

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA TROPICAL**

CARMELITA DOS SANTOS OLIVEIRA
Magister Scientiae

**CONTROLE DA FUSARIOSE DA
PIMENTA-DO-REINO COM APLICAÇÃO DE
*TRICHODERMA HARZIANUM***

**SÃO MATEUS, ES
2012**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA TROPICAL**

**CONTROLE DA FUSARIOSE DA
PIMENTA-DO-REINO COM APLICAÇÃO DE
*TRICHODERMA HARZIANUM***

CARMELITA DOS SANTOS OLIVEIRA

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical, para obtenção do título de Mestre em Agricultura Tropical.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Barreto da Silva

**SÃO MATEUS, ES
Junho de 2012**

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

O48c Oliveira, Carmelita dos Santos, 1974-
Controle da fusariose da pimenta-do-reino com aplicação de
trichoderma harzianum / Carmelita dos Santos Oliveira. – 2012.
41 f. : il.

Orientador: Marcelo Barreto da Silva.
Coorientador: Adriano Alves Fernandes.
Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) –
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Nor-
te do Espírito Santo.

1. Pragas - Controle biológico. 2. Pimenta-do-reino. 3.
Fusarium solani. I. Silva, Marcelo Barreto da. II. Fernandes,
Adriano Alves. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro
Universitário Norte do Espírito Santo. IV. Título.

CDU: 63

Controle da fusariose da pimenta-do-reino com aplicação de *Trichoderma harzianum*

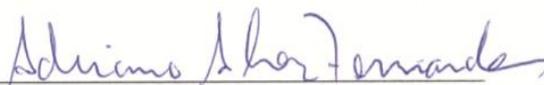
Carmelita dos Santos Oliveira

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical, para obtenção do título de Mestre em Agricultura Tropical.

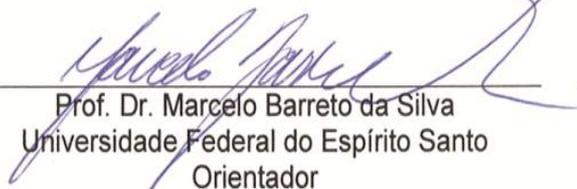
Aprovada: 19/06/2012.



Dr. Trazilbo José de Paula Júnior
Empresa de Pesquisa Agropecuária de
Minas Gerais



Prof. Dr. Adriano Alves Fernandes
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof. Dr. Marcelo Barreto da Silva
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador

Dedico esse trabalho aos meus pais Adão Sant'Ana de Oliveira (*in memoriam*) e Maria Efren dos Santos Oliveira, pela educação e por serem meu porto-seguro.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me conceder a graça da vida e por ser luz em minha caminhada; por me dar forças e muita persistência para lutar sempre e não me deixar abater diante dos desafios e dificuldades e permitir que eu alcance meus objetivos;

Ao professor, orientador e amigo Marcelo Barreto da Silva, que confiou na minha capacidade e permaneceu ao meu lado para críticas, incentivo, ajuda e atenção. Profissional solidário e gerador de oportunidades para aqueles que desejam desenvolver seus talentos. Obrigada por seus ensinamentos, pois contribuíram valiosamente para a minha formação acadêmica e pessoal;

Agradeço infinitamente à minha mãe Maria Efren dos Santos Oliveira, pelo exemplo de vida e, mesmo distante, mostrou fundamental participação na minha formação, me apoiando em todos os momentos da minha vida, com suas orações e com seu amor incondicional (*Ágape*) por mim;

Ao amigo e irmão Antonio Pereira Drumond (amigo mais chegado do que um irmão – Provérbios 18:24), pois me acolheu, ajudou e caminhou comigo, inclusive na condução dos experimentos (“Tony” - muito obrigada);

Aos meus queridos irmãos Adriana, Claudiney, Edson, Andeides e Sônia, mesmo longe estiveram presentes nesta caminhada; aos meus sobrinhos Vitória, Talita, Victor, Vanessa, Vinícius, Gabriel, Adam e Izabela; e às cunhadas Sheila e Claudiana. Muito obrigada pela força.

Ao Centro Universitário Norte do Espírito Santo (CEUNES) – Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), pela sólida formação, a qual permitiu a continuidade dos meus estudos;

Aos professores do Curso de Mestrado em Agricultura Tropical, pela confiança, orientação e ensinamentos. Em especial ao saudoso e eterno amigo Prof. Valdenir José Belinelo (*in memoriam*), pelo incentivo e apoio;

Agradeço aos meus amigos Terezinha, Bernadeth, Mariana Ferraço, Ana, Yasmim, Fernanda Duque, Fábio Pires, Rodrigo Sobreira, Márcia Barbutti, Luiz Fernando Duboc, Helder, Francisco, Hewertton, Adelson, Maria, Jorge, Diego Capucho, Alex, Bruno, Deângelys, Giliard, Eunícia, Thiago, Ribamar, Loide, Benedito, Clemilton, Sílvia, Vanice, Júlio, Lucia, Larissa, Edilson, Damaris, Antelmo, Olivério, Adriano, Rosângela, Fábio Partelli, Poliana, Ângela, Marcus, Valmir e Elias, pelo apoio;

Agradeço também às empresas Defagro (Marcelo), Fitoclin (Joseli Tatagiba), Itaforte (Ariclenis Ballarotti) e ao Sindicato Rural, Incaper (Wellington Secundino e Jorge Soares), por contribuírem valiosamente na minha formação;

Aos senhores José Bonomo, Elizeu Bonomo e Rafael Malanquine, pela cessão do espaço em suas propriedades, a fim de que os experimentos da presente pesquisa acontecessem. Muito obrigada pelas suas colaborações;

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo, sem a qual nada do que até aqui alcancei teria se tornado real.

BIOGRAFIA

Carmelita dos Santos Oliveira, filha de Adão Sant'Ana de Oliveira e Maria Efren dos Santos Oliveira, nasceu em 17 de setembro de 1974, na cidade de Governador Valadares, MG.

Em dezembro de 2009, graduou-se em Agronomia pela Universidade do Vale do Rio Doce, em Governador Valadares, MG.

Em maio de 2010, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical, em nível de Mestrado, na Universidade Federal do Espírito Santo, submetendo-se à defesa de dissertação em junho de 2012.

Não importa se a estação do ano
muda [...]
Se o século vira, se o milênio é ou-
tro.
Se a idade aumenta [...]
Conserva a vontade de viver,
Não se chega a parte alguma sem
ela.

Fernando Pessoa

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Curva de progresso da doença, para os tratamentos.....	28
FIGURA 2 – Área Abaixo da Curva de Progresso.....	29
FIGURA 3 – Curva de progresso da fusariose.....	30
FIGURA 4 – Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD).....	31
FIGURA 5 – Variação da intensidade da doença na última avaliação.....	31
FIGURA 6 – Curva de progresso da fusariose.....	34
FIGURA 7 – Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD).....	34

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	12
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 A CULTURA DA PIMENTA-DO-REINO.....	15
2.2 A FUSARIOSE.....	16
2.3 CONTROLE BIOLÓGICO.....	19
2.4 USO DE <i>TRICHODERMA</i> NO CONTROLE BIOLÓGICO.....	20
2.5 <i>TRICHODERMA</i> NA CULTURA DE PIMENTA-DO-REINO.....	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 COMPARAÇÃO ENTRE DIFERENTES MÉTODOS DE APLICAÇÃO.....	24
3.2 ESTUDO DE DOSE E INTERVALO DE APLICAÇÃO.....	25
3.3 EXPERIMENTO DE VALIDAÇÃO.....	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1 COMPARAÇÃO ENTRE DIFERENTES MÉTODOS DE APLICAÇÃO.....	27
4.2 ESTUDO DE DOSE E INTERVALO DE APLICAÇÃO.....	30
4.3 EXPERIMENTO DE VALIDAÇÃO.....	33
5 CONCLUSÕES	36
REFERÊNCIAS	37

RESUMO

OLIVEIRA, C. S.; M.Sc.; Universidade Federal do Espírito Santo, junho de 2012; **Controle da fusariose da pimenta-do-reino com aplicação de *Trichoderma Harzianum***. Orientador: Marcelo Barreto da Silva. Co-orientador: Adriano Alves Fernandes.

A fusariose é um dos principais problemas fitossanitários na cultura da pimenta-do-reino, por causar a morte das plantas e, conseqüentemente, redução da produtividade, acarretando prejuízos econômicos à pipericultura. Considerando as dificuldades e limitações no controle desta doença, o controle biológico com o fungo *Trichoderma* spp. surge como alternativa a ser incorporada em seu manejo integrado. Objetivou-se neste trabalho avaliar a eficiência do produto Trichodermil® no controle da fusariose em lavouras de pimenta-do-reino localizadas na região Norte do Espírito Santo, no município de São Mateus. O uso do Trichodermil® reduziu a intensidade de doença nas lavouras, proporcionando eficiência de controle de até 50%. A mistura de compostos fornecedores de matéria orgânica, com exceção da Polycana®, reduziu a eficiência do Trichodermil®. O intervalo entre aplicações de 90 e 120 dias foram os que apresentaram melhor controle, nas doses de 1 ou 2 mL por planta.

PALAVRAS-CHAVE: *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, controle biológico, *Piper nigrum* L.

ABSTRACT

OLIVEIRA, C. S., M.Sc., Federal University of Espírito Santo, in June 2012, **Control of fusarium wilt of black pepper with application of *Trichoderma harzianum***. Advisor: Marcelo Barreto da Silva. Co-advisor: Adriano Alves Fernandes.

The fusarium wilt is a major disease of black pepper. Frequently it causes plant and, consequently, reduces yield, resulting in economic losses for black pepper producers. Considering the difficulties and limitations in controlling this disease, biological control with *Trichoderma* spp. could be an alternative strategy to be included in the integrated disease management. The objective of this research was to evaluate the efficiency of Trichodermil[®] in controlling fusarium disease in crops of black pepper in the North of the Espírito Santo State in the city of São Mateus. The use of Trichodermil[®] reduced the disease in the field up to 50%. The mixture of organic matter suppliers compounds, with the exception of Polycana[®], reduced the efficiency of Trichodermil[®]. The application intervals of 90 and 120 days were those with better control, at doses of 1 or 2 mL per plant.

KEYWORDS: *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, biological control, *Piper nigrum* L.

1 INTRODUÇÃO

A agricultura exerceu ao longo de sua história um papel fundamental para o desenvolvimento da humanidade. Diante dos problemas enfrentados, passou a exigir padrões de produtividade acima dos valores tradicionais, deixando de ser uma atividade meramente extrativista para assumir um caráter de produção intensificada de alimentos.

Na tentativa de controlar doenças que atacam as plantações, os defensivos químicos são largamente utilizados devido a sua eficácia e praticidade de uso, porém seu uso intensivo tem ocasionado vários problemas como desequilíbrio biológico, alteração da ciclagem dos nutrientes, contaminação dos solos e da água, intoxicação dos produtores, resistência de patógenos, eliminação de organismos benéficos e a redução da biodiversidade (BETTIOL & MORANDI, 2009).

O controle biológico torna-se uma alternativa viável para o controle dos diversos tipos de patógenos, mostrando-se vantajoso em relação ao controle químico, especialmente quanto a alguns aspectos importantes para a vida no planeta, tais como o impacto ambiental e o desenvolvimento da atividade sustentável. Entretanto, apenas a substituição de um produto químico por outro biológico não é uma ação tão simples e adequada como se pensa. É imprescindível ainda o conhecimento acerca da cultura a ser implantada, a área do cultivo, os patógenos específicos, a escolha de variedades adaptadas à região ou melhoradas geneticamente, além de integrar sistemas de cultivo sustentáveis e manejo adequado dos recursos naturais.

Caracteriza-se controle biológico pela redução da densidade de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocada por patógenos nos seus estados de atividade ou dormência, por um ou mais organismos, realizado naturalmente ou através da manipulação do ambiente, hospedeiro ou antagonista (BAKER & COOK, 1974).

Segundo Bettiol *et al.* (2009), o manejo e as boas práticas agrícolas são importantes para estimular a sobrevivência e eficiência dos agentes biológicos, aumentando a supressividade do solo.

O cultivo da pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) tem sido uma das atividades de maior desafio para os produtores da região Norte do Estado do Espírito Santo, devido a problemas fitossanitários, alto custo de implantação e oscilação de preço, comprometendo a sustentabilidade da produção no Estado (VENTURA & COSTA, 2004).

A fusariose, doença causada pelo fungo (*Fusarium solani* f. sp. *piperis*) é o principal limitante do cultivo da pimenta-do-reino. O patógeno pode comprometer o sistema radicular das plantas, obstruindo os vasos condutores de fotoassimilados, levando à murcha e queda das folhas e internódios, ocasionando a perda da produtividade

O fungo *Trichoderma harzianum* é vastamente estudado para controle biológico de patógenos como *Meloidogne incognita* (SANTIN, 2008), *Pythium* spp. (MONTERO-BARRIENTOS *et al.*, 2011; PANDEY *et al.*, 2010), *Rhizoctonia solani* (PANDEY *et al.*, 2010), *Phytophthora* spp. (ADEDEJI *et al.*, 2008; ROBERTS *et al.*, 2010), *Crinipellis perniciosus* (SONOGO *et al.*, 2002), *Fusarium* spp. (YANG *et al.*, 2010) e *Alternaria alternata* (SEMPERE & SANTAMARINA, 2007).

Considerando as dificuldades e limitações no controle da podridão das raízes, o controle biológico com o fungo *Trichoderma* spp. surge como alternativa promissora no contexto do manejo integrado de doenças. Objetivou-se neste trabalho avaliar a eficiência do Trichodermil, produzido à base de *Trichoderma harzianum*, no controle da fusariose em lavouras de pimenta-do-reino.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A CULTURA DA PIMENTA-DO-REINO

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) é originária do sudeste da Ásia, mais precisamente da Índia, sendo a mais comum e importante das especiarias. Constitui-se uma planta trepadeira, pertencente à família *Piperaceae* (COSTA & MEDEIROS, 2000), adequando-se ao clima quente e úmido, com temperatura ótima entre 23 e 28 °C, precipitação de 1500 a 2500 mm e umidade relativa do ar de 80%). É uma espécie que dá retorno de produção em curto período de tempo, podendo ser comercializada a partir do segundo ano com ampla utilização na culinária, indústria de cosméticos e de carnes, como conservante e para dar sabor peculiar aos diversos alimentos em várias partes do mundo. As variedades mais cultivadas no Espírito Santo são a “Bragantina” e a “Guajarina”, com produção em larga escala para o comércio interno e externo.

A cultura apresenta grande importância socioeconômica, como geradora de renda para famílias rurais, empregando várias pessoas no período da safra. Além disso, permite que propriedades de base familiar tenham sua rentabilidade aumentada. Os principais países produtores de pimenta-do-reino no mundo em 2010, segundo Peppertrade (2011), foram Vietnã, com 90 mil toneladas, Índia, com mais 50 mil toneladas, Brasil, com aproximadamente 45 mil toneladas e Indonésia e Malásia, com 25 mil e 20 mil toneladas, respectivamente. Estes números correspondem a praticamente 80% de todo volume produzido no mundo, pouco superior a 271 mil toneladas.

O Brasil é um dos maiores produtores de pimenta-do-reino, com oscilação entre a segunda e a terceira posição no mercado mundial. Em 2011, o país teve uma produção de 65 mil toneladas de pimenta-do-reino (FAO, 2011), sendo 45 mil toneladas exportadas para a Europa e Estados Unidos (PEDEAG, 2011). Em termos de produção nacional, os Estados do Pará, Espírito Santo, Bahia, Maranhão e Paraíba se destacam (IBGE, 2011).

Conforme Serrano, *et al.* (2008) a pimenta-do-reino é cultivada especialmente por pequenos e médios produtores rurais e 80 a 85% da produção são destinadas ao mercado externo. De acordo com Peppertrade (2011), a produção capixaba representa 10% da produção nacional, em uma área de 2.600 ha. A exportação da pimenta-do-reino pelo porto de Vitória, em 2007, gerou uma receita de 31 milhões de reais, colocando a pimenta-do-reino em terceiro lugar em importância dos produtos da exportação agrícola pelo Estado (PEPPERTRADE, 2011). Com a safra de 2010, arrecadou-se em torno de 45 milhões de reais no Espírito Santo, o que confirmou o Estado como segundo maior produtor da especiaria no Brasil. O Estado produz todos os anos, de sete a oito mil toneladas do produto, o que corresponde a aproximadamente 15% da produção nacional.

O município de São Mateus concentra 73% da produção de pimenta-do-reino do Espírito Santo, sendo o maior município produtor desta especiaria no Brasil. Assim, a pipericultura torna-se uma atividade socioeconômica de grande valor, gerando 2.200 empregos e receita no valor de 19 milhões de reais anuais (PEDEAG, 2011).

Ao longo dos últimos 30 anos a fusariose se estabeleceu na região produtora de pimenta-do-reino do Espírito Santo, passando a ser um componente que afeta a sustentabilidade da produção no Estado, reduzindo o período da produção da lavoura.

2.2 A FUSARIOSE

A fusariose da pimenta-do-reino é causada pelo fungo *Fusarium solani f.sp. piperis*. O fungo produz esporos assexuais (macroconídios e microconídios) e clamidósporos (estruturas de resistência de patógeno), que sobrevivem no solo ou em restos culturais, podendo ser transmitidos por equipamentos e água (ZACCARDELLI *et al.*, 2008).

Todas as espécies de *Fusarium* possuem um estágio saprofítico e são habitantes comuns do solo. Uma vez introduzidos no solo, persistem quase que indefinidamente na forma de micélio em restos culturais ou como esporos dormentes (clamidósporos).

A doença é também conhecida por podridão do pé e podridão das raízes. O patógeno ataca o sistema radicular da planta, interrompendo o fluxo de seiva nos vasos condutores e, conseqüentemente, diminuindo gradativamente a vitalidade das plantas, até provocar, na maioria dos casos, sua morte. Os sintomas na parte aérea iniciam-se com necrose, murcha e queda dos internódios e folha, levando à morte da planta.

Conforme Ventura e Costa (2004) a doença inicia-se em pequenas reboleiras, expandindo-se posteriormente para toda a lavoura. São recomendadas medidas de manejo de prevenção, como produção de mudas saudáveis, escolha adequada da área de plantio e adoção de práticas culturais, como a não movimentação do solo e a adubação adequada.

Os fungos do gênero *Fusarium* têm uma ampla distribuição geográfica, com espécies cosmopolitas e outras com ocorrência restrita a determinados ambientes, ocorrendo, predominantemente, nas regiões tropicais e subtropicais ou em condições de clima frio das regiões temperadas, embora algumas espécies tenham uma íntima associação com os hospedeiros (BURGESS *et al.*, 1994).

A variabilidade da cultura é comum em algumas espécies, como *F. oxysporium* e *F. solani*, estando possivelmente associada a sua ampla adaptação em diferentes ambientes. A identificação de espécies de *Fusarium* é baseada na morfologia dos macro e microconídios, conidióforos, clamidósporos e na disposição dos conídios no conidióforo. Marcante é o fato das características morfológicas sofrerem influência do ambiente e das condições nutricionais do substrato. Especialistas no gênero utilizam meios de cultura e condições padronizadas para identificação (PORTAL PATOLOGIA DE SEMENTES, 2010).

Conforme orienta Domsch *et al.* (1980), o gênero *Fusarium* é caracterizado pelo crescimento rápido, colônias com coloração pálida ou colorida (violeta a púrpura escura ou do creme a laranja), com micélio aéreo e difuso, é composta por fungos de solo que fazem a decomposição de substratos celulósicos das plantas, sendo que alguns isolados são parasitas das plantas.

Os microconídios são unicelulares e uninucleados, aparecendo ocasionalmente em culturas velhas; os macroconídios mais comuns são multicelulares, mas cada célula tem somente um núcleo e os clamidósporos são globosos, ocasionais e a maioria intercalar, solitário ou em cadeias curtas e são estruturas de resistência. Todos os núcleos de um macroconídio, contudo, são descendentes mitóticos de um mesmo núcleo progenitor e são, portanto, geneticamente idênticos (PUHALLA, 1981).

Segundo Puhalla (1981), os estágios sexuais de *Fusarium* são ascomicetos; o esporo sexual é o ascósporo. Cada célula de um ascósporo bicelular é uninucleada e ambos os núcleos são geneticamente idênticos. São classificados na classe Hifomiceta da subdivisão Deuteromicotina, incluindo espécies que produzem macroconídios hialinos, geralmente septados, caracterizados por possuírem as células basais e apicais diferenciadas, que são de grande importância na taxonomia das espécies.

Devido à plasticidade e variações de características fenotípicas encontradas neste fungo, a taxonomia baseada somente em conceitos morfológicos não é confiável (SNYDER & HANSEN, 1953; TAYLOR *et al.*, 2001; SUMMERELL & LESLIE, 2003), uma vez que algumas espécies de *Cylindrocarpon* spp. e *Acremonium* spp também produzem conídios multicelulares fusiformes, semelhantes aos produzidos pelas espécies de *Fusarium*. Claramente, uma investigação da variação em *Fusarium* é essencial para uma caracterização do gênero (GODOY & COLOMBO, 2004). Ainda neste aspecto, dentro do gênero *Fusarium*, há uma série de variações de características morfológicas e patogênicas, resultando em uma classificação complexa dividida em seções, *formae speciales* e raças (OLIVEIRA & COSTA, 2002).

O termo usado *formae speciales* foi usado por Snyder e Hansen (1953) para reconhecer isolados patogênicos que foram morfológicamente semelhantes a isolados saprofitos de mesma espécie, mas que diferenciam em sua habilidade para parasitar hospedeiros específicos. Isolados patogênicos de *F. oxysporum* estão classificados dentro de mais de 120 *formae speciales* e raças.

Algumas espécies primariamente causam decomposição e estão associadas com podridões em órgãos de reserva de vários vegetais (*Fusarium moniliforme*, podridão da cana-de-açúcar); outras espécies são primariamente invasoras do tecido cortical,

causando “*damping off*” ou tombamento (*Fusarium* spp., em cebola, eucalipto, fumo e tomate); podridões de raízes e da coroa e cancos em caules (*Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, em feijoeiro) e outras são parasitas vasculares altamente específicos, citam-se várias *formae speciales* de *Fusarium oxysporum*, entre elas o *Fusarium oxysporum* f. sp. *Phaseoli*, causada da murcha-de-fusarium em feijoeiro (BEDENDO, 2005).

As espécies de *Fusarium* que causam murchas vasculares são todas classificadas como *Fusarium oxysporum* (ALEXOPOULOS *et al.*, 1996), que formam um complexo de fungos de solo, compostos por patótipos classificados em várias *formae speciales*, com base em critério patogênico (NELSON *et al.*, 1983).

Ocorrem mais de 20 doenças de importância econômica causadas por *Fusarium oxysporum*. O patógeno invade as plantas principalmente pelo sistema radicular e coloniza o xilema (vasos condutores de água do sistema vascular). Os sintomas incluem: murcha, descoloração vascular, clorose, nanismo e morte prematura de plantas.

Entre algumas doenças de importância econômica podem ser citadas: murcha-do-algodoeiro (*F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum*), murcha-de-fusarium-do-tomateiro (*F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*), murcha-da-bananeira (*F. oxysporum* f. sp. *cubense*) e murcha-de-fusarium-do-feijoeiro (*F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*) (BEDENDO, 2005).

2.3 CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico se mostra como uma opção essencial na agricultura. Isto é evidenciado pelo fato de que, quando a planta é domesticada e cultivada em condições diferentes, em monocultura, por exemplo, adubação química e agrotóxicos, ocorre a alteração do ecossistema original, isto é, da microflora e fauna benéficas à planta. Assim, criam-se condições para o surgimento de epidemias de doenças e pragas (BERGAMIM FILHO *et al.*, 2005).

O controle químico de plantas não é totalmente eficaz, uma vez que o patógeno consegue penetrar no tecido vascular da planta, como é o caso de *Fusarium oxysporum*, onde o produto químico não atua com eficiência. Os produtos fitossanitários têm causado impactos negativos nos mais diferentes compartimentos dos ecossistemas.

Alternativa para o controle de fitopatógenos é o uso de microrganismos antagonistas, os quais oferecem potencialmente respostas para muitos problemas enfrentados na agricultura. O controle biológico de patógenos veiculados pelo solo pode ser obtido através da introdução de antagonistas, tanto no solo quanto nos órgãos de propagação ou através da manipulação do ambiente.

O controle biológico atua onde outros métodos não conseguem ou são limitados, podendo fornecer resultados em curto período. Um exemplo de sua aplicação é o parasitismo de escleródios de *S. sclerotiorum*, que sobrevivem por vários anos no solo. Essa vantagem tem impulsionado seu uso no Brasil, ainda que de forma relativamente empírica. Em campo, há poucos estudos realizados de forma sistematizada, o que tem dificultado sua aceitação por agricultores e profissionais da assistência técnica (EMBRAPA, 2009).

2.4 O USO DE *TRICHODERMA* NO CONTROLE BIOLÓGICO

O gênero *Trichoderma*, pertencente à Ordem *Hypocreales*, é representado por fungos não patogênicos, habitantes do solo e que exercem antagonismo a vários fitopatógenos, através da competição ou antibiose, bem como por hiperparasitismo (MELO, 1998). *Trichoderma* ssp. é um micoparásita necrotrófico eficaz no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos, principalmente aqueles com estruturas de resistência consideradas difíceis de serem atacadas por microrganismos, como escleródios, clamidósporos e microescleródios (MELO, 1996).

Os principais mecanismos de controle biológico que *Trichoderma* utiliza em confronto direto com fungos patogênicos são micoparasitismo (HARMAN & KUBICEK, 1998; HOWELL, 2003) e antibiose (HOWELL, 1998). O complexo processo de micoparasi-

tismo consiste em vários eventos, incluindo o reconhecimento do hospedeiro, ataque e subsequente penetração e morte.

Trichoderma é um dos fungos mais pesquisados no controle de fitopatógenos por proporcionar numerosas vantagens, tais como controle de agentes patogênicos e estimulação do crescimento das raízes, bem como o apoio ao crescimento saudável da planta (HARMAN *et al.*, 2004). Sua eficiência na redução do inóculo de patógenos no ambiente e na severidade de doenças já foi estudado em *Fusarium sp.*, *Phytophthora*, *Phytium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Sclerotinia*, *Botrytis*, *Roselinia*. (POMELLA & RIBEIRO, 2009).

Fatores como temperatura, umidade, aeração, pH e teor de matéria orgânica influenciam na sobrevivência de *Trichoderma* em solo natural ou infestado artificialmente. *T. viride* é um antagonista ativo em condições de solo úmido, mas é inibido em presença de umidade com pH acima de 5,4. Foi observado antagonismo de *T. harzianum* em vários valores de pH menores de 6,5, sendo a faixa ótima entre 4,5 e 5,3 (COOK; BAKER, 1983; ETHUR, 2002). Medidas da colonização saprofítica competitiva foram usadas para avaliar a atividade de *T. harzianum* em solos não estéreis sob condições de variação de umidade e temperatura do solo, sendo que a atividade saprofítica de *T. harzianum* foi maior em temperaturas de 15 a 21°C (EASTBURN & BUTLER, 1991).

Sutton (2000) mostrou alguns exemplos importantes de controle: o estabelecimento de *T. viride* no solo, favorecendo o cultivo de maçãs, onde a mistura de antagonista com solo parcialmente esterilizado foi capaz de proteger mudas de macieiras por muitos anos contra podridões causadas por *Phytophthora* e *Rosellinia* (SANHUEZA, 1987). A aplicação de *T. harzianum* no solo, protege pessegueiros contra *Armillaria mellea* por pelo menos quatro anos (HARMAN, 2004); a aplicação de *T. harzianum* no solo, antes do plantio de mudas de morango, protege a cultura e houve multiplicação do antagonista em solos infestados com *Verticillium* e *Phytophthora* (G. HARMAN, 2000).

Trichoderma harzianum (Ascomycota, Hypocreales, Hypocreaceae) é um fungo filamentosso, assexua, parasita de outros fungos (SAMUELS, 2006). Esse fungo ocorre

em, praticamente, todos os tipos de solos tropicais, utilizando substratos orgânicos como fonte de carbono e nitrogênio em ecossistemas rizosféricos (VITERBO *et al.* 2004; DRUZHININA & KUBICEK 2005).

A ação antagônica de *Trichoderma* spp. sobre outros fungos acontece em decorrência da competição de nutrientes, espaço, oxigênio e por hiperparasitismo, devido à produção de compostos metabólicos voláteis e não voláteis. Esse fungo também apresenta rápida taxa de crescimento micelial, enrolamento de hifas e penetração sobre os fungos (MOINO & ALVES, 1999).

Trichoderma harzianum é utilizado no controle biológico de patógenos de plantas como *Meloidogine incognita* (SANTIN, 2008), *Pythium* spp. (MONTERO-BARRIENTOS *et al.*, 2011; PANDEY *et al.*, 2010), *Rhizoctonia soloni* (PANDEY *et al.*, 2010), *Phytophthora* spp. (ADEDEJI *et al.*, 2008; ROBERTS *et al.*, 2010), *Crinipellis pernicioso* (SONOGO *et al.*, 2002), *Fusarium* spp. (YANG *et al.*, 2010), *Alternaria alternata* (SEMPERE & SANTAMARINA, 2007) entre outros. No entanto, sua eficiência no controle desses fitopatógenos pode variar de acordo com os seguintes fatores: a espécie de *Trichoderma*, o patógeno, a umidade do solo, o tipo de cultivo, a disponibilidade de nutriente, o pH, a temperatura e a concentração de ferro (BENITEZ *et al.*, 2004).

O fungo *Trichoderma* apresenta efeito sobre as culturas aumentando a frequência e o desenvolvimento das raízes, a produtividade, a resistência a estresses abióticos e absorção e utilização de nutrientes. Em muitos casos, essas respostas ocorrem pela diminuição da atividade da microflora da raiz, inativação de compostos tóxicos na rizosfera, aumento na eficiência do uso do nitrogênio e solubilização de nutrientes no solo. Bases genéticas e moleculares destes efeitos são desconhecidas (HARMAN *et al.*, 2004).

Os fertilizantes na forma líquida são utilizados em diferentes estágios fenológicos no cultivo da planta tais como via fertirrigação por gotejamento, aspersão e outras formas de aplicação, principalmente como fonte de macro e micronutrientes (OLIVEIRA *et al.*, 2009). Sendo prática regular na região a mistura de tanque de fertilizantes com formulações de *T. harzianum* no controle da fusariose em pimenta-do-reino. A

mistura pode apresentar resultados negativos sobre o agente de controle biológico, comprometendo assim a eficiência do controle no campo.

2.5 TRICHODERMA NA CULTURA DE PIMENTA-DO-REINO

A cultura da pimenta-do-reino é suscetível ao fungo *Fusarium solani* sp., causador de danos à cultura, reduzindo o período útil de exploração e produção para apenas quatro anos (DUARTE & ALBUQUERQUE, 1997). Sendo *Trichoderma* um agente biológico utilizado no combate a este fungo, pesquisas vêm sendo realizadas a fim de comprovar o grau de eficácia das diversas dosagens aplicadas em plantas de pimenta-do-reino, como parte das experiências monitoradas pelo Programa de Pós Graduação em Agricultura Tropical (PPGAT) do Centro Universitário Norte do Espírito Santo (CEUNES).

Ainda não há registros científicos comprovando resultados na utilização do *Trichoderma* para combater a fusariose na cultura da pimenta-do-reino. Neste contexto, vale ressaltar que existem desafios a serem enfrentados pelos pesquisadores, quando confrontados pelos diversos interesses. Por isso, Morandi e Bettiol (2009) identificaram, em pesquisa realizada em abril de 2008, 13 empresas que produzem e comercializam produtos à base de *Trichoderma*, restritos a seis Estados, principalmente no Centro Sul do país. Tais produtos são usados no tratamento das culturas de feijão, soja, algodão, fumo, morango, tomate, cebola, alho, plantas ornamentais e cacau. Além destas, alguns produtos são recomendados para o tratamento de substratos e para tratamento de sementes.

Ressalta-se, porém, que o registro oficial no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) como antagonista apenas para o tratamento da cultura do feijão. À semelhança do uso nas culturas citadas, para o tratamento da pimenta-do-reino, usa-se o *Trichoderma*, porém sem nenhum registro técnico.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos três experimentos, em três lavouras de pimenta-do-reino, variedade Bragantina, com quatro anos de idade, espaçamento 2,5m x 2,5m, localizadas na rodovia São Mateus x Nova Venécia, nos km 23, km 28 e km 31, no município de São Mateus, norte do Espírito Santo, no período de março de 2010 a março de 2012.

De acordo com a EMBRAPA (1999), o clima da região é classificado como tropical úmido, com inverno seco e chuvas máximas no verão; a precipitação média anual de 1.200 mm concentrado nos meses de novembro e janeiro; a temperatura média anual é de 23°C, com médias máximas e mínimas de 29°C e 18°C, respectivamente; e o solo é classificado como latossolo vermelho-amarelo distrófico de textura argilo-arenosa.

Em todos os experimentos foi avaliada a intensidade da doença mensalmente através de uma escala descritiva, atribuindo-se notas variando de 1 a 9, de acordo com os avanços dos sintomas da doença: (1) para a planta sadia, (2) início de amarelamento nas folhas, (3) amarelecimento generalizado das folhas, (4) queda de ramos, (5) queda de folhas e internódios no terço superior, (6) queda de 50% das folhas, (7) morte dos ramos superiores, (8) planta seca com ramos verdes e (9) morte da planta, considerando-se plantas doentes as que apresentaram notas maiores ou iguais a (4).

3.1 COMPARAÇÃO ENTRE DIFERENTES MÉTODOS DE APLICAÇÃO

O experimento foi instalado em um delineamento em blocos ao acaso (DBC) com nove tratamentos e dez repetições, tendo a parcela útil central oito plantas. Para efeito de normatização, o isodado de *Trichoderma* utilizado neste ensaio foi obtido do produto comercial Trichodermil SC¹, concentração mínima de 2×10^{12} conídios viáveis/L. Esse produto foi escolhido por estar disponível ao agricultor da região.

¹ Trichodermil SC – Fungicida biológico que tem como ingrediente ativo esporos do fungo *Trichoderma Harzianum* concentração mínima de 2×10^{12} conídios viáveis/L.

A aplicação dos tratamentos foi realizada trimensalmente conforme segue: (T1) Trichodermil (aplicação de 500 mL de água contendo 1 mL de Trichodermil/planta), (T2) mistura de tanque de Trichodermil com Torped (aplicação de 500 mL de água contendo 1 mL Trichodermil e 5 mL de Torped²), (T3) Trichodermil (aplicação de 500mL de água contendo 1 mL do Trichodermil por planta alternada com Derosal³ (aplicação de 500 mL e água contendo 1 mL de Derosal por planta, trinta dias após a aplicação de Trichodermil), (T4) mistura de tanque de Trichodermil com Polycana⁴ (1mL do Trichodermil e 5mL de Polycana), (T5) mistura de tanque de Trichodermil com GZ (1mL de Trichodermil e 1mL de GZ⁵), (T6) mistura de tanque de Trichodermil com GZ (1mL de Trichodermil e 1mL de GZ) com pulverização de FH⁶ (20g/20L) trinta dias após a aplicação do Trichodermil, (T7) Trichodermil (contendo 1mL de Trichodermil) e aplicação de FH (20g/20L) após 30 dias, (T8) Aplicação no solo de Carbendazin (1mL do Derosal) e (T9) testemunha, sem controle da doença.

3.2 ESTUDO DE DOSE E INTERVALO DE APLICAÇÃO

Realizou-se um levantamento de incidência da doença, onde constatou-se a presença de 20% de plantas infectadas, garantindo o inóculo inicial do patógeno no experimento. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com sete tratamentos e sete repetições. A parcela experimental foi constituída por cinco plantas úteis.

Foram avaliadas duas doses do Trichodermil (1 e 2 mL/planta), concentração mínima de 2×10^{12} conídios viáveis/L, aplicadas em três intervalos: dois, três e quatro meses. Para aplicação do produto foi preparada uma suspensão de 40 mL de Trichodermil e 200 mL de Torped e diluídos em 20 L de água. Desta suspensão foram verificados 500 mL por planta, finalizando a dose de 1 mL de Trichodermil por planta. Para obter a dose de 2 mL por planta foram adicionados 80 mL de Trichodermil e 200 mL de Torped em 20 L de água e aplicado 500 mL por planta. A concentração do produto de 1 e 2 mL para cada 500 mL por planta foi aplicada na projeção da copa, to-

² Torped – Fertilizante foliar organomineral, com macro e micro nutrientes.

³ Derosal – Fungicida de contato e sistêmico, a base de carbendazin.

⁴ Polycana BR – Mistura de dois fertilizantes: fosfato de dipotássico e hidróxido de potássio, para complemento nutricional dos cultivos tropicais.

⁵ GZ – Fertilizante foliar que combina nutrientes minerais associados a parcelas orgânicas.

⁶ FH – Fertilizante foliar composto de cobre, zinco, boro e enxofre.

mando o cuidado de fazer irrigação no dia anterior, não fazendo a aplicação em dias chuvosos.

3.3 EXPERIMENTO DE VALIDAÇÃO

O delineamento experimental empregado foi casualizado (DIC). O mesmo foi constituído por cinco tratamentos e dez repetições, com parcela constituída de 8 plantas úteis e no mínimo duas plantas como bordadura entre as parcelas na fileira de plantio, com intervalo de aplicação de dois meses, nas seguintes dosagens/tratamento: T1. Testemunha; T2. Trichodermil (1 mL); T3. Trichodermil (1 mL) + Polycana (5 mL); T4. Trichodermil (1 mL) + Turfa Gel (6,25 mL); T5. Polycana (5 mL). Estas doses são equivalentes a uma diluição de 200 mL, 1250mL e 1000mL/100L de água de Trichodermil, Turfa Gel e Polycana, respectivamente.

Uma mistura de tanque foi preparada para cada tratamento das doses avaliadas de Trichodermil. Foram vertidos 500 ml por planta da mistura de tanque, foi aplicada na projeção da copa, com o cuidado de realizar a irrigação no dia anterior e não aplicar em dias chuvosos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em decorrência da natureza dos dados, referente ao método de avaliação da doença (escala descritiva variando de 1 a 9) e do tipo de patógeno (habitante do solo com distribuição em focos), os mesmos não satisfizeram as exigências necessárias às realizações de testes paramétricos, constatado pelo teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Dentre os testes não paramétricos possíveis de serem utilizados, optou-se pelo Mann-Whitney ($p=0,05$) que faz comparação entre duas amostras de dados independentes. Este teste, segundo Siegel (1956), trata-se de uma excelente alternativa para o teste “t” (paramétrico), sendo que em alguns casos tem maior poder de rejeitar H_0 , o que o faz ser considerado como um dos testes não-paramétricos mais poderosos.

4.1 COMPARAÇÃO ENTRE DIFERENTES MÉTODOS DE APLICAÇÃO

Na Figura 1, é possível observar o progresso da doença ocorrido nos tratamentos 1, 4, 5, 8 e 9. Observa-se que a maior incidência da doença ocorreu na última avaliação do tratamento 5 (mistura Trichodermil + GZ), onde foram observadas 2,5 plantas doentes, o que corresponde a 30% de incidência. A menor incidência foi observada no tratamento 4 (mistura Trichodermil + Polycana), com 1,4 plantas doentes ou 17% do total. Os demais tratamentos T1, T8 e T9 apresentaram valores semelhantes e intermediários aos dois tratamentos descritos. O tratamento número 5 não só apresentou valor final maior que os demais, como durante todo o período do experimento, ele manteve maior quantidade de doença em suas parcelas.

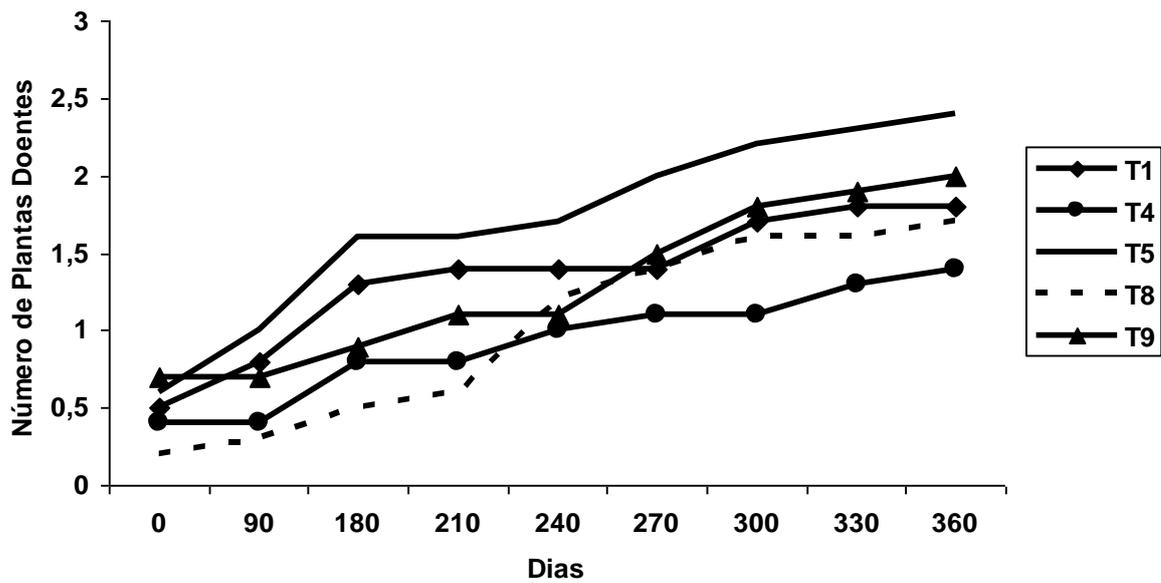


FIGURA 1 – Curva de progresso da doença, para os tratamentos T1 (Trichodermil), T4 (Trichodermil + Polycana), T5 (Trichodermil + GZ), T8 (Derosal) e T9 (Testemunha).

Com base nos dados da Curva de Progresso da Doença foi possível calcular a Área Abaixo da Curva de Progresso (AACPD) para cada tratamento (FIGURA 2). Considerando-se a AACPD é possível observar que o T5 (Trichodermil + GZ) destaca-se dos demais por apresentar maior valor, inclusive maior que a própria testemunha (T9), a semelhança da curva de progresso. Os menores valores foram observados nos tratamentos T4 (Trichodermil + Polycana) e T8 (Derosal), com AACPD iguais a 282 e 283,5 respectivamente.

Os tratamentos foram comparados dois a dois com base nos dados da AACPD pelo teste de Mann-Whitney ($p=0,05$). Os contrastes significativos estão na Tabela 1. Considerando os dados da Tabela 1, é possível observar que os tratamentos que incluíam a aplicação do GZ normalmente estavam associados às maiores AACPDs, exceto nos casos em que havia a aplicação de FH, que provavelmente deve ter compensado o efeito negativo do GZ pelo fornecimento de nutrientes na parte aérea da planta. Apesar de ter pequena diferença (7%) a aplicação do Trichodermil puro aumentou a intensidade da doença em relação à testemunha. O tratamento 4 (Trichodermil + Polycana), não diferiu dos demais tratamentos, inclusive da aplicação do Derosal, que foi considerado padrão químico de controle. Os resultados apresentados demonstram que parece ser um equívoco a mistura de compostos fornecedores

de nutrientes ao produto comercial Trichodermil, que em sua formulação já apresenta fonte de carbono que possibilita o estabelecimento do antagonista na área aplicada.

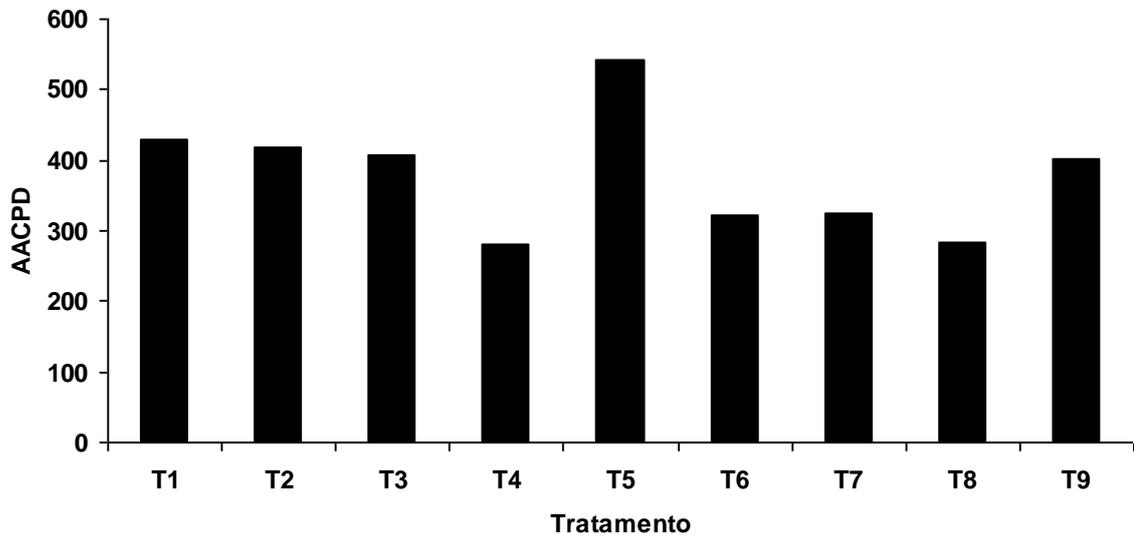


FIGURA 2 – Área Abaixo da Curva de Progresso para os diferentes tratamentos, sendo: T1 (Trichodermil), T2 (Trichodermil + Torped), T3 (Trichodermil alternado com Derosal), T4 (Trichodermil + Polycana), T5 (Trichodermil + GZ), T6 (Trichodermil alternado com GZ e pulverização aérea de FH), T7 (Trichodermil alternado com pulverização aérea de FH), T8 (Derosal) e T9 (Testemunha).

TABELA 1 – Contrastes significativos pelo teste Mann-Whitney ($p=0,05$), considerando dados de Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença para os diferentes tratamentos.

Contraste	AACPD	AACPD
Trichodermil x Trichodermil + GZ	430,5	543
Trichodermil x Testemunha	430,5	400,5
Trichodermil alternado com Derosal x Trichodermil + GZ	406,5	513,4
Trichodermil alternado com Derosal x Testemunha	406,5	400,5
Trichodermil + GZ x Trichodermil alternado com GZ e pulverização aérea de FH	543	322,5
Trichodermil alternado com GZ e pulverização aérea de FH x Trichodermil alternado com pulverização aérea de FH	322,5	324
Trichodermil alternado com GZ e pulverização aérea de FH x Derosal	322,5	283,5
Trichodermil alternado com GZ e pulverização aérea de FH x Testemunha	322,5	400,5

A mistura de compostos para ser aplicada junto ao Trichodermil parece ser preocupante por vários aspectos. Primeiro é decorrente de uma prática de campo e carece de fundamentação científica para tanto. Segundo, estes produtos exercem efeito negativo sobre o crescimento do *T. harzianum*, como demonstrado por MARQUES (2011). Em terceiro lugar, muitos destes compostos apresentam associados a eles, microrganismos, que podem interagir de diversas formas com o agente de controle biológico e o patógeno. Os resultados ficam mais evidentes no tratamento onde o GZ entrou como mistura.

4.2 ESTUDO DE DOSE E INTERVALO DE APLICAÇÃO

A curva de progresso da doença, com dados de número de plantas doentes por parcela pode ser vista na Figura 3. Nenhum tratamento foi capaz de controlar totalmente a doença. É possível observar o crescimento acentuado do número de plantas doentes no tratamento testemunha, atingindo 76% de plantas doentes. Todos os demais tratamentos apresentaram redução no progresso da doença em comparação com a testemunha.

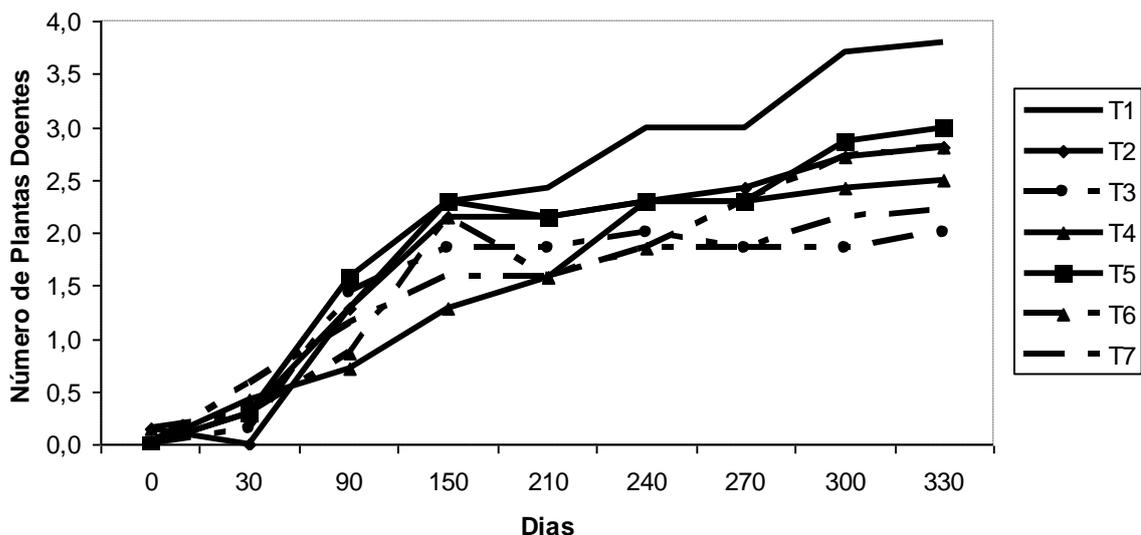


FIGURA 3 – Curva de progresso da fusariose (número de plantas por tratamento), de acordo com os tratamentos: T1 (Testemunha), T2 (Trichodermil 1mL/2meses), T3 (Trichodermil 1mL/3meses), T4 (Trichodermil 1mL/4meses), T5 (Trichodermil 2mL/2meses), T6 (Trichodermil 2mL/3meses), T7 (Trichodermil 2mL/4meses).

Com base nos dados da Curva de Progresso da Doença foi possível calcular a Área Abaixo da Curva de Progresso para cada tratamento (FIGURA 4). Considerando-se a AACPD observa-se que o maior valor da AACPD está presente na testemunha e que, esta reduz tanto para o lado esquerdo, quanto, para o lado direito quando mantendo-se a mesma dose e amplia-se o intervalo de aplicação. O resultado pode ser melhor descrito quando faz-se a relação entre a intensidade da doença na última avaliação e o intervalo de aplicação do produto (FIGURA 5).

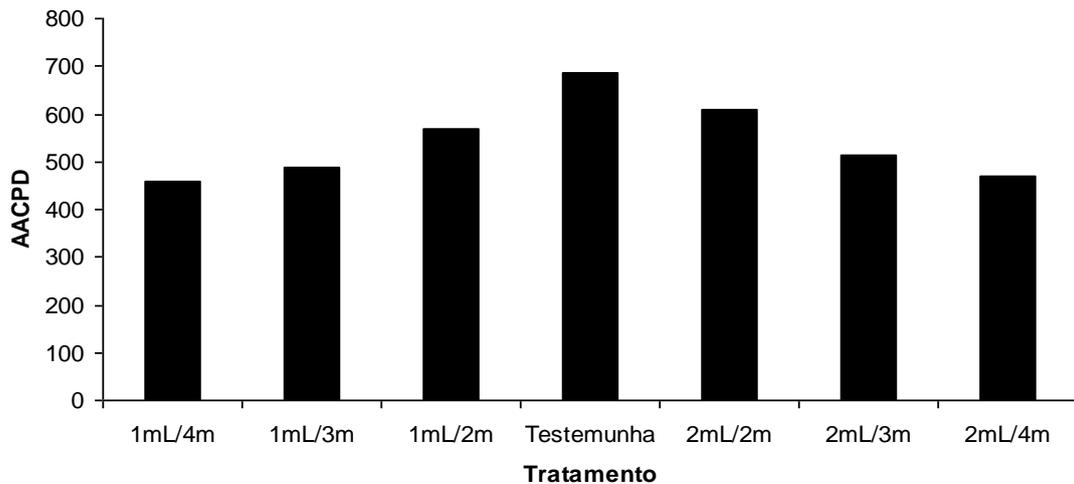


FIGURA 4 – Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) para fusariose da pimenta-do-reino com plantas submetidas ao tratamento: T1 (sem controle), T2 (Tricodermil 1mL/2meses), T3 (Tricodermil 1mL/3meses), T4 (Tricodermil 1mL/4meses), T5 (Tricodermil 2mL/2meses), T6 (Tricodermil 2mL/3meses), T7(Tricodermil 2mL/4meses).

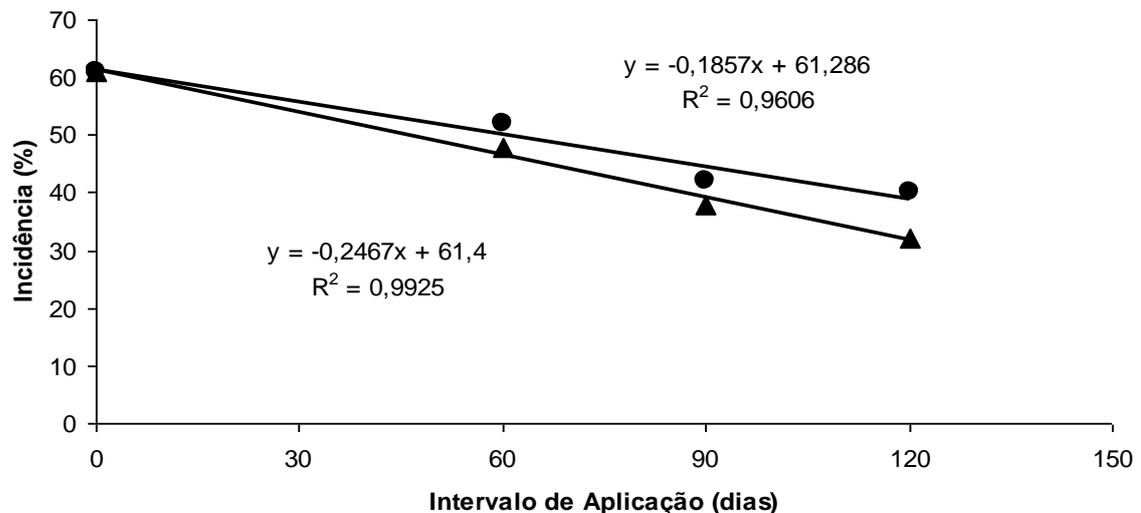


FIGURA 5 – Variação da intensidade da doença na última avaliação em função do intervalo de aplicação da mistura de Trichodermil + Torped, para dose de 2mL/planta (círculo) e 1mL/planta (triângulo).

Para a equação ajustada na Figura 5, considerando a dose de 1mL do produto por planta a taxa observada é negativa foi igual a 0,25, enquanto a taxa para aplicação de 2 mL do produto foi negativa e igual a 0,19, ou seja 24% menor que a primeira. Isso mostrando que não somente a dose, mas o intervalo de aplicação deve ser considerado na hora de aplicação de um produto biológico.

Os tratamentos foram comparados dois a dois com base nos dados da AACPD pelo Teste de Mann-Whitney ($p=0,05$). Os contrastes significativos estão na Tabela 2. Considerando os dados da Tabela 2, constata-se que aplicação do Trichodermil a intervalo de 60 dias, não apresentou controle significativo. Por outro lado, a aplicação do produto a intervalos de 90 e 120 apresentou controle significativo da doença, independente da dose do produto aplicado por planta, 1 ou 2 mL. Os valores de AACPD dos tratamentos que receberam 1 e 2 mL/planta não diferiram entre si pelo testes Mann-Whitney ($p=0,05$), apesar do observado na Figura 5, onde os valores numéricos da intensidade da doença nos tratamentos que receberam 2 mL/planta, foram consistentemente menores que os observados nos tratamentos que receberam 1 mL/planta (FIGURA 4 e TABELA 2).

Os resultados aqui apresentados contribuem para entender o controle biológico da fusariose da pimenta-do-reino, pois contradiz outra prática regular da região. Ou seja, a tendência de aumentar a dose do produto ou reduzir o intervalo de aplicação do mesmo, parece ser uma lógica inversa à observada no controle químico, visto que no controle biológico a alta dose do microrganismo antagonista e o menor tempo de aplicação do mesmo ocasionaram em um menor controle da doença (FIGURA 4).

A dosagem mais eficiente para controle de um patógeno não é necessariamente a mais alta. Acima da dosagem ideal, a eficiência do controle biológico e a produtividade caem. Além disso, os custos de produção aumentam, já que o produtor está fazendo uso de mais um insumo.

Segundo Carvalho et al. (2009), trabalhando com controle biológico de patógenos habitantes do solo com *Trichoderma* sp., na cultura do feijoeiro comum, verificaram que doses excessivas de *T. harzianum* não propiciaram aumento da produção, nenhuma redução do inóculo ou controle de doenças, em comparação com as teste-

munhas, nesses e em outros experimentos realizados. É provável que em doses muito altas ocorra algum tipo de autoinibição ou competição afetando o desenvolvimento do antagonista.

Lobo (2009), trabalhando com o controle biológico do fungo *Rhizoctonia solani* e *Fusarium solani*, na cultura do feijoeiro comum, verificou que doses entre 800 mL e 1200 mL ha⁻¹ suspensão oleosa de *T. harzianum* '1306' com 2 x 10⁹ conídios viáveis mL⁻¹ foram as melhores doses para redução do inóculo dos patógenos junto às raízes do feijoeiro comum. Em solo na linha de plantio, houve redução de até 67% do inóculo de *F. solani*, enquanto que para *R. solani* o decréscimo foi de até 85%, aos 30 dias após o plantio.

TABELA 2 – Contrastes significativos pelo teste Mann-Whitney (p=0,05), considerando dados de Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença para os diferentes tratamentos.

Contraste	AACPD	AACPD
Testemunha x Trichodermil 1mL/3meses (T3)	684,9	488,6
Testemunha x Trichodermil 1mL/4meses (T4)	684,9	457,5
Testemunha x Trichodermil 2mL/3meses (T6)	684,9	513,4
Testemunha x Trichodermil 2mL/4meses (T7)	684,9	468,0
Trichodermil 2mL/2meses (T5) x Trichodermil 2mL/4meses (T7)	608,6	468,0

4.3 EXPERIMENTO DE VALIDAÇÃO

A curva de progresso da doença, com dados de número de plantas doentes por parcela pode ser vista na Figura 6. Nenhum tratamento foi capaz de controlar totalmente a doença. É possível observar o crescimento acentuado do número de plantas doentes no tratamento que recebeu mistura de Trichodermil com Turfa-gel⁷, com intensidade de doença 30% maior que a testemunha. Isso confirma o observado no tratamento que recebeu o GZ, apontando o perigo do uso de mistura de produtos ao produto biológico. Dois tratamentos apresentam menores tendências de crescimento, com uma estabilização no crescimento da doença: o Trichodermil e a mistura Trichodermil com Polycana.

⁷ Turfa gel – fertilizante organomineral (turfa, substâncias húmicas e sulfato de potássio e água).

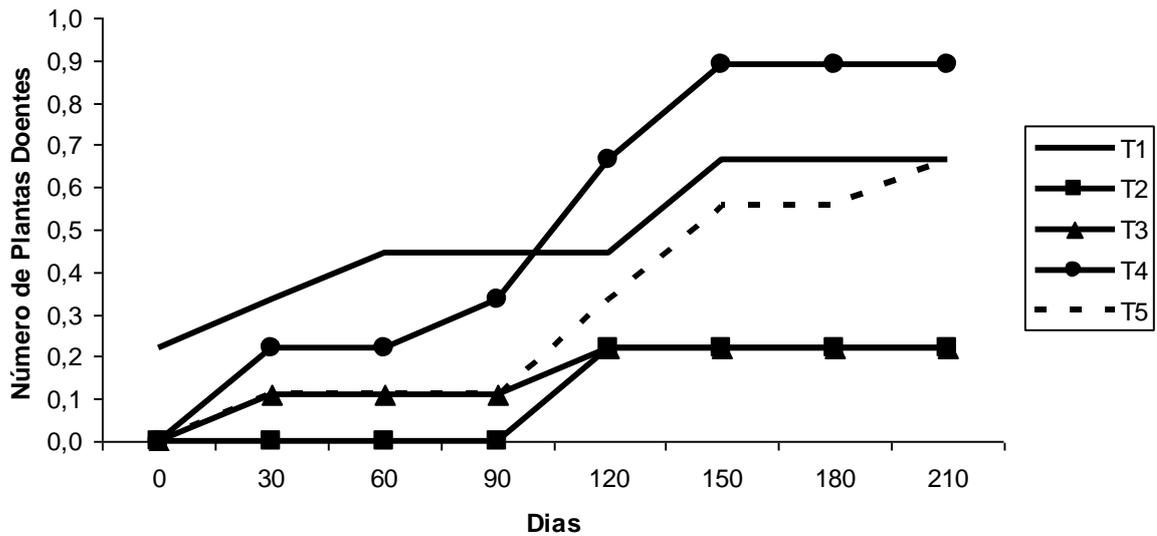


FIGURA 6 – Curva de progresso da fusariose (número de plantas doentes por tratamento), de acordo com os tratamentos: T1 (Testemunha), T2 (Trichodermil), T3 (Mistura Trichodermil com Policana), T4 (Mistura Trichodermil com Turfa-gel), T5 (Polycana).

Com base nos dados da Curva de Progresso da Doença foi possível calcular a Área Abaixo da Curva de Progresso para cada tratamento (FIGURA 7). Considerando-se a AACPD observa-se que os maiores valores da AACPD foram obtidos na parcela que recebeu o tratamento Testemunha e a mistura Trichodermil com Turfa-gel.

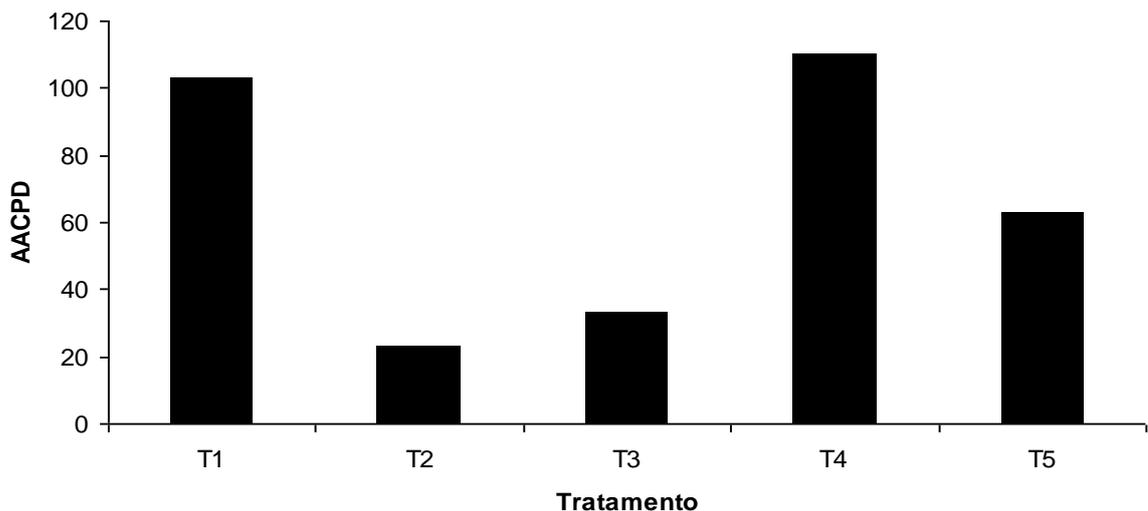


FIGURA 7 – Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) para fusariose da pimenta-do-reino com plantas submetidas ao tratamento: T1 (Testemunha), T2 (Trichodermil), T3 (Mistura Trichodermil com Policana), T4 (Mistura Trichodermil com Turfa-gel), T5 (Polycana).

TABELA 3 – Contrastes significativos pelo teste Mann-Whitney ($p=0,05$), considerando dados de Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença para os diferentes tratamentos.

Contraste	AACPD	AACPD
Testemunha x Trichodermil	103	23
Testemunha x Mistura Trichodermil com Polycana	103	33
Trichodermil x Mistura Trichodermil com Turfa-gel	23	110
Trichodermil x Polycana	23	63
Mistura Trichodermil com Polycana x Mistura Trichodermil com Turfa-gel	33	110

Analisando os contrastes (TABELA 3), observa-se que o Trichodermil puro foi o melhor tratamento, seguido da mistura com Polycana. Contudo, o Trichodermil puro tem efeito melhor que o Polycana puro, o que torna possível isolar o efeito do Polycana, que é menor que o da Mistura com o Trichodermil. A mistura de compostos orgânicos, como a Turfa-gel, mostrou-se negativa, tendo menor eficiência que o Trichodermil puro (TABELA 3), comprovando mais uma vez o efeito negativo da adição de fontes de matéria orgânica ao Trichodermil, no controle de doenças.

5 CONCLUSÕES

O controle biológico da fusariose da pimenta-do-reino com Trichodermil é uma medida que reduz a intensidade de doença nas lavouras, proporcionando uma eficiência de controle até 50%.

A mistura de compostos fornecedores de matéria orgânica, prática usualmente aplicada no Norte do Espírito Santo, apresenta mais desvantagens que vantagens no controle da fusariose.

Das misturas testadas, somente a Polycana, apresentou efeito positivo, necessitando de mais estudos para a sua validação.

Entre os intervalos de aplicação do Trichodermil, 90 e 120 dias foram os que apresentaram melhor controle, nas doses de 1 ou 2 mL por planta.

REFERÊNCIAS

- 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, n.9, pg. 390-394, 2008.
- ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. *Introductory Mycology*. 4. ed. New York: John Wiley Sons, 1996.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE HORTICULTURA. Disponível em: <http://www.abhorticultura.com.br/Biblioteca/Default.asp?bus_chave=pimenta-do-reino>. Acesso em: 23 mar. 2011.
- BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Biological control of plant pathogens**. San Francisco: W, Freeman, 1974.
- BEDENDO, I. P.; Doenças vasculares. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, L. AMORIN, L. (Eds.). **Manual de fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005.
- BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CÓDON, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, vol. 7, pg. 249-260, 2004.
- BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. 1995. **Manual de fitopatologia**. Vol. 1. 6. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Solos supressivos. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, DEGT.; MENEZES, M. (Eds.). **Ecologia manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE - Imprensa Universitária, 2009.
- _____; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio-Ambiente, 2009.
- BURGESS, L. W.; SUMMERELL, B. A.; BULLOCK; S. GOTT, K. P.; BACKHOUSE, D. **Laboratory manual for *Fusarium* research**. Sydney: University of Sydney, 1994.
- CARVALHO, D. D. C. **Controle biológico de patógenos**. São Paulo: EMBRAPA, 2009.
- COSTA, R. S. C.; MEDEIROS, I. M. **Pimenta-do-reino**. São Paulo: EMBRAPA, 2000.
- _____. **Habitantes do solo com *Trichoderma spp.* na cultura do feijoeiro comum**. São Paulo: EMBRAPA, 2009.
- COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. Saint Paul MN: APS Press, 1983.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. **Compendium of soil fungi**. Saint Paul MN: APS Press, 1980.

DUARTE, M. L.; ALBUQUERQUE, F. C. Eficiência de diferentes fungicidas no tratamento de estacas de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) infectadas por *Nectria haematococca* (*Fusarium solani* f. sp. *piperis*). **Revista de Fitopatologia Brasileira**, n. 6, p. 169-175, 1997.

EASTBURN, D. M.; UTLER, E. E. Effects of soil moisture and temperature on the saprophytic ability of *Trichoderma harzianum*. **Mycologia**. n. 83, p. 57-263, 1991.

GODOY, P.; COLOMBO, A. L. Biologia e relevância clínica do gênero *Fusarium* spp. **Prática Hospitalar**, v. 34, p.136-140, 2004.

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

HOWEL, C. H. Effect of seed quality and combination fungicide-*Trichoderma* spp. seed treatments on pre- and postemergence damping-off in cotton. **Phytopathology**, v. 97, n. 1, p. 66-71, 1998.

_____. Mechanisms Employed by *Trichoderma* Species in the Biological Control of Plant Diseases: The History and Evolution of Current Concepts. **Plant Disease**, v. 87, n. 1, p. 4-10, 2003.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). 2011. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/pesquisa/pesquisa_google.shtm?cx=001166883472422164311%3Azkjemxce8sc&cof=FORID%3A9&ie=ISO-8859-1&q=pimenta-do-reino&sa=Pesquisar&siteurl=www.ibge.gov.br%2Fhome%2F&ref=www.ibge.gov.br%2F>. Acesso em: 21 Maio 20011.

LEAL-BERTIOLI, S.C. de M. O enfoque molecular na sistemática de fungos. **Revista Anual de Patologia de Plantas**. v. 6, p. 97-230, 1998.

LOBO JUNIOR, Murillo. **Produtividade do feijoeiro comum em tratamentos com *Trichoderma harzianum* e *trichoderma asperellum***. São Paulo: EMBRAPA, 2009.

MARQUES, Helder Ivo Pandofi. **Inibição do crescimento de *Trichoderma harzianum* por fertilizantes líquidos**. Trabalho de Conclusão de Curso (Agronomia). Vitória: UFES, 2011, Julho 2011.

MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L.; Eds.). **Controle biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998.

_____. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão Anual de Plantas**. v. 4, p. 261-295, 1996.

MOINO, J. R.; ALVES, S. B. Antagonistic effect of *trichoderma* sp. on the development of *beauveria bassiana* (bals.) Vuill. and *metarhizium anisopliae* (metsch.) Sorok. **Scientia Agricola**, v. 56, p. 217-224, 1999.

MONTERO-BARRIENTOS, M.; HERMOSA, R.; CARDOZA, R. E.; GUTIERREZ, S.; MONTE, E. Functional Analysis of the *Trichoderma harzianum nox1* Gene, Encoding na NADPH Oxidase, Relates Production of Reactive Oxygen Species to Specific Biocontrol Activity against *Pythium ultimum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, p. 3009-3016, 2011.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. (Eds.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio-Ambiente, 2009.

NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A; MARASAS, W. F. **O. *Fusarium* species an illustrated manual for indentification**. University Park: The Pennsylvania State University Press, 1983.

OLIVEIRA, A. B.; LUZ, J. M. Q.; PINTO, V. H.; BORGES, M.; SILVA, S. A; CARDOSO, R. R. Influência da aplicação de fertilizantes organominerais na produção da batata, cv. Cupido. **Horticultura Brasileira**. v. 27, n. 2, p. 2463-2466, 2009.

OLIVEIRA, V. C.; COSTA, J. L. S. Análise de restrição de DNA ribossomal amplificado (ARDRA) pode diferenciar *Fusarium solani* f. sp. *Phaseoli* de *F. solani* f. sp. *glycines*. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, p.631-634, 2009.

PANDEY, A.; SIMON, L.S.; AHMAD, S. Screening of antifungal activities *in: Trichoderma* isolates against some soil borne plant pathogens. **National Academy Science Letters-india**, v. 33, p. 285-288, 2010.

PEDEAG. **Plano Estratégico de Desenvolvimento da Agricultura Capixaba. 2007-2025**. Estudo Setorial: Pimenta do Reino e Especiarias. Vitória. Secretaria de Estado da Agricultura, Abastecimento, Aquicultura e Pesca, 2011.

PEPPERTRADE – Brazilian Peppertrade Board. 2011. **Brazilian Pepper Statistics**. Disponível em: <http://www.peppertrade.com.br>. Acesso em: 21 mar. de 2011.

POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. 2009. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas: uma visão empresarial. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Org.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariuna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2009.

PORTAL PATOLOGIA DE SEMENTES. 2010. Disponível em: <<http://faem.ufpel.edu.br/dfs/patologiasementes/>>. Acesso em: 15 mar. 2011/11/2011.

PUHALLA, J.E. Genetic considerations of the genus *Fusarium*. In: NELSON, P.E.; TOUSSOUN, T.A.; COOK, R.J. (Ed.) ***Fusarium*: diseases, biology, and taxonomy**. Pennsylvania: Pnnsylvania State University, v. 27, p. 291-305, 1981.

LESLIE, F. J.; SUMMERELL, B. A.; the fusarium laboratory manual. Iowa-usa: Blackweel publishing, 1953.

ROBERTS, D. P.; MAUL, J. E.; MCKENNA, L. F.; EMCHE, S.E.; MEYER, S. L. F.; COLLINS, R. T.; BOWERS, J. H. Selection of genetically diverse *Trichoderma spp.* isolates for suppression of *Phytophthora capsici* on bell pepper. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 56, n. 10, p. 864-873, 2010.

SAMUELS, J. G. *Trichoderma*: systematics, the Sexual State and Ecology. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p.195-206, 2006.

SANTIN, R. C. M. **Potencial do uso dos fungos *trichoderma spp.* e *paecilomyces lilacinus* no biocontrole de *meloidogyne incognita* em *phaseolus vulgaris***. Porto Alegre: UFRGS, 2008.

SEMPERE, F.; SANTAMARINA, M. P. In: vitro biocontrol analysis of *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler under different environmental conditions. **Mycopathologia**, v. 163, p.183-190, 2007.

SERRANO L. A. P.; NOVAK, L. R.; LIMA, I. M. **Colheita e pós-colheita da pimenta-do-reino**. Vitória. Incaper,2008.

SIEGEL, S. **Estatística não paramétrica**. Rio de Janeiro: McGraw-Hill. 1956.

SNYDER, W.C.; HANSEN, H.N. Species concept, genetics, and pathogenicity in *Hyponyces solani*. **Phytopathology**. v. 44, p. 338-342, 1953.

SONOGO, S.; POMELLA, P. K.; HEBBAR, P. K.; BAILEY, B. A.; COSTA, J. C.; SAMUELS, G. J.; LUMSDEN, R. D. Production and germination of conidia by *Trichoderma stromaticum*, a mycoparasite of *Crinipellis perniciosus* on cacao. **Phytopathology**, v. 92, n. 10, p. 1032-1037, 2002.

SUTTON, J. C. Strategies for biological control of necrotrophic pathogens in perennial crops. **Fitopatologia Brasileira**, v. 25 (suplemento), p. 235-238, 2000.

TAYLOR, E.; BATES, J.; KENYON, D.; MACCAFERRI, M.; THOMAS, J. Modern molecular methods for characterization and diagnosis of seed-borne fungal pathogens. **Journal of Plant Pathology**. v. 83, p. 75-81, 2001.

VENTURA, J. A.; COSTA, H. **Manejo da fusariose da pimenta-do-reino no Estado do Espírito Santo**. Vitória: Incaper, 2004.

YANG, X.; CHEN, L.; YONG, X.; SHEN, Q. Formulations can affect rhizosphere colonization and biocontrol efficiency of *Trichoderma harzianum* SQR-T037 against *Fusarium wilt* of cucumbers. **Biol Fertil Soils**, v. 47, p. 239–248, 2010.

ZACCARDELLI, M., VITALE, S., LUONGO, L., MERIGHI, M., CORAZZA, L. Caracterização morfológica e molecular de *Fusarium solani*. **Fitopatologia**, n. 156, p. 534-541. 2008.