

# EFEITO DE PRODUTOS QUÍMICOS E DE *Trichoderma* spp. NO

## CONTROLE DE *Fusarium solani* DO MARACUJAZEIRO

Aline Novais da Silva, Gileno Brito de Azevedo, Geraldo Gomes Rocha Sobrinho e Quelmo Silva de Novaes

### RESUMO

Com este trabalho, objetivou-se iniciar estudos que visam ao desenvolvimento de alternativas de controle para a podridão de colo e raízes do maracujazeiro, avaliando o efeito antagonista de *Trichoderma* spp. ao fungo *Fusarium solani*, bem como o efeito de produtos químicos no crescimento micelial do mesmo e de espécies de *Trichoderma*, em condições de laboratório. Foram utilizadas três espécies de *Trichoderma* (*T. longibrachiatum*, *T. harzianum* e *T. viride*) e três isolados do *F. solani*, coletados em diferentes regiões. Os produtos químicos testados foram: amônia quaternária, azoxystrobin, fosfito de cobre, fosfito de potássio, mancozeb, pencycuron e tiofanato metílico, nas

concentrações de 0, 1, 10, 100, 500 e 1000ppm, para avaliar a inibição do crescimento micelial de *F. solani* e 0, 10, 100 e 1000ppm no teste de inibição do crescimento micelial das espécies de *Trichoderma*. A percentagem de inibição das espécies de *Trichoderma* sobre os isolados de *F. solani* foram: *T. longibrachiatum* (42,7-49,4%); *T. harzianum* (49,5-64,9%) e *T. viride* (51,9-69,8%). Os produtos químicos testados, com exceção do pencycuron, apresentaram efeito significativo inibitório do crescimento micelial de *F. solani*. O fosfito de potássio inibiu significativamente o crescimento micelial de *F. solani*, mas não conseguiu inibir o crescimento das espécies de *Trichoderma*.

### Introdução

O Brasil se destacou como grande produtor de maracujá a partir da década de 1970 devido a uma crescente evolução na área de cultivo, motivado pelas instalações de indústrias para o beneficiamento de suco e a aceitação comercial da fruta para o consumo *in natura*. O maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) vem sendo cultivado em larga escala no país, que é o maior produtor mundial, com uma área estimada em 50.795ha. Os principais estados produtores são a Bahia e Ceará, com 23.227 e 5.579ha, respectivamente. As regiões Nordeste e Sudeste são as maiores produtoras, com áreas estimadas em ~39.367 e 6.217ha, respectivamente. Todo o maracujá produzido no Brasil tem sido

destinado à produção de suco e à comercialização de frutas frescas (IBGE, 2009).

Segundo Fischer e Rezende (2008), dentre os problemas fitossanitários do maracujazeiro, as doenças são as que mais contribuem para a baixa produtividade, observada na maioria dos pomares brasileiros. As moléstias que afetam o maracujazeiro podem ser classificadas de acordo com o seu agente causal como bacterianas, fúngicas da parte aérea e sistema radicial e viróticas, bem como aquelas causadas por fitoplasma e nematóides. Dentre as moléstias do sistema radicial destaca-se a podridão do colo e raízes, que tem reduzido, de forma significativa, a vida útil dos pomares.

Os prejuízos ocasionados pela podridão do colo e raízes na cultura do maracujazeiro são considerados graves em

várias regiões produtoras do Brasil, atribuindo-se a ela queda de produtividade, grande mortandade de plantas e, conseqüentemente, redução na vida econômica do pomar (Fischer *et al.*, 2005; Laranjeira e Santos Filho, 2002). Os sintomas iniciais são intumescimento e formação de lesões no colo da planta, as quais podem avançar para cima ou para as raízes, provocando a morte das mesmas. As folhas inicialmente tornam-se murchas, amarelas e depois secam e caem com a morte da planta (Novaes, 2005). Devido à morte precoce das plantas, o período produtivo, que normalmente é de dois a três anos, passa para um ou até mesmo menos de um ano (Dias, 2000).

A podridão do colo e raízes do maracujazeiro é causada pelo fungo *Fusarium solani*

(Mart.) Sacc., que na sua forma sexuada corresponde à espécie *Haematonectria haematococca* Berk & Br. O fungo possui microconídios cilíndricos, hialinos, asseptados ou unisseptados e produzidos em fiáldes laterais longas ou em conidióforos em forma de cachos. Os macroconídios apresentam de cinco a nove septos e formato fusiforme. Os clamidósporos são globosos e podem sobreviver no solo por vários anos (Fischer *et al.*, 2005; Leslie e Summerell, 2006).

A associação de *F. solani* à podridão do colo e raízes do maracujazeiro foi relatada pela primeira vez na Austrália (Simmonds, 1966). Atualmente, a podridão do colo encontra-se relatada em vários países onde se cultiva o maracujazeiro. No Brasil, a doença foi relatada pela primeira vez em maracu-

**PALAVRAS CHAVE / Controle Biológico / Controle Químico / *Fusarium solani* / *Passiflora* / Podridão do Colo e Raízes / *Trichoderma* spp /**

Recebido: 29/11/2011. Modificado: 15/05/2014. Aceito: 19/05/2014.

**Aline Novais da Silva.** Bacharel em Agronomia e Mestre em Fitotecnia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Brasil. Bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FA-

PESB). e-mail: alinenovais3@hotmail.com

**Gileno Brito de Azevedo.** Bacharel em Engenharia Florestal, UESB, Brasil. e-mail: gilenoba@hotmail.com

**Geraldo Gomes Rocha Sobrinho.** Bacharel em Agronomia, UESB, Brasil. e-mail: ggomesrocha@hotmail.com

**Quelmo Silva de Novaes.** Mestre e Doutor em Fitopatologia, Universidade de São Paulo,

Brasil. Docente, UESB, Brasil. Endereço: Departamento de Fitotecnia e Zootecnia, UESB. Caixa Postal 95, CEP 45031-300 Vitória da Conquista, BA, Brasil. e-mail: qsnovaes@uesb.edu.br

## EFFECT OF CHEMICAL PRODUCTS AND USE OF THE *Trichoderma* spp. FOR CONTROL OF *Fusarium solani* IN PASSION FRUIT TREES

Aline Novais da Silva, Gileno Brito de Azevedo, Geraldo Gomes Rocha Sobrinho and Quelmo Silva de Novaes

### SUMMARY

Initial studies aimed to the development of alternatives to control roots and collar rot of passion fruit, by evaluation in laboratory conditions of the antagonistic effect of *Trichoderma* spp. to *Fusarium solani*, and the chemicals effects of pesticides on the mycelial growth and of *Trichoderma* and *F. solani*. Three species of *Trichoderma* were used: *T. longibrachiatum*, *T. harzianum* e *T. viride*, and three isolates of *F. solani* collected in different regions. The pesticides tested were quaternary ammonium, azoxystrobin, copper phosphite, potassium phosphite, mancozeb, pencycuron and thiophanate methyl at concentrations of 0, 1, 10, 100,

500 and 1000ppm, to evaluate the inhibition of mycelial growth of *F. solani*. To evaluate the inhibition of mycelial growth of the *Trichoderma* species fungicides were used at concentrations of 0, 10, 100 and 1000ppm. The percentages of inhibition by *Trichoderma* on the *F. solani* isolates were: 42.7-49.4% for *T. longibrachiatum*, 49.5-64.9% for *T. harzianum* and 51.9-69.8% for *T. viride*. The pesticides tested, except for pencycuron, showed significant inhibitory effect of mycelial growth of *F. solani*. The potassium phosphite significantly inhibited the mycelial growth of *F. solani*, but could not inhibit the growth of *Trichoderma* species.

## EFFECTO DE LOS PRODUCTOS QUÍMICOS Y DE *Trichoderma* spp. EN CONTROL DEL *Fusarium solani* DE LA FRUTA DE PASIÓN

Aline Novais da Silva, Gileno Brito de Azevedo, Geraldo Gomes Rocha Sobrinho y Quelmo Silva de Novaes

### RESUMEN

Con este trabajo se objetivó empezar estudios con vista al desarrollo de las opciones de control para la podredumbre del cuello y raíces de la fruta de pasión, evaluando en condiciones de laboratorio los efectos antagonistas de *Trichoderma* spp. sobre el hongo *Fusarium solani*, así como el efecto de algunos agentes químicos en el crecimiento micelial del mismo y de las especies de *Trichoderma*. Fueron usadas tres especies de *Trichoderma* (*T. longibrachiatum*, *T. harzianum* y *T. viride*) y tres aislados del hongo *F. solani*, recolectados en regiones diversas. Los productos químicos probados fueron amonio cuaternario, azoxystrobin, fosfito de cobre, fosfito de potasio, mancozeb, pencycuron y tiofanato metílico, en concentraciones

de 0, 1, 10, 100, 500 y 1000ppm en la prueba de inhibición del crecimiento micelial de *F. solani* y de 0, 10, 100 y 1000ppm en la prueba de inhibición del crecimiento micelial de las especies de *Trichoderma*. Los porcentajes de inhibición de las especies de *Trichoderma* contra los aislados de *F. solani* fueron: *T. longibrachiatum* 42,7-49,4%; *T. harzianum* 49,5-64,9%; y *T. viride* (51,9-69,8%). Los productos químicos ensayados, con excepción de pencycuron, mostraron efecto inhibitorio significativo sobre el crecimiento micelial de *F. solani*. El fosfito de potasio inhibió significativamente el crecimiento micelial de *F. solani*, pero no consiguió inhibir el crecimiento de las especies de *Trichoderma*.

jazeiros por Carvalho e Carvalho (1968), em São Paulo. Posteriormente, a doença espalhou-se por todo o país.

A disseminação do patógeno de um local infestado para outro se dá por mudas ou restos de plantas infectadas. As plantas infectadas podem transmitir o patógeno para aquelas sadias, através do contato direto das raízes. Devido ao fungo *F. solani* formar clamidósporos e poder permanecer no solo por longos períodos, torna-o uma excelente fonte de inóculo para novos plantios, pois o fungo, quando encontra condições adequadas, pode penetrar nas raízes, com ou sem ferimento, desencadeando-se, assim, todo o processo infeccioso (Fischer e Rezen-de, 2008). As chuvas frequentes, aliadas a uma faixa de temperatura entre 20 e 25°C, favorecem grandemente a dis-

seminação e virulência do patógeno na cultura, ocorrendo o inverso em épocas de climas mais amenos (Dias, 2000).

Poucos trabalhos vêm sendo desenvolvidos na tentativa de controle da podridão do colo e raízes. Roncetto *et al.* (2004), Fischer *et al.* (2005) e Castro *et al.* (2011) verificaram uma alta variabilidade genética dentro de genótipos de maracujazeiros, o que pode gerar fontes de resistência para esta doença. Paralelamente, os últimos autores testaram alguns fungicidas para o controle erradicante do *Fusarium*, obtendo resultados satisfatórios. No entanto, o custo para o controle químico é elevado e estudos em campos de cultivo têm sido dificultados devido à adaptação do fungo. Outros fatores a serem observados são aqueles relacionados aos aspectos químicos e físicos do solo, tais como pH, teores de matéria

orgânica e textura, os quais podem torná-lo supressivo contra o fungo, dificultando os estudos.

O controle biológico, considerado como natural, constitui uma estratégia de grande interesse e importância para viabilizar a redução ou substituição do uso de defensivos. Espécies do gênero *Trichoderma* encontram-se entre os agentes de biocontrole de doenças mais estudados no mundo, pois não são patogênicos; estão presentes em praticamente todos os tipos de solos, quando há matéria orgânica; são facilmente isolados, cultivados e multiplicados, e colonizam com eficiência o sistema radicular de diversas plantas. Várias espécies de *Trichoderma* possuem um arsenal de mecanismos de ação, que incluem a produção de substâncias antimicrobianas e o hiperparasitismo, garantindo um amplo espectro de ativi-

dade contra diferentes fitopatógenos. Portanto, possuem capacidade de controlar várias doenças. Algumas linhagens de *Trichoderma* possuem capacidade de desencadear uma série de alterações morfológicas e bioquímicas na planta, levando à ativação dos seus mecanismos de defesa contra vários fitopatógenos (Papavizas, 1985; Lorito *et al.*, 2010).

O presente trabalho teve como objetivos estudar o desenvolvimento de alternativas de controle para a podridão do colo e das raízes do maracujazeiro, por meio da avaliação do efeito de produtos químicos e de espécies de *Trichoderma* ao fungo *Fusarium solani*, bem como o efeito dos produtos químicos testados sobre as espécies de *Trichoderma*, em condições de laboratório, com vistas a dar suporte a estudos em campos de cultivo.

## Material e Métodos

### Obtenção dos isolados dos fungos

Os diferentes isolados de *Fusarium solani* foram obtidos a partir de plantas de maracujá amarelo com sintomas de apodrecimento de colo e raízes, em plantios comerciais nos municípios de Tanhaçu, Livramento de Nossa Senhora e Contendas do Sincorá, na Bahia, Brasil. Estes municípios são tradicionais produtores de maracujá e a doença ocorre com bastante frequência.

Os isolados de *Trichoderma harzianum*, *T. viride* e *T. longibrachiatum*, utilizados no presente estudo, foram gentilmente cedidos pela empresa BIOFUNGI - Controle Biológico, localizada no município de Itabuna, Bahia, Brasil.

### Inibição do crescimento micelial de *F. solani* com *Trichoderma spp.*

Para os estudos do antagonismo *in vitro* foi empregado o método da cultura pareada, no qual cada espécie de *Trichoderma* (*T. harzianum*, *T. viride* e *T. longibrachiatum*) foi utilizada separadamente contra os três isolados do *F. solani* (Tanhaçu, Livramento de Nossa Senhora e Contendas do Sincorá). Discos de ágar (7mm) contendo micélio de *Trichoderma*, separadamente, foram retirados e colocados em placas de Petri (90mm) contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), em uma das laterais. Na outra extremidade, foi colocado um disco de igual tamanho, contendo o patógeno, formando, assim o pareamento das colônias. Em seguida, foram colocadas em câmara de germinação do tipo BOD (biochemical oxygen demand) a 25°C e fotoperíodo de 12h, e avaliadas dez dias após o início da incubação. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com cinco repetições, sendo cada placa considerada como uma parcela. Placas contendo apenas um disco de micélio de *F. solani* no centro foram utilizadas como testemunha.

TABELA I  
PRODUTOS QUÍMICOS UTILIZADOS NO BIOENSAIO DE EFICIÊNCIA *IN VITRO* NO CONTROLE DE *Fusarium solani* DO MARACUJAZEIRO

Nome comercial	Nome técnico	Classe	Tipo de Formulação	Concentração do i.a (g·kg <sup>-1</sup> ou g·l <sup>-1</sup> )
Amistar WG	Azoxystrobin	Mesostêmico	Granulado dispersível	500
Brasfito	Fosfito de potássio	-	Suspensão concentrada	300
Cercobin	Tiofanato Metílico	Sistêmico	Pó Molhável	700
Cisbrafol	Fosfito de cobre	-	Suspensão concentrada	275
Manzate	Mancozeb	Contato	Granulado	750
Monceren	Pencycuron	Contato	Suspensão concentrada	829
Sporekill	Amônia quaternária	Contato	Suspensão concentrada	120

As avaliações foram realizadas de duas formas distintas. A primeira, medindo-se o diâmetro da colônia de *F. solani*, com o auxílio de uma régua milimetrada, em dois sentidos transversais, obtendo-se a média do crescimento micelial da colônia. Em seguida, foi calculada a percentagem de inibição (%I) de *F. solani* dos tratamentos em relação à testemunha, utilizando a fórmula

$$\%I = (C-T)/C \times 100$$

onde %I: percentagem de inibição, C: diâmetro do crescimento micelial da testemunha, e T: diâmetro do crescimento micelial do tratamento.

Na segunda forma de avaliação, foi utilizada uma escala de notas proposta por Bell *et al.* (1982), separando o grau de antagonismo em classes (1= *Trichoderma* cresce sobre o patógeno e ocupa toda a superfície do meio; 2= *Trichoderma* cresce sobre pelo menos 2/3 do meio; 3= *Trichoderma* e o patógeno crescem cada um sobre a metade do meio; 4= o patógeno cresce sobre pelo menos 2/3 do meio; e 5= o patógeno ocupa toda a superfície do meio).

### Inibição do crescimento micelial de *F. solani* com produtos químicos

Para a verificação da sensibilidade a produtos químicos foi utilizado o isolado de *F. solani* de Livramento de Nossa Senhora e os produtos químicos relacionados na Tabela I. Os produtos foram diluídos em série e ajustados para as concentrações de 1, 10, 100, 500 e 1000ppm de ingrediente ativo para os fungicidas ou do produto co-

mercial para os fosfitos, em meio de cultura BDA fundente a 45-50°C. Foram vertidos 20ml do meio, contendo cada produto químico e cada concentração em placas de Petri (90mm). Após o resfriamento, foi transferido para o centro de cada placa, um disco de micélio de *F. solani* de 7mm de diâmetro, crescido em BDA. Placas contendo apenas o meio de cultura e *F. solani* foram utilizadas como testemunha (0ppm). As placas foram incubadas em BOD a uma temperatura de ~25°C, com fotoperíodo de 12h, por um período de oito dias.

O delineamento experimental utilizado foi o DIC, em esquema fatorial 7×6, sete produtos químicos (amônia quaternária, azoxystrobin, fosfito de cobre, fosfito de potássio, mancozeb, pencycuron e tiofanato metílico) × seis concentrações (0, 1, 10, 100, 500 e 1000ppm), com cinco repetições, sendo cada parcela constituída por uma placa de Petri. As avaliações foram realizadas medindo-se o diâmetro da colônia do *F. solani*, com o auxílio de uma régua milimetrada, em dois sentidos transversais, obtendo-se a média do crescimento micelial da colônia. Em seguida, foi calculada a percentagem de inibição dos tratamentos em relação à testemunha, utilizando-se a fórmula descrita anteriormente.

### Sensibilidade de *Trichoderma spp.* a produtos químicos

Aqueles produtos químicos que se destacaram no controle *in vitro* do *F. solani* foram testados quanto à inibição do crescimento micelial das espécies de *Trichoderma*. Este experi-

mento foi realizado com vistas a dar suporte a uma possível associação dos controles químico e biológico sobre a podridão do colo e raízes do maracujazeiro. Para tanto, foram utilizadas as espécies *T. longibrachiatum*, *T. harzianum* e *T. viride* e os produtos químicos amônia quaternária, fosfito de potássio e tiofanato metílico.

Os produtos foram diluídos em série e ajustados para as concentrações de 1, 10, 100 e 1000ppm de ingrediente ativo para os fungicidas ou do produto comercial para o fosfito. A metodologia e testemunha utilizada foi a mesma descrita anteriormente para o teste de sensibilidade de *F. solani* aos produtos químicos.

O delineamento experimental utilizado foi o DIC, em esquema fatorial 3×3×5, três espécies de *Trichoderma* (*T. harzianum*, *T. longibrachiatum* e *T. viride*) × três produtos químicos (amônia quaternária, fosfito de potássio e tiofanato metílico) × cinco concentrações (0, 1, 10, 100 e 1000ppm), com cinco repetições, sendo cada parcela constituída por uma placa de Petri.

Os procedimentos de avaliação quanto ao diâmetro da colônia e percentagem do crescimento micelial foram semelhantes àqueles descritos para o teste de sensibilidade de *F. solani* aos produtos químicos.

### Análises estatísticas

Os resultados obtidos para a inibição do crescimento micelial de *F. solani* com as diferentes espécies de *Trichoderma* e com produtos químicos, bem como a sensibilidade de espécies de

*Trichoderma* aos produtos, foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SISVAR 5.3 (Ferreira, 2008).

No experimento de inibição do crescimento micelial de *F. solani* com produtos químicos, para aqueles produtos que apresentaram diferença significativa entre as concentrações, foi realizada a análise de regressão correlacionando a inibição micelial com o logaritmo da concentração dos produtos. Para tanto, as médias da percentagem de inibição foram transformadas em Probit (Finney, 1971). Para cada regressão, foi determinado o coeficiente de determinação ( $R^2$ ), a equação polinomial e o valor da  $ED_{50}$  (dose efetiva mediana), ou seja, a concentração do produto químico necessária para inibir em 50% o crescimento micelial fúngico (Edgington *et al.*, 1971). A  $ED_{50}$ , graficamente, corresponde ao logaritmo inverso da abscissa do ponto que tem por ordenada o valor 5 de Probit.

## Resultados e Discussão

### Inibição *in vitro* do crescimento micelial de isolados de *F. solani*

O pareamento das espécies de *Trichoderma* (*T. longibrachiatum*, *T. harzianum* e *T. viride*) demonstrou efeito antagônico significativo sobre o crescimento micelial dos diferentes isolados de *F. solani* (Tanhaçú, Livramento de Nossa Senhora e Contendas do Sincorá), quando comparados com a testemunha (*F. solani* na ausência do antagonista) (Tabela II). A percentagem de inibição variou em relação à espécie antagonista utilizada, assim como em relação à origem do isolado de *F. solani*. O maior valor verificado foi quando se utilizou o *T. viride* contra o isolado de Tanhaçú (69,8%). Entretanto, o menor valor foi observado no pareamento de *T. longibrachiatum* com o isolado de Livramento de Nossa Senhora (42,7%).

TABELA II  
PAREAMENTO ANTAGÔNICO EM MEIO DE CULTURA BDA DE *Trichoderma* SPP. CONTRA TRÊS ISOLADOS DE *Fusarium solani* DO MARACUJAZEIRO

Antagonistas	Isolados de <i>Fusarium solani</i>	Diâmetro da colônia (mm)	% de Inibição	Classe de antagonismo**
Sem antagonista	Tanhaçú	88,0 a*	-	-
	Livramento de Nossa Senhora	85,4 a	-	-
	Contendas do Sincorá	71,0 b	-	-
<i>T. longibrachiatum</i>	Tanhaçú	44,5 c	49,4	1,0
	Livramento de Nossa Senhora	48,9 c	42,7	1,6
	Contendas do Sincorá	36,5 d	48,6	1,0
<i>T. harzianum</i>	Tanhaçú	30,9 d	64,9	1,0
	Livramento de Nossa Senhora	43,1 c	49,5	1,0
	Contendas do Sincorá	29,9 d	57,9	1,0
<i>T. viride</i>	Tanhaçú	26,6 d	69,8	1,0
	Livramento de Nossa Senhora	41,1 c	51,9	1,0
	Contendas do Sincorá	30,8 d	56,7	1,0
Coef. de variação (%)		11,77		

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

\*\* Classes de antagonismo são 1: *Trichoderma* cresce sobre o patógeno e ocupa toda a superfície do meio, 2: *Trichoderma* cresce sobre pelo menos 2/3 do meio, 3: *Trichoderma* e o patógeno crescem cada um sobre a metade do meio, 4: o patógeno cresce sobre pelo menos 1/3 do meio, e 5: o patógeno ocupa toda a superfície do meio.

Quando avaliadas quanto a classes, todas as espécies de *Trichoderma* apresentaram forte antagonismo contra os três isolados de *F. solani* (Tabela II). Doze dias após a incubação as espécies antagônicas cresceram sobre o patógeno, cobrindo toda a superfície do meio. Assim, estas foram agrupadas na Classe 1, de acordo com a escala proposta por Bell *et al.* (1982). Apenas a espécie *T. longibrachiatum*, quando pareada com o isolado de Livramento de Nossa Senhora, apresentou média de classe próximo a 2, indicando uma cobertura de mais de 2/3 do meio de cultura. Possivelmente, o antagonismo das espécies de *Trichoderma* sobre os isolados de *F. solani*, se deu por antibiose e/ou hiperparasitismo, pelo fato do antagonista sobrepor o patógeno na sua quase totalidade e pela inibição do crescimento micelial do *F. solani*.

Eficiência na inibição do crescimento micelial *in vitro* de *F. solani* do maracujazeiro, também foi observada por Vaz *et al.* (2008). Utilizando as espécies *T. harzianum*, *T. viride*, *T. virens* e *T. stromaticum*, os autores conseguiram inibição na ordem de 56,1 a 92,1%. O melhor resultado foi obtido quando utilizada a espécie *T. virens*. Percentagem de inibição na ordem de 65,32 a 70,56%, de *T.*

*harzianum* sobre *F. solani* do maracujazeiro, também foram obtidas por Meza *et al.* (2008).

Outros trabalhos já apontaram a eficiência do controle de espécies de *Fusarium* utilizando *Trichoderma* como antagonista. Quiroga-Rojas *et al.* (2012) obtiveram 94,2 e 93,6% de inibição de *Fusarium* sp. do maracujazeiro, utilizando um isolado de *Trichoderma* sp. e *T. lignorum*, respectivamente. Este resultado corrobora com o encontrado neste trabalho, apontando uma alta percentagem de inibição de espécies de *Trichoderma* sobre espécies de *Fusarium*. Resultados semelhantes foram obtidos por Carvalho *et al.* (2011), conseguindo sucesso no antagonismo de seis isolados de *T. harzianum* sobre *F. oxysporum* f.sp. *phaseoli*.

A percentagem de inibição *in vitro* é dependente de vários fatores tais como: espécie de *Trichoderma*, isolado do patógeno, condições ambientais, etc. Isto pode ser observado no trabalho de Muñoz e Maniscalco (2014), onde os autores estudando o efeito de *T. harzianum* e *T. asperellum* sobre o crescimento micelial de *Pyricularia grisea*, obtiveram uma inibição variando de 18 a 52%.

Os resultados obtidos no presente trabalho indicam um grande potencial de controle de

*F. solani* do maracujazeiro utilizando-se espécies de *Trichoderma*. A especificidade do antagonismo, observada *in vitro*, aponta para um possível sucesso no controle da podridão do colo e raízes do maracujazeiro *in vivo*. No entanto, Fischer *et al.* (2010) não obteve resultados satisfatórios com duas espécies de *Trichoderma* no controle da podridão do colo e raízes do maracujazeiro, em áreas com histórico da doença. Este insucesso pode estar relacionado ao não estabelecimento das espécies de *Trichoderma* devido às condições ambientais.

O crescimento micelial de *F. solani* foi inibido significativamente pelos produtos químicos testados, na seguinte ordem: azoxystrobin e fosfito de potássio, a partir de 1ppm; tiofanato metílico a partir de 10ppm; amônia quaternária e fosfito de cobre a partir de 100ppm e mancozeb a partir de 500ppm. O pencycuron não inibiu significativamente o crescimento micelial de *F. solani* em nenhuma das concentrações estudadas (Tabela III). Quando os produtos químicos foram comparados, empregando a concentração de 1000ppm, dose comumente utilizada em condições de campo, apenas o pencycuron e mancozeb apresentaram baixos valores de inibição do cresci-

TABELA III  
CRESCIMENTO MICELIAL DE *Fusarium solani* DO MARACUJAZEIRO NA PRESENÇA DE DIFERENTES PRODUTOS QUÍMICOS E CONCENTRAÇÕES

Produtos químicos	Concentração (ppm)					
	0	1	10	100	500	1000
Amônia quaternária	66,5 (0,0)*Ab**	76,7 (0,0) Aa	65,9 (0,9) Bb	17,3 (74,0) Dc	12,4 (81,3) Cc	10,1 (84,8) Cc
Azoxystrobin	66,5 (0,0) Aa	54,0 (18,8) Cb	55,5 (16,5) Cb	44,7 (32,8) Cc	15,4 (76,8) Cd	14,0 (78,9) Cd
Fosfito de cobre	66,5 (0,0) Aa	58,6 (11,9) Ca	50,8 (23,7) Db	62,7 (5,7) Ba	21,4 (67,8) Cc	14,9 (77,6) Cc
Fosfito de potássio	66,5 (0,0) Aa	53,4 (19,7) Cb	45,1 (32,2) Db	48,4 (27,2) Cb	10,8 (83,7) Cc	13,2 (80,1) Cc
Mancozeb	66,5 (0,0) Ab	65,8 (1,0) Bb	75,9 (0,0) Aa	71,8 (0,0) Aa	46,7 (29,8) Bc	38,2 (42,5) Bd
Pencycuron	66,5 (0,0) Aa	67,0 (0,0) Ba	62,3 (6,3) Ba	69,4 (0,0) Aa	66,1 (0,6) Aa	67,0 (0,0) Aa
Tiofanato metílico	66,5 (0,0) Aa	65,0 (2,2) Ba	28,1 (57,7) Eb	11,2 (83,1) Dc	13,5 (79,7) Cc	12,6 (81,0) Cc
Coef. de variação	13,35					

\* Crescimento radial (mm) após oito dias de incubação. Valores entre parêntesis indicam a percentagem de inibição do crescimento micelial comparado ao valor da testemunha.

\*\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).

mento micelial. Os demais produtos apresentaram uma alta percentagem de inibição, variando de 77,6 a 84%.

Na Tabela IV, podem ser observadas as equações de regressão, os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e a  $ED_{50}$  dos diferentes produtos químicos testados. Observa-se que os coeficientes de determinação ( $R^2$ ), variaram de 0,86 a 0,99, indicando um bom ajuste dos dados. No entanto, se consideramos a classificação dos produtos químicos quanto a eficiência, conforme escala proposta por Edgington *et al.* (1971), onde:  $ED_{50} < 1$ ppm: altamente eficiente (AE);  $ED_{50}$  1-10ppm: moderadamente eficiente (ME);  $ED_{50}$  10-50ppm: pouco eficiente (PE) e  $ED_{50} > 50$ ppm: ineficiente (I), temos que a amônia quaternária, azoxystrobin, fosfito de cobre, fosfito de potássio e mancozeb, podem ser considerados ineficientes no controle do *F. solani*. Apenas o tiofanato metílico pode ser considerado moderadamente eficiente, com  $ED_{50}$  entre 1 e 10ppm. No entanto, esta escala foi proposta para a avaliação de fungicidas do grupo dos benzimidazóis. Dentre os produtos químicos testados, apenas o tiofanato metílico pertence a este grupo. Existe a possibilidade dos outros produtos não se enquadrarem a esta escala, inclusive os fosfitos, os quais são fertilizantes. No entanto, estudos específicos devem ser realizados.

Em estudo semelhante, Fischer *et al.* (2005) utilizaram, entre outros fungicidas, azo-

TABELA IV  
EQUAÇÃO DE REGRESSÃO, COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO ( $R^2$ ) E DOSE EFETIVA MEDIANA ( $ED_{50}$ ), DAS PERCENTAGENS DE INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *F. solani* DO MARACUJAZEIRO CORRELACIONADAS COM O LOGARITMO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CADA PRODUTO QUÍMICO

Produtos químicos	Equação de regressão	$R^2$	$ED_{50}$ (ppm)
Amônia quaternária	$Y = -0,565x^2 + 3,789x - 0,145$	0,98 *	78,7
Azoxystrobin	$Y = 0,297x^2 - 0,264x + 4,079$	0,97 *	185,8
Fosfito de cobre	$Y = 0,275x^2 - 0,047x + 3,459$	0,98 *	285,7
Fosfito de potássio	$Y = 0,163x^3 - 0,446x^2 + 0,510x + 4,175$	0,86 *	213,8
Mancozeb	$Y = 1,916x^2 - 4,877x + 2,720$	0,92 *	>1000
Tiofanato metílico	$Y = -0,572x^2 + 2,626x + 3,041$	0,99 *	8,7

\* Regressão significativa a 5% de probabilidade.

xystrobin, mancozeb, pencycuron e tiofanato metílico no controle *in vitro* de *Nectria haematococca* [*Haematonectria haematococca*], que é a forma sexuada do *F. solani*. Os resultados foram similares a este trabalho, apontando uma menor eficiência dos três primeiros e uma melhor eficiência do tiofanato metílico. Os resultados foram também comparados utilizando a escala proposta por Edgington *et al.* (1971).

A ação de fosfitos sobre o crescimento micelial *in vitro* de fungos também foi estudada por Santos (2008). Neste estudo, foi possível observar a inibição do crescimento micelial do fungo *Bipolaris sorokiniana*, causador da mancha marrom do trigo, na ordem de 59 a 65 %, por dois fosfitos diferentes, numa concentração de 1000ppm. O ácido fosforoso possui propriedades sanitárias, com atividade fungicida, atuando sobre os fungos ou na ativação de mecanismo de defesa das plantas, induzindo a produção de fitoalexinas (Daniel e Guest, 2006).

Em função dos resultados obtidos, foram escolhidos os produtos amônia quaternária, fosfito de potássio e tiofanato metílico para a realização dos experimentos de inibição do crescimento micelial de espécies de *Trichoderma*, com vistas a dar suporte a estudos da ação conjunta de produtos químicos e *Trichoderma* no controle da podridão do colo e raízes do maracujazeiro.

*Sensibilidade de Trichoderma spp. a produtos químicos*

Os efeitos dos produtos químicos no crescimento micelial de *T. longibrachiatum*, *T. harzianum* e *T. viride* estão apresentados na Tabela V. Dentre os produtos testados, o fosfito de potássio não foi capaz de inibir significativamente o crescimento micelial de nenhuma das espécies de *Trichoderma* testadas, em nenhuma das concentrações utilizadas. A amônia quaternária foi capaz de inibir o crescimento micelial de *T. longibrachiatum* e *T. harzianum* a partir

de 100ppm. Quando utilizado o tiofanato metílico, a inibição ocorreu a partir de 10ppm para todas as espécies testadas. A 1000ppm ocorreu uma alta percentagem de inibição do crescimento micelial de todas as espécies, tanto para a amônia quaternária (80,1-87,8%), como para o tiofanato metílico (94,0-94,4 %). Dessa forma, uma possível associação de amônia quaternária ou tiofanato metílico a *T. longibrachiatum*, *T. harzianum* ou *T. viride*, para o controle de *F. solani* do maracujazeiro é inviável, uma vez que a concentração de 1000ppm é a dose comumente utilizada em condições de campo. No entanto, a associação destas espécies ao fosfito de potássio pode ser uma boa alternativa de controle do *F. solani* do maracujazeiro.

O efeito de fungicidas no crescimento micelial de agentes de biocontrole tem sido estudado por alguns autores. Sarkar *et al.* (2010) demonstraram o efeito de diversos fungicidas na inibição do crescimento micelial de *T. harzia-*

TABELA V  
CRESCIMENTO MICELIAL E PORCENTAGEM DE INIBIÇÃO DE *Trichoderma harzianum*, *T. longibrachiatum*  
E *T. viride* A DIFERENTES PRODUTOS QUÍMICOS E CONCENTRAÇÕES

Espécies de <i>Trichoderma</i>	Produtos químicos	Concentração (ppm)				
		0	1	10	100	1000
<i>T. harzianum</i>	Amônia quaternária	90,0 (0,0) Aa	90,0 (0,0) Aa	85,6 (4,9) Aa	15,5 (82,8) Bb	10,8 (88,0) Bb
	Fosfito de potássio	90,0 (0,0) Aa	90,0 (0,0) Aa	90,0 (0,0) Aa	90,0 (0,0) Aa	76,8 (14,7) Ab
	Tiofanato metílico	90,0 (0,0) Aa	89,0 (1,1) Aa	8,9 (90,1) Bb	7,5 (91,7) Bb	5,0 (94,4) Bb
<i>T. longibrachiatum</i>	Amônia quaternária	90,0 (0,0) Aa	86,5 (3,9) Aa	88,0 (2,2) Aa	25,9 (71,2) Bb	11,7 (87,0) Bc
	Fosfito de potássio	90,0 (0,0) Aa	90,0 (0,0) Aa	90,0 (0,0) Aa	90,0 (0,0) Aa	86,0 (4,4) Aa
	Tiofanato metílico	90,0 (0,0) Aa	88,5 (1,7) Aa	11,3 (87,4) Bb	6,0 (93,3) Cb	5,4 (94,0) Bb
<i>T. viride</i>	Amônia quaternária	90,0 (0,0) Aa	90,0 (0,0) Aa	90,0 (0,0) Aa	84,0 (6,7) Aa	17,9 (80,1) Bb
	Fosfito de potássio	90,0 (0,0) Aa	90,0 (0,0) Aa	90,0 (0,0) Aa	87,3 (3,0) Aa	87,0 (3,3) Aa
	Tiofanato metílico	90,0 (0,0) Aa	90,0 (0,0) Aa	36,5 (59,4) Bb	6,0 (93,3) Bc	5,4 (94,0) Cc
Coef. de variação (%)		10,75				

\* Crescimento radial (mm) após oito dias de incubação. Valores entre parêntesis indicam a percentagem de inibição do crescimento micelial comparado ao valor da testemunha.

\*\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).

num. No entanto, foi observada uma compatibilidade entre oxiclóreto de cobre e hidróxido de cobre, quando usados em baixas concentrações. Estudos anteriores, realizados por De Cal *et al.* (1994), sugerem que agentes de biocontrole, que podem tolerar a certos níveis de fungicidas, podem ser misturados aos agroquímicos, resultando na erradicação de doenças de plantas.

## Conclusões

Os antagonistas *Trichoderma longibrachiatum*, *T. harzianum* e *T. viride*, bem como os produtos químicos amônia quaternária, fosfito de potássio e tiofanato metílico são eficientes na inibição do crescimento micelial de *F. solani* isolado de maracujazeiros, em condições de laboratório. Como o fosfito de potássio não foi capaz de inibir, significativamente, o crescimento micelial de nenhuma das espécies de *Trichoderma* testadas, pode-se inferir que a associação deste produto com espécies de *Trichoderma*, no controle de *F. solani* do maracujazeiro, pode ser uma alternativa viável.

## REFERÊNCIAS

Bell DK, Ells HD, Markham CR (1982) In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology* 72: 379-382.

Castro APG, Faleiro FG, Carvalho DDC, Fonseca KG, Vilela MF, Junqueira NTV, Cares JE (2011) Genetic variability of *Passiflora* spp. from commercial fields in the Federal District, Brazil. *Ciênc. Rural* 41: 996-1002.

Carvalho DDC, Mello SCM, Lobo Júnior M, Silva MC (2011) Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in vitro e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. *Trop. Plant Pathol.* 36: 28-34.

Carvalho AM, Carvalho AMB (1968) Nota preliminar sobre a ocorrência de *Fusarium* sp. em plantas de maracujá, no Estado de São Paulo. *Ciênc. Cult.* 20: 265-266.

Daniel R, GUEST D (2006) Defense responses induced by potassium phosphonate in *Phytophthora palmivora*-challenged *Arabidopsis thaliana*. *Physiol. Molec. Plant Pathol.* 67: 194-201.

De Cal A, Pascual S, Melgarejo P (1994) In vitro studies on the effects of fungicides on beneficial fungi of peach twig mycoflora. *Mycopathologia* 126: 15-20.

Dias MSC (2000) Principais doenças fúngicas e bacterianas do maracujazeiro. *Inf. Agropec.* 21: 34-38.

Edgington LV, Khew KL, Barron GL (1971) Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. *Phytopathology* 61: 42-44.

Ferreira D (2008) SISVAR: um programa para análise e ensino de estatística. *Symposium* 6: 36-41.

Fischer IH, Rezende, JAM (2008) Diseases of the passion flower (*Passiflora* spp.). *Pest Technol.* 2: 1-19.

Fischer IH, Lourenço AS, Martins MC, Kimati H, Amorim L (2005) Seleção de plantas resis-

tentes e de fungicidas para o controle da podridão do colo do maracujazeiro causada por *Nectria haematococca*. *Fitopatol. Brás.* 30: 250-258.

Fischer IH, Almeida AM, Filete MS, Bertani RMA, Arruda MC, Bueno CJ (2010) Avaliação de *Passifloraceas*, fungicidas e *Trichoderma* para o manejo da podridão do colo do maracujazeiro causada por *Nectria haematococca*. *Rev. Brás. Fruticult.* 32: 709-717.

Finney DJ (1971) *Probit Analysis*. Cambridge University Press. Cambridge, RU. 333 pp.

IBGE (2009) Banco de Dados Agregados. Sistema IBGE de recuperação Automática (SIDRA). www.sidra.ibge.gov.br/bda (Cons. 05/06/2014).

Laranjeira FF, Santos Filho HP (2002) Podridões Radiculares e Murchas do Maracujazeiro. Comunicado Técnico 79. EMBRAPA. Brasil. 8 pp.

Leslie JF, Summerell BA (2006) *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell. Ames, IO, EEUU. 388 pp.

Lorito M, Woo SL, Harman GE, Monte E (2010) Translational research on *Trichoderma*: from omics to the field. *Annu. Rev. Phytopathol.* 48: 395-417.

Meza CLS, Barbosa RJF, Valero NO, Carrillo RMG, Redondo ARP (2008) Antagonismo in vitro de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., asociado a la marchitez em maracujá. *Rev. Colomb. Biotechnol.* 10: 35-43.

Muñoz LN, Maniscalco DP (2014) Tratamiento biológico del cultivo de arroz em condiciones de vivero empleando el hongo *Trichoderma* spp. *Interciencia* 39: 185-190.

Novaes QS (2005) *Recomendações Técnicas para o Cultivo de Maracujá Amarelo nos Municípios de Livramento de Nossa Senhora e Dom Basílio*. Boletim Técnico SEBRAE. Brasil. 27pp.

Papavizas GC (1985) *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potential for biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol.* 23: 23-54.

Quiroga-Rojas LF, Ruiz-Quiñones N, Muñoz-Motta G, Lozano-Tovar MD (2012) Microorganismos rizosféricos, potenciales antagonistas de *Fusarium* sp. causante de la pudrición radicular de maracujá (*Passiflora edulis* Sims). *Acta Agron.* 61: 265-272.

Roncatto G, Oliveira JC, Ruggiero C, Nogueira Filho GC, Centurion MAPC, Ferreira FR (2004) Comportamento de maracujazeiros (*Passiflora* spp.) Quanto à morte prematura. *Rev. Brás. Fruticult.* 26: 552-554.

Santos HAA (2008) *Efeito de Fosfito no Controle de Doenças Foliares de Trigo in vitro e in situ*. Tese. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Brasil. 143 pp.

Sarkar S, Narayanan P, Divakaran A, Balamurugan A, Premkumar R (2010) The in vitro effect of certain fungicides, insecticides, and biopesticides on mycelia growth in the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. *Turk. J. Biol.* 34: 399-403.

Simmonds JH (1966) *Host Index of Plant Diseases in Queensland*. Queensland Department of Primary Industries. Brisbane, Australia. 111 pp.

Vaz AB, São José AR, Santos A, Novaes QS (2008) Potencial uso de *Trichoderma* spp. para o biocontrole de *Fusarium solani* do maracujazeiro. *Trop. Plant Pathol.* 33 (supl.): S42.