727	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	Mucuri	CEPLAC
T8	3461	<i>Trichoderma</i> sp.	Cacao	Ilhéus	CEPLAC
T9	3188	<i>T. longibrachyatum</i>	Cacao	Jacaraci	CEPLAC
T10	325C1	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	Eunápolis	COLETA
T11	3799	<i>Trichoderma</i> sp.	Cacao	Ilhéus	CEPLAC
T12	2088	<i>Trichoderma</i> sp.	Cacao	Uruçuca	CEPLAC
T13	3801	<i>Trichoderma</i> sp.	Cacao	Pau Brasil	CEPLAC
T14	424C3	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	Alcobaça	CEPLAC
T15	424C2	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	P. Suguro	CEPLAC
T16	3794	<i>Trichoderma</i> sp.	Cacao	Mutuípe	CEPLAC
T17	2982	<i>Trichoderma</i> sp.	Cacao	Belmonte	CEPLAC
T18	735	<i>Trichoderma viride</i>	Cacao	Ilhéus	CEPLAC
T19	TSP4	<i>Trichoderma</i> sp.	pupunha	Uruçuca	CEPLAC
T20	2995	<i>Trichoderma</i> sp.	Cacao	Jaguariúna	CEPLAC
T21	223C1	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	Eunápolis	COLETA
T22	3623	<i>Trichoderma</i> sp.	Cacao	Ipiaú	CEPLAC
T23	3622	<i>Trichoderma</i> sp.	Cacao	Ipiaú	CEPLAC
T24	225C2	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	T. de Freitas	COLETA
T25	2075	<i>Trichoderma</i> sp.	Cacao	Ipiaú	CEPLAC
T26	911	<i>T. harzianum</i>	pupunha	Uruçuca	CEPLAC
T27	3333	<i>T. stromaticum</i>	Cacau	Ilhéus	CEPLAC
T28	3635	<i>Trichoderma</i> sp.	Cacau	Itabuna	CEPLAC
T29	3615	<i>Trichoderma</i> sp.	Cacao	Taperoá	CEPLAC
T30	4101	<i>Trichoderma</i> sp.	Cacau	Ilhéus	CEPLAC
T31	312C3	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	mucuri	COLETA
T32	2981	<i>Trichoderma</i> sp.	Coco	P. Seguro	CEPLAC
T33	114C3	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	Eunápolis	COLETA
T34	3920	<i>Trichoderma</i> sp.	Cacao	Jaguariúna	CEPLAC
T35	214C1	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	Eunápolis	COLETA
T36	TSP	<i>T. harzianum</i>	pupunha	Itabuna	CEPLAC
T37	905	<i>T. viride</i>	Cacau	Uruçuca	CEPLAC

Continuação Tabela 1.

Trat.	N ^o isolado	Espécie	Cultura	Local	Origem
T38	2076	<i>T. atroviride</i>	Cacao	Uruçuca	CEPLAC
T39	TB	<i>Trichoderma</i> sp.	Cacao	Jaguariúna	CEPLAC
T40	CAL1	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	Itabuna	CEPLAC
T41	KAP1	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	Itabuna	CEPLAC
T42	312C2	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	Prado	COLETA
T43	TSC2	<i>Trichoderma</i> sp.	Cana	Itabuna	CEPLAC
T44	KAP2	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	Itabuna	CEPLAC
T45	889	<i>T. harzianum</i>	pupunha	Itabuna	CEPLAC
T46	2941	<i>Trichoderma</i> sp.	Cacao	Jacareci	CEPLAC
T47	911	<i>T. harzianum</i>	pupunha	Itabuna	CEPLAC
T48	1052	<i>T. pseudokoningii</i>	cacau	Rondônia	CEPLAC
T49	325C1	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	T. Freitas	COLETA
T50	PIL	<i>Trichoderma</i> sp.	pupunha	Itabuna	CEPLAC
T51	913	<i>T. pseudokoningii</i>	pupunha	Itabuna	CEPLAC
T52	3623	<i>Trichoderma</i> sp.	cacau	Ipiaú	CEPLAC
T53	3225	<i>Trichoderma</i> sp.	pupunha	Eunápolis	CEPLAC
T54	213C2	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	T. Freitas	COLETA
T55	1157	<i>T. stromaticum</i>	cacau	Ilhéus	CEPLAC
T56	TSP2	<i>Trichoderma</i> sp.	pupunha	Ilhéus	CEPLAC
T57	1070	<i>T. harzianum</i>	cacau	Ilhéus	CEPLAC
T58	514C3	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	Mucuri	COLETA
T59	3620	<i>Trichoderma</i> sp.	cacau	Ipiaú	CEPLAC
T60	1540	<i>T. harzianum</i>	cacau	Piracicaba	CEPLAC
T61	2983	<i>Trichoderma</i> sp.	cacau	Belmonte	CEPLAC
T62	3461C	<i>Trichoderma</i> sp.	cacau	Ilhéus	CEPLAC
T63	3634	<i>Trichoderma</i> sp.	cacau	Itabuna	CEPLAC
R64	3190	<i>Trichoderma</i> sp.	cacau	Jacareci	CEPLAC
T65	3624	<i>Trichoderma</i> sp.	cacau	Gandú	CEPLAC
T66	511C3	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	T. de Freitas	COLETA
T67	899	<i>Trichoderma</i> sp.	mamão	Eunápolis	CEPLAC
T68	225C1	<i>T. virens</i>	pupunha	Eunápolis	CEPLAC
T69	1051	<i>T. harzianum</i>	cacau	Rondônia	CEPLAC
T70	TSP1	<i>T. harzianum</i>	mamão	Eunápolis	CEPLAC
T71	PSC	<i>T. pseudokoningii</i>	cacau	Itabuna	CEPLAC

2.2 Testes *in vitro*

Nos testes de pareamento, pareamento discos de 0,5 cm de diâmetro de colônias de *P. palmivora* em cenoura-ágar (CA) foram repicados para placas de Petri de 9 cm de diâmetro

contendo como substrato CA, e 48 horas depois os 71 isolados de *Trichoderma* spp. foram colocados em lados opostos de cada placa. Para cada isolado foram realizadas 4 repetições e como testemunha utilizou-se placas de CA apenas com *P. palmivora* somente. A avaliação foi feita pela inibição do crescimento das colônias 6 dias após a repicagem do patógeno.

O segundo experimento *in vitro* foi instalado para avaliar a capacidade de colonização dos isolados de *Trichoderma* em placa de Petri contendo 50 mL de solo esterilizado em autoclave durante 20 minutos. Para tanto, discos de meio de cultura contendo micélio dos fungos biocontroladores foram repicados para as placas contendo solo com 22% de umidade (quatro repetições/isolado). A avaliação foi realizada 12 dias após a repicagem por meio da quantificação do número de colônias que tocaram o fundo da placa. Avaliou-se a capacidade de colonização dos isolados de *Trichoderma* spp. em relação a profundidade do solo. Para tanto, tubos de ensaio com 15 cm de altura e 1,5 cm de diâmetro foram preenchidos com solo e compactados. Em seguida foram autoclavados durante 20 minutos. Após o resfriamento discos de micélio dos fungos foram repicados para esses tubos. A avaliação da profundidade de colonização foi realizada 12 dias após a infestação do solo.

2.3 Testes em mudas

Para avaliação do terceiro experimento, mudas de mamoeiro da variedade Golden foram preparadas em badeiras com 54 tubetes com capacidade de 288 cm³ cada, contendo como substrato 50% Plantimax floresta + 50% solo esterilizado, comumente usado no preparo de mudas de mamoeiro. Foram plantadas três sementes/tubete a aproximadamente 1 cm de profundidade. Após a germinação realizou-se o desbaste deixando apenas uma muda/tubete. As

mudas foram mantidas sobre bancadas com sistema misto de cobertura e pleno sol (Figura 1), irrigadas diariamente de acordo com a necessidade e adubadas quinzenalmente.



Figura 1 – Mudanças de mamoeiro sendo produzidas em bancadas de sistema misto de cobertura e pleno sol conforme utilizado neste experimento.

O experimento foi montado em blocos casualizados com 36 tratamentos, com quatro repetições com 15 plantas para cada bloco. Os tratamentos foram: 33 isolados de *Trichoderma* spp. (T1, T2, T6, T7, T9, T10, T11, T13, T16, T17, T19, T20, T24, T28, T32, T34, T35, T39, T41, T42, T45, T47, T49, T54, T56, T58, T59, T62, T65, T67, T68, T70, T71) (Tabela 1), uma testemunha absoluta apenas com água destilada (T72), uma testemunha inoculada apenas com *P. palmivora* (T73) e um tratamento com o fungicida (Metalaxyl+Mancozeb) (T74) na dosagem de 2,5 g/L como padrão de controle.

Para avaliação dos antagonistas no controle da podridão radicular do mamoeiro infestou-se o solo dos tubetes aos 45 dias após a semeadura do mamão com 2 mL/tubete de uma suspensão na concentração de 1×10^6 esporos/mL de cada um dos 33 isolados de *Trichoderma* spp. com auxílio de uma pipeta automática.

Aos 60 dias após o plantio procedeu-se a inoculação com *P. palmivora* utilizando o isolado 356 da coleção de *Phytophthora* Arnaldo Medeiros, do CEPEC, comprovadamente

patogênico (TOCAFUNDO, 2008), cultivado em meio de cultura cenoura-àgar (CA) durante sete dias, a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, sob luz contínua. O inóculo foi obtido segundo procedimento descrito por Luz et al. (2008), através da adição de 8 mL de água destilada esterilizada gelada por placa, em seguida as placas foram colocadas no refrigerador à temperatura aproximadamente de 10°C durante 20 minutos, depois retirou-se do refrigerador e colocou-se sobre a bancada por mais 20 minutos em temperatura ambiente para liberação dos zoósporos. A concentração da suspensão aferida, em hemacitômetro, foi posteriormente ajustada para 10^5 zoósporos/mL, concentração de inóculo testada anteriormente por Tocafuldo (2008). O substrato de cada tubete foi infestado com 1 mL da suspensão de zoósporos de *P. palmivora* com auxílio de uma pipeta automática. As plântulas, em seguida foram levadas para casa de vegetação climatizada onde permaneceram por três dias, retornando depois para as bancadas onde se encontravam anteriormente.

Sintomas nas plantas inoculadas foram observados diariamente até 30 dias após a inoculação. A doença foi avaliada pelo percentual de sobrevivência das mudas vivas. Após a morte das plantas, as raízes foram plaqueadas em meio seletivo para confirmação da mortalidade por *P. palmivora*.

Um quarto experimento foi realizado para avaliar o efeito de dois agentes de biocontrole sobre o desenvolvimento de mudas sadias de mamoeiro da var. Golden com 30 dias de sementeiras, sendo composto por três tratamentos dois com agentes de biocontrole *T. harzianum* (T70) e *T. virens* (T68), e a testemunha absoluta (T72). O delineamento foi em blocos casualizados com quatro repetições e 54 plantas para cada tratamento. Avaliou-se as massas frescas e secas das plantas inoculadas e não inoculadas. Paralelamente, foi montado um experimento similar, porém para testar novamente o efeito dos dois isolados sobre o controle de *P. palmivora*. Assim os tratamentos foram compostos pela aplicação de cada um dos BCAs (T70 e T68) + inoculação do patógeno com *P. palmivora* e a testemunha só com a inoculação do patógeno. Os procedimentos

foram os mesmos citados anteriormente. Avaliou-se o controle através da percentagem de mudas de mamoeiro sobreviventes 30 dias após a inoculação com o patógeno.

2.4 Mecanismos de ação dos agentes de biocontrole

Avaliaram-se dois mecanismos dos agentes de controle biológico sobre *P. palmivora*: parasitismo e antibiose.

Para avaliação do parasitismo parearam-se os isolados dos dois agentes de biocontrole *T. harzianum* (70) e *T. virens* (T68) com *P. palmivora*, conforme descrito no item 2.2. Na região de interseção das duas colônias, seis dias após o pareamento, realizaram-se cortes no meio de cultura, dos quais foram realizadas as preparações microscópicas utilizando laminas, lamínulas, o corante azul de lactofenol, para observação sob microscopia óptica (100X).

Para avaliação da antibiose preparou-se meio líquido de Batata-Dextrose (BD), ao qual, adicionou-se um disco de micélio de cada um dos dois isolados de *Trichoderma* para crescerem durante oito dias. Decorrido esse tempo, foi feita a filtragem com membrana de celulose 0,45 µm e retirado 1 ml de cada um dos filtrados que foram adicionados a 99 mL do meio de cultura Cenoura-Ágar (CA) fundente, à temperatura de aproximadamente 45 °C. Como testemunha utilizou-se apenas 1 mL do caldo de batata+dextrose BD adicionado a 99 mL de CA. Distribuiu-se em cinco placas o conteúdo de cada meio com e sem filtrados dos agentes de biocontrole e, após solidificado, repicou-se para essas placas discos de meio de cultura contendo micélio de *P. palmivora*. A inibição do crescimento do patógeno, foi avaliada através da medida do diâmetro das colônias em relação às testemunhas, o que foi realizado cinco dias após a repicagem do patógeno.

2.5 Análises estatísticas dos dados

Os dados de todos os experimentos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade com auxílio do programa estatístico SAS e SISVAR.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Teste *in vitro*

Através do método de pareamento das culturas de *Trichoderma* spp. e *P. palmivora*, após 6 dias da repicagem do patógeno observou-se que as colônias originárias dos discos colocados nas extremidades das placas se encontraram no centro das mesmas. A média do crescimento das colônias do patógeno nas testemunhas foi de 6,2 cm.

Comparando-se as porcentagens de inibição provocadas pelos isolados de *Trichoderma* spp. em relação ao crescimento da testemunha observou-se comportamento diferenciado destes isolados em relação a *P. palmivora*, variando o nível de inibição de 46,3 a 74,5 (Tabela 2). No entanto, todos os isolados apresentaram efeito antagônico sobre *P. palmivora*. Os isolados T23 e T51 apresentaram as maiores porcentagens de inibição 74,5 e 68,3 respectivamente, com ênfase para o isolado T23 que diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) de todos os isolados. Os isolados T22, T59, T65 e T 52 apresentaram as menores porcentagens de inibição do crescimento do patógeno.

Dianese (2006) também trabalhou com o antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. a *P. palmivora* do mamoeiro e encontrou efeito similar aos observados neste trabalho, embora usando diferentes isolados de *Trichoderma*. Tocafundo (2008) também trabalhou com o efeito *in vitro* de

isolados de *Trichoderma* sobre colônias de *P. palmivora* de mamoeiro observando o efeito inibitório da maioria dos 18 isolados testados.

Tabela 2. Percentual de inibição do crescimento de *P. palmivora* por isolados de *Trichoderma* spp. em testes *in vitro* pelo método do pareamento, 6 dias após a repicagem do patógeno.

Tratamentos	Inibição (%)	Tratamentos	Inibição (%)
23	74,5 a	39	63,0 c
51	68,3 b	61	62,8 c
25	66,3 b	48	62,8 c
42	66,0 b	5	62,8 c
62	66,0 b	10	62,8 c
8	66,0 b	57	62,8 c
7	66,0 b	49	62,5 c
2	66,0 b	27	62,3 c
31	65,8 b	60	62,3 c
6	65,5 b	28	62,3 c
30	65,3 b	32	62,0 c
43	65,3 b	56	62,0 c
16	65,0 b	20	61,8 c
68	65,0 b	26	61,8 c
53	65,0 b	40	61,8 c
34	64,8 b	19	61,5 c
17	64,5 b	58	61,5 c
36	64,5 b	35	61,3 c
4	64,5 b	29	61,0 c
41	64,3 b	66	61,0 c
24	64,0 c	1	61,0 c
9	64,0 c	11	60,8 c
71	63,8 c	37	60,5 c
67	63,8 c	33	60,5 c
64	63,8 c	69	59,0 c
15	63,8 c	46	59,0 c
14	63,8 c	45	57,8 d
12	63,8 c	70	57,8 d
55	63,5 c	54	57,5 d
21	63,5 c	63	57,0 d
50	63,5 c	18	56,5 d
47	63,3 c	52	50,0 e
44	63,3 c	65	49,8 e
13	63,3 c	59	49,3 e
3	63,0 c	22	46,3 e
39	63,0 c		

Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade

O antagonismo *in vitro* é utilizado apenas para seleção massal de candidatos a agentes de biocontrole (BELL et al., 1982), pois, nem todos aqueles que apresentam efeitos inibitórios *in vitro* conseguem exercer o mecanismo de antagonismo *in vivo*. Reis et al. (1995) selecionaram três isolados de *Trichoderma* classificados como muito eficientes, no pareamento, *in vitro* contra *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli de feijoeiro sendo que apenas um foi eficiente no controle do patógeno, em tratamentos de sementes. Assim sendo, os resultados *in vitro* deste trabalho serviram apenas para eliminar alguns dos isolados de *Trichoderma* para diminuir o número de isolados a serem testados nos testes *in vivo*.

Após o experimento com pareamento realizaram-se os testes para avaliar a eficiência de colonização do solo pelos agentes de controle biológico medindo-se a profundidade do solo (PROF) atingida aos 12 dias após a infestação do mesmo com um disco de micélio dos antagonistas. Observou-se que os isolados de *Trichoderma* spp. T31, T30, T44, T40, T29, T26, T23, T28, T27, T46, T66, T60, T3, T52, T51, T8, e T69 (Tabela 3) não foram capazes de penetrar no solo, podendo-se inferir que estes isolados não possuem boa capacidade colonizadora do solo, característica importante para qualquer candidato a agente biocontrolador de patógenos de raízes como é o caso de *P. palmivora* do mamoeiro. Já os isolados T25, T10, T42, T43, T34, T6, T70, T54, T37, T41, T56, T65, T17, T15, T67, T24, T47, T2, T13, T35, T7, T45, T16, T71, T68, T11, T62, T49 e T32 apresentaram maior capacidade de penetração em profundidade do solo.

Tabela 3. Profundidade (PROF) de crescimento atingida por isolados de *Trichoderma* spp. em tubos de ensaio contendo solo esterilizado com 22% de umidade

Tratamentos	PROF. (cm)	Tratamentos	PROF. (cm)
25	12,45 a	50	3,63 e
10	11,78 a	38	3,50 e
42	11,63 a	14	3,25 e
43	11,27 a	58	3,03 e
34	11,12 a	5	2,95 e
6	11,10 a	61	2,52 e
70	10,73 a	33	2,48 e
54	10,73 a	21	2,38 e
37	10,58 a	18	2,38 e
41	10,45 b	55	2,35 e
56	10,40 b	4	2,07 e
65	10,25 b	48	2,02 e
17	9,88 b	39	1,95 e
15	9,88 b	57	1,87 e
67	9,85 b	9	1,70 e
24	9,85 b	36	1,13 f
47	9,75 b	64	0,92 f
2	9,72 b	53	0,80 f
13	9,63 b	69	0 f
35	9,40 b	8	0 f
7	9,30 b	51	0 f
45	9,18 b	52	0 f
16	9,10 c	3	0 f
71	8,53 c	60	0 f
68	8,53 c	66	0 f
11	7,98 c	46	0 f
62	7,73 c	27	0 f
49	7,73 c	28	0 f
32	7,15 c	23	0 f
20	6,35 d	26	0 f
63	6,23 d	29	0 f
59	5,85 d	40	0 f
19	5,63 d	44	0 f
1	5,55 e	30	0 f
22	4,35 e	31	0 f
12	4,10 e		

Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

A avaliação da capacidade de colonização horizontal do solo (COL) pelos isolados de *Trichoderma* spp. foi realizada através da quantificação do número médio de colônias que

tocaram o fundo das placas onde foram realizados os testes (Tabela 4). Os isolados T51, T52, T46, T40, T44, T60, T23, T66 e T69 não apresentaram colônias no fundo da placa, embora houvessem colonizados a superfície do solo. Com isso podemos sugerir que estes isolados não teriam boa atuação como biocontroladores de *P. palmivora* por não terem habilidade para colonizar e desenvolver-se bem no solo. Entre os isolados de *Trichoderma* que apresentaram colônias desenvolvendo-se através do solo para atingir o fundo das placas houve uma variação média de 0,99 (T5) a 19,31 (T20) colônias com destaque para os isolados T20, T39 e T30, (Tabela 4).

Comparando a capacidade de colonização do solo tanto horizontalmente quanto verticalmente é possível ver que os isolados T56, T24, T32, T67, T35, T41, T6, T54, T71, T49, T42, T11, T47, T68, T2, T10 e T20 apresentaram capacidade entre elevada e média de colonização nos solo dos dois testes realizados. Dos 71 isolados de *Trichoderma* spp. utilizados nos testes *in vitro*, 41 (57,7%) não apresentaram boa capacidade de colonização do solo, tanto em placas de Petri como em tubos de ensaio (Tabelas 3 e 4). Estes isolados foram eliminados do teste para avaliação *in vivo* no controle do patógeno.

Tabela 4. Capacidade de colonização (COL) em solo esterilizado com 22% de umidade dos isolados de *Trichoderma* spp. em placas de Petri

Trat.	COL. (cm)	Trat.	COL. (cm)
20	19,31 a	9	5,87 i
39	19,28 a	14	5,75 i
30	18,35 a	53	5,69 i
28	17,41 b	38	5,67 i
56	17,28 b	65	5,61 i
24	15,87 c	63	5,48 i
32	15,12 c	34	5,42 i
67	15,02 c	17	4,35 j
35	14,94 c	37	4,27 j
41	14,65 c	7	4,18 J

Continuação Tabela 4.

Trat.	COL. (cm)	Trat.	COL. (cm)
6	13,32 d	21	3,99 j
26	12,78 d	31	3,87 j
54	12,44 d	18	3,84 j
71	12,12 e	55	3,75 j
45	12,06 e	4	3,70 j
42	11,63 e	8	3,38 l
49	11,62 e	15	3,21 l
11	11,43 e	43	3,19 l
10	10,56 f	36	3,19 l
47	10,33 f	3	2,99 l
68	10,21 f	33	2,80 l
2	9,63 g	25	2,68 l
1	9,35 g	50	2,62 l
29	8,95 g	27	1,92 l
61	8,88 g	64	1,31 m
13	8,55 g	5	0,99 m
59	8,22 h	69	0 m
19	7,65 h	66	0 m
12	7,16 h	23	0 m
16	9,99 h	60	0 m
22	6,91 h	44	0 m
70	6,75 h	40	0 m
48	6,49 i	46	0 m
62	6,36 i	52	0 m
57	6,28 i	51	0 m
58	5,88 i		

Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (dados transformados para raiz quadrada de x).

O isolado T25 que se destacou na colonização em profundidade não apresentou igual desempenho na colonização em placas, apresentado apenas a média de 7,5 colônias apontando no fundo das placas (Tabelas 3 e 4). Já os isolados T39, T30 e T28 que posicionaram-se entre aqueles com maior números de colônias no fundo das placas apresentaram profundidade de colonização do solo entre 1,02 e 1,48 cm.

Ethur (2006) utilizou a capacidade de colonização do solo por parte de isolados de *Trichoderma* spp. para selecionar antagonistas que pudessem reduzir a incidência de *Fusarium oxysporum* em pepino e tomateiro.

Ghini e Nakamura (2001), também recomendaram que a seleção de possíveis agentes de biocontrole baseie-se na capacidade dos mesmos em colonizar o solo no sentido horizontal em placas de Petri e vertical em tubos de ensaio.

Embora testes *in vitro* entre possíveis antagonistas e patógenos sofram rejeição, pois, na maioria das vezes, os resultados não coincidem com os realizados *in vivo*, seja em casa de vegetação ou campo (BETTIOL, 1991), estes testes são necessários para o conhecimento dos mecanismos envolvidos no controle biológico (YEDIDIA et al., 1999). Deste modo para seleção dos isolados a serem testados *in vivo* os resultados dos testes realizados *in vitro* tanto de pareamento como de colonização foram levados em consideração nestes estudos. Por exemplo os isolados T23 e T51 que apresentaram os maiores níveis de inibição *in vitro* não tiveram capacidade de colonização no solo (Tabelas 2, 3 e 4) e foram eliminados dos testes *in vivo*. Foram selecionados para os ensaios *in vivo* os seguintes isolados: T1, T2, T6, T7, T9, T10, T11, T13, T16, T17, T19, T20, T24, T28, T32, T34, T35, T39, T41, T42, T45, T47, T49, T54, T56, T58, T59, T62, T65, T67, T68, T70, T71.

3.2 Testes em mudas de mamoeiro

O efeito antagônico *in vivo* dos 33 isolados de *Trichoderma* spp. selecionados foi avaliado através do controle da mortalidade em relação à mudas de mamoeiro inoculadas apenas com *P. palmivora* (T73) e também em relação aquelas tratadas com o fungicida padrão metalaxyl+mancozeb (T74). As mudas do tratamento sem inoculação T72 serviram de parâmetro para verificar se havia contaminação das mesmas antes de serem utilizados no experimento. No entanto, nenhuma das plantas deste tratamento mostrou infecção.

Todas as mudas testemunhas (T73) morreram até o 28^o dia da avaliação comprovando a agressividade do isolado do patógeno utilizado no experimento. Os tratamentos T1, T13, T17, T19, T28, T34, T45, T47, T56, T58, T59, T62 e T67 apresentaram mortalidade de 100% das mudas em todas as repetições. Estes tratamentos foram retirados da análise estatística para não comprometerem os resultados da mesma. Apenas os tratamentos que tiveram mudas sobreviventes foram utilizados na análise e comparados com a média do tratamento T74 (fungicida padrão).

O controle da sobrevivência das mudas de mamoeiro variaram de 0 a 58,3%. Os tratamentos com aplicação dos isolados T70 e T68 apresentaram maior controle de mortalidade de plantas de mamoeiro inoculadas com *P. palmivora* não diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) do tratamento com o fungicida padrão (T74). Destaque para o tratamento (T70 – *T. harzianum*) que apresentou controle de 58,3%. O isolado (T68 – *T. virens*) apresentou 50,0% de controle. Os demais isolados de *Trichoderma* spp. diferiram estatisticamente do tratamento com o fungicida (Figura 2).

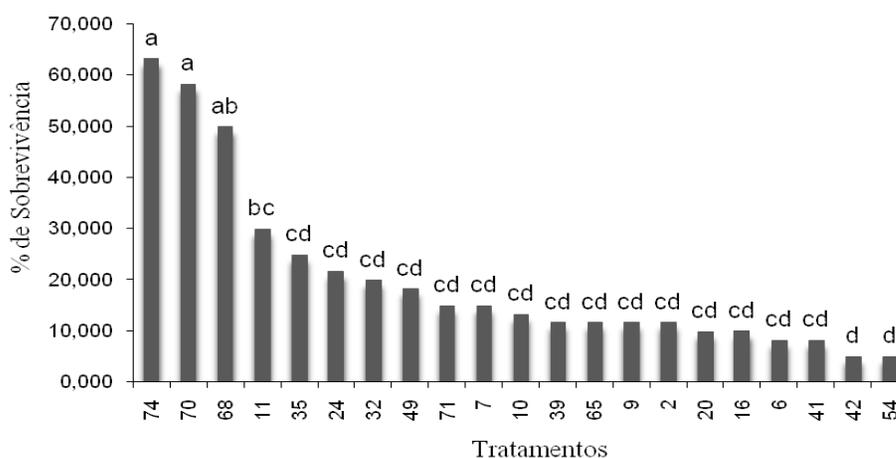


Figura 3 - Porcentagem de sobrevivência de plantas de mamoeiro da variedade Golden, 30 dias após a inoculação com *Phytophthora palmivora*. Os substratos onde as mudas de mamoeiro cresciam foram infestados com os isolados de *Trichoderma* spp. 15 dias antes da inoculação do patógeno. Colunas com letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Um isolado de *T. harzianum* testado em vasos em casa-de-vegetação para o controle do tombamento de mudas de maçã causadas por *P. cactorum* apresentou controle estatisticamente equivalente ao tratamento com a mistura dos fungicidas metalaxyl+mancozeb (Alexander *et al.*, 2001).

Apesar do gênero *Trichoderma* estar bem documentado como agente de biocontrole contra várias espécies de *Phytophthora* (AMORIM; ITAMAR, 1999; COSTA *et al.*, 2000; ALEXANDER *et al.*, 2001; MAY *et al.*, 2001), o efeito específico sobre *P. palmivora* em mamoeiro não tem sido muito bem estudado e os resultados obtidos até o momento são poucos significativos (UENO; SILVA, 2001; DIANESE, 2006). Portanto, a eficiência de controle dos isolados T70 de *T. harzianum* e do T68 de *T. virens* é importante resultado para o manejo da podridão de raízes do mamoeiro causada por *P. palmivora*.

O quarto experimento foi realizado apenas com os dois melhores isolados de agentes de biocontrole T70 e T68 comparados com a testemunha apenas inoculadas com o patógeno (Figura 4). Das plantas do tratamento testemunha 26,8% sobreviveram 30 dias após a inoculação, enquanto os percentuais de plantas sobreviventes para os tratamentos T70 e T68 foram de 78,7 e 65,7% respectivamente.

Resultados semelhantes foram encontrados por Costa *et al.*, (2000) que obteve entre 31 e 37% de raízes sadias de abacate quando tratadas com o isolado de *T. harzianum* em relação às testemunhas inoculadas com *P. cinnamomi* que apresentaram 100% de raízes doentes. Adedeji *et al.* (2008) demonstraram também a redução da incidência da podridão parda do cacauero causada por *P. megakarya* na ordem de 85% quando tratadas com um isolado de *Trichoderma harzianum* e 5% comparando com a testemunha.

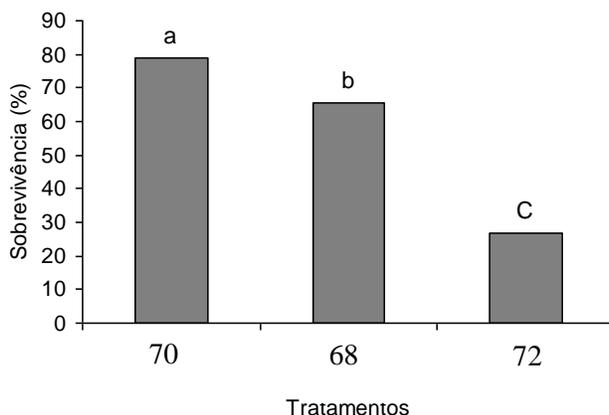


Figura 4 - Porcentagem de sobrevivência de plantas de mamoeiro da variedade Golden, contra a podridão de raiz, causada por *P. palmivora*, 30 dias após a inoculação. Os tubetes com as mudas de mamoeiro foram infestados com os isolados de *Trichoderma harzianum* (T70), *Trichoderma virens* (T68) e Testemunha inoculada com *Phytophthora palmivora* (T72). Colunas com letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Os isolados de *T. harzianum* (T70), *T. virens* (T68) e a testemunha absoluta apenas com adição de água destilada esterilizada foram testados para avaliar o efeito sobre o desenvolvimento das plântulas, por meio das medidas dos pesos fresco e seco total de plantas. Os dois tratamentos com os agentes de biocontrole apresentaram incremento no desenvolvimento das plantas quando comparado com a testemunha. Os isolados T70 e T68 apresentaram incrementos sem qualquer tratamento de peso fresco total de 110 e 59%, respectivamente, comparados com a testemunha apenas plantadas no solo. Tendo o isolado T70 sido mais eficiente em promover aumento do peso fresco que o isolado T68 ($p < 0,05$) (Tabela 5). Já para avaliação do peso seco total constatou-se uma redução no percentual de incremento para o isolado T70 em relação ao peso fresco, sendo 73% maior do que o da testemunha. O isolado T68 manteve-se estável com um aumento de 59% quando comparado com a testemunha absoluta (Tabela 5). Não houve diferenças significativas no efeito das duas espécies de *Trichoderma*.

Tabela 5. Biomassa fresca e seca total (parte aérea + raízes) de plantas mamoeiro (*Carica papaya* L.) plantadas em solo contendo *T. harzianum*, *T. virens* e Testemunha absoluta.

Tratamentos	Peso fresco total (g)	Peso seco total (g)
<i>T. harzianum</i> (T70)	17,87 a	2,55 a
<i>T. virens</i> (T68)	13,82 b	2,34 a
Testemunha absoluta	8,38 c	1,47 b

Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados similares foram encontrados por Inbar et al. (1994) que observaram um aumento de 24% na altura, 96% na área foliar e 25% de massa seca em plântulas de pepino cultivadas em substrato com o isolado T203 de *T. harzianum*. Já Dianese (2006) não constatou diferença significativa no aumento da massa entre mudas de mamoeiro sadias nas quais os solos foram infestados com os isolados de *Trichoderma* cen162, cen235, cen 144 e a testemunha. Também Tocafundo (2008), não observou incremento do peso do sistema radicular do mamoeiro tratados ou não com diversos isolados de *Trichoderma*, observando porém, aumento na altura das plantas que haviam recebidos BCAs.

A promoção no crescimento pode estar relacionada com o controle de patógenos secundários na rizosfera, produção de hormônios pela planta, disponibilização de nutrientes do solo ou matéria orgânica e aumento na captação ou translocação de minerais (KLEIFELD; CHET, 1992).

Após avaliação do controle da podridão de raízes em mudas de mamoeiro procurou-se conhecer os mecanismos envolvidos no controle do patógeno, por meio da microscopia ótica. Constatou-se o parasitismo direto das colônias de *P. palmivora* tanto pelo isolado de *T. harzianum* (Figura 5A) como pelo de *T. virens* (Figura 5B).

O experimento montado para avaliar o processo de antibiose demonstrou que os isolados de *T. harzianum* (T70) e *T. virens* (T68) foram capazes de inibir o crescimento micelial do patógeno. Demonstrando que os antagonistas, produzem metabólitos e que os liberam em meio de cultura, sendo estes capazes de reduzir o crescimento micelial de *P. palmivora* (Figura 6). O diâmetro médio das colônias de *P. palmivora*, após exposição aos metabólitos, foi menor que o da testemunha havendo também diferença entre os isolados de *Trichoderma*. Os metabólitos de *T. harzianum* inibiram mais o crescimento do patógeno que os de *T. virens*. Junior e Abreu (2000) trabalhando com metabolitos de isolados de *Trichoderma* spp. também constataram a inibição *in vitro* de *Sclerotinia sclerotiorum*.

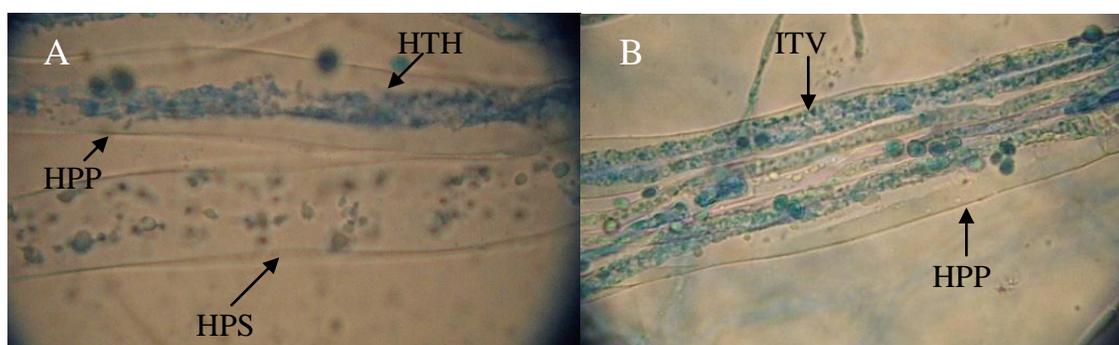


Figura 5 – Parasitismo das hifas de *P. palmivora* agente causal da podridão de raiz do mamoeiro por *Trichoderma* spp. A: hifas de *Trichoderma harzianum* e B: *Trichoderma virens*. HTH: hifa de *Trichoderma harzianum*; ITV: hifa de *Trichoderma virens*; HPP: hifa de *Phytophthora palmivora* infectada; HPS: hifa de *Phytophthora palmivora* sadia.

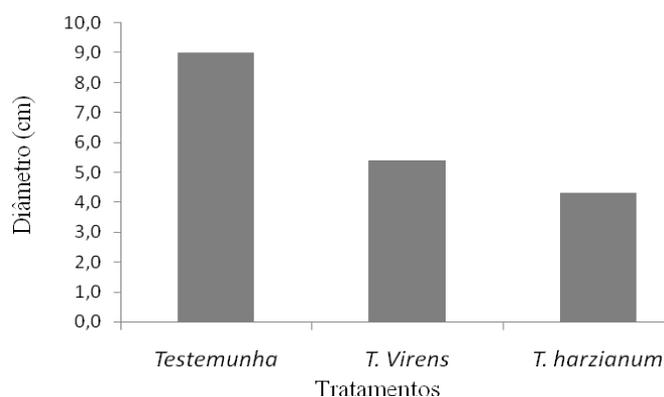


Figura 6 – Efeito de metabolitos produzidos por *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma virens* sobre o crescimento de *P. palmivora* em testes *in vitro*, avaliado pelo diâmetro da colônia.

4. CONCLUSÕES

O método de pareamento *in vitro* não é eficiente na seleção de *Trichoderma* spp. como agente de biocontrole de patógenos;

Dois isolados de *Trichoderma* spp. sendo um de *T. harzianum* e outro de *T. virens* foram eficientes no controle da podridão de raízes do mamoeiro e estimularam o crescimento das mudas podendo ser recomendados para testes posteriores no controle desta enfermidade em campo;

Os isolados de *T. harzianum* e *T. virens* selecionados como potenciais BCAs exercem parasitismo direto de hifas e antibiose sobre *P. palmivora*;

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEDEJI A.R., ODEBODE A.C.; AGBENIYI S.O. Bioassay of five *Trichoderma* strains against *Phytophthora megakarya* (Cacao pod-rot) in Nigeria. **Scientific Research and Essay**, V.3, p. 390-394, 2008

ALEXANDER, B. J. R.; STEWART, A. Glasshouse screening for biological control agents of *P. cactorum* on apple (*Malus domestica*). **New Zealand Journal of Crop Horticultural**, v. 3, n. 29, p. 159-169, 2001.

AMORIM, E.P.R; ITAMAR, S.D. Efeito da associação de antagonistas no controle de *Phytophthora parasítica* e *P. citrophthora* em plântulas de citros, **Summa Phytopathologica**, v. 35, p. 335-338, 1999.

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

BETIOL,W. Seleção de microrganismos antagônicos a fitopatógenos, In: Bettiol, W., (Org) **Controle biológico de doenças de plantas**, Jaguariúna, EMBRAPA-CNPDA, P. 223-236, 1991.

COSTA, J.L. da S.; MENGE, J.A.; CASALE, W.L. Biological control of *Phytophthora* root rot of avocado with microorganisms grown in organic mulches, **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, p.239-246, 2000.

DAL BELLO, G.M; MÓNACO, C.I.; SIMON, M. R. Biological control of seedling blight of wheat caused by *Fusarium graminearum* with beneficial rhizosphere microorganisms. **Word Journal of microbiology & Biotechnology**, v. 18, p. 627-636, 2002.

DIANESE, A. de C. **Variabilidade e controle de *Phytophthora palmivora* (Podridão-do-pé) e controle da varíola (*Asperisporium caricae*) do mamoeiro (*Carica papaya*)**. 2006. 109p. Tese (Doutorado) – Universidade de Brasília, Brasília.

DIANESE, A. C.; BLUM, L. E. B., DUTRA, J. B.; LOPES, L. F.; SENA, M. C.; FREITAS, L. F.; MELO, S. C. Uso de *Trichoderma* para o controle da podridão do mamoeiro causada por *Phytophthora palmivora*. In: **XL Congresso Fitopatologia Brasileira** p.132, 2007. (Resumo).

ETHUR, L.Z. **Dinâmica populacional e ação de *Trichoderma* no controle de fusariose em mudas de tomateiro e pipineiro**. 2006. 154p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

GHINI, R.; NAKAMURA, D. Seleção de antagonistas e nutrientes que induzem supressividade de solos a *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli em microcosmos e *in vivo*. **Summa Phytopathologica**, v.27, p. 318-322, 2001.

JUNIOR, M. L.; ABREU, M.S. de Inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* por metabólitos voláteis produzidos por alguns antagonistas em diferentes temperaturas e pHs, **Ciênc. agrotec., Lavras**, v.24, p.521-526, 2000.

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

KO, W. H. *Phytophthora* fruit rot and root rot In: Ploetz, R.C. et al. **Compendium of tropical fruit diseases**, American Phytopathological Society, St. Paul, p. 61-62, 1994.

INBAR, J.; ABRAMSKY, M.; COHEN, D.; CHET, I. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions, **European Journal of Plant Pathology**. V. 100, p. 337-346, 1994.

LUZ, E.D.M.N.; SILVA, S.D.V.M.; BEZERRA, J.L.; SOUZA, J. de T.; SANTOS A.F. dos, **Glossário Ilustrado de *Phytophthora*: Técnicas especiais para o estudo de oomicetos**, Itabuna, p. 95-118, 2008.

LUZ, E.D.M.N.; MATSUOKA, K. *Phytophthora*: Fungo protista ou Chromista? In: LUZ, E.D.M.N; SANTOS, A.F. dos; MATSUOKA, K.; BEZERRA, J.L. **Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil**. Livraria e Editora Rural, p.1-21, 2001.

MAY, L.L.; GHINI, R.; KIMATI, H. Solarização e *Trichoderma* para controle de *Phytophthora parasitica* em mudas de citros **Laranja**, v.22, p. 395-409, 2001.

NAKASONE, H.Y. Papaya, In: **Compendium of Tropical Fruit Diseases**, The American Phytopathological society, St. Paul, p. 56-64, 1994.

OLIVEIRA, J.M.C. de; ANJOS, A.P.A. dos. Frutas da Bahia: desempenho e perspectivas, **Bahia Agrícola**, v.8, p. 3-11, 2008.

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

REIS, A., OLIVEIRA, S.M.A. de, MENEZES, M. *et al.* Potencial de isolados de *Trichoderma* para biocontrole da murcha de *Fusarium* do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v.21, p.16-20, 1995.

ROBERTS, P.; KUCHARÉK, T. **Florida Plant Disease Management Guide: Cucumber**, Cooperative Extension Service/Institute of Food and Agricultural, Jan. 2005. Disponível em <<http://edis.ifas.ufl.edu>> Acesso em setembro de 2005.

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

TOCAFUNDO, F. **Avaliação de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *Phytophthora palmivora* em mamoeiro**. 2008. 54p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itabuna.

UENO, B.; SILVA, L.P. Avaliação de Controlbio 2001 (*Trichoderma* sp.) no controle de *Phytophthora palmivora* no mamoeiro, **Fitopatologia Brasileira**, v.26, p.387, 2001.

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