



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,
INOVAÇÃO E TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA –
CITA



**CONTROLE BIOLÓGICO DA ANTRACNOSE DO
AÇAIZEIRO SOLTEIRO (*Euterpe precatoria* MART.)**

CONCEIÇÃO PAULA BANDEIRA RUFINO

RIO BRANCO, AC
Abril / 2019

Conceição Paula Bandeira Rufino

**CONTROLE BIOLÓGICO DA ANTRACNOSE DO
AÇAIZEIRO SOLTEIRO (*Euterpe precatoria* MART.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, da Universidade Federal do Acre, como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências e Inovação Tecnológica**.

Orientador: SÔNIA REGINA NOGUEIRA

Co-orientador: JOSIMAR BATISTA FERREIRA

RIO BRANCO, AC
Abril/2019

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

R926c Rufino, Conceição Paula Bandeira, 1991 -
Controle biológico da Antracnose do açaizeiro solteiro (*Euterpe precatoria*
MART.) / Conceição Paula Bandeira Rufino; orientadora: Dr^a. Sônia Regina
Nogueira e Co-orientador: Josimar Batista Ferreira. – 2019.
62 f.: il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-
Graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia, Rio Branco, 2019.
Inclui referências bibliográficas.

1. Antagonismo. 2. Patogenicidade. 3. Castanha-do-Brasil. I. Nogueira,
Sônia Regina (orientadora). II. Ferreira, Josimar Batista (Co-orientador) Título.

CDD: 509

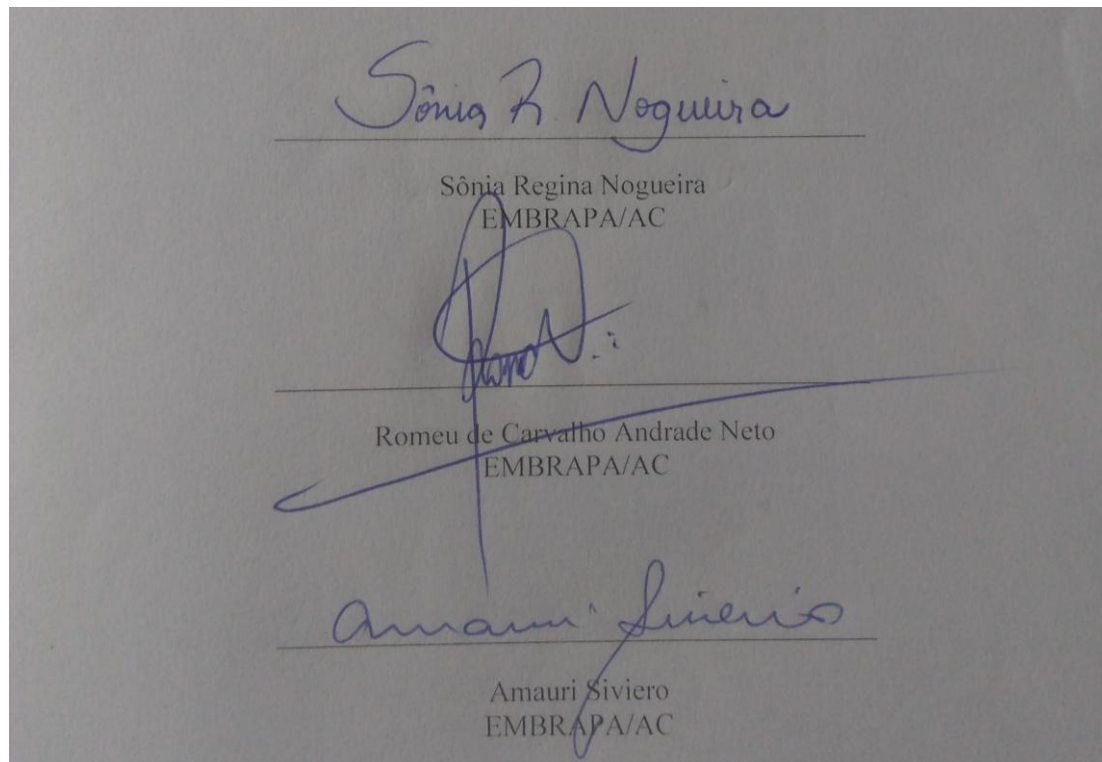
Bibliotecária: Nádia Batista Vieira CRB-11º/ 882.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E
TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA – CITA

CONTROLE BIOLÓGICO DA ANTRACNOSE DO
AÇAIZEIRO SOLTEIRO (*Euterpe precatoria* MART.)

CONCEIÇÃO PAULA BANDEIRA RUFINO

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 25 de Abril de 2019



*Aos meus pais, Luiza e Walter, por todo amor e
dedicação concedidos para meus sonhos e a meus
irmãos Polinar e Paulino pelo amor e cumplicidade.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que sempre me abençoou e direcionando pelos caminhos quanto encontrei tantas incertezas.

Aos meus pais, Walter Wolter Rufino e Luiza de Marilaque Bandeira Rufino pelo AMOR incondicional, e pelo exemplo de vida que são para mim. Agradeço-lhes muito pelo apoio, carinho, amor e dedicação que têm pela nossa família.

Aos meus irmãos, Polinar Bandeira Rufino e Paulino Bandeira Rufino, que foram essenciais para o desenvolvimento desde projeto, que tanto me ajudaram, acreditaram no meu potencial e sempre me apoiaram para eu chegar até aqui.

À minha orientadora, Dr^a. Sônia Regina Nogueira, pelo seu comprometimento com esse trabalho, ensinamentos, conselhos, pois acreditou em mim desde o início da minha jornada e pelo meu crescimento pessoal e profissional. Obrigado Doutora, pela grande profissional que és e por ser um exemplo de vida para mim.

À EMBRAPA Acre pelo apoio logístico e infraestrutura na execução dessa pesquisa, em especial ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade concedida para a realização do Mestrado.

Ao Viveiro da Floresta e toda sua equipe técnica, por oferecer a infraestrutura para a execução dos experimentos.

À Universidade Federal do Acre (UFAC) e ao Programa de Pós-graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia (PPGCITA), por contribuírem com meu sucesso acadêmico e profissional.

Aos meus amigos da turma de mestrado do PPGCITA/2017, pelo companheirismo e pela amizade que construímos ao longo desse período.

Aos meus amigos que me ajudaram nessa caminhada e foram pessoas fundamentais para o desenvolvimento desse trabalho: Cleyton Araújo, Keila Kris da Costa e Anderson José Danielsson Rossi.

Aos parceiros da EMBRAPA Acre: Principalmente a Bolsista PIBIC, Keila Kris da Costa e Paulo Macedo (Analista do laboratório de Fitopatologia) que foram pessoas importantíssimas para a construção dessa pesquisa em campo e no laboratório.

A CAPES pelo auxílio concedido a Bolsa.

A toda minha família e amigos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse sonho.

OBRIGADA!

*“Descansa no Senhor, e espera nele; não te indignes
por causa daquele que prospera em seu caminho.”*

(Salmo 37:5,7)

RESUMO

A antracnose, causada por *Colletotrichum gloeosporioides* é a principal doença em mudas de açaizeiro solteiro, por esse motivo, destaca-se entre os fatores limitantes da produção de mudas, sem métodos de controle eficientemente recomendados. Assim, se faz necessário o desenvolvimento de práticas de controle que possam ser aplicadas nesta espécie. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de isolados de *Trichoderma* spp. no controle biológico da antracnose em mudas de açaizeiro *Euterpe precatoria* Mart. *in vitro* e *in vivo*. Nos ensaios em *in vitro* e *in vivo* foram utilizados 43 isolados de *Trichoderma* spp. Para verificar a ação antagonista dos isolados de *Trichoderma* spp. versus *C. gloeosporioides* utilizou-se o pareamento de culturas em placas de Petri em meio BDA (Batata, Dextrose e Agar). A capacidade antagonista dos isolados de *Trichoderma* spp. foi avaliada aos 6 e 10 dias após o pareamento, utilizando-se a escala de notas de Bell, que varia de 1 a 5. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 43x3. O material foi incubado, em temperatura ambiente, por 10 dias. O experimento *in vivo* foi avaliado o efeito de isolados de *Trichoderma* spp. na severidade da antracnose e no crescimento de mudas *E. precatoria*. Para isto, foi usado substrato de casca da amêndoa de castanha-do-brasil colonizado com os isolados do antagonista, por 22 dias para desenvolvimento das plantas, sendo mantidas por 10 meses no viveiro de mudas após a repicagem. O experimento foi conduzido em delineamento experimental com blocos casualizados, contendo 43 tratamentos, mais a testemunha, em quatro repetições. Os resultados *in vitro* mostraram que os isolados de *Trichoderma* spp. avaliados neste ensaio demonstraram potencial para o controle da antracnose. O pareamento das culturas demonstrou que todos os isolados de *Trichoderma* spp. testados inibiram o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*. No ensaio *in vitro* os isolados de *Trichoderma* spp. competiram com o patógeno espaço e por nutriente. Foi observado enrolamento e degradação das hifas, além de granulação da parede celular de *C. gloeosporioides*, indicando microparasitismo do *Trichoderma* sobre este fungo. No teste em campo, não houve efeito significativo nos tratamentos em relação à severidade da doença. Vinte e um isolados de *Trichoderma* spp. promoveram ganhos de matéria seca nas raízes, tendo colonizado ativamente a rizosfera das mudas do açaizeiro. O isolado CMEA182 (*T. asperellum*) se destacou significativamente dos demais isolados, proporcionando a maior média de crescimento da parte aérea e também do número de folhas. Os melhores isolados de *Trichoderma* spp. utilizados na aplicação foliar das mudas de *E. precatoria* demonstraram bom potencial de controle da antracnose.

Palavras-chave: Antagonismo. *Trichoderma*. *Colletotrichum gloeosporioides*. Açaizeiro solteiro. Patogenicidade. Castanha-do-brasil. Amazônia.

ABSTRACT

Anthrachnose, caused by *Colletotrichum gloeosporioides*, is the main disease of the single-stemmed assai palm, for this reason, stands out among the limiting factors for seedling production, without effectively recommended control methods. Thus, it is necessary to develop control practices that can be applied in this species. The objective of this study was to evaluate the potential of *Trichoderma* spp. isolates on the control of anthracnose of assai palm *Euterpe precatoria* in vitro and in vivo. In both in vitro and in vivo tests were used 43 isolates of *Trichoderma* spp. to check the antagonistic action from isolates of *Trichoderma* spp. against *C. gloeosporioides* by pairing of cultures in Petri dishes in PDA medium. The antagonistic capacity of *Trichoderma* spp. isolates were evaluated at 6 and 10 days after the pairing, using Bell's scale of notes, which ranges from 1 to 5. The experimental design adopted was a completely randomized in a 43x3 factorial scheme. The material was incubated at room temperature for 10 days. In the in vivo experiment was evaluated the effect of *Trichoderma* spp. isolates on the severity of anthracnose and the seedlings growth of *E. precatoria*. For this, the substrate composed of crushed Brazil nut shells was colonized with the antagonist isolates, for 22 days for the development of the plants, and these were kept for 10 months in the seedling nursery after pricking out. The experiment was conducted in randomized blocks experimental design, containing 43 treatments, plus the control group, in four replications. In vitro results showed that the *Trichoderma* spp. isolates evaluated in this study demonstrated potential for the control of anthracnose. The pairing of cultures showed that all *Trichoderma* spp. isolates tested inhibited the Mycelial growth of *C. gloeosporioides*. In the in vitro test the *Trichoderma* spp. isolates competed with the pathogen for space and nutrient. Hyphal coiling and lysis was observed, as well as granulation of hyphal cell wall of *C. gloeosporioides*, indicating mycoparasitism of *Trichoderma* against this fungus. In the field test, there was no significant effect on the treatments in relation to the severity of the disease. Twenty one *Trichoderma* spp. isolates promoted dry matter gains in the roots, having actively colonized the rhizosphere of the assai palm seedlings. The isolate CMEA182 (*T. asperellum*) was significantly detached from the other isolates, providing the highest average shoot growth and also the number of leaves. The best *Trichoderma* spp. isolates used in the foliar application of seedlings of *E. precatoria* showed good potential for anthracnose control.

Key words: Antagonism. *Trichoderma*. *Colletotrichum gloeosporioides*. single-stemmed assai palm. Pathogenicity. Brazil nuts. Amazon.

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Cultivo dos isolados (fungos) em Erlenmeyer, contendo o meio líquido de batata-dextrose. (A) – Cultivo dos fungos. (B) – Lavagem dos fungos em ADE. (C) – Preservação método Castellani. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019.	28
Figura 2. Pareamento de cultura <i>Trichoderma</i> spp. versus <i>C. gloeosporioides</i> em placas de Petri, contendo o meio BDA + cloranfenicol. (A) - antagonista e patógeno em lados opostos. (B) - Testemunha do antagonista. (C) - Testemunha do patógeno. Foto: Paula Rufino. Rio Branco - AC, 2019.	28
Figura 3. Desenho esquemático da realização do teste de confronto direto de isolados de (T) <i>Trichoderma</i> spp. sobre (C) <i>C. gloeosporioides</i> . (A) – Nota 1: <i>Trichoderma</i> cresce sobre o patógeno e ocupa toda superfície da placa; (B) – Nota 2: <i>Trichoderma</i> cresce sobre pelo menos 2/3 da superfície da placa; (C) – Nota 3: <i>Trichoderma</i> e o patógeno ocupam aproximadamente metade da superfície da placa; (D) – Nota 4: Patógeno cresce sobrepondo-se sobre a colônia do antagonista (2/3 da placa); (E) – Nota 5: Patógeno cresce sobre <i>Trichoderma</i> e ocupa toda a superfície da placa.	29
Figura 4. Teste de micoparasitismo no método de pareamento de cultura <i>Trichoderma</i> spp. versus <i>C. gloeosporioides</i> em lâmina sobre placas de Petri, contendo o meio BDA. (A) – “A” antagonista e “P” patógeno em lados opostos. (B) - Testemunha antagônico. (C) - Testemunha patógeno. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019.	30
Figura 5. Representação esquemática do teste de micoparasitismo no método de pareamento de cultura <i>Trichoderma</i> spp. versus <i>C. gloeosporioides</i> em lâmina sobre placas de Petri, contendo o meio BDA. (A) – “A” antagonista e “P” patógeno em lados opostos. (B) - Testemunha antagônico. (C) - Testemunha patógeno. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019.	30
Figura 6. A escala de severidade possui notas que variam de 1 a 9. Onde: (1) - 0% de área foliar com lesões; (2) – 0,78 à 4% da área foliar com lesões; (3) – 5 à 11% da área foliar com lesões; (4) – 12 à 21% da área foliar com lesões; (5) – 22 à 33% da área foliar com lesões; (6) – 34 à 47% da área foliar com lesões; (7) – 48 à 84% da área foliar com lesões; (8) – 85 à 99% da área foliar com lesões; (9) – 100% da folha morta pela ação da doença. Foto: Sônia Nogueira. Rio Branco – AC, 2019.	34
Figura 7. Pareamento de cultura em meio BDA, com os melhores níveis de isolados de <i>Trichoderma</i> versus 192 <i>C. gloeosporioides</i> , com a escala de nota de Bell et al., (1982), onde: (1) <i>Trichoderma</i> cresce sobre o patógeno e ocupa toda superfície da placa. (A) - CMEA188. (B) - CMEA191. (C) - CMEA195. (D) - CMEA202. (E) - CMEA	38

205. (F) - CMEA206. (G) - CMEA223. (H) - CMEA225. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019.
- Figura 8. Pareamento de cultura em meio BDA, com os melhores níveis de isolados de *Trichoderma* versus 193 *C. gloeosporioides*, com a escala de nota de Bell et al., (1982), onde: (1) *Trichoderma* cresce sobre o patógeno e ocupa toda superfície da placa. (A) - CMEA188. (B) - CMEA191. (C) - CMEA199. (D) - CMEA200. (E) - CMEA201. (F) - CMEA203. (G) - CMEA205. (H) - CMEA246. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019. 39
- Figura 9. Pareamento de cultura em meio BDA, com os melhores níveis de isolados de *Trichoderma* versus 194 *Colletotrichum* sp., com a escala de nota de Bell et al., (1982), onde: (1) *Trichoderma* cresce sobre o patógeno e ocupa toda superfície da placa. (A) - CMEA195. (B) - CMEA201. (C) - CMEA212. (D) - CMEA213. (E) - CMEA223. (F) - CMEA229. (G) - CMEA246. (H) - CMEA250. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019. 39
- Figura 10. Micoparasitismo: interação de hifas de “T” - *Trichoderma* spp. versus “C” - *C. gloeosporioides*, aumento de 40 X. (A) – Enrolamento das hifas. (B) - Degradação e enrolamento das hifas. (C) – Testemunha do antagonista e (D) – Testemunha do patógeno. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019. 40
- Figura 11. Interação de *Trichoderma* spp. versus *C. gloeosporioides*, crescimento micelial ao décimo dia de avaliação. (A) - (B) – Mecanismo de ação: Competição. (C) - Testemunha antagônica (D) – Testemunha patógeno. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019. 40
- Figura 12. Crescimento do sistema radicular. (A) – Isolado de *Trichoderma*. (B) – Testemunha. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019. 44
- Figura 13. Severidade com cerca de 5% da área foliar com lesões. (A) *Trichoderma* spp. (B) – Testemunha. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019. 46
- Figura 14. Isolamento indireto com fragmentos de raízes de *E. precatória*, após 4 meses de aplicação via foliar com os isolados de *Trichoderma* spp. (A) – CMEA182. (B) – CMEA188. (C) – CMEA191. (D) – CMEA199. (E) – CMEA201. (F) - CMEA206. (G) – CMEA212. (H) – CMEA246. (I) - Testemunha. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019. 49
- Figura 15. Isolamento indireto com fragmentos de folhas de *E. precatória*, após 4 meses de aplicação via foliar com os isolados de *Trichoderma* spp. (A) – CMEA182. (B) – CMEA188. (C) – CMEA191. (D) – CMEA199. (E) – CMEA201. (F) - CMEA206. (G) – CMEA212. (H) – CMEA246. (I) - Testemunha. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019. 50

LISTA DE QUADROS E TABELAS

	Pág.
Quadro 1. Médias correspondentes as notas (escala de BELL et al., 1982) atribuídas ao pareamento de cultura dos 3 isolados <i>C. gloeosporioides</i> com diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> spp.	37
Quadro 2. Crescimento de mudas de <i>E. precatoria</i> , aos 10 meses de idade em substrato de castanha-do-brasil colonizado com <i>Trichoderma</i> spp. para as variáveis: altura da planta (AP) (cm); diâmetro do coleto (DC) (mm); número de folha (NF); massa seca da parte aérea (MSPA) (g); massa seca da raiz (MSR) (g); massa seca total (MST) (g); índice de qualidade de Dickson (IQD); área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD).	43
Tabela 1. Identificação e origem dos isolados utilizados nesse estudo. Rio Branco – AC, 2019.	26
Tabela 2. Análise físico-química do substrato de casca de amêndoa da castanha-do-brasil, realizada pelo laboratório do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), Campinas-SP. Rio Branco – Ac, 2019.	31
Tabela 3. Resultado da caracterização e identificação molecular de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. e <i>Colletotrichum</i> spp. Rio Branco – AC, 2019.	36
Tabela 4. Resumo da análise de variância para variável de nota de pareamento de cultura entre isolados de <i>Trichoderma</i> spp. e <i>C. gloeosporioides</i> . Rio Branco – AC, 2019.	36
Tabela 5. Resumo da análise de variância para as variáveis altura da planta (AP); diâmetro do coleto (DC); número de folha (NF), massa seca da parte aérea, raiz e total (MSPA, MSR, MST); índice de qualidade de Dickson (IQD), área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em mudas de <i>E. precatoria</i> , aos 10 meses de idade. Rio Branco – AC, 2019.	42
Tabela 6. Resumo da análise de variância para as variáveis: altura da planta (AP); diâmetro do coleto (DC); número de folha (NF), massa seca da parte aérea, raiz e total (MSPA, MSR, MST); índice de qualidade de Dickson (IQD), área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de mudas de <i>E. precatoria</i> , aos 10 meses de idade. Rio Branco – AC, 2019.	47
Tabela 7. Crescimento de mudas de <i>E. precatoria</i> , aos 10 meses de idade com aplicação via foliar dos isolados de <i>Trichoderma</i> spp. para as variáveis: altura da planta (AP); diâmetro do coleto (DC); número de folha (NF), massa seca da parte aérea, raiz e total (MSPA, MSR, MST); índice de qualidade de Dickson (IQD), área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), Rio Branco – AC, 2019.	48
Tabela 8. Frequência de isolamentos positivos de <i>Trichoderma</i> spp. com órgãos de <i>E. precatoria</i> após 4 meses de aplicações via foliar com inóculos de <i>Trichoderma</i> spp. Rio Branco – Ac, 2019.	51

LISTA DE ABREVIATURAS

CMEA: Coleção de Microrganismo da Embrapa Acre.

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 O açazeiro e a antracnose.....	17
2.2 <i>Euterpe precatoria</i> Mart.	19
2.3 Antracnose do açazeiro solteiro	20
2.4 controle biológico com o uso de <i>Trichoderma spp</i>	21
3. OBJETIVOS.....	25
3.1 Objetivo Geral.....	25
3.2 Objetivo específico.....	25
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4.1 Obtenção dos isolados	26
4.2 Caracterização molecular de <i>Trichoderma spp.</i> e <i>C. gloeosporioides</i>	27
4.3 Teste do antagonismo <i>in vitro</i> de isolados de <i>Trichoderma spp.</i> contra <i>C.gloeosporioides</i>	28
4.4 Teste de mecanismo de ação do micoparasitismo entre isolados de <i>Trichoderma spp.</i> versus <i>C. gloeosporioides</i>	29
4.5 Efeito de substrato colonizado com <i>Trichoderma spp.</i> na produção de mudas de açazeiro solteiro	31
4.6 Teste de a aplicação foliar de <i>Trichoderma spp.</i> em mudas de açazeiro solteiro	32
4.7 Avaliação da severidade da antracnose em mudas de açazeiro	33
4.8 Avaliações de crescimento das mudas de açazeiro solteiro	34
4.9 Análise Estatística	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
5.1 Caracterização Molecular de <i>Trichoderma spp.</i> e <i>C. gloeosporioides</i>	35
5.2 Teste do antagonismo <i>in vitro</i> de isolados de <i>Trichoderma spp.</i> contra <i>C. gloeosporioides</i>	36
5.3 Testes de mecanismos de ação do micoparasitismo e competição entre isolados de <i>Trichoderma spp.</i> versus <i>C. gloeosporioides</i>	40
5.4 Efeito de substrato colonizado com <i>Trichoderma spp.</i> na produção de mudas de açazeiro solteiro	42
5.5 Severidade da antracnose em mudas de açazeiro	45
5.6 Efeito da aplicação foliar de <i>Trichoderma spp.</i> na produção de mudas açazeiro solteiro	47
6. CONCLUSÕES.....	52
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a crescente exportação da cultura do açaí vem ganhando espaço na agricultura, pela sua perceptível expansão no mercado, em nível nacional e internacional, e isso se deve ao fato do fruto possuir propriedades energéticas, nutricionais, alto teor de fibras e antioxidantes (ROGEZ, 2000; SAMPAIO, 2006; YUYAMA et al., 2011). Isto tem despertado o interesse e levado muitos produtores a estabelecer cultivos em escala comercial, principalmente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil (OLIVEIRA et al., 2007). Conseqüentemente, para atender a demanda crescente do fruto é necessária a implantação de campos tecnicamente instalados, disponibilidade de sementes e mudas de qualidades e adoção de tecnologias e práticas adequadas de manejo (MARTINOT et al., 2017).

Segundo o IBGE, a produção nacional de açaí em 2017 atingiu cerca de 219.885 mil toneladas, distribuídas entre os estados do Pará, responsável por 64,53%, seguido do Amazonas (22,96%), Maranhão (8,33%), Acre (2,12%), Amapá (1,25%) e Rondônia (0,68%). Isto representou, somente para o estado do Pará, uma economia de vendas de aproximadamente de 462.348 milhões de reais (IBGE, 2018).

Entre as inúmeras frutíferas presentes na Amazônia, o açaizeiro tem duas espécies de destaque, *Euterpe oleracea* Mart. e *Euterpe precatoria* Mart, principalmente pelo potencial agrônomo, tecnológico, nutricional e econômico (YUYAMA et al., 2011). *Euterpe oleracea* é oriunda dos estados do Pará e do Amapá, responsáveis por grande parte da produção comercial do açaí, e se encontra nas matas de igapó, principalmente, nos campos de várzea (MARTINOT et al., 2017).

A espécie *Euterpe precatoria* ocorre em toda região Amazônica, sendo encontrada naturalmente nos estados do Amazonas, Acre, Rondônia e Roraima, sendo considerada uma das mais importantes do gênero (KAHN; GRANVILLE, 1992; RIBEIRO, 2004; TINOCO, 2005; LORENZI et al., 2006). Esta palmeira é conhecida popularmente como açaí solteiro, onde a principal diferença é a ausência de perfilhos, quando comparada a *Euterpe Oleracea* (CALZAVARA, 1972), que cresce em sistema de touceira (ROGEZ, 2000).

O açaizeiro tem grande importância econômica e ornamental e é bastante utilizado em regiões tropicais. Entretanto, o número de indivíduos das espécies está sendo reduzido, devido ao intenso processo de extrativismo e à falta de estudos de estimativas

dos possíveis impactos dessa exploração sobre a redução da diversidade genética nas populações nativas de açazeiros (RIBEIRO, 2010).

A domesticação da espécie de açazeiro ainda se restringe a plantios tradicionais que ocorrem em sítios ou pomares caseiros (CLEMENT et al., 2005). Portanto, a produção comercial, em relação a *E. precatoria*, poderia ser aperfeiçoada pela adoção de técnicas melhoradas de coleta e manejo, que potencializariam o enriquecimento da espécie (MARTINOT et al., 2017). Além disso, a produção agrícola em áreas florestais poderia também ser enriquecida por plantios provenientes de diversos manejos dos agricultores, a partir de germoplasma de açaí adquirido de plantas nativas selecionadas (MARTINOT et al., 2017).

A antracnose do açazeiro solteiro é causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporoides*, responsável por grandes perdas e considerada doença de elevada importância econômica. Os principais sintomas desta doença são o desenvolvimento de manchas escuras e irregulares, com centro marrom-claro e com bordos escuros, que afetam as folhas mais jovens das plantas, causando queimadura e secamento em muda de açazeiro solteiro (NOGUEIRA et al., 2013; NOGUEIRA et al., 2017).

A produção de mudas de *E. precatoria* é fator limitante para expansão dos cultivos. Pouco se conhece sobre sua exigência nutricional e ambiental, além da ocorrência de doenças e de outros problemas fitossanitários. Nogueira et al., (2013) e Nogueira et al., (2016) relataram a ocorrência de antracnose em mudas de açazeiro solteiro, com evidência de alta incidência e severidade da doença em condições de viveiro no estado do Acre, onde a doença ocasionou a morte de grande quantidade de mudas, demonstrando ser um problema para a expansão da cultura no estado.

O controle deste patógeno é, essencialmente, feito com a utilização de fungicidas. Entretanto, o uso intensivo destes produtos pode comprometer o desenvolvimento da cultura, causando problemas ambientais significativos, como contaminação dos solos, rios, alimentos, animais e, podendo ainda causar efeitos adversos à saúde humana, além de induzir à resistência de patógenos (CHAGAS et al., 2013; BONETT et al., 2013; FIPKE et al., 2015; FANTINEL et al., 2015; CHAGAS JUNIOR et al., 2016). O uso inadequado dos fungicidas pode promover desequilíbrio biológico através da alteração da ciclagem de nutrientes e da matéria orgânica, pela eliminação de organismos benéficos ao ambiente, reduzindo a biodiversidade e, conseqüentemente provocando desequilíbrio de todo ecossistema (BETTIOL; MORANDI, 2009). Nesse aspecto, têm-se estimulado o

estudo de técnicas que usam métodos alternativos e produtos biológicos para o controle de doenças de plantas, pois, são considerados de baixo impacto ao ambiente (BROETTO et al., 2014).

Dessa maneira, há uma demanda por métodos alternativos, que possibilitem opções eficientes de controle de fitopatógenos, que sejam de baixo custo e que diminuam os riscos ao produtor, consumidores e ao ambiente (BONETT et al., 2013). Portanto, o potencial de utilização de microrganismos como agentes de biocontrole, que atuem também na promoção do crescimento vegetal, é apontado como ação importante para sistemas de produção agrícola de maneira mais econômica e sustentável (COMPANT et al., 2005).

De acordo com Reis (2014), o controle biológico envolve a prática de fatores que devem ser acompanhados por um conjunto de métodos culturais a fim de criar condições adequadas para o estabelecimento dos antagonistas e conseqüentemente para o sucesso de sua utilização.

Entre os principais agentes de estudos para biocontrole de doenças de plantas em todo o mundo estão os fungos do gênero *Trichoderma* (OLIVEIRA et al., 2016; ARAUJO, 2018). Trata-se de um fungo filamentosos e de vida livre encontrado principalmente em solos, raízes e parte aérea das plantas (RAJENDIRAN et al., 2010).

São vários os mecanismos de atuação das espécies do *Trichoderma*, sendo encontrados trabalhos relatando a ocorrência de antibiose, parasitismo, competição por nutrientes e substrato, promoção de crescimento e indução de resistência em plantas cultivadas (BETTIOL, 1991; PEDRO et al., 2012; REIS, 2014). Conseqüentemente, as espécies desse fungo têm grande atenção em estudo por sua versatilidade de ação, por serem capazes de produzir substâncias antifúngicas, enzimas que degradam paredes celulares de fungos patogênicos, além de oferecerem diversidade estratégica de sobrevivência, tornando-as competitivas no ambiente, e garantindo ampla capacidade de proliferação na região da rizosfera das plantas (LOUZADA et al., 2009; SILVA et al., 2014; ASAD et al., 2015).

Segundo Romão (2010), *Trichoderma* spp. tem a capacidade de desenvolver interações benéficas com as plantas, uma das táticas mais bem sucedidas para o sucesso de cultivos em condições adversas do ambiente. Assim, o biocontrole de doenças de plantas é exercido como um somatório de mecanismos de ação de um microrganismo sobre outro e da sua influência no desenvolvimento das plantas (BETTIOL, 1991;

RIBEIRO, 2010). Assim, a utilização de biocontrole pode garantir o sucesso da rentabilidade da atividade agrícola, além de colaborar para diminuir o uso de fungicidas e obter maior retorno econômico em produtividade e no controle de fitopatógenos. Assim, o presente trabalho teve o objetivo de avaliar isolados de *Trichoderma* spp. no controle da antracnose em mudas de *Euterpe precatoria* Mart. *in vitro* e *in vivo*.

1. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 O AÇAIZEIRO E A ANTRACNOSE

O açaizeiro é uma palmeira tropical, perene, nativa do Brasil, comum nas matas da Amazônia Ocidental (HEWOOD, 1993), compondo o grupo de plantas de maior importância para as comunidades nos ambientes tropicamente (KAHN; GRANVILLE et al., 1992; HENDERSON, 2000).

O termo açaí é de origem tupi “yá-çai” e significa “fruto que chora”, possivelmente por estar associado ao fato de que durante o processo de extração da polpa, esta flui lentamente, em forma de grandes gotas quando extraída manualmente ou em pequenas máquinas despoldadoras, de uso comum na Amazônia (BRAGA, 1976).

O gênero *Euterpe* corresponde a 28 espécies encontradas nas Américas Central e do Sul (GALOTTA; BOAVENTURA, 2005). No Brasil, são encontradas cinco destas espécies (*Euterpe catinga* Wallace, *Euterpe edulis* Mart., *Euterpe longibracteata* Barb. Rodr., *Euterpe oleracea* Mart., *Euterpe precatoria* Mart.) e quatro variedades (*Euterpe catinga* Wallace var. *catanga*, *Euterpe catinga* var. *roraimae* (Dammer) A. J. Hend. & Galeano, *Euterpe precatoria* Mart. var. *precatoria*, *Euterpe precatoria* var. *longevaginata* (Mart.) A. J. Hend) (LEITMAN et al., 2015). Entretanto, três espécies destacam-se das demais do ponto de vista agroindustrial, *E. oleracea*, *E. edulis* e o *E. precatoria*, para o fornecimento de frutos e palmito (HENDERSON, 2000; OLIVEIRA et al., 2009).

De acordo com Clement et al., (2005) e Martinot et al., (2017), a espécie *E. oleracea* tem ocorrência nos estados do Maranhão, Amapá e Pará, expandindo-se pelos países de Guianas, Venezuela e Trinidad, sendo responsável pela maior parte da produção comercial. *E. precatoria*, encontra-se nas porções central e ocidental da bacia amazônica e em áreas inundadas. *E. edulis* tem ocorrência na Mata Atlântica e na parte centro-sul do Brasil, sendo extraída de modo insustentável para a extração do palmito, ainda em exploração de baixa intensidade, principalmente devido à exaustão das reservas naturais.

A principal diferença de *E. oleracea* para as espécies *E. precatoria* e *E. edulis*, refere-se ao predomínio de perfilho, presentes somente em *E. oleracea*.

Mais recentemente essas palmeiras passaram a despertar maior interesse de produtores e consumidores nacionais e internacionais, tendo em vista o aproveitamento total da planta. Desde o início da década de 1990, a busca por frutos de açaí vem crescendo cada vez mais e, com isso, houve a necessidade de se aumentar as áreas de cultivos comerciais no Estado do Pará, e em outros estados do Brasil (OLIVEIRA et al., 2009; FARIAS NETO et al., 2012). Assim, a demanda pela produção de frutos é crescente, sendo em sua maioria atendida principalmente pelo extrativismo (ANDRADE, 2016).

Segundo Homma et al., (2014), o açaizeiro vem gradualmente ganhando espaço na agricultura, o que tem despertado o interesse pelo cultivo e também pelo manejo. Com isso, é necessário a disponibilização de estudos e resultados que viabilizem a seleção de plantas matrizes e o cultivo, com aumento do período de colheita e redução da sazonalidade na produção, melhoria da qualidade da polpa, de forma que atendam às exigências de boas práticas na produção, além de estudos para recomendação de variedades produtivas e resistentes à pragas e doenças (CRUZ JUNIOR, 2016).

Para a implantação de plantios comerciais é necessário o fornecimento de mudas sadias de qualidade genética e fitossanitária. No entanto, para *E. precatoria*, pouco se conhece sobre as exigências nutricionais e ambientais das plantas, e a susceptibilidade a pragas e doenças. Muito pouco se conhece sobre aspectos de vigor e dormência de sementes, necessidades de desenvolvimento do sistema radicular, tamanho adequado das mudas e os problemas fitossanitários (MESQUITA, 2011).

A crescente demanda pela produção da polpa de açaí tem gerado interesse e incentivos de plantio são fomentados por instituições públicas e privadas. Para isto, os viveiros têm produzido mudas. Entretanto, a eficiência neste processo é pequena, principalmente pela ocorrência da antracnose, que é fator limitante para a produção de mudas do açaí nativo. Nogueira et al. (2013), relatam que apesar do incentivo a novos plantios, a antracnose provoca alta taxa de mortalidade das plantas de *E. precatoria* no viveiro e também no campo, nos primeiros anos de cultivo, dificultando a implantação das novas áreas.

2.2 *Euterpe precatoria* MART.

O sistema de classificação botânica de *Euterpe precatoria*, segundo Souza et al (1996), está organizado na seguinte forma hierárquica: Reino: Plantae; Divisão: Magnoliophyta; Classe: Liliopsida; Ordem: Arecales; Família: Arecaceae; Gênero: *Euterpe*; Espécie: *precatoria*; Nome Científico: *Euterpe precatoria* Mart.; Nome comum: Açaí-do-amazonas, Açaí-de-terra-firme, Açaí-solteiro.

Euterpe precatoria Mart. é uma palmeira neotropical de sub-dossel, possui ocorrência natural por toda região Amazônica. É uma planta monocaule, com estipe alongado e sem espinho com média de 15 m, podendo chegar aos 35 m de altura e de 10 a 20 cm de diâmetro, sendo sua principal característica a ausência de perfilhos em sua base (SOUZA et al., 1996).

A inflorescência de *E. precatoria* é formada pelo ráquis, sendo mais larga em sua base, servindo de ponto de inserção no estipe. O número de ráquias pode variar de 70 a 150, com 35 a 45 cm de comprimento, possuem flores femininas ladeadas por duas masculinas e formam o cacho com peso entre 3 e 8 kg, a qual corresponde a 70% do peso do fruto (SILVA et al., 2005). Os frutos da espécie são drupas, obliquamente globulosas, diâmetro de 1,7 cm e peso de 2 a 3 g, correspondendo a cerca de 7 % da polpa.

A tonalidade do fruto maduro pode ser púrpura, quase preta, apresentando suco de coloração roxa, cor de vinho, com denominação popular de vinho de açaí. O fruto da planta é de coloração verde-escura, fornece um suco de cor creme-arroxeadada (SOUZA et al., 1996). Essa espécie possui cachos pesados, com alto rendimento de polpa e teor de antocianina, o que favorece potencialmente o mercado local e regional desta espécie com a extração de polpa (ALHO, 1999).

O sistema radicular do açazeiro solteiro apresenta-se na forma fasciculada, com raízes surgindo do estipe da planta adulta até 80 cm acima da superfície do solo e sua forma de raízes adventícias continua na base do estipe, formando um anel espesso (CASTRO; BOVI, 1993). A presença de pneumatóforos no açazeiro permite ajudar o sistema radicular a respirar em solos inundados, a qual apresenta boa adaptação em regiões inundados (CASTRO; BOVI, 1993).

O cultivo desta espécie enfrenta limitações e entre estas, os problemas fitossanitários têm destaque, principalmente com a ocorrência da antracnose na fase da produção de mudas (NOGUEIRA et al., 2017).

2.3 ANTRACNOSE DO AÇAIREIRO SOLTEIRO

O fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, é o agente causal da antracnose e responsável por infectar aproximadamente 1.000 espécies vegetais, causando entraves na produção de inúmeras frutas e hortaliças nas regiões tropicais e subtropicais (RAMOS, 2014). Várias espécies vegetais são atingidas pelo patógeno como a mangueira (FISCHER et al., 2009), o mamoeiro, o abacateiro, a fruta-do-conde (BONETT et al., 2011; BONETT et al., 2012), o maracujá-amarelo (MOURA et al., 2012; ARAÚJO NETO et al., 2014), a goiabeira (NOZAKI et al., 2013), o açazeiro solteiro (NOGUEIRA et al., 2017), dentre outras. O fungo também encontra-se amplamente distribuído em diferentes regiões geográficas (PEREIRA, 2009), principalmente em períodos mais quentes e chuvosos (SILVA et al., 2009).

C. gloeosporioides (Penz.) Penz & Sacc. é um fungo mitósporico, imperfeito, pertencente à ordem *Melanconiades*, família *Melanconiaceae* e da classe *Coelomycetes*, os quais apresentam associação teleomórfica com ascomicetos do gênero *Glomerella* (SUTTON, 1980, DUTRA, 2008). A fase teleomórfica pertence ao Reino Fungi, Divisão Ascomycota, Classe Pyrenomycetes, Ordem Phyllachorales, Família Phyllachoraceae (SOUSA, 2011).

O fungo forma acérvulos subepidérmicos com aspecto de círculos, e com a presença de setas. O micélio é bem desenvolvido e as colônias apresentam coloração branco acinzentado à cinza escuro (FERRAZ, 1977; KIMATI et al., 2005; FERRAZ, 2010). Os conídios de *C. gloeosporioides* são hialinos, unicelulares, cilíndricos, com extremidades arredondadas, medindo em torno de 9-24 x 3-4,5 µm e resguardados por uma massa mucilaginosa com coloração salmão pálido. De acordo com Almeida e Coelho (2007), essa matriz abriga os conídios da dessecação e inibe a germinação dos mesmos, além de terem importância na infecção e adesão do fungo no tecido vegetal. Esta espécie é de grande importância mundial, por provocar perdas em pré e pós-colheitas em diversas plantas, em culturas anuais, como leguminosas e culturas perenes (FERRAZ, 2010), causando lesões em folhas, caules e frutos (ADASKAVEG; HARTIN, 1997).

De forma geral, a sobrevivência do patógeno ocorre em folhas contaminadas caídas e também em plantas hospedeiras vizinhas aos pomares. Os conídios são disseminados através de respingos de água, principalmente em épocas chuvosas, acompanhadas de ventos que facilitam o transporte do fungo para outras plantas

(DUTRA, 2008). A temperatura média ideal para sua manutenção é de 27 °C, sendo que nos períodos de temperaturas mais baixas, a severidade da doença diminui, mesmo que ocorram chuvas (RUGGIERO et al., 1996). No entanto, *C. gloeosporioides* tem grande capacidade de manutenção e sobrevivência na fase saprofítica associado à na matéria orgânica, (OLIVEIRA, 2010).

De acordo com Nogueira et al. (2017) em açazeiro solteiro, o desenvolvimento da antracnose é favorecida por fatores abióticos como insolação, temperatura e umidade relativa elevada, substrato inadequado e fertilização incorreta, principalmente em condições de viveiro. Nestas condições, a doença pode ocasionar perda de até 70% de mudas de *Euterpe* sp. (OLIVEIRA et al., 2002). Por esse motivo, se faz necessário a recomendação de estratégias e medidas eficientes na redução da incidência e severidade da doença (NOGUEIRA et al., 2017).

A sintomatologia da doença caracteriza por manchas foliares de formas irregulares, com centro marrom claro e bordos escuros, além de apresentar coalescimento das lesões com seca das margens e ponta dos folíolos, o que pode levar a seca total e morte das plantas (NOGUEIRA et al., 2013; NOGUEIRA et al., 2017).

Nas espécies vegetais suscetíveis a *C. gloeosporioides* várias são as estratégias de controle adotadas. Para *E. precatória* os estudos ainda são iniciais, mas o controle biológico apresenta-se como uma alternativa com grande potencial.

2.4 CONTROLE BIOLÓGICO COM USO DE *Trichoderma* SPP.

O gênero *Trichoderma* spp. foi proposto por Persoon (1794), pertence à ordem Hypocreales e classe dos Hifomicetos. As espécies deste fungo de vida livre, normalmente são encontradas em quase todos os tipos de solos, nas superfícies radiculares e no interior dos tecidos vegetais (RAJENDIRAN et al., 2010; CARRERAS-VILLASENÑOR et al., 2012), principalmente na matéria orgânica.

Também podem viver saprofíticamente e/ou parasitando outros fungos, além de apresentar uma capacidade adaptativa elevada e um potencial de dispersão geográfica grande (MELO, 1991; KUBICEK et al., 2001). Assim, algumas espécies de *Trichoderma* são amplamente estudadas no controle de doenças e também têm alta capacidade de promover crescimento e desenvolvimento das plantas (HARMAN, 2004; SABA et al., 2012).

Espécies do gênero *Trichoderma* apresentam grande importância como agentes de controle biológico (OLIVEIRA et al., 2016), para uma vasta gama de fitopatógenos no

Brasil (MACHADO; SILVA, 2013) e em outros países da América Latina (WHIPPS et al., 2001; BETTIOL et al., 2008).

Entre as principais características que se destacam nesse gênero, está a sua capacidade de produção de conídios em abundância a partir de conidióforos que resultam diretamente das hifas, conferindo às colônias colorações em tons esverdeadas, com variações escuras, claras e até cremes, podendo ser influenciadas pela pigmentação dos conídios, e pH do meio de cultivo (LOPES, 2012; SOUZA, 2014; MOREIRA, 2014). São mesófilos e sensíveis à temperatura e pH extremos, apresentando melhor desenvolvimento em condições ácidas (MELO, 1996). A obtenção de culturas de *Trichoderma* spp. normalmente ocorre de maneira simplificada sendo que isolamentos, cultivos e multiplicações, são obtidos com facilidade e rápido crescimento (MOREIRA, 2014).

Espécies de *Trichoderma* são hábeis em colonizar o sistema radicular. O sucesso deste fungo na rizosfera deve-se a sua boa capacidade reprodutiva e alta produção e dispersão dos conídios, além de grande habilidade em desenvolver-se em condições ambientais adversas e apresentarem eficiência na utilização de nutrientes e capacidade de modificar a rizosfera, além de serem agressivos contra fungos fitopatogênicos (BENÍTEZ et al., 2004; CARRERAS-VILLASEÑOR et al., 2012; HERMOSA et al., 2012).

O biocontrole, para que se tenha uma maior eficiência, deve ser acompanhado por uma série de práticas culturais para criar um ambiente benéfico entre antagonistas e a planta hospedeira. O primeiro estudo com *Trichoderma* foi feito por Weindling (1934), no controle de doenças do citros causadas por *Rhizoctonia solani*. Desde então, vários estudos têm demonstrado a utilização benéfica de espécies de *Trichoderma* no controle de patógenos como *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii* (MELO, 1998), *Crinipellis pernicioso* (De MARCO et al., 2000), *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* (CARVALHO et al., 2011), *Verticillium dahliae* (ISAIAS et al., 2014), *Colletotrichum musae* (OLIVEIRA et al., 2016), *Ceratocystis cacaofunesta* (RODRIGUES et al., 2018), dentre outros.

As linhagens de *Trichoderma* são capazes de proteger as plantas contra fitopatógenos, por meio dos mecanismos de competição, antibiose, micoparasitismo (MACHADO et al., 2012), promoção de crescimento das plantas (MOREIRA, 2014), além da indução da resistência às doenças e a tolerância à estresses bióticos e abióticos

(BROTMAN et al., 2013; HERMOSA et al., 2012; SRIVASTAVA et al., 2014). Além disso, pesquisas têm revelado que as espécies de *Trichoderma* podem interagir diretamente com as raízes e/ou outras partes das plantas (colonização endofítica), aumentando o potencial de crescimento (HERMOSA et al., 2012). Esses mecanismos estão interligados ou agem separadamente, isto depende das linhagens de *Trichoderma*, e de fatores como tipo de cultivo, fungo a ser antagonizado, pH, temperatura, umidade e disponibilidade de nutrientes (BENÍTEZ et al., 2004).

O termo competição define a interação entre dois ou mais organismos, executando a mesma ação, tais como demanda por nutrientes, espaço e oxigênio (BHARDWAJ et al. 2014; ZEILINGER et al., 2016). No entanto, é bastante difícil de se comprovar este mecanismo de ação em um experimento. Segundo Moreira (2014), a principal comprovação da atuação deste mecanismo nas interações é o fato de se constatar seu bom desenvolvimento na rizosfera.

Outra vantagem da utilização de *Trichoderma* no controle biológico é o fato de que algumas linhagens deste fungo se destacam por apresentarem resistência a variados compostos tóxicos, similar ao mecanismo exercido pelos vegetais em resposta de ataque por patógenos, quando agroquímicos são comumente utilizados na agricultura, de maneira que podem ser utilizados concomitantemente com estes produtos (BENÍTEZ et al., 2004; HARMAN, 2006).

Espécies de *Trichoderma* também são capazes de exercer o mecanismo de ação de antibiose, definida pela liberação de um ou mais metabólitos secundários produzidos por um organismo, capazes de inibir ou impedir o desenvolvimento de muitos fungos fitopatogênicos (GUIMARÃES et al., 2016; MARQUES et al., 2018). Este fungo produz inúmeros antibióticos e enzimas degradadoras de parede celular de fitopatógenos (MACHADO et al., 2012).

Trichoderma pode produzir metabólitos tóxicos voláteis e não-voláteis que dificultam a colonização de microrganismos antagonizados, tais como os ácidos harziânico, heptelídico, alameticina, tricholína, 6-pentil-pirano, massoilactona, viridina, gliovirina, glisoprenina, entre outros. Esses metabólitos, normalmente, atuam em sinergismo com os outros mecanismos de ação, para desempenhar as formas de controle exercidas pelas espécies de *Trichoderma* (SOUZA, 2014).

Outro mecanismo de controle biológico conhecido é o de micoparasitismo. *Trichoderma* spp. pode atacar as hifas do patógeno, com enrolamento e penetração, além

das estruturas reprodutivas e de sobrevivência dos fitopatógenos, diminuindo sua capacidade infectiva e também a quantidade de inóculo (CHENG et al., 2012; SOUZA, 2014 AZEVEDO, 2017), sendo que normalmente nestes processos ocorrem a produção e liberação de enzimas como quitinase, glucanase e protease, que podem fragmentar a parede celular do patógeno, causando sua morte (TROIAN et al., 2014).

Na maioria das vezes as pesquisas utilizando *Trichoderma* spp. como agente de biocontrole, normalmente estão voltadas para o efeito direto que o antagonista tem sobre o microrganismo alvo (SILVA et al., 2011). A ação direta exercida sobre estes fungos é evidenciada em estudos que mostram o seu potencial no crescimento e desenvolvimento das plantas, e na indução da resistência sistêmica à diferentes fitopatógenos (YEDIDIA et al., 2000). Normalmente, as plantas sinalizam imediatamente à chegada do *Trichoderma* spp. através da ativação de mecanismos de defesa complementares, como deposição de calose e síntese de polifénóis (SHORESH et al., 2010).

Espécies de *Trichoderma* spp. atuam no crescimento dos vegetais aumentando a taxa de germinação das sementes, emergência das plântulas, até no aumento da sua produtividade (MASTOURI et al., 2010). Isto se dá numa relação simbiótica onde o fungo ocupa o nicho nutritivo e a planta é protegida de doenças (BRITO, 2009). Portanto, a capacidade do fungo colonizar as raízes é fator essencial para sua interferência no crescimento e na produtividade da planta (MASTOURI et al., 2010). Além disso, isolados de *Trichoderma* spp. tem alta capacidade de colonizar epiderme, células do córtex das raízes, e assim ativam vias de sinalização, desencadeando respostas de defesa em plantas (BROTMAN et al., 2010)

A indução de resistência é um mecanismo de biocontrole indireto, em que a planta responde à agressão dos patógenos por meio da ativação dos mecanismos latentes de resistência, como a produção de fitoalexinas, lignina adicional à parede celular e compostos fenólicos (MONTALVÃO, 2012; AMORIN et al., 2011). É possível também proporcionar o aumento da resistência a estresses bióticos e abióticos pela facilitação da absorção de água e nutrientes (WOHLENBERG, 2018; HADDAD, 2014).

Os trabalhos demonstram que o uso de *Trichoderma* tem ganho espaço nas pesquisas por sua multifuncionalidade de ação, por serem aptos em produzirem substâncias antifúngicas, enzimas que degradam paredes celulares de fungos patogênicos e também por apresentam diferentes estratégias de sobrevivência, tornando-o altamente

competitivo no ambiente e assegurando grande capacidade de proliferação nas raízes (LOUZADA et al., 2009; ASAD et al., 2015).

A utilização de *Trichoderma* deve estar associada à sua identificação, inclusive a nível de espécie. A caracterização geralmente é feita baseada em características morfológicas descritas em chaves de identificação publicadas na literatura. Muitas vezes os descritores das espécies de fungos são baseados em métodos de classificação taxonômica clássica que por sua vez podem ser ineficientes para uma caracterização específica segura, sendo que isto é particularmente dificultado no gênero *Trichoderma* (NOVAIS et al., 2010).

A utilização de marcadores moleculares, especialmente nas regiões correspondentes aos espaços transcritos internos ITS1 e ITS2 são muito utilizados para a determinação das espécies fúngicas, apoiando os trabalhos de caracterização morfológica (BRAÚNA, 2011). O uso destes marcadores permite analisar as regiões de 78 espécies de *Trichoderma*, possibilitando a separação das espécies, com segurança, dentro das seções correspondentes (DRUZHININA; KUBICEK, 2005).

Segundo Braúna (2011), mesmo com os estudos moleculares, grande parte das pesquisas com gênero de *Trichoderma* continuam utilizando o método de caracterizações macroscópicas e microscópicas, enquanto as análises do sequenciamento do rDNA (DNA ribossomal) têm sido usados apenas para complementar e confirmar os diferentes isolados de uma mesma espécie. Deste modo, a utilização das técnicas moleculares pode ser útil para esclarecer a identidade e variabilidade de determinado isolado e permite expandir o conhecimento sobre a diversidade do ambiente.

2. OBJETIVOS

3.1 Geral:

Avaliar isolados de *Trichoderma* spp. no controle da antracnose em mudas de *Euterpe precatoria* Mart. *in vitro* e *in vivo*.

3.2 Específicos:

1. Obter isolados do fungo *Trichoderma* spp. para avaliação do seu potencial como agente de controle biológico à *Colletotrichum gloesporioides*;
2. Realizar a caracterização molecular dos isolados de *Trichoderma* spp. e *C. gloesporioides*;
3. Avaliar *in vitro* o efeito de *Trichoderma* spp. sobre *C. gloesporioides*;
4. Avaliar os mecanismos de ação de *Trichoderma* spp. sobre *C. gloesporioides*;
5. Avaliar *in vivo* o efeito de *Trichoderma* spp. no controle do *C. gloesporioides* em mudas de *E. precatoria*;

6. Avaliar o crescimento das plantas de açaí solteiro tratadas com *Trichoderma* spp.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzindo no Laboratório de Fitopatologia, na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), situada a Rodovia BR-364, Km 14, sentido (Rio Branco/Porto Velho), Rio Branco, AC. (9° 58'29'' S e 67° 48' 36'' W.Gr). Os ensaios dos experimentos de pareamento de cultura *in vitro* e dos mecanismos de ação permaneceram no Laboratório de Fitopatologia no período entre agosto de 2017 a novembro de 2018.

4.1 OBTENÇÃO DOS ISOLADOS

Foram utilizados 43 isolados de *Trichoderma* spp. e 3 isolados de *C. gloeosporioides*, para o pareamento de cultura *in vitro*, isolados provenientes da Coleção de Microrganismo da Embrapa Acre - CMEA (Tabela 1). Entretanto, foram realizadas caracterização morfologia e teste de patogenicidade.

Tabela 1. Identificação e origem dos isolados utilizados nesse estudo. Rio Branco – AC, 2019.

CÓDIGO	ESPÉCIES	ORIGEM	COLETA	LOCAL
CMEA182	<i>Trichoderma</i> spp.	Solo Abacaxi	Solo	Terra indígena
CMEA183	<i>Trichoderma</i> spp.	Solo Banana	Solo	Terra indígena
CMEA184	<i>Trichoderma</i> spp.	<i>Euterpe oleracea</i>	Plântula	Viveiro da Floresta
CMEA186	<i>Trichoderma</i> spp.	<i>Euterpe oleracea</i>	Plântula	Viveiro da Floresta
CMEA187	<i>Trichoderma</i> spp.	Solo Abacaxi	Solo	Terra indígena
CMEA188	<i>Trichoderma</i> spp.	Solo Banana	Solo	Terra indígena
CMEA189	<i>Trichoderma</i> spp.	<i>Euterpe oleracea</i>	Plântula	Viveiro da Floresta
CMEA190	<i>Trichoderma</i> spp.	Solo Banana	Solo	Propriedade Raul
CMEA191	<i>Trichoderma</i> spp.	Material Sônia Tocantins	***	Tocantins
CMEA195	<i>Trichoderma</i> spp.	Seringueira	Folha	Bujari
CMEA196	<i>Trichoderma</i> spp.	Eucalipto	Caule	Embrapa Acre
CMEA198	<i>Trichoderma</i> spp.	Seringueira	Folha	Embrapa Acre
CMEA199	<i>Trichoderma</i> spp.	Seringueira	Folha	Embrapa Acre
CMEA200	<i>Trichoderma</i> spp.	Seringueira	Folha	Bonal
CMEA201	<i>Trichoderma</i> spp.	Solo seringueira	Solo	Bonal
CMEA202	<i>Trichoderma</i> spp.	Seringueira	Ramo	Embrapa Acre
CMEA203	<i>Trichoderma</i> spp.	Amendoim forrageiro	Folha	Embrapa Acre
CMEA204	<i>Trichoderma</i> spp.	Amendoim forrageiro	Folha	Embrapa Acre
CMEA205	<i>Trichoderma</i> spp.	Amendoim forrageiro	Raiz	Embrapa Acre
CMEA206	<i>Trichoderma</i> spp.	Amendoim forrageiro	Estolão	Embrapa Acre
CMEA207	<i>Trichoderma</i> spp.	Brachiaria	Caule	Embrapa Acre
CMEA208	<i>Trichoderma</i> spp.	Brachiaria	Folha	Embrapa Acre
CMEA209	<i>Trichoderma</i> spp.	Brachiaria	Folha	Embrapa Acre
CMEA210	<i>Trichoderma</i> spp.	Brachiaria	Folha	Embrapa Acre
CMEA211	<i>Trichoderma</i> spp.	Brachiaria	Folha	Embrapa Acre
CMEA212	<i>Trichoderma</i> spp.	Brachiaria	Folha	Embrapa Acre
CMEA213	<i>Trichoderma</i> spp.	Brachiaria	Folha	Embrapa Acre
CMEA214	<i>Trichoderma</i> spp.	Brachiaria	Folha	Embrapa Acre
CMEA215	<i>Trichoderma</i> spp.	Brachiaria	Folha	Embrapa Acre
CMEA216	<i>Trichoderma</i> spp.	Brachiaria	Folha	Embrapa Acre
CMEA217	<i>Trichoderma</i> spp.	Brachiaria	Raiz	Embrapa Acre
CMEA218	<i>Trichoderma</i> spp.	Brachiaria	Raiz	Embrapa Acre

CMEA222	<i>Trichoderma</i> spp.	Brachiaria	Raiz	Embrapa Acre
CMEA223	<i>Trichoderma</i> spp.	Mulateiro	Raiz	Embrapa Acre
CMEA224	<i>Trichoderma</i> spp.	Mulateiro	Raiz	Embrapa Acre
CMEA225	<i>Trichoderma</i> spp.	Mulateiro	Raiz	Embrapa Acre
CMEA226	<i>Trichoderma</i> spp.	Mulateiro	Raiz	Embrapa Acre
CMEA228	<i>Trichoderma</i> spp.	Floresta Primária	Solo	Embrapa Acre
CMEA229	<i>Trichoderma</i> spp.	Brachiaria	Raiz	Embrapa Acre
CMEA235	<i>Trichoderma</i> spp.	Eucalipto	Matéria orgânica	Embrapa Acre
CMEA246	<i>Trichoderma</i> spp.	Floresta Primária	Matéria orgânica	Embrapa Acre
CMEA249	<i>Trichoderma</i> spp.	Cupuaçu	Folha	Embrapa Acre
CMEA250	<i>Trichoderma</i> spp.	Solo	Floresta Primária	Embrapa Acre
CMEA192	<i>Colletotrichum</i> spp.	<i>Euterpe precatoria</i>	Folha /muda	Embrapa Acre
CMEA193	<i>Colletotrichum</i> spp.	<i>Euterpe precatoria</i>	Folha /muda	Embrapa Acre
CMEA194	<i>Colletotrichum</i> spp.	<i>Euterpe precatoria</i>	Folha /muda	Embrapa Acre

4.2 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Trichoderma* SPP. E *Colletotrichum* SPP.

Os 18 isolados de *Trichoderma* spp. mais eficientes na redução de *C. gloeosporioides* foram identificados por meio de comparação da região rDNA nuclear, que contém os genes ITS1 e ITS2, com sequências da região espaçadora ITS do rDNA. Também foram caracterizados três isolados de *Colletotrichum* spp, utilizados rotineiramente nos trabalhos da equipe.

Para a extração do DNA genômico, isolados monospóricos de *Trichoderma* spp. e *Colletotrichum* spp. foram cultivados por cinco dias em meio líquido de batata-dextrose (Figura 1A), em incubadora tipo B.O.D, a 25°C e fotoperíodo 12 horas. Posteriormente, os isolados foram lavados com água destilada e esterilizada (ADE) (Figura 1B) e em seguida todos os isolados foram preservados em frascos de vidro estéreis de 10 mL contendo ADE, segundo o método de Castellani (Figura 1C) (CASTELLANI, 1939). Posteriormente foram encaminhados para o Laboratório Nacional Agropecuário em Goiás (LANAGRO/MAPA), para a caracterização molecular e identificação dos isolados a nível de espécie.

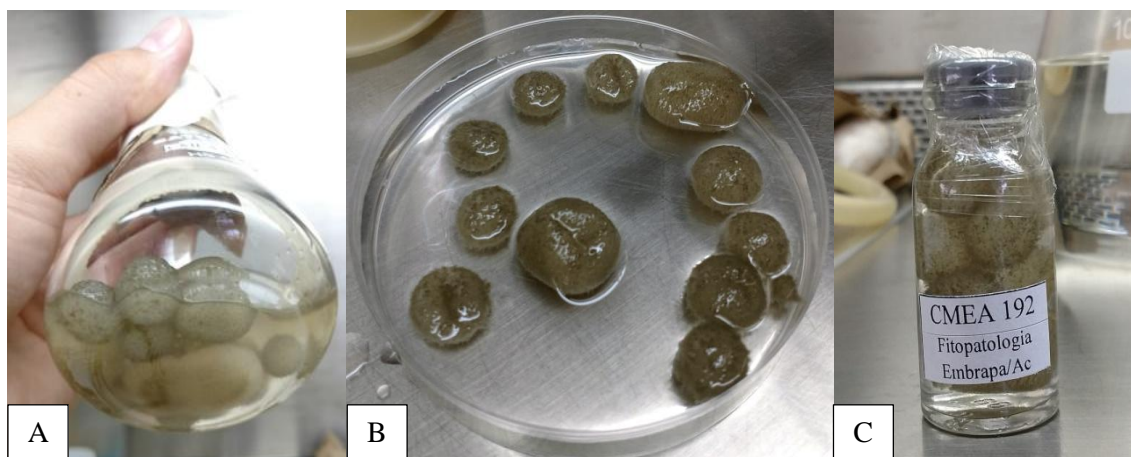


Figura 1. Cultivo dos isolados (fungos) em Erlenmeyer, contendo o meio líquido de batata-dextrose. (A) – Cultivo dos fungos. (B) – Lavagem dos fungos em ADE. (C) – Preservação método Castellani. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019.

4.3 TESTE DO ANTAGONISMO *In Vitro* DE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. CONTRA *C. gloeosporioides*

O antagonismo *in vitro* foi avaliado pelo método do pareamento de colônias em meio de cultura. Discos de micélio de 9 mm de diâmetro do antagonista e do fitopatógeno foram depositados simultaneamente, em lados opostos de placas de Petri de 9 cm (Figura 2 A), contendo o meio BDA, adicionado de 100 ppm de cloranfenicol. As placas testemunhas continham somente um disco do antagonista ou do patógeno, conforme as Figuras 2 B e C.

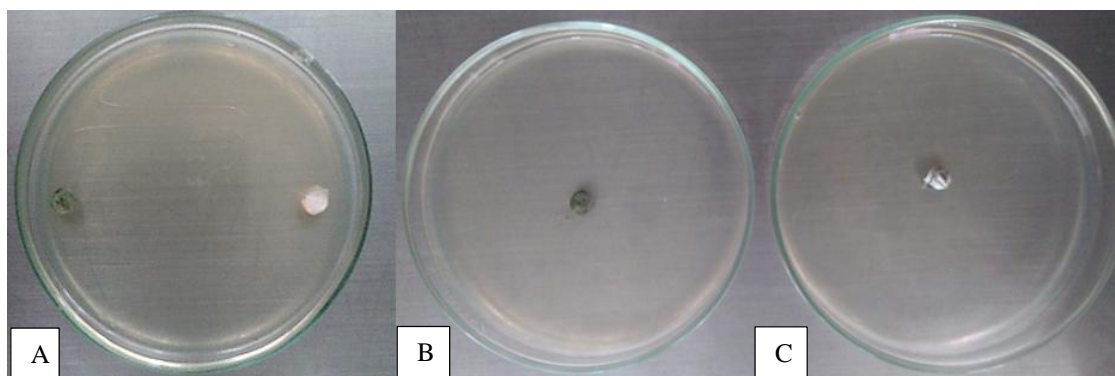


Figura 2. Pareamento de cultura *Trichoderma* spp. versus *C. gloeosporioides* em placas de Petri, contendo o meio BDA + cloranfenicol. (A) - antagonista e patógeno em lados opostos. (B) - Testemunha do antagonista. (C) - Testemunha do patógeno. Foto: Paula Rufino. Rio Branco - AC, 2019.

As placas foram mantidas em câmara de crescimento a 25°C com fotoperíodo de 12 horas. Aos 6 e 10 dias de incubação foram realizadas as avaliações do antagonismo, utilizando-se a escala de notas baseada no critério de Bell et al., (1982) adaptado, onde: (1) – *Trichoderma* cresce sobre o patógeno e ocupa toda superfície da placa (Figura 3 A); (2) – *Trichoderma* cresce sobre pelo menos 2/3 da superfície da placa (Figura 3 B); (3) – *Trichoderma* e o patógeno ocupam aproximadamente metade da superfície da placa

(Figura 3 C); (4) – Patógeno cresce sobrepondo a colônia do antagonista (2/3 da placa) (Figura 3 D); (5) – Patógeno cresce sobre *Trichoderma* e ocupa toda a superfície da placa (Figura 3 E).

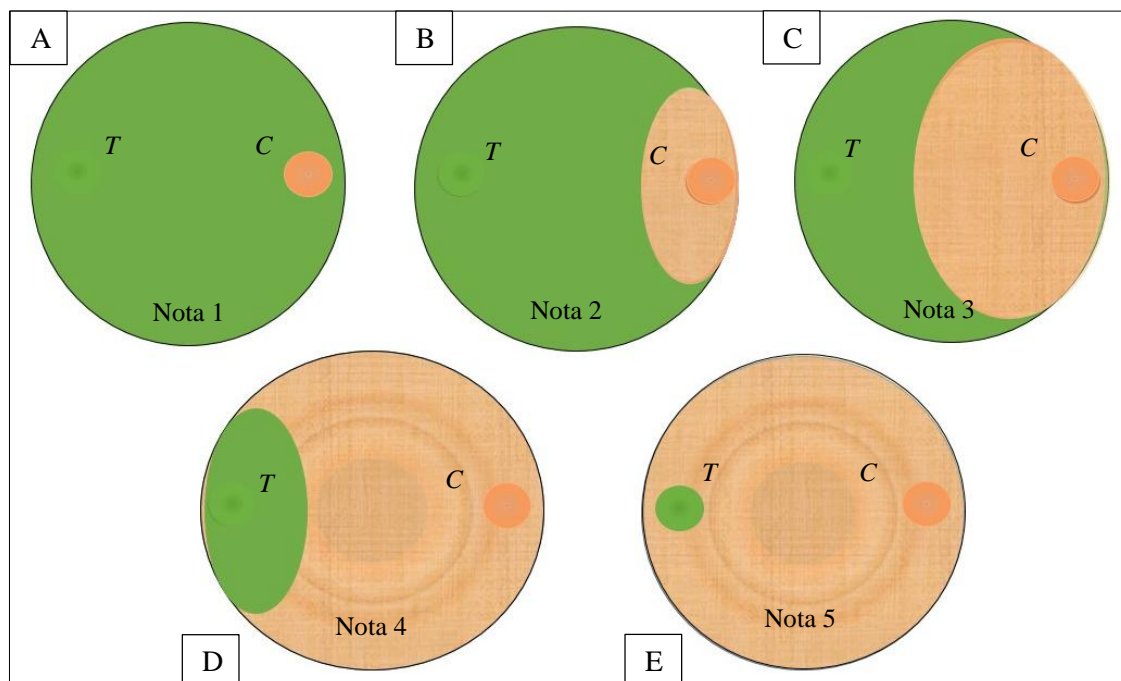


Figura 3. Desenho esquemático da realização do teste de confronto direto de isolados de (T) *Trichoderma* spp. sobre (C) *C. gloeosporioides*. (A) – **Nota 1:** *Trichoderma* cresce sobre o patógeno e ocupa toda a superfície da placa; (B) – **Nota 2:** *Trichoderma* cresce sobre pelo menos 2/3 da superfície da placa; (C) – **Nota 3:** *Trichoderma* e o patógeno ocupam aproximadamente metade da superfície da placa; (D) – **Nota 4:** Patógeno cresce sobrepondo-se sobre a colônia do antagonista (2/3 da placa); (E) – **Nota 5:** Patógeno cresce sobre *Trichoderma* e ocupa toda a superfície da placa.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 43x3 (43 isolados de *Trichoderma* spp. versus 3 isolados de *C. gloeosporioides*), com 3 repetições, sendo 01 placa de Petri considerada uma repetição. O experimento foi repetido por 2 vezes para confirmação dos resultados.

4.4 TESTE DE MECANISMO DE AÇÃO DO MICOPARASITISMO ENTRE ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. VERSUS *C. gloeosporioides*

Para avaliação do mecanismo de ação de micoparasitismo foram selecionados os melhores isolados de *Trichoderma* spp. sobre o *C. gloeosporioides*, utilizando-se a técnica de pareamento de cultura, adaptada. Lâminas de microscopia foram colocadas dentro de placas de Petri, contendo papel de filtro umedecido. Em seguida adicionou-se sobre a lâmina 30 μ L de meio BDA. Após, transferiu-se um microdisco de micélio do patógeno e outro do antagonista, simultaneamente, em lados opostos das lâminas (Figura

4 e 5 A). As lâminas testemunhas continham apenas o antagonista ou o fitopatógeno (Figura 4 e 5 B e C).

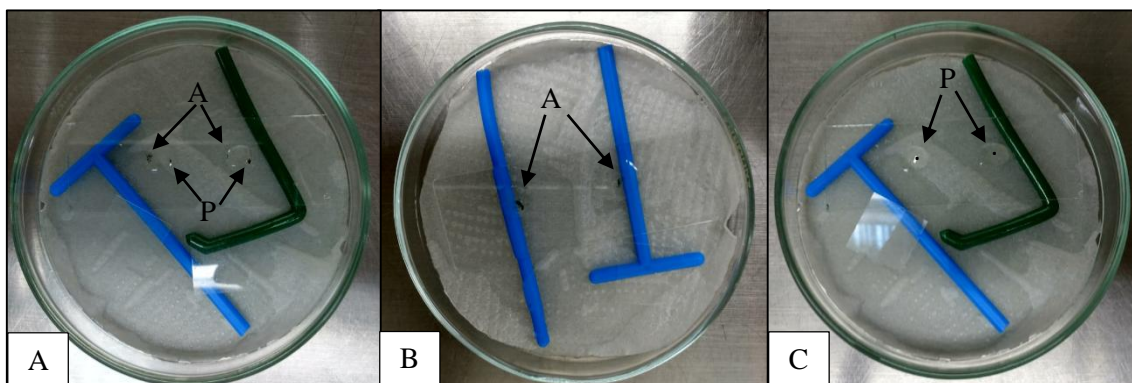


Figura 4. Teste de micoparasitismo no método de pareamento de cultura *Trichoderma* spp. versus *C. gloeosporioides* em lâmina sobre placas de Petri, contendo o meio BDA. (A) –“A” antagonista e “P” patógeno em lados opostos. (B) - Testemunha antagônico. (C) - Testemunha patógeno. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019.

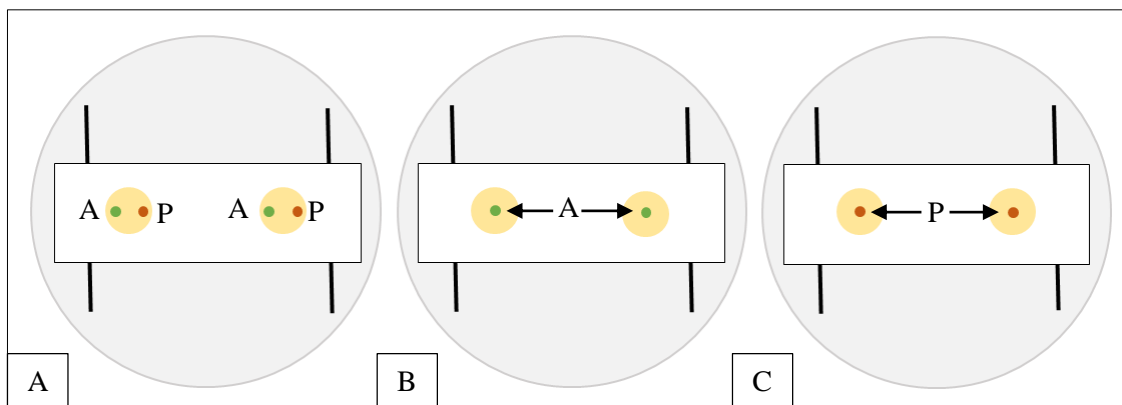


Figura 5. Representação esquemática do teste de micoparasitismo no método de pareamento de cultura *Trichoderma* spp. versus *C. gloeosporioides* em lâmina sobre placas de Petri, contendo o meio BDA. (A) –“A” antagonista e “P” patógeno em lados opostos. (B) - Testemunha antagônico. (C) - Testemunha patógeno. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019.

As placas contendo as lâminas foram incubadas em câmara do tipo B.O.D. à 25°C com fotoperíodo de 12 horas. Após 3 dias de incubação, sobre as colônias foi depositado uma gota de lactofenol e em seguida estas foram cobertas com uma lamínula. Sob microscópio óptico, com aumento de 40X, foram realizadas as avaliações para constatação do micoparasitismo. O delineamento foi inteiramente casualizado, com 18 isolados de *Trichoderma* spp. versus 3 isolados de *C. gloeosporioides*, contendo 2 repetições por placa. O experimento foi repetido por 2 vezes para a confirmação dos resultados.

4.5 EFEITO DE SUBSTRATO COLONIZADO COM *Trichoderma* spp. NA PRODUÇÃO DE MUDAS DE AÇAIZEIRO SOLTEIRO

O experimento foi instalado e conduzido no Viveiro da Floresta (Latitude - 10.0229967478663 e Longitude - 67.7969670575113), às margens da rodovia AC-40, Bairro Vila Acre, loteamento Santa Helena, Rio Branco, AC. Durante a condução do experimento foram coletados dados climáticos com auxílio de um Termohigrômetro MT-241, a qual obteve-se a temperatura máxima foi de 35,5°C, e a mínima de 28,7°C, com média de 30,6°C e umidade relativa de 70,5%. O viveiro é coberto com sombrite de 50% de sombreamento. Os tubetes contendo as mudas ficaram dispostos em bancadas de alumínio suspensas do solo a 80 cm de altura. A irrigação do viveiro é feita automaticamente com o uso de aspersores instalados a 55 cm acima das bandejas, num turno de rega de 5 a 8 minutos, repetindo-se a cada quatro horas.

Neste experimento foram utilizados os 43 isolados de *Trichoderma* spp., usados previamente no ensaio *in vitro*. Os isolados foram colocados para crescer separadamente em placas de Petri contendo meio BDA e incubados a temperatura de 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas, por sete dias, período determinado para o crescimento das colônias de *Trichoderma* spp.

Para avaliação do efeito do *Trichoderma* spp. sobre a severidade da antracnose e do seu efeito no crescimento das mudas de *E. precatória*, o substrato de casca da amêndoa de castanha-do-brasil foi colonizado com os isolados do antagonista. O resultado da análise físico-química do substrato é apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Análise físico-química do substrato de casca de amêndoa da castanha-do-Brasil, realizada pelo laboratório do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), Campinas-SP. Rio Branco – AC, 2019.

DETERMINAÇÃO	UNIDADE	TEOR
Ph	-	4,6
Nitrogênio	g/kg	10,6
Fósforo	g/kg	0,9
Potássio	g/kg	1,8
Cálcio	g/kg	15,9
Magnésio	g/kg	2,3
Enxofre	g/kg	0,8
Ferro	g/kg	11,4
Boro	mg/kg	27,6
Cobre	mg/kg	23,3
Manganês	mg/kg	267,0
Zinco	mg/kg	38,6
C. Orgânico	g/kg	300,2
Umidade	%	52,0
Relação C/N	%	28,4
EC	dS m ⁻¹	0,1
CTC	mmolc.dm ³	382,1
CRA	%m/m	274,6

Densidade Úmida	kg/m ³	573,1
Densidade Seca	kg/m ³	275,0

O substrato foi acondicionado em sacos de polipropileno e umedecidos com água destilada 30% (v:v) e depois autoclavados a 120°C, por 20min. Após o resfriamento, foram adicionados cinco discos de micélio de *Trichoderma* para cada 100g do substrato. O substrato, devidamente acondicionado nos sacos, foram incubados em temperatura ambiente por 22 dias, sendo revolvidos diariamente, para facilitar a trocas gasosas, quebra dos agregados miceliais e aumento da colonização. Após este período, já no viveiro o substrato colonizado com os diferentes isolados do fungo foi colocado em tubetes de 280 cm³. Para estes tubetes foram transplantadas plântulas de açaizeiro solteiro, obtidas a partir da germinação de sementes coletadas anteriormente num período de 30 a 45 dias. Antes do transplante foi feito toailete de raízes laterais, sendo escolhidas aquelas que apresentavam cerca de 3,5 a 4,0 cm de altura e eram do tipo palito.

Durante a condução do experimento não foi feita a inoculação do fungo *C. gloeosporioides* nas mudas de açaizeiro, uma vez que a doença é de ocorrência natural em viveiro. Foram realizadas aplicações de fertilizante via foliar (fórmula: 11% (N); 11% (P₂O₅); 11% (K₂O); 2% (Mg); 10% (S); 0,15% (B); 0,3% (Cu); 0,11% (Fe); 0,26% (Mn); 0,04% (Mo); 0,5% (Zn), após 3 meses de plantio e depois repetidas quinzenalmente, até o final do experimento, na dosagem 4g/L. As mudas permaneceram no viveiro no período de setembro de 2017 a julho de 2018, totalizando um período de 10 meses.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental com blocos casualizados, contendo 43 tratamentos, mais a testemunha, em quatro repetições. A parcela experimental foi composta de cinco plantas, totalizando 880 plantas.

4.6 TESTE DE A APLICAÇÃO FOLIAR DE *Trichoderma* SPP. EM DE MUDAS DE AÇAIZEIRO SOLTEIRO

Para a condução do experimento, utilizaram-se mudas de açaizeiro com quatro meses de idade após a repicagem, mantidas em tubetes contendo substrato agrícola comercial (Mecplant®). As mudas possuíam três folhas totalmente expandidas. No momento da instalação do experimento procedeu-se a avaliação da severidade da antracnose, sendo utilizadas plantas com nível de severidade padronizado para 0,48%.

As aplicações via foliar foram iniciadas utilizando-se oito isolados de *Trichoderma* spp. (CMEA182, CMEA188, CMEA191, CMEA199, CMEA201, CMEA206, CMEA212 e CMEA246) que apresentaram melhores desempenhos *in vitro* e *in vivo*, nos

ensaios anteriormente conduzidos. Estes isolados foram repicados em placas de Petri contendo meio BDA e mantidos em câmara do tipo B.O.D, sob temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas, por 15 dias. Após este período, uma suspensão de conídios foi obtida por uma raspagem das colônias. As suspensões foram ajustadas para $2,5 \times 10^6$ conídios/mL⁻¹ em câmara de Neubauer.

As suspensões de *Trichoderma* spp. foram aplicados nas plantas, via pulverização foliar com auxílio de borrifadores manuais, de forma isolada. As plantas testemunhas foram pulverizadas com água destilada. Posteriormente, as aplicações foram realizadas mensalmente, por um período de cinco meses. Ao final do experimento, realizou-se o isolamento indireto das plantas (folhas e raízes), com a finalidade de se confirmar se o fungo *Trichoderma* spp. estava presente nos tecidos das mudas de açaizeiro (ALFENAS et al., 2007).

O ensaio foi montado em delineamento experimental com blocos casualizados, contendo oito tratamentos, mais a testemunha, em quatro repetições. A parcela experimental foi composta de cinco plantas, totalizando 180 plantas.

4.7 AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DA ANTRACNOSE EM MUDAS DE AÇAIZEIRO

A avaliação da severidade da doença foi realizada quando as plântulas exibiram a primeira folha totalmente aberta, e as demais foram feitas mensalmente, até a finalização do experimento. Para avaliar o nível de severidade da antracnose utilizou-se uma escala visual, com notas variando de 1 a 9 (Figura 6). As folhas de açaizeiro apresentando sintomas da doença tiveram suas imagens digitalizadas e a porcentagem da área foliar sintomática foi calculada no programa QUANT 1.0, para definição real do nível de severidade (escala em vias de publicação), e padronização das avaliações.

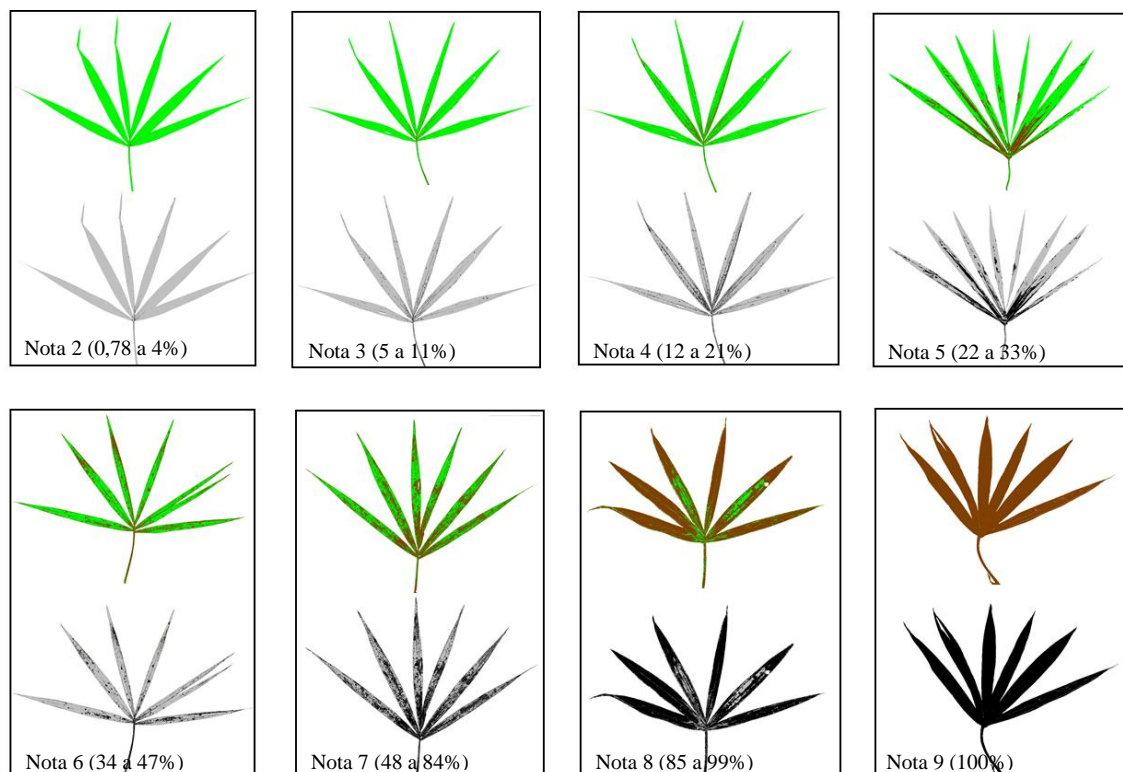


Figura 6. A escala de severidade possui notas que variam de 1 a 9. Onde: (1) - 0% de área foliar com lesões; (2) - 0,78 à 4% da área foliar com lesões; (3) - 5 à 11% da área foliar com lesões; (4) - 12 à 21% da área foliar com lesões; (5) - 22 à 33% da área foliar com lesões; (6) - 34 à 47% da área foliar com lesões; (7) - 48 à 84% da área foliar com lesões; (8) - 85 à 99% da área foliar com lesões; (9) - 100% da folha morta pela ação da doença. Foto: Sônia Nogueira. Rio Branco – AC, 2019.

Os dados obtidos nas avaliações feitas com o uso desta escala ao longo dos períodos de condução dos experimentos, foram utilizados para o calculado da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (CAMPBELL; MADDEN 1990), calculados pela fórmula:

$$AACPD = \sum [(X_i + X_{i+1})/2](t_{i+1} - t_i), \text{ em que:}$$

X: severidade da doença;

t: tempo;

n: número de avaliações no tempo.

4.8 AVALIAÇÕES DE CRESCIMENTO DAS MUDAS DE ACAIZEIRO SOLTEIRO

Foram mensuradas as variáveis de crescimento: altura, número de folhas e diâmetro do coleto, sendo medidas mensalmente. Ao final dos experimentos foram obtidos dados de massa verde e massa seca de parte aérea e das raízes de todas as plantas, a fim de se avaliar o efeito do uso de *Trichoderma* spp. no crescimento das plantas.

Para obtenção da massa seca, o material coletado foi lavado em água corrente e acondicionado em sacos de papel, sendo posteriormente levados para estufa e mantidos à temperatura de 65 °C por 48 horas, até atingir massa constante. Ao final deste período foram obtidas as variáveis de massa seca parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST). Para estes dados foi calculado o IQD - índice de qualidade de Dickson et al., (1960), sendo verificado o efeito do *Trichoderma* sobre o crescimento de mudas de açaizeiro solteiro em função da altura da planta (AP), diâmetro do coleto (DC), matéria seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR), bem como massa seca total (MST), determinado pela formula:

$$IQD = \frac{MST (g)}{AP(cm)/DC(mm)+MSPA(g)/MSR(g)}$$

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados *in vitro* e *in vivo* foram submetidos à análise de variância (ANOVA, Teste F a 5% de probabilidade) utilizando-se o programa SAS 9.3 e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott (1974) ao nível de 5 % de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2008).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Trichoderma* SPP. E *Colletotrichum* SPP.

Foram identificados 18 isolados do antagonista, utilizando-se as ferramentas moleculares baseadas nas sequências de ITS1 – 5.8S e ITS2. Dentro deste grupo seis isolados foram identificados como de *T. asperellum*. Oito isolados de apresentaram 100% de similaridade e Score de 498 de *Trichoderma* sp. Para os outros quatro isolados de *Trichoderma* a análise foi inconclusiva, não apresentando similaridade com as espécies depositadas nos bancos de dados Bold System, NCBI e Q-bank (Tabela 3). Estes isolados podem constituir espécies de *Trichoderma* ainda não caracterizadas e não depositadas nos bancos de dados disponíveis.

Já, para os isolados patogênico dois foram caracterizados como *C. gloeosporioides* e um isolado como *Colletotrichum* sp., conforme a Tabela 3.

Tabela 3. Resultado da caracterização e identificação molecular de isolados de *Trichoderma* spp. e *Colletotrichum* spp. Rio Branco – AC, 2019.

ISOLADO	ESPÉCIES
CMEA182	<i>T. asperellum</i>
CMEA188	Inconclusivo
CMEA191	<i>T. asperellum</i>
CMEA195	<i>T. asperellum</i>
CMEA199	<i>T. asperellum</i>
CMEA200	Inconclusivo
CMEA201	Inconclusivo
CMEA202	<i>Trichoderma</i> sp.
CMEA203	<i>T. asperellum</i>
CMEA205	<i>Trichoderma</i> sp.
CMEA206	<i>Trichoderma</i> sp.
CMEA212	<i>T. asperellum</i>
CMEA213	<i>Trichoderma</i> sp.
CMEA223	<i>Trichoderma</i> sp.
CMEA225	<i>Trichoderma</i> sp.
CMEA229	Inconclusivo
CMEA246	<i>Trichoderma</i> sp.
CMEA250	<i>Trichoderma</i> sp.
CMEA192	<i>C. gloeosporioides</i>
CMEA193	<i>C. gloeosporioides</i>
CMEA194	<i>Colletotrichum</i> sp.

Desta maneira, na caracterização molecular dos 18 isolados de *Trichoderma* spp. apenas a espécie de *T. asperellum* foi identificada. Porém, existe uma grande diversidade de fungos na região amazônica, que ainda não se encontram depositados nos bancos de dados Bold System, NCBI e Q-bank, possibilitando estudos futuros na identificação desses isolados de *Trichoderma* spp. a nível de espécie. Pesquisas realizadas por diversos autores identificaram inúmeras espécies de *Trichoderma*, sendo que a presença maciça foi de *T. asperellum* (LOPES, 2012; MILANESI et al., 2013; ÁLVAREZ et al. 2016; SANTOS et al., 2016), podendo ser estimada como uma das mais abundantes em diversos solos brasileiros (SILVA et al. 2015).

5.2 TESTE DO ANTAGONISMO *in Vitro* DE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. CONTRA *C. gloeosporioides*

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) para o efeito de isolado de *Trichoderma* spp. sobre *C. gloeosporioides*, bem como interação entre estes (Tabela 4).

Tabela 4. Resumo da análise de variância para variável de nota de pareamento de cultura entre isolados de *Trichoderma* spp. e *C. gloeosporioides*. Rio Branco – AC, 2019.

FV	GL	QUADRADO MÉDIO
		NOTA DE PAREAMENTO DE CULTURA
<i>Trichoderma</i> (T)	43	5,46**
<i>Colletotrichum</i> (C)	2	0,67**
T X C	86	0,51**
Resíduo	660	0,12
CV%		20,26

** significativo a 1%, pelo teste F.

Pelo experimento realizado verificou-se que todos os isolados do antagonista testados inibiram o crescimento do patógeno (Quadro 1).

Quadro 1. Médias correspondentes as notas (escala de BELL et al., 1982) atribuídas ao pareamento de cultura dos 3 isolados *C. gloeosporioides* com diferentes isolados de *Trichoderma* spp.

<i>Trichoderma</i> spp,	<i>C. gloeosporioides</i> CMEA192	<i>C. gloeosporioides</i> CMEA193	<i>Colletotrichum</i> sp, CMEA194
CMEA182	1,83 c A	1,66 c A	1,77 c A
CMEA183	1,60 c A	1,72 c A	2,16 d B
CMEA184	1,88 c A	1,77 c A	2,33 d B
CMEA186	2,33 d B	1,88 c A	2,38 d B
CMEA187	1,49 b A	1,77 c A	1,99 c A
CMEA188	1,11 a A	1,05 a A	1,77 c B
CMEA189	2,00 d A	1,61 c A	1,94 c A
CMEA190	1,49 b A	1,49 b A	2,11 d B
CMEA191	1,00 a A	1,00 a A	1,55 b B
CMEA195	1,00 a A	1,33 b A	1,38 a A
CMEA196	1,61 c A	1,49 b A	1,88 c A
CMEA198	1,94 d A	1,49 b A	1,55 b A
CMEA199	1,66 c B	1,22 a A	1,60 b B
CMEA200	1,66 c B	1,16 a A	1,60 b B
CMEA201	1,83 c B	1,16 a A	1,33 a A
CMEA202	1,00 a A	1,33 b B	1,60 b B
CMEA203	1,83 c B	1,11 a A	1,83 c B
CMEA204	2,00 d A	1,55 b A	1,66 b A
CMEA205	1,16 a A	1,05 a A	1,61 b B
CMEA 206	1,00 a A	1,33 b B	1,60 b B
CMEA207	1,61 c A	1,94 c A	1,83 c A
CMEA208	2,00 d B	1,50 b A	1,88 c B
CMEA209	1,38 b A	2,00 c B	1,77 c B
CMEA210	1,55 c A	1,49 b A	1,66 b A
CMEA211	1,44 b A	1,38 b A	1,49 b A
CMEA212	2,00 d B	1,38 b A	1,44 a A
CMEA213	2,00 d B	1,38 b A	1,22 a A
CMEA214	1,55 c A	2,00 c A	1,72 b A
CMEA215	1,38 b A	1,83 c B	1,77 c B
CMEA216	1,38 b A	2,00 c B	1,71 b B
CMEA217	2,00 d A	2,00 c A	1,60 b A
CMEA218	1,60 c A	1,94 c A	1,94 c A
CMEA222	1,60 c A	1,94 c A	1,83 c A
CMEA223	1,05 a A	2,00 c B	1,22 a A
CMEA224	1,61 c A	2,00 c B	1,55 b A
CMEA225	1,11 a A	1,77 c B	1,71 b B
CMEA226	1,94 d A	1,83 c A	1,66 b A
CMEA228	1,94 d B	1,33 b A	1,66 b B
CMEA229	2,38 d B	1,83 c A	1,44 a A

CMEA235	2,00 d A	1,83 c A	1,60 b A
CMEA246	1,77 c B	1,00 a A	1,38 a B
CMEA249	1,88 c A	2,00 c A	2,00 c A
CMEA250	2,16 d B	1,77 c B	1,00 a A
Testemunha	5,00 e A	5,00 d A	5,00 e A
Média	1,71		

Médias seguidas de letras iguais, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

Legenda dos grupos de média: 1º grupo; 2º grupo; 3º grupo; 4º grupo; 5º grupo.

Utilizando-se o isolado CMEA192 (*C. gloeosporioides*) foi possível observar o efeito dos diferentes de isolados de *Trichoderma* spp. sobre o fitopatógeno. As análises demonstraram a formação de cinco grupos de médias, sendo que oito isolados de *Trichoderma* spp. apresentaram maior desempenho inibitório sobre o patógeno conforme é possível visualizar no Quadro 1 e Figura 7.

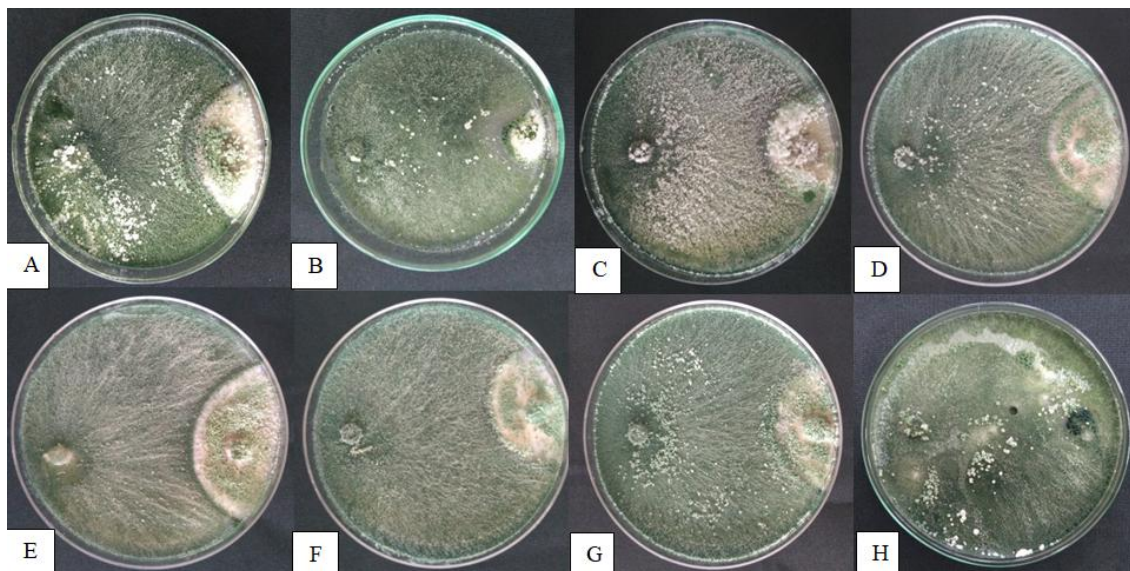


Figura 7. Pareamento de cultura em meio BDA, com os melhores níveis de isolados de *Trichoderma* versus 192 *C. gloeosporioides*, com a escala de nota de Bell et al., (1982), onde: (1) *Trichoderma* cresce sobre o patógeno e ocupa toda superfície da placa. (A) - CMEA188. (B) - CMEA191. (C) - CMEA195. (D) - CMEA202. (E) - CMEA 205. (F) - CMEA206. (G) - CMEA223. (H) - CMEA225. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019.

No pareamento das culturas, com o isolado CMEA193 (*C. gloeosporioides*), observou-se a formação de quatro grupos de médias (Quadro 1). Em destaque, o primeiro grupo de média (Quadro 1) selecionou oito isolados de *Trichoderma* spp. mostraram ser bastante promissores para o desenvolvimento de um programa de controle biológico (Quadro 1 e Figura 8).

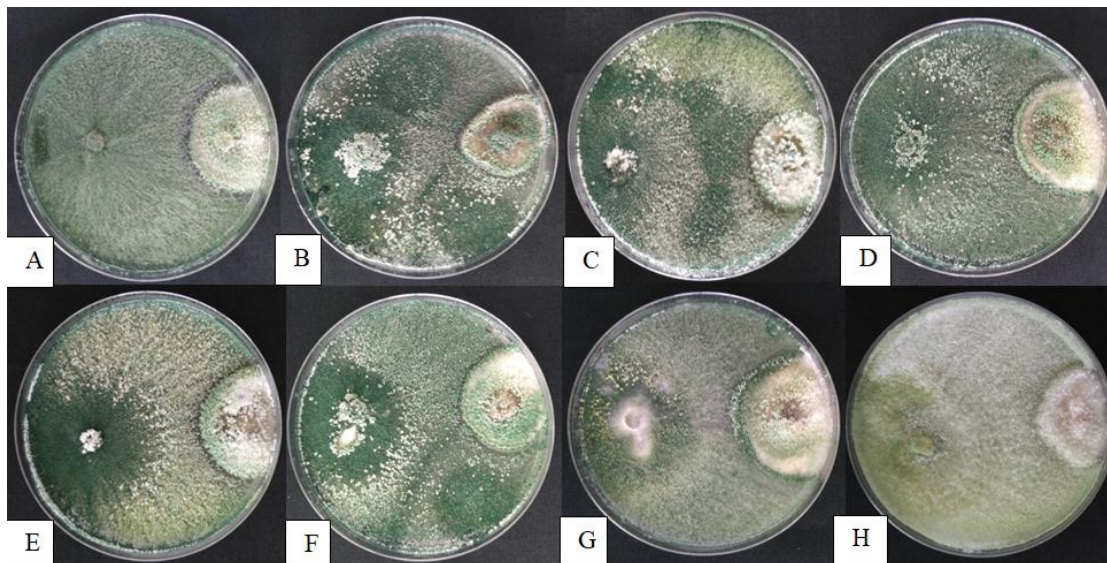


Figura 8. Pareamento de cultura em meio BDA, com os melhores níveis de isolados de *Trichoderma* versus 193 *C. gloeosporioides*, com a escala de nota de Bell et al., (1982), onde: (1) *Trichoderma* cresce sobre o patógeno e ocupa toda superfície da placa. (A) - CMEA188. (B) - CMEA191. (C) - CMEA199. (D) - CMEA200. (E) - CMEA201. (F) - CMEA203. (G) - CMEA205. (H) - CMEA246. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019.

Para a interação entre os isolados de *Trichoderma* spp. versus o isolado CMEA194 (*Colletotrichum* sp.), obteve-se a formação de 5 grupos de médias (Quadro 1), sendo que em destaque oito isolados de *Trichoderma* spp., apresentaram potencial para o controle do patógeno reduzindo seu crescimento e esporulação na superfície das placas de Petri (Figura 9).

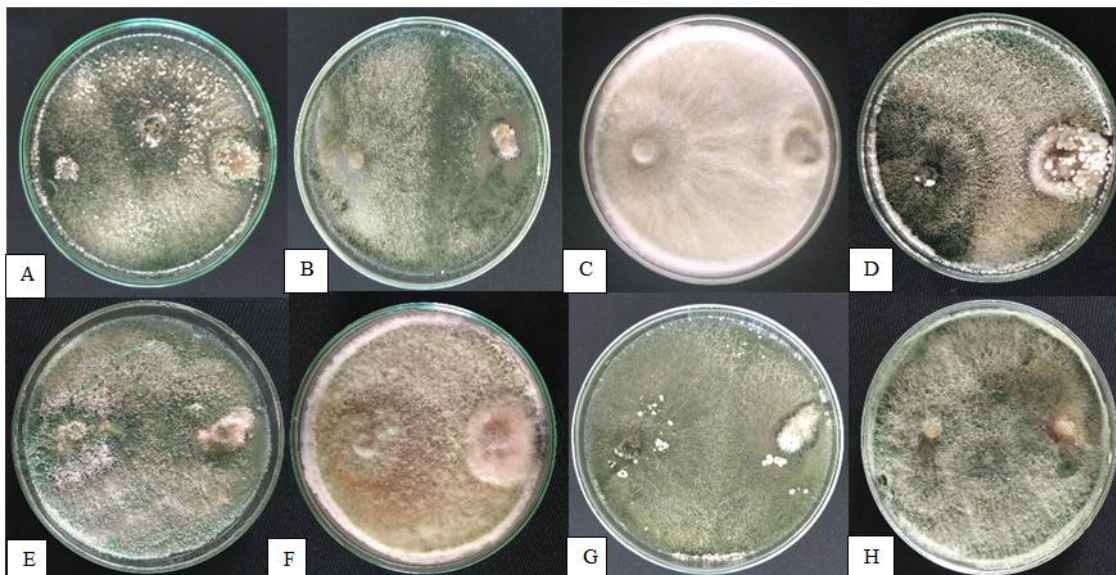


Figura 9. Pareamento de cultura em meio BDA, com os melhores níveis de isolados de *Trichoderma* versus 194 *Colletotrichum* sp., com a escala de nota de Bell et al., (1982), onde: (1) *Trichoderma* cresce sobre o patógeno e ocupa toda superfície da placa. (A) - CMEA195. (B) - CMEA201. (C) - CMEA212. (D) - CMEA213. (E) - CMEA223. (F) - CMEA229. (G) - CMEA246. (H) - CMEA250. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019.

5.3 TESTES DE MECANISMOS DE AÇÃO DO MICOPARASITISMO E COMPETIÇÃO ENTRE ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. VERSUS *C. gloeosporioides*

Neste trabalho observou-se que os isolados de *Trichoderma* spp. CMEA188, CMEA191, CMEA195, CMEA199, CMEA200, CMEA201, CMEA202, CMEA203, CMEA206, CMEA212, CMEA213, CMEA223, CMEA225, CMEA229, CMEA246 e CMEA250 tiveram ação efetiva de micoparasitismo, causando enrolamento e/ou estrangulamento das hifas do patógeno (Figura 10A). O contato entre as hifas formou estruturas semelhantes a ganchos, que causaram sua degradação (Figura 10B). Também foi observada granulação das hifas do patógeno e da parede celular, quando comparado à testemunha (Figuras 10C e D). O isolado de *Trichoderma* CMEA205 não apresentou este mecanismo de ação.

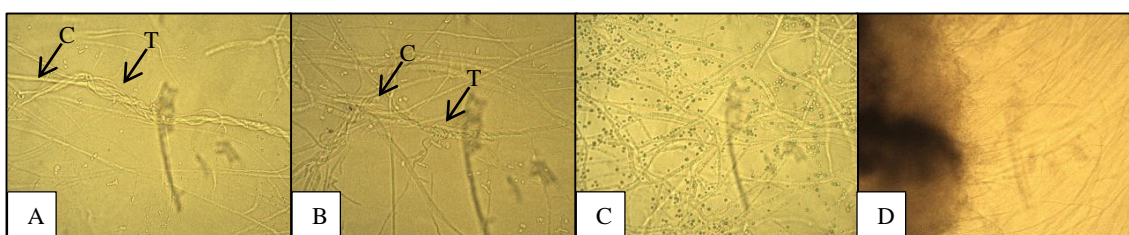


Figura 10. Micoparasitismo: interação de hifas de “T” - *Trichoderma* spp. versus “C” - *C. gloeosporioides*, aumento de 40 X. (A) – Enrolamento das hifas. (B) - Degradação e enrolamento das hifas. (C) – Testemunha do antagonista e (D) – Testemunha do patógeno. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019.

Outro tipo de interação ocorrida entre os isolados *Trichoderma* spp. versus *C. gloeosporioides*, se deu por competição de nutrientes disponíveis e também pelo espaço nas placas de Petri, uma vez que foram observadas diferentes arranjos nas placas, desde a inibição parcial do crescimento micelial dos fungos até a sobreposição do patógeno (Figuras 11A e B), quando comparado com as testemunhas (Figuras 11C e D).

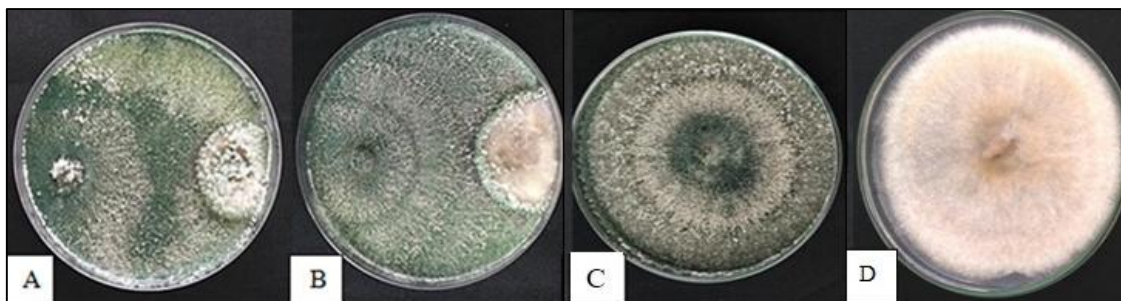


Figura 11. Interação de *Trichoderma* spp. versus *C. gloeosporioides*, crescimento micelial ao décimo dia de avaliação. (A) - (B) – Mecanismo de ação: Competição. (C) - Testemunha antagonista (D) – Testemunha patógeno. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019.

De maneira geral, todos os isolados de *Trichoderma* spp. avaliados neste trabalho, reduziram o crescimento *in vitro* do patógeno, quando comparados à testemunha,

obtendo-se notas menores do que 3, onde o crescimento do antagonista ocupou mais de 2/3 da superfície das placas de Petri. Verificou-se que os isolados de *Trichoderma* spp. tiveram crescimento contínuo sobre o meio de cultura, inibindo o crescimento do patógeno, o que foi observado pela zona de demarcação na área de encontro dos dois microrganismos.

De forma geral os resultados deste trabalho confirmam relatos apresentados na literatura utilizando o fungo *Trichoderma* como possível agente de controle biológico em diferentes patossistemas. Estudos realizados por Almeida (2009) em ensaio de pareamento de culturas revelou que *Trichoderma* colonizou e produziu esporos sobre a maioria das colônias de *C. gloeosporioides*, *C. musae*, *Cercospora musae* e *Asperioporum caricae*. Também Villalobos et al., (2013), ao utilizarem 20 isolados de *Trichoderma* spp., observaram que 17 destes isolados foram eficientes na inibição do patógeno *C. gloeosporioides*, reduzindo pelo menos 67% do crescimento micelial, sendo que *T. asperellum* foi capaz de controlar o patógeno *in vitro* e *in vivo*. Bonett et al., (2013) no teste de pareamento cultura, onde quatro espécies de *Trichoderma*, *T. viride*, *T. harzianum*, *T. koningii* e *T. virens*, foram eficientes na inibição de *C. musae* em *in vitro*. Assim como, Chagas Junior et al., (2016) verificaram dos 56 isolados de *Trichoderma* spp. 46 inibiram o crescimento micelial de *C. cliviae* (nota menor ou igual a 2,0), chegando a quase 95% de inibição este patógeno, em pareamento *in vitro*.

Velenzuela et al., (2015) demonstraram que *Trichoderma longibrachiatum* apresentou a maior colonização (87,45%) sobre *C. gloeosporioides*, entre as espécies testadas. Oliveira et al., (2016) avaliando o efeito *in vitro* de *Trichoderma* sp. observaram que este exerceu excelente atividade fungitóxica, com redução de 84% do crescimento micelial do *C. musae*, agente causal da antracnose na cultura da bananeira.

La Cruz-Quiroz et al., (2018), estudaram que *T. harzianum*, *T. longibrachiatum*, *T. yunnanense* e *T. asperellum* mostraram ser um excelente agente de controle biológico contra *C. gloeosporioides* e *Phytophthora capsici*, em ensaio *in vitro*. Da mesma maneira, estudando o potencial antagonico de quatro isolados (Tr3, Tr8, Tr12 e Tr14) de *Trichoderma viride* contra *C. capsici*, foi notada uma inibição variando entre 61,23 e 70,14% do crescimento micelial do patógeno (MISHRA et al., 2011).

Montalvão (2012) verificou que isolados de *Trichoderma* tem alta capacidade parasítica de enrolamento e deformação de hifas de *Sclerotium rolfsii*, resultado este que corrobora com o encontrado neste estudo. Essas alterações evidenciam o parasitismo de

Trichoderma sobre o patógeno estudado, conforme sugerem Harman et al., (2004) e Cheng et al., (2012), a ação de *Trichoderma* envolve reconhecimento e crescimento em direção ao patógeno, também o contato e enrolamento de suas hifas com posterior formação de apressório e ainda penetração da parede celular, por meio da secreção de enzimas líticas capazes de desestabilizar a parede celular do fitopatógeno.

Em experimentos *in vitro* é frequente o relato de interações entre isolados e/ou espécies de antagonistas com isolados dos patógenos, sendo que competição é um dos principais mecanismos de ação de isolados de *Trichoderma* spp. no biocontrole de fitopatógenos. Tocafundo et al. (2010), relata que isolados de *Trichoderma* spp. inibiram o crescimento micelial de *Phytophthora palmivora*; isolados de *Trichoderma* spp. bloquearam o desenvolvimento de *T. paradoxa* (SANTOS et al., 2012); *Fusarium* sp. foi inibido por isolados de *Trichoderma* sp. (HOFFMANN et al., 2015); e o isolado TI-2 de *Trichoderma* spp. sobre *Sclerotinia sclerotiorum* (FIPKE et al., 2015).

O uso de ensaios *in vitro* representa um passo inicial e determinante em pesquisas de seleção de agentes para o controle biológico. Segundo Michereff (2005) um bom programa de biocontrole necessita basear-se em experimento *in vitro* e *in vivo*. Portanto, os resultados obtidos demonstraram grande potencial para utilização no controle biológico da antracnose em mudas de açaizeiro solteiro em condições de viveiro.

5.4 EFEITO DE SUBSTRATO COLONIZADO COM *Trichoderma* spp. NA PRODUÇÃO DE MUDAS DE AÇAIZEIRO SOLTEIRO

Observou-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos para a maioria das variáveis, exceto para diâmetro do coleto (DC), massa seca da parte aérea (MSPA) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (Tabela 5 e Quadro 2).

Tabela 5. Resumo da análise de variância para as variáveis altura da planta (AP) (cm); diâmetro do coleto (DC) (mm); número de folha (NF); massa seca da parte aérea (MSPA) (g); massa seca da raiz (MSR) (g); massa seca total (MST) (g); índice de qualidade de Dickson (IQD); área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em mudas de *E. precatória*, aos 10 meses de idade. Rio Branco – AC, 2019.

FV	GL	QUADRADO MÉDIO							
		AP	DC	NF	MSPA	MSR	MST	IQD	AACPD
Tratamento	43	1,86**	0,34 ^{ns}	0,08**	0,10 ^{ns}	0,10**	0,39**	0,01**	676,05 ^{ns}
Bloco	3	11,19	0,24	0,28	1,69	1,57	6,51	0,10	1055,04
Resíduo	129	0,63	0,21	0,03	0,07	0,06	0,22	0,00	778,24
CV%		8,19	7,87	6,24	30,19	29,76	27,73	13,17	77,31

** e * significativo a 1% e 5% de probabilidade pelo teste de F, respectivamente; ^{ns} não significativo.

Quadro 2. Crescimento de mudas de *E. precatória*, aos 10 meses de idade em substrato de castanha-do-brasil colonizado com *Trichoderma* spp. para as variáveis: altura da planta (AP) (cm); diâmetro do coleto (DC) (mm); número de folha (NF); massa seca da parte aérea (MSPA) (g); massa seca da raiz (MSR) (g); massa seca total (MST) (g); índice de qualidade de Dickon (IQD); área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD).

<i>Trichoderma</i> spp.	NF	AP	DC	MSPA	MSR	MST	IQD	AACPD
CMEA182	3,59 a	12,34 a	6,78 a	1,30 a	1,01 a	2,31 a	0,56 a	43,66 a
CMEA183	3,20 b	10,68 b	6,69 a	1,01 a	0,87 a	1,88 a	0,54 a	33,08 a
CMEA184	3,00 c	9,81 c	5,75 a	0,89 a	0,71 b	1,60 b	0,48 b	41,90 a
CMEA186	2,71 c	8,80 c	5,37 a	0,56 a	0,42 b	0,98 b	0,35 b	68,81 a
CMEA187	3,10 c	10,62 b	6,36 a	1,11 a	0,99 a	2,10 a	0,56 a	57,64 a
CMEA188	3,00 c	10,04 b	6,00 a	0,69 a	0,62 b	1,30 b	0,43 b	59,04 a
CMEA189	2,95 c	9,46 c	6,01 a	0,91 a	0,75 b	1,65 b	0,51 a	27,44 a
CMEA190	3,05 c	9,49 c	5,84 a	0,68 a	0,59 b	1,26 b	0,43 b	38,13 a
CMEA191	3,06 c	9,30 c	5,60 a	0,89 a	0,75 b	1,64 b	0,50 a	45,61 a
CMEA195	3,15 b	9,82 c	5,93 a	0,78 a	0,73 b	1,51 b	0,46 b	26,85 a
CMEA196	3,05 c	9,12 c	6,07 a	0,87 a	0,74 b	1,60 b	0,51 a	33,20 a
CMEA198	3,00 c	10,34 b	6,21 a	0,85 a	0,86 a	1,72 b	0,50 a	33,25 a
CMEA199	3,05 c	9,42 c	5,72 a	0,92 a	0,87 a	1,78 b	0,52 a	28,80 a
CMEA200	2,90 c	9,20 c	5,83 a	0,79 a	0,67 b	1,46 b	0,48 b	30,58 a
CMEA201	3,30 b	10,26 b	5,99 a	1,17 a	1,08 a	2,24 a	0,55 a	37,33 a
CMEA202	3,05 c	9,20 c	5,75 a	0,91 a	0,91 a	1,81 a	0,50 a	34,85 a
CMEA203	3,05 c	9,91 b	5,62 a	0,81 a	0,68 b	1,49 b	0,46 b	31,95 a
CMEA204	3,28 b	9,89 b	6,13 a	1,12 a	0,98 a	2,10 a	0,55 a	72,81 a
CMEA205	3,05 c	9,36 c	5,68 a	0,86 a	0,79 b	1,65 b	0,49 a	29,45 a
CMEA206	3,23 b	10,62 b	6,11 a	1,23 a	1,08 a	2,32 a	0,56 a	47,86 a
CMEA207	2,75 c	9,57 c	6,00 a	1,01 a	0,87 a	1,88 a	0,50 a	28,93 a
CMEA208	2,95 c	9,42 c	6,41 a	0,85 a	0,87 a	1,71 b	0,53 a	30,25 a
CMEA209	3,10 c	10,27 b	6,19 a	0,92 a	0,83 a	1,74 b	0,51 a	27,95 a
CMEA210	3,00 c	10,21 b	5,95 a	1,13 a	0,93 a	2,05 a	0,53 a	32,90 a
CMEA211	3,05 c	9,01 c	5,69 a	1,20 a	0,98 a	2,18 a	0,56 a	29,88 a
CMEA212	3,05 c	9,95 b	5,73 a	0,97 a	0,93 a	1,90 a	0,52 a	26,55 a
CMEA213	2,90 c	9,39 c	5,79 a	0,92 a	0,86 a	1,77 b	0,51 a	25,18 a
CMEA214	2,85 c	9,34 c	6,02 a	0,72 a	0,57 b	1,28 b	0,44 b	34,98 a
CMEA215	3,05 c	9,72 c	5,85 a	0,65 a	0,55 b	1,20 b	0,41 b	26,93 a
CMEA216	3,25 b	10,25 b	6,31 a	0,99 a	0,98 a	1,97 a	0,55 a	26,60 a
CMEA217	3,10 b	9,99 b	6,23 a	0,84 a	0,73 b	1,56 b	0,48 b	32,98 a
CMEA218	2,90 b	8,97 c	5,57 a	0,69 a	0,62 b	1,31 b	0,44 b	30,75 a
CMEA222	3,00 b	9,33 c	5,94 a	0,75 a	0,71 b	1,46 b	0,48 b	37,20 a
CMEA223	3,00 b	9,43 c	5,60 a	0,69 a	0,55 b	1,24 b	0,42 b	24,25 a
CMEA224	3,10 b	10,03 b	5,89 a	0,89 a	0,85 a	1,73 b	0,50 a	25,48 a
CMEA225	2,90 b	9,17 c	5,75 a	0,95 a	0,50 b	1,44 b	0,45 b	24,53 a
CMEA226	3,05 b	8,52 c	5,42 a	0,89 a	0,81 a	1,71 b	0,49 a	34,43 a
CMEA228	2,95 b	8,66 c	5,87 a	0,84 a	0,78 b	1,63 b	0,52 a	28,68 a
CMEA229	3,00 b	9,71 c	6,00 a	0,83 a	0,68 b	1,51 b	0,48 b	35,23 a
CMEA235	2,95 b	10,62 b	6,07 a	0,94 a	1,06 a	1,99 a	0,53 a	36,35 a
CMEA246	3,00 b	10,73 b	5,89 a	0,81 a	0,87 a	1,68 b	0,48 b	79,86 a
CMEA249	3,05 b	9,51 c	6,11 a	0,85 a	0,69 b	1,54 b	0,49 a	25,55 a
CMEA250	2,95 b	9,52 c	5,67 a	0,86 a	0,75 b	1,61 b	0,48 b	26,28 a
Testemunha	2,90 c	9,48 c	6,07 a	1,09 a	1,03 a	2,12 a	0,55 a	33,83 a
Médias	3,03	9,73	5,94	0,89	0,79	1,69	0,49	36,08

Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Scott-Knott (1974). Rio Branco – AC, 2019.

Legenda dos grupos de média: ■ 1º grupo; ■ 2º grupo; ■ 3º grupo.

Observou-se que para as características NF e AP houve a formação de 3 grupos de resposta, sendo que o efeito do uso do isolado CMEA182 se destacou significativamente dos demais isolados, proporcionando a maior média de crescimento da planta (12,34 cm) e do número de folhas (3,59), aos 10 meses de avaliação após a repicagem. Verificou-se ainda a formação de um segundo grupo de média, onde 19 isolados de *Trichoderma* spp. tiveram reação intermediária, diferindo-se do terceiro grupo de média, que correspondeu aos isolados de *Trichoderma* spp. que não diferiram da testemunha (Quadro 2).

Para as variáveis MSR, MST e IQD formou-se 2 grupos de média, onde 21 isolados de *Trichoderma* spp. (CMEA182, CMEA183, CMEA187, CMEA198, CMEA199, CMEA201, CMEA202, CMEA204, CMEA206, CMEA207, CMEA208, CMEA209, CMEA210, CMEA211, CMEA212, CMEA213, CMEA216, CMEA224, CMEA226, CMEA235 e CMEA246), proporcionaram maiores ganhos na MSR para mudas de açaizeiro solteiro, apresentando um sistema radicular bastante desenvolvido, o que é um fator de grande importância para pegamento e sobrevivência no campo (Quadro 2 e Figuras 12A e B).

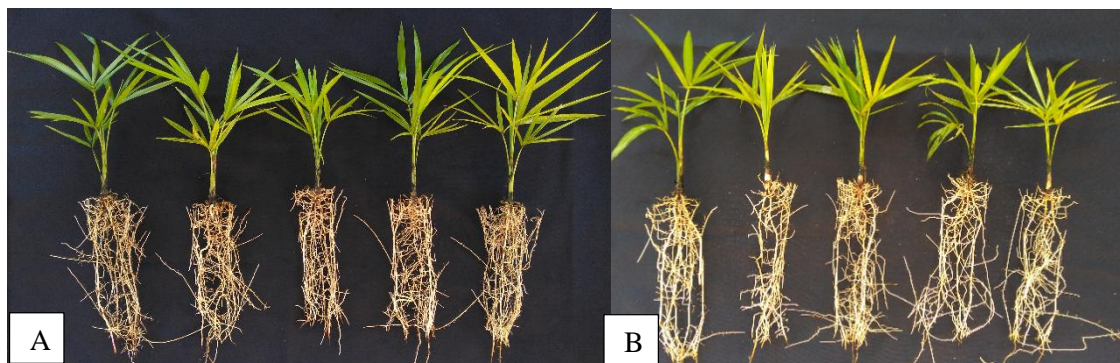


Figura 12. Crescimento do sistema radicular. (A) – Isolado de *Trichoderma*. (B) – Testemunha. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019.

Considerando o índice de qualidade de Dickson (IQD), que agrega os principais parâmetros agrônômicos conjuntamente, foram observados dois agrupamentos de médias entre os tratamentos. O primeiro grupo formado pelos isolados de *Trichoderma* spp. CMEA182, CMEA183, CMEA187, CMEA189, CMEA191, CMEA196, CMEA198, CMEA199, CMEA201, CMEA202, CMEA204, CMEA205, CMEA206, CMEA207, CMEA208, CMEA209, CMEA210, CMEA211, CMEA212, CMEA213, CMEA216, CMEA224, CMEA226, CMEA228, CMEA235, CMEA249 (Quadro 2), apresentaram maior índice de qualidade de mudas quando comparado aos demais isolados.

5.5 SEVERIDADE DA ANTRACNOSE EM MUDAS DE AÇAIZEIRO

Para os estudos da severidade (nota) foi feito o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). A comparação das médias mostrou que não houve diferença significativa entre os tratamentos (*Trichoderma*), conforme mostra no Quadro 2. Durante a condução do experimento, ao longo dos 10 meses após a repicagem, foi observado cerca de 5% da área foliar das plantas com lesões de antracnose.

O efeito da utilização de *Trichoderma* na formação e crescimento das plantas é demonstrado em diferentes trabalhos. Os resultados apontam que a promoção de crescimento das plantas, não depende apenas do agente de biocontrole utilizado, mas também da sua interação com os isolados e com os métodos de cultivo (HARMAN, et al., 2008; MACEDO, 2011). De acordo com Machado et al., (2015), o sucesso do mecanismo de ação de *Trichoderma* spp. como promotor de crescimento da planta depende da interação com o ambiente, com o substrato e a disponibilidade de nutrientes.

Neste trabalho foi observado maior crescimento das plantas no substrato colonizado com os isolados de *Trichoderma* spp. Também se observou que a utilização de *Trichoderma* spp. proporcionou um incremento do sistema radicular, demonstrando que os sistemas radiculares estavam aptos para maior absorção de nutrientes.

Resultados similares foram encontrados no trabalho de Fortes et al., (2007), onde isolados de *Trichoderma* spp. inoculados em substrato aumentaram significativamente o enraizamento de microestacas de *Eucalytus* sp. Ainda, Gava e Menezes (2012) também verificaram que *T. viridae*, *T. koningii* e *T. harzianum* foram eficientes na colonização da rizosfera de mamoeiro amarelo. De acordo com Shores et al., (2010) algumas espécies de *Trichoderma* podem aumentar significativamente o desenvolvimento do sistema radicular, proporcionando maior exploração do solo e absorção de nutrientes e água, conseqüentemente, promovendo o desenvolvimento vegetativo.

Para mudas de *Euterpe* spp. ainda não existe a definição de um padrão de IQD (ARAÚJO et al., 2018), porém, estudos com espécies florestais padronizam 0,20 como valor mínimo de IQD (HUNT, 1990). Os resultados deste trabalho obtiveram valor mínimo de 0,35 com o isolado CMEA186 (*Trichoderma* spp.) e o valor máximo de 0,56 com o isolado CMEA211 (*Trichoderma* spp.). Desta maneira, no presente estudo, os valores de IQD ficaram acima do valor mínimo recomendado para formação de espécies florestais, indicando nível de qualidade de mudas suficiente para plantio em campo.

Entretanto, Welter et al., (2014) estudaram IQD sobre a influência de doses de pó de balsamo no crescimento de mudas de *E. oleracea* e encontraram valor mínimo de 1,60 na dose 5,63 g.dm⁻³ e valor máximo de 4,98 na dose 6,16 g.dm⁻³. Araújo et al., (2018) verificaram o IQD em diferentes doses de fosfato no crescimento de mudas de *E. oleracea* com valor mínimo de 2,56 pela dose estimada de 121,92 g.m⁻³ e valor máximo de 3,90 na dose de 535.68 g.m⁻³, indicando que os valores de IQD para *Euterpe precatoria* podem ser melhorados.

De maneira geral o IQD é um dos melhores indicadores da qualidade de mudas, pois envolve diferentes variáveis morfológicas importantes e ao mesmo tempo, em que diminuindo o risco da utilização isolada de um parâmetro agrônômico, como por exemplo, altura de mudas, frequentemente utilizado para seleção das plantas (PEREIRA et al., 2010). Reis et al. (2016) afirmam que mudas de maior altura não são precisamente as melhores em termos de sobrevivência no campo, principalmente quando estas estão estioladas.

Verificou-se que houve baixa severidade da antracnose nas mudas de açaizeiro neste experimento (Figura 13). Isto pode ser justificado pelo fato do ambiente, ter baixa taxa de dispersão do fungo, em virtude do manejo adotado no local, com pulverizações semanais de fungicidas para o controle da antracnose, o que conseqüentemente reduziu a quantidade do inóculo. Assim, os fatores ambientais (temperatura elevada e umidade relativa) não foram suficientes para incrementar o progresso da antracnose, uma vez que patógeno estava controlado na área.

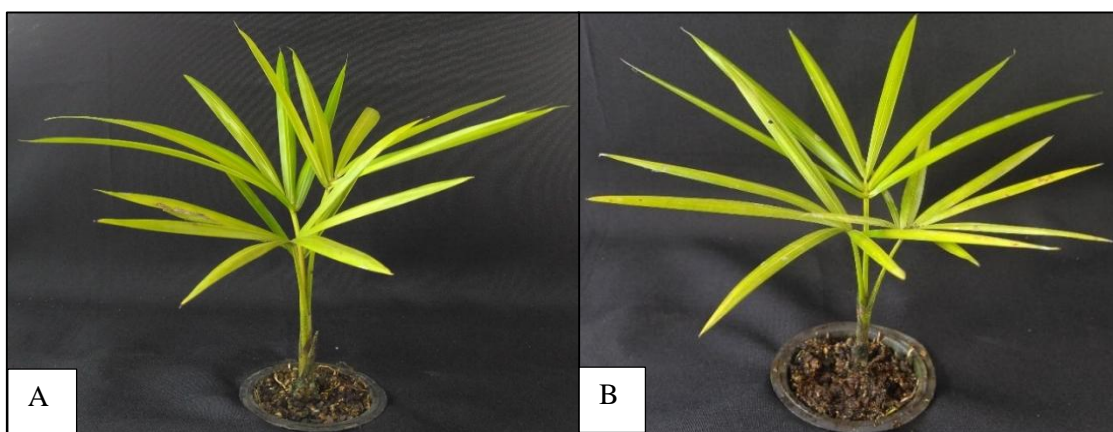


Figura 13. Severidade com cerca de 5% da área foliar com lesões. (A) *Trichoderma* spp. (B) – Testemunha. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019.

Estudos comprovam a eficiência de *Trichoderma* spp. no controle de *Colletotrichum* spp. em diversas culturas. Silva et al. (2011) trabalharam com 60 isolados de *Trichoderma* spp, e também com o produto comercial de *Trichoderma*, para a indução

de resistência sistêmica à antracnose, causada por *Colletotrichum lagenarium* em pepineiro relatando que 19 isolados apresentaram melhor desempenho quanto à redução dos sintomas de antracnose. Pedro et al. (2012) ao avaliarem a capacidade de *Trichoderma* spp. em promover o crescimento de feijoeiro e reduzir a severidade da antracnose nas plantas (*Colletotrichum lindemuthianum*) utilizando 60 isolados de *Trichoderma* spp., destacaram sete isolados demonstraram efeito positivo no controle da doença.

Os resultados desta pesquisa demonstram potencial do uso de *Trichoderma* spp. na composição das estratégias para o controle da antracnose em açaizeiro solteiro. Ainda são necessários ajustes na metodologia de condução e avaliação dos ensaios, como por exemplo, ampliação da coleção de isolados de *Trichoderma* e seleção dos melhores isolados para serem utilizados em combinação com nutrientes na composição dos substratos, uma vez que a utilização da casca da castanha-do-brasil isoladamente demonstrou não ser suficiente para suprir as demandas nutricionais das plantas, o que pode ter dificultado a diferenciação do efeito do *Trichoderma* no crescimento das mudas de açaizeiro solteiro.

5.6 EFEITO DA APLICAÇÃO FOLIAR DE *Trichoderma* SPP. NA PRODUÇÃO DE MUDAS DE ACAIZEIRO SOLTEIRO

A análise variância para os resultados obtidos nos ensaios conduzidos em viveiro, sobre o efeito do *Trichoderma* spp. no controle da antracnose, indicou que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para as variáveis, exceto para área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD).

Tabela 6. Resumo da análise de variância para as variáveis: altura da planta (AP) (cm); diâmetro do coleto (DC) (mm); número de folha (NF); massa seca da parte aérea (MSPA) (g); massa seca da raiz (MSR) (g); massa seca total (MST) (g); índice de qualidade de Dickson (IQD); área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de mudas de *E. precatória*, aos 10 meses de idade. Rio Branco – AC, 2019.

FV	GL	QUADRADO MÉDIO							
		AP	DC	NF	MSPA	MSR	MST	IQD	AACPD
Tratamento	8	1,43 ^{ns}	0,59 ^{ns}	0,43 ^{ns}	0,23 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,003 ^{ns}	929,42*
Bloco	3	2,11	0,81	0,51	0,13	0,30	0,76	0,004	1332,15
Resíduo	24	4,58	0,77	0,38	0,1	0,12	0,28	0,002	271,57
CV%		14,76	11,09	19,3	17,46	24,18	16,19	7,56	24,50

* significativo 5% de probabilidade pelo teste de F, ^{ns} não significativo, respectivamente.

Os resultados demonstraram que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) pelo teste de Scott-Knot para as variáveis analisadas, quando procedeu-se a aplicação foliar das suspensões fúngicas utilizando-se os isolados de *Trichoderma* spp. (Tabela 7). Entretanto, houve diferença significativa entre os tratamentos para os dados da área

abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), sendo formado dois grupos de média, diferindo da testemunha, o que demonstrou efeito dos isolados de *Trichoderma* spp. na redução da severidade da doença nas plantas (Tabela 7).

Estes resultados corroboram com os encontrados por Lisboa et al. (2007), estudando o controle *Botrytis cinerea* em tomateiro, verificaram a eficiência de *Trichoderma harzianum* e *Gliocladium viride* na redução da incidência da doença (AACPD), apresentaram menor severidade, quando comparado a testemunha. Silva et al. (2011), observaram que *T. asperellum* reduziu 80% da doença *P. syringae* pv. *Lachrymans* em pepineiro, em comparação às folhas não tratadas.

Tabela 7. Crescimento de mudas de *E. precatória*, aos 10 meses de idade com aplicação via foliar dos isolados de *Trichoderma* spp. para as variáveis: altura da planta (AP) (cm); diâmetro do coleto (DC) (mm); número de folha (NF); massa seca da parte aérea (MSPA) (g); massa seca da raiz (MSR) (g); massa seca total (MST) (g); índice de qualidade de Dickson (IQD); área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), Rio Branco – AC, 2019.

TRATAMENTO	AP	DC	NF	MSPA	MSR	MST	IQD	AACPD
CMEA182	13.40 a	7.27 a	2.65 a	1.64 a	1.21 a	2.85 a	0.60 a	63.96 a
CMEA188	14.98 a	7.94 a	3.15 a	1.76 a	1.74 a	3.50 a	0.63 a	62.92 a
CMEA191	14.65 a	8.44 a	3.25 a	2.02 a	1.49 a	3.51 a	0.64 a	57.05 a
CMEA199	14.09 a	8.11 a	3.70 a	1.75 a	1.37 a	3.12 a	0.64 a	64.76 a
CMEA201	14.50 a	7.91 a	2.75 a	1.97 a	1.46 a	3.44 a	0.64 a	78.17 a
CMEA206	14.93 a	8.08 a	3.35 a	1.88 a	1.38 a	3.26 a	0.65 a	67.81 a
CMEA212	14.89 a	8.03 a	3.45 a	1.97 a	1.56 a	3.53 a	0.65 a	56.48 a
CMEA246	15.23 a	8.18 a	3.35 a	2.05 a	1.56 a	3.62 a	0.67 a	51.72 a
Testemunha	13.90 a	7.31 a	3.16 a	1,29 a	1.37 a	2,66 a	0,58 a	102.50 b

Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Scott-Knott (1974).

A aplicação foliar utilizando os oito melhores isolados de *Trichoderma* spp. também proporcionou colonização sistêmica das mudas de açaizeiro solteiro, sendo que o fungo estava presente nos fragmentos de raízes das plantas tratadas. Isto foi comprovado por meio da técnica de isolamento indireto do fungo, utilizando-se os fragmentos das plantas oriundas do experimento após 4 meses das aplicações foliares (Figura 14). Notadamente, os isolados de *Trichoderma* não foram detectados nos fragmentos das folhas inoculadas (Figura 15), demonstrando que o fungo penetrou e colonizou o sistema radicular (Tabela 8).

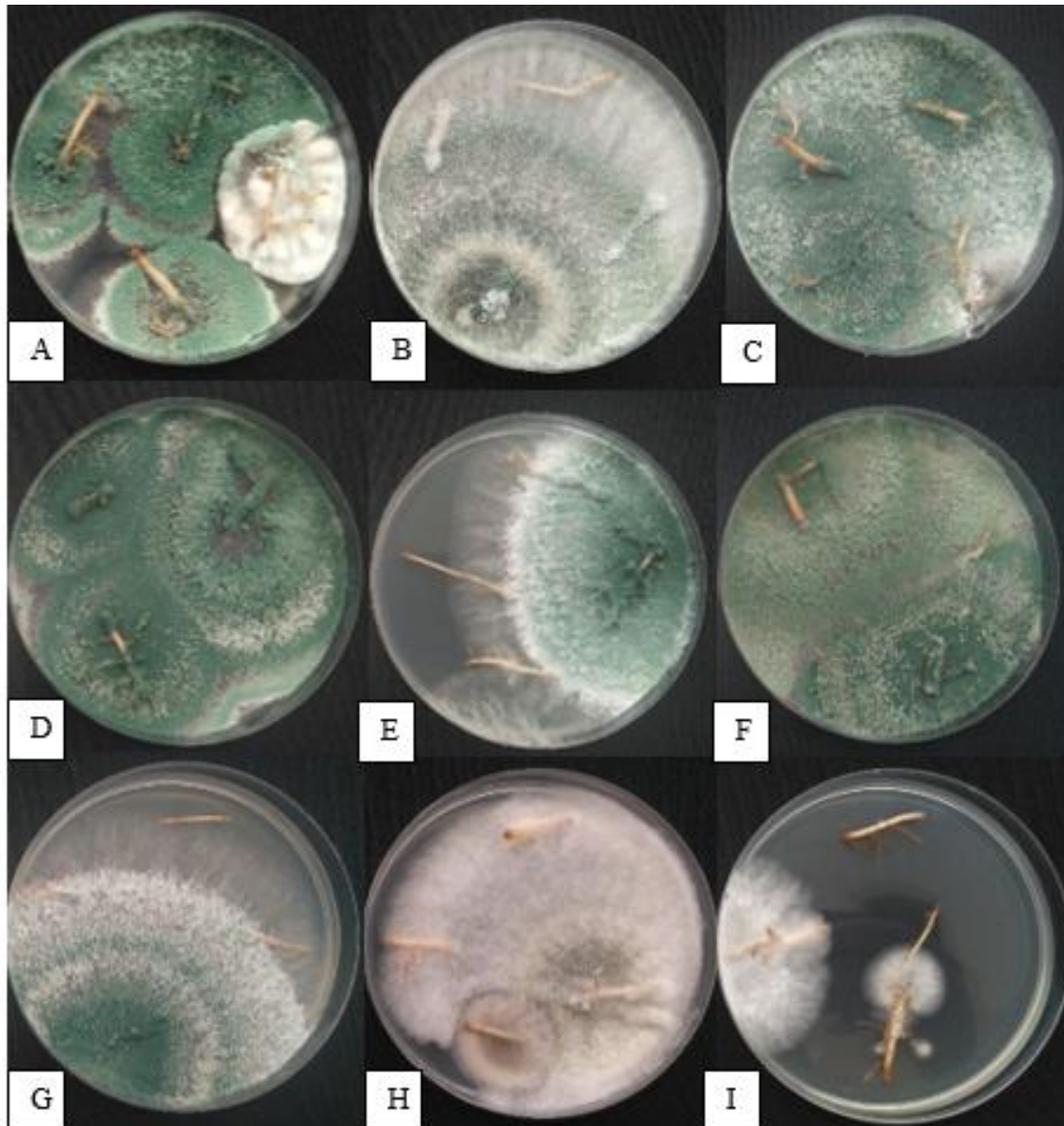


Figura 14. Isolamento indireto com fragmentos de raízes de *E. precatória*, após 4 meses de aplicação via foliar com os isolados de *Trichoderma* spp. (A) – CMEA182. (B) – CMEA188. (C) – CMEA191. (D) – CMEA199. (E) – CMEA201. (F) - CMEA206. (G) – CMEA212. (H) – CMEA246. (I) - Testemunha. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019.

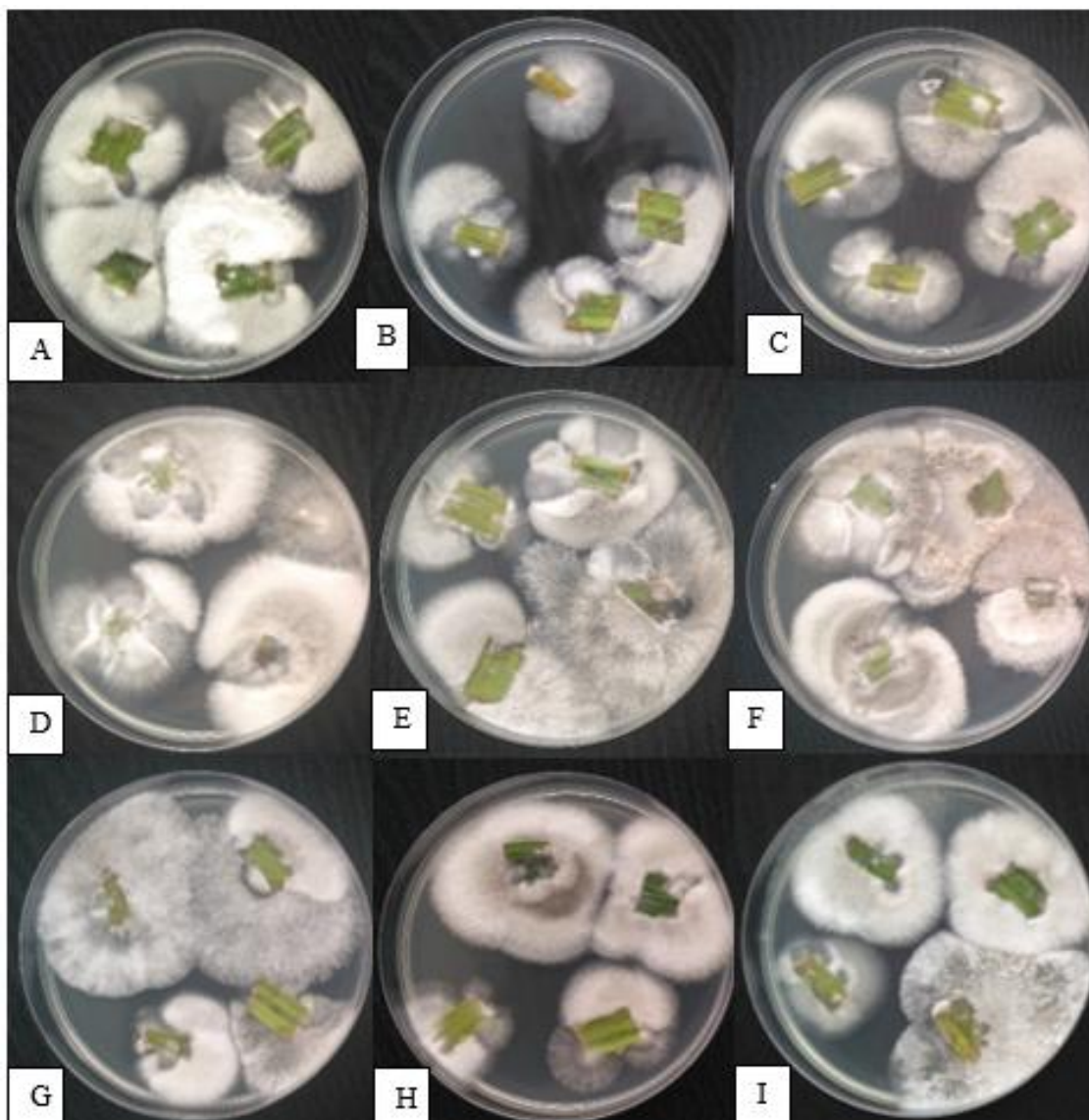


Figura 15. Isolamento indireto com fragmentos de folhas de *E. precatória*, após 4 meses de aplicação via foliar com os isolados de *Trichoderma* spp. (A) – CMEA182. (B) – CMEA188. (C) – CMEA191. (D) – CMEA199. (E) – CMEA201. (F) - CMEA206. (G) – CMEA212. (H) – CMEA246. (I) - Testemunha. Foto: Paula Rufino. Rio Branco – AC, 2019.

Constatou-se que os isolados de *Trichoderma* CMEA182, CMEA188, CMEA206 e CMEA212 estavam presentes no sistema radicular de todas as mudas de açaizeiro com eles inoculadas, comprovado por 100% de frequência positiva com o isolamento indireto. Para os isolados CMEA 191 e CMEA199 foi obtida uma frequência de 75% de frequência (Tabela 8). Já para os isolados de CMEA201 e CMEA246 obteve-se a menor frequência de colonização nas raízes, 25%, demonstrando assim que a resposta de colonização é influenciada pelas características dos isolados do fungo.

Tabela 8. Frequência de isolamentos positivos de *Trichoderma* spp. com órgãos de *E. precatória* após 4 meses de aplicações via foliar com inóculos de *Trichoderma* spp. Rio Branco – AC, 2019.

TRATAMENTO	ORIGEM	FREQUÊNCIA DE ISOLAMENTOS POSITIVOS DE <i>Trichoderma</i> SPP. COM ORGÃOS DE <i>E. precatória</i> (%)	
		FOLHA	RAIZ
CMEA182	Solo	0	100
CMEA188	Solo	0	100
CMEA191	Solo	0	75
CMEA199	Folha	0	75
CMEA201	Solo	0	25
CMEA206	Estolão	0	100
CMEA212	Folha	0	100
CMEA246	Matéria orgânica	0	25
Testemunha		0	0

Resultados apresentados por Brotman et al. (2010), demonstram que isolados de *Trichoderma* spp. colonizam ativamente o córtex das raízes e, posteriormente ativam vias de sinalização, desencadeando respostas de defesa nas plantas. Jesus et al. (2011), constataram que *Trichoderma* spp. são capazes de se associar às raízes de plantas, por mecanismos similares de fungos micorrízicos, pois os *Trichoderma* spp. tem alta capacidade de penetrar o sistema radicular e induzir a produção de substâncias antimicrobianas, resultando na indução de resistência de plantas para inúmeros fitopatógenos.

Mastouri et al. (2010), afirmam que *Trichoderma* spp. são beneficiados pela presença de raízes, os quais as colonizam facilmente, sendo que espécies que melhor colonizam a rizosfera podem ser acrescentadas ao solo ou mesmo as sementes, visando o controle de fitopatógenos e promoção do crescimento das plantas.

É importante observar que a maioria dos isolados de *Trichoderma* utilizados neste estudo foram obtidos a partir de amostras de solo (Tabela 8). Os resultados da caracterização molecular comprovaram que quatro destes isolados pertencem a espécie *T. asperellum* (CMEA182, CMEA191, CMEA199 e CMEA 212). De acordo com Silva et al. (2015), a espécie *T. asperellum* pode ser considerada como uma das mais abundantes em solos territoriais brasileiros. As altas taxas de recuperação dos isolados no sistema radicular das plantas inoculadas, demonstram que este é o nicho de colonização desta espécie e indica seu alto potencial de utilização em substratos para a formação de mudas e para promoção de crescimento.

6. CONCLUSÕES

Isolados de *Trichoderma* spp. apresentam habilidade de controle biológico de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose em mudas de *Euterpe precatória*.

Isolados de *Trichoderma* spp. inoculados no substrato de casca de amêndoa da castanha-do-Brasil são capazes de auxiliar no crescimento de mudas de *E. precatória*.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADASKAVEG, J. E.; HARTIN, R. J. Characterization of *Colletotrichum acutatum* isolates causing anthracnose of almond and peach in California. **Phytopathology**, v. 87, n. 9, p. 979-987, 1997.
- ALFENAS, A.C.; FERREIRA, F.A.; MAFIA, R.G.; GONÇALVES, R.C. Isolamentos de fungos fitopatogênicos. In: ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. **Métodos em Fitopatologia**. Viçosa: Editora UFV, 2007, p.53-90, 2007.
- ALHO, C. J. R. Extrativismo na Amazônia: proteção das florestas mais benefícios sociais. **Ciência hoje**, v. 25, n. 150, p. 31-37, 1999.
- ALMEIDA, L. C. C. DE; COELHO, R.S. B. Caracterização da agressividade de isolados de *Colletotrichum* de maracujá amarelo com marcadores bioquímico, morfológico e molecular. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 4, p. 318-328, 2007.
- ALMEIDA, W. K. D. DA S. Antagonismo de *Trichoderma viride* Sobre Fungos Fitopatogênicos, *Colletotrichum* spp., *Cercospora musae* e *Asperisporium caricae* em Fruteiras Tropicais. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 1374-1378, 2009.
- ÁLVAREZ, A. P. et al. Synergistic effect of *Trichoderma asperelleum* T8A and captan 50@ against *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.). **Revista Mexicana de Ciências Agrícolas**, v. 7 n. 6 14, p. 1401-1412, 2016.
- AMORIN, L. et al. **Manual de Fitopatologia**. Piracicaba: Agronômica Ceres. v. 1, 4.Ed, p. 383-387, 2011.
- ANDRADE, Patrícia Cardoso. **Parâmetros genéticos em progênies de açaizeiro na fase juvenil**. 2016. 65 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.
- ARAÚJO NETO, S. E. et al. Controle pós-colheita da antracnose do maracujazeiro-amarelo com aplicação de óleo de copaíba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 2, p. 509-514, 2014.
- ARAUJO, Alyson Silva de. **Biochar e *Trichoderma harzianum* no controle de *Macrophomina phaseolina***. 2018. 70 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2018.
- ARAÚJO, C. S. de. et al. Crescimento de mudas de açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) submetidas a diferentes doses de fósforo. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 5, n. 1, p. 102-111, 2018.
- ASAD, S.A. et al. Determination of lytic enzyme activities of indigenous *Trichoderma* isolates from Pakistan. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 4, n. 4, p. 1053-1064, 2015.
- AZEVEDO, Paula Fernanda de. **Biocontrole in vitro de *Fusarium solani* isolado de mandioca**. 2017. Dissertação de Mestrado em Agronomia - Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Luiz Meneghel, Bandeirantes, 2017.
- BELL, D. K. et al. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, v. 72, n. 4, p. 379-382, 1982.

- BENÍTEZ, T. et al. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma strains*. **International Microbiology**, v. 7, n. 4, p. 249-260. 2004.
- BETTIOL, W. Componentes do Controle biológico de doenças de plantas. In: **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa-Cnpda, 1991. 338 p. (Embrapa-Cnpda. Documentos, 15).
- BETTIOL, W. et al. Effectiveness of whey against zucchini squash and cucumber powdery mildew. **Scientia Horticulturae**, v. 117, p. 82-84, 2008.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. Controle Biológico de Doenças de Plantas no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. (Org.). **Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna-SP: Embrapa Meio Ambiente, p. 7-14. 2009.
- BHARDWAJ, D. et al. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. **Microbial Cell Factories**, v. 13, n. 66, 2014.
- BONETT, L. P. et al. Biocontrole *in vitro* de *Colletotrichum musae* por isolados de *Trichoderma* spp. **Uniciências**, v. 17, n. 1, p. 5-10, 2013.
- BONETT, L.P. et al. Caracterização morfocultural e infecção cruzada de *Colletotrichum gloeosporioides* agente causal da antracnose de frutos e hortaliças em pós-colheita. **Ambiência**, v. 6, n. 3, p. 451-463, 2011.
- BONETT, L.P. et al. Extrato etanólico de representantes de cinco famílias de plantas e óleo essencial da família Asteraceae sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* coletados de frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 7, n. 3, p. 116-125, 2012.
- BRAGA, R. **Plantas do nordeste, especialmente do Ceará**. Mossoró: Escola Superior de Agricultura de Mossoró, 540 p. 1976.
- BRAÚNA, Leonardo Minaré. **Controle Biológico do Mofo Branco por Isolados de *Trichoderma* nas Culturas de Soja e Feijão Comum**. 2011. 94 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Instituto de Ciências Biológicas e Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2011.
- BRITO, Fabiane Silva. **Deteção e Avaliação *in vitro* do crescimento de *Trichoderma* spp. isolados de composto frente a fitopatógenos**. 2009. 80 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Centro de Ciências agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.
- BROETTO L. et al. Crescimento micelial e produção de microescleródios de *Macrophomina phaseolina* confrontado com diferentes isolados de *Trichoderma* sp. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 13, n. 4, p. 310-317. 2014.
- BROTMAN, Y. et al. *Trichoderma*. **Current Biology**, v. 20, p. 390-391, 2010.
- BROTMAN, Y. et al. *Trichoderma*-plant root colonization: escaping early plant defense responses and activation of the antioxidant machinery for saline stress tolerance. **PLOS Pathogens**, v. 9, n. 3, 2013.
- CALZAVARA, B. B. G. **As possibilidades do açaizeiro no estuário amazônico**. Boletim Faculdades Ciências Agrarias, Belém, n. 5, p. 165-230, 1972.
- CAMPBELL C. L.; MADDEN L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York NY. John Wiley & Sons, 1990.

- CARRERAS-VILLASEÑOR, N. et al. *Trichoderma*: sensing the environment for survival and dispersal. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 3-16, 2012.
- CARVALHO, D. D. C. et al. Controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli *in vitro* e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 1 p. 28-34, 2011.
- CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 42, p. 225-226, 1939.
- CASTRO, A.; BOVI, M. L. A. Assaí. **In**. Selected species and atrstegies to enhance income generation from amazonian forests, FAO Forestry Paper. 1993.
- CHAGAS JUNIOR, A. F. et al. Bioprospecção de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum cliviae* e *C. truncatum*. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 14, n. 4, p. 238-242, 2016.
- CHAGAS, L. F. B. et al. *Trichoderma* spp. isolated from soils from the southern state of Tocantins for the control of *Sclerotinia sclerotiorum* *in vitro*. **Global Journal of Science Frontier Research**, v. 13, p. 20-26, 2013
- CHENG, C. H. et al. Antagonism of *Trichoderma harzianum* ETS 323 on *Botrytis cinerea* Mycelium in Culture Conditions. **Phytopathology**. v. 102, n. 11, p. 1054-1063. 2012.
- CLEMENT, C. R. et al. O potencial das palmeiras tropicais do Brasil: acervos e fracassos das últimas décadas. **Agrociencia**, v. 9, n. 1-2, p. 67-71, 2005.
- COMPANT, S. et al. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future perspectives. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 9, p. 495-499, 2005.
- CRUZ JUNIOR, Francisco de Oliveira. **Caracterização morfológica e da produção de frutos de populações de açaizeiros estabelecidas em Mazagão**. Macapá, 2016. 78 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade) – Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical, Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2016.
- DE MARCO, J. L. et al. *Trichoderma harzianum* chitinase destroys the cell wall of the phytopathogen *Crinipellis pernicioso*, the causal agent of witches' broom disease of cocoa. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 16, p. 383-386, 2000.
- DICKSON, A. et al. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **Forest Chronicle**, v. 36, n. 1, p. 10-13, 1960.
- DRUZHININA, I. KUBICEK C. P. Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: from aggregate species chuters? **Journal of Zhejiang university Science**. v. 6, p.100-112, 2005.
- DUTRA. Jaqueline Barbosa. **Controle da Antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) Pós-colheita do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *Flovicarpa*) por aplicações de fosfitos, água quente e 1-metilciclopropeno**. 2008. 151 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Instituto de Ciências e Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Brasília, Brasília, 2008.
- FANTINEL, V. S. et al. Tratamentos de sementes de goiaba-serrana (*Acca sellowiana*): efeito na incidência de fungos e na germinação. **Revista brasileira de Biociências**, v. 13, n. 2, p. 84-89, 2015.

- FARIAS NETO, J. T. de. Parâmetros genéticos e ganhos com a seleção de progênies de *Euterpe oleracea* na fase juvenil. **Revista Cerne**, v. 18, n. 3, p. 515- 521, 2012
- FERRAZ, Dina Márcia Menezes. **Controle da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) em pós-colheita da goiaba (*Psidium guajava*), produzida em sistema de cultivo convencional e orgânico, pela aplicação de fosfitos, hidrotermia e cloreto de cálcio**. 2010. 119 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Instituto de Ciências e Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2010.
- FERRAZ, J. F. P. Morfologia, comportamento cultura e patogenicidade de espécies de *Colletotrichum* e *Gloeosporim*. **Agronomia Lusitana**, v. 38, n. 1, p.1 63-179, 1977.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v. 6, p. 36-41, 2008.
- FIPKE, G. M. Antagonismo de isolados de *Trichoderma* spp. ao *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes temperaturas. **Magistra**, v. 27, v. 1, p. 23–32, 2015.
- FISCHER, I. H. et al. Doenças pós-colheita em variedades de manga cultivadas em Pindorama, São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 2, p. 352-359, 2009.
- FORTES, F. O. et al. Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. por *Trichoderma* spp. **Revista Árvore**, v. 31, n. 2, p. 221-228, 2007.
- GALOTTA, A. L. Q DE A.; BOAVENTURA, M. A. D. Constituintes químicos da raiz e do talo da folha do açai (*Euterpe precatória* mart., Arecaceae). **Química Nova**. v. 28, n. 4, p. 610- 613, 2005
- GAVA, C. A. T.; MENEZES, M. E. L. Eficiência de isolados de *Trichoderma* spp no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 4, p. 633-640, 2012.
- GUIMARÃES, G. R. et al. Ação de metabólitos voláteis e não voláteis de *Trichoderma harzianum* sobre o crescimento de *Cladosporium herbarum*. **Pesquisa Agropecuária do Pernambuco**, v. 21, n. 1, p. 7-11, 2016
- HADDAD, Patrícia Elias. **Avaliação de isolados de *Trichoderma* spp. para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Meloidogyne incognita* em soja e produção em meios líquidos**. 2014, 100 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto Biológico (São Paulo). Programa de Pós-Graduação. São Paulo-SP, 2014.
- HARMAN, G. E. et al. Changing paradigms on the mode of action and uses of *Trichoderma* spp. for biocontrol. **Outlooks on Pest Management**, v. 19, n. 1, p. 24-29, 2008.
- HARMAN, G. E. et al. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 1, p.43-56, 2004.
- HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 96, n. 2 p. 190-194, 2006.
- HENDERSON, A. The genus *Euterpe* in Brazil. In: REIS, M. S.; REIS, A. (Eds.) *Euterpe edulis* Martius - (palmiteiro) - **Biologia, Conservação e Manejo**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, v. 49, n. 52, p. 1-22, 2000.
- HERMOSA, R. et al. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, v. 158, p. 17–25, 2012.

- HEWOOD, V. H.; **Flowering Plants of The World**, B.T. Batsford Ltda.: London, 1993, p. 301.
- HOFFMANN, C. A. et al. Potencial de antagonismo de isolados de *Trichoderma* sp. contra o isolados de *Fusarium* sp., *in vitro*. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 10, n. 1, p. 236 -242, 2015.
- HOMMA, A. K. O. **Extrativismo vegetal na Amazônia: história, ecologia, economia e domesticação**. Brasília, DF: Embrapa, 2014. 468 p.
- HUNT, G. A. Effect of stryrblock design and Cooper treatment on morphologhogy of conifer seedlings. In: TARGET SEEDLINGS SYMPOSIUM MEETING OF THE WESTERN FOREST NURSERY ASSOCIATIONS,GENERAL TECHNICAL REPORT RM-200, 1990, Rosenberg. **Proceedings...** Fort Collins: USDA, 1990. p. 218-222.
- IBGE - Produção da extração vegetal e silvicultura, Sidra. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pevs/quadros/brasil/2016>>. Acesso em 28 Mar. 2018.
- ISAIAS, C. O. et al. Ação antagonica e de metabólitos bioativos os de *Trichoderma* spp. contra os patógenos *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae*. **Summa Phytopathologica**, v. 40, p. 1, n. 34-41, 2014.
- JESUS, E. P. de. et al. Avaliação do potencial de *Trichoderma asperellum* como condicionador de substrato para a produção de mudas de café. **Cerrado Agrociências**, v. 2, p. 7- 19, 2011.
- KAHN, F.; GRANVILLE, J. **Palms in forest ecosystems of Amazonia**. Ecological Studies, Spring Verlag: New York, 1992. 226 p.
- KIMATI, H. et al. **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 4^a ed. v. 2, São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. 340-341 p.
- KUBICEK C. P. et al. *Trichoderma*: from genes to biocontrol. **Journal Plant Pathology**, v. 83, n. 2, p. 11–24, 2001.
- LA CRUZ-QUIROZ, R. de. et al. Growth inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Phytophthora capsici* by native Mexican *Trichoderma* strains. **Karbala International Journal of Modern Science**, v. 4, p. 237-243, 2018.
- LEITMAN, P. et al. *Arecaceae*. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB22139>>. Acesso 03 set. 2018..
- LISBOA, B. B. et al. Eficiência de *Trichoderma harzianum* e *Gliocladium viride* na redução da incidência de *Botrytis cinerea* em tomateiro cultivado sob ambiente protegido. **Ciência Rural**, v. 37, n. 5, p. 1255-1260, 2007.
- LOPES, Fabyano Alvares Cardoso. **Caracterização Molecular, Filogenética e Enzimática de isolados de *Trichoderma* spp.** 2012. 104 f. Dissertação (Mestrado em Biologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiana, 2012.
- LORENZI, H. A. et al. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo *in natura*)**. Instituto Plantarum de estudos da flora, 2006.

- LOUZADA, G. A. S. et al. Potencial antagônico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes agroecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biota Neotropica**, v. 9, n. 3, p. 145-149, 2009.
- MACEDO, Paulo Eduardo França de. **Promoção do crescimento de plantas mediada por *Clonostachys rósea***. 2011. 36 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2011.
- MACHADO, D. F. M.; SILVA, A. C. F. da. *Trichoderma* no controle in vitro de fungos presentes em diásporos de *Gochnatia polymorpha*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, p. 07-09, 2013.
- MACHADO, D. F. M. et al. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.
- MACHADO, D. F. M. et al. *Trichoderma* spp. na emergência e crescimento de mudas de camarará (*Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera). **Revista Árvore**, v. 39, n. 1, p. 167-176, 2015.
- MARQUES, E. et al. Antifungal potential of crude extracts of *Trichoderma* spp. **Biota Neotropica**, v. 18, n. 1, p. 2017-0418, 2018.
- MARTINOT, J. F. et al. da. Coletar ou Cultivar: as escolhas dos produtores de açaí-da-mata (*Euterpe precatoria*) do Amazonas. **Revista de Economia e Sociologia Rural**. v. 55, n. 4, p. 751-766, 2017
- MASTOURI, F. et al. Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. **Phytopathology**, v. 100, n. 11, p. 1213-1221, 2010.
- MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle Biológico**. Jaguariúna. Embrapa. 1998.
- MELO, I. S. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. (org.) **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa-CNPDA, 388 p. 1991.
- MELO, I. S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 4, p. 261-295, 1996.
- MESQUITA, Divino Nunes. **Produção de mudas e cultivo de açaizeiros nos estágios iniciais de crescimento na regional do Baixo Acre**. 2011. 63 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2011.
- MICHEREFF, S. J. **Fundamentos de Fitopatologia**. Controle biológico de doenças de plantas. 2005.
- MILANESI, P. M. et al. Biocontrole de *Fusarium* spp. com *Trichoderma* spp. e promoção de crescimento em plântulas de soja. **Revista Ciências Agrárias**, v.36, n.3, p.347-356, 2013.
- MISHRA, B. K. et al. Biocontrol efficacy of *Trichoderma viride* isolates against fungal plant pathogens causing disease in *Vigna radiata* L, Arch. **Journal of Applied Sciences Research**, v. 3, n. 2, p. 361- 369, 2011.
- MONTALVÃO, Sandro Coelho Linhares. **Potencial de *Trichoderma* spp. no controle de doenças do tomateiro**. 2012. 105 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) –

Instituto de Ciências Biológicas e Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

MOREIRA, Suyá Samara. **Aspectos do desenvolvimento em feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculados com *Trichoderma* spp.** 2014. 82 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Goiás, Goiânia, 2014.

MOURA, et al. Controle da antracnose em maracujá-amarelo por derivados de capim-limão (*Cymbopogon citratus*). **Arq. Inst. Biol.**, v.79, n.3, p.371-379, 2012.

NOGUEIRA, S. R. et al. Alternativas Para o Controle de Antracnose Em Açaizeiro (*Euterpe Precatoria*) No Acre. **Anais XXIV Congresso Brasileiro de Fruticultura**. São Luís, 2016. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/149301/1/26169.pdf>>. Acesso em: 27 de jul. 2017.

NOGUEIRA, S. R. et al. Antracnose em mudas de *Euterpe precatoria* no Acre. **Anais do 46° Congresso Brasileiro de Fitopatologia**, Ouro Preto. 2013. Disponível em: <[file:///C:/Users/2207389-pc/Downloads/24894%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/2207389-pc/Downloads/24894%20(2).pdf)>. Acesso em: 27 de jul. 2017.

NOGUEIRA, S. R. et al. **Controle de Antracnose em Açaí-solteiro (*Euterpe precatoria*) no Acre**. Rio Branco, Acre: Embrapa Acre, 2017. 6 p. (Embrapa Acre. Comunicando Técnico, 197).

NOVAIS, C. B. et al. Caracterização fenotípica e molecular de esporos de fungos micorrízicos arbusculares mantidos em banco de germoplasma. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 8, p. 886-896, 2010.

NOZAKI et al. Controle alternativo de *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de goiaba com óleos essenciais. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 17, n. 2, p. 63-69, 2013.

OLIVEIRA, E. S. et al. Alternativas a Fungicidas Sintéticos no Controle da Antracnose da Banana. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 4, p. 340-350, 2016.

OLIVEIRA, M. DO S. P. DE et al. Domesticação e melhoramento do açaizeiro. In: BORÉM, A.; LOPES, M.T. G.; CLEMENT, C. R. (Ed.). **Domesticação e melhoramento: espécies amazônicas**. Viçosa, MG: UFV, Cap. 11, p. 207-236. 2009.

OLIVEIRA, M. do S. P. DE. et al. **Açaí: Técnicas de Cultivo e Processamento**. Semana da Fruticultura, Floricultura e Agroindústria. Fortaleza: Instituto Frutal, 2007. 104 p.

OLIVEIRA, M. do S. P. de. et al. **Cultivo do açaizeiro para produção de frutos**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2002. 19 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Circular técnica, 26).

OLIVEIRA, M. N. *Antracnose (Colletotrichum gloeosporioides (Penz.)) incidente em manga (Mangifera indica L.)*. 2010. Disponível em: <<http://fitopatologia1.blogspot.com.br/2010/12/antracnose-colletotrichum.html>>. Acesso em: 16 de jun. de 2018.

PEDRO, E. A. de S. et al. Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 11, p. 1589-1595, 2012.

PEREIRA, P. C. et al. Tamanho de recipientes e tipos de substrato na qualidade de mudas de tamarindeiro. **Revista Verde**, v. 5, n. 3, p. 136-142, 2010.

PEREIRA, Wagner Vicente. **Caracterização e identificação molecular de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose da goiaba no Estado de São Paulo**. 2009. 80 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

PERSOON, C. H. Disposita methodica fungorum. **Römer's Neues Magazin für die Botanik**, v. 1, p. 81-128, 1794.

RAJENDIRAN, R. et al. *In vitro* assessment of antagonistic activity of *Trichoderma viride* against post harvest pathogens. **Journal of Agricultural Technology**, v. 6, n. 1, p. 31-35. 2010.

RAMOS, Kelys. **Óleos essenciais no controle de *Colletotrichum gloeosporioides***. 2014, 52 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, da Universidade Camilo Castelo Branco, Fernandópolis - SP, 2014.

REIS, Marcella Teles dos. **Identificação e avaliação do potencial de uso de isolados de *Trichoderma* contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii***. 2014. 117 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Instituto de Ciências Biológicas e Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

REIS, S. M. et al. Desenvolvimento inicial e qualidade de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. sob diferentes níveis de sombreamento. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 1, p. 11-20, 2016.

RIBEIRO, Gisele Vieira. **Morfoanatomia do fruto de açaí em função do teor de água utilizando microscopia óptica e microtomografia de raios-X**. 70 f. 2010. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 2010.

RIBEIRO, J. D. *Açaí-solteiro (*Euterpe precatoria* Mart.) uma boa opção de exploração agrícola em Rondônia*. 2004. Disponível em: <https://www.agrolink.com.br/colunistas/coluna/acai-solteiro--acai-do-amazonas--euterpe-precatoria--uma-boa-opcao-de-exploracao-agricola-em-rondonia_383829.html>. Acesso em: 15 Jun. 2019.

RIBEIRO, Tanara da Silva. **O fungo *Trichoderma* spp. no controle de fitopatógenos: dificuldade e perspectivas**. Porto Alegre, 2010. 35 f. Pós-graduação (especialização em Tecnologias inovadoras no manejo integrado de pragas e doenças) - Universidade Federal de Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

RODRIGUES, G. de S. et al. Antagonismo de *Trichoderma* spp. ao agente etiológico da Murcha de Ceratocystis em cacaueteiro. **Summa Phytopathologica**. v. 44, n. 1, p. 72-78, 2018.

ROGEZ, H. Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação. Belém: EDUFPA, 2000.

ROMÃO, Aline Silva. **Análise da comunidade fúngica associada à cana-de-açúcar e estudo da interação *Trichoderma virens* – planta hospedeira**. 2010. 268 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

- RUGGIERO, C. et al. Maracujá para exportação: aspectos técnicos da produção. Brasília: EMBRAPA, 1996. 64p.
- SABA, H. et al. *Trichoderma* - A promising plant growth stimulator and biocontrol agent. **Mycosphere**, v.3, p. 524-31, 2012.
- SAMPAIO, Patrícia Brito. **Avaliação das propriedades funcionais do açaí (*Euterpe oleracea*) em plasma humano**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará, local, 2006.
- SANTOS, C. C. et al. Influência de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Thielaviopsis paradoxa*. **Scientia Plena**, v. 8, n. 4, 2012.
- SANTOS, R. F. Dos. et al. *Trichoderma* spp. and *Bacillus subtilis* for control of *Dactylonectria macrodidyma* in grapevine. **Phytopathologia**, v. 55, n. 2, p. 293-300, 2016.
- SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A. A cluster analyses method for grouping means in the analyses of variance. **Biometrics**, v. 30, n. 3, p. 502-512, 1974.
- SHORESH, M. et al. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. **Annual Review of Phytopathology**, v. 48, p. 21-23, 2010.
- SILVA, A. C. et al. Efeito *in vitro* de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. isolado do maracujazeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 1853 -1860, 2009.
- SILVA, A. N. DA. et al. Efeito de Produtos químicos e de *Trichoderma* spp. no controle de *Fusarium solani* do maracujazeiro. **Interciencia**, v. 39, n. 6, p. 398-402, 2014.
- SILVA, B. D. et al. Potential fungal inhibition by immobilized hydrolytic enzymes from *Trichoderma asperellum*. **Journal of agricultural and food chemistry**. v. 59, n. 15, p. 8148-8154. 2011.
- SILVA, Cristiane Mendes da. **Controle alternativo do míldio e da antracnose da videira com extrato de cinamomo (*Melia azedarach* L.)**. 2011. 71 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Programa de Pós-Graduação em agronomia, Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2011.
- SILVA, G. B. et al. Identificação e utilização de *Trichoderma* spp. armazenados e nativos no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 4, p. 33-42, 2015.
- SILVA, S. E. L. DA. et al. **O cultivo do açaizeiro**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2005. 6 p. (Comunicado técnico, 29).
- SILVA, V. N. da. et al. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 12, p. 1609-1618, 2011.
- SOUSA, P. V. de. **BOLETIM TÉCNICO: Antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz)) incidente nas folhas e frutos da manga (*Mangifera indica*)**. 2011. Disponível em: <<http://fitopatologia1.blogspot.com.br/2011/05/boletim-tecnico-antracnose.html>>. Acesso em: 22 de Maio de 2018.
- SOUZA, A. D. G. C. DE. et al. **Fruteiras da Amazônia**. Coleção Biblioteca Botânica Brasileira, v. 1, Manaus: Embrapa-Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Ocidental, 1996, p. 16-18.

- SOUZA, Kamila Pinto de Azevedo de. **Avaliação do potencial de controle biológico de *Guignardia citricarpa* (Kiely) fitopatígeno de citros com isolados de *Trichoderma* spp.** 2014. 59 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de Caxias do Sul, Caixas do Sul, 2014.
- SRIVASTAVA, M. et al. *Trichoderma* genome to genomics: a review. **Data Mining in Genomics & Proteomics**, v. 5, n. 3, p. 10162, 2014.
- SUTTON, B.C. **The Coelomicetes**. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 1980. 696 p.
- TINOCO, A. C. **Açaí amazônico: novas perspectivas de negócio**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2005. 1 CD-ROM. Trabalho apresentado no Workshop Regional do Açaizeiro: pesquisa, produção e comercialização, Belém, PA, 2005.
- TOCAFUNDO, F. et al. Avaliação de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *Phytophthora Palmivora* em mamoeiro. **Agrotrópica**, v. 22, p. 37, 2010.
- TROIAN, R. F. et al. Mycoparasitism studies of *Trichoderma harzianum* against *Sclerotinia sclerotiorum*: evaluation of antagonism and expression of cell wall-degrading enzymes genes. **Biotechnology Letters**, v. 36, p. 2095–2101, 2014.
- VELENZUELA, N. L. et al. Biological control of anthracnose by postharvest application of *Trichoderma* spp. on maradol papaya fruit. **Elsevier Biological control**, v. 91, p. 88-93, 2015.
- VILLALOBOS, S. S. et al. Potential use of *Trichoderma asperellum* (Samuels, Liechfeldt et Nirenberg) T8a as a biological control agent against anthracnose in mango (*Mangifera indica* L.). **Biological Control**, v. 64, p. 37–44, 2013.
- WEINDLING, R. Studies on lethal principles effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. **Phytopathology**, v. 24, n. 11, p. 1153-1179, 1934.
- WELTER, M. K. et al. Initial Growth of açaí seedlings in function on basalt powder doses. **International Journal of Agriculture Innovations and Research**, v. 3, n. 1, p. 18- 23, 2014.
- WHIPPS, J. M.; LUMSDEN, R. D. Commercial use off ungi as plant disease biological control agentes: status and prospects, in: T. Butt, C. Jackson, N. Magan (Eds.) Fungal Biocontrol Agentes: Progress, Problems and Potential. **CABI Publishing**. p. 9-22. 2001.
- WOHLENBERG, Maísa Didoné. **Supressão de *Meloidogyne* sp. por isolados de *Trichoderma*, na soja**. 2018. 93 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração em Biologia do Solo, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS, 2018.
- YEDIDIA, I. et. al. Induction and accumulation of PR proteins activity during early stages of root colonization by the micoparasite *Trichoderma Harzianum* strain T-203. **Plant Physiology Biochemical**, v. 38, p. 863-873, 2000.
- YUYAMA, L. K. O. et al. Caracterização físico-química do suco de açaí de Euterpe precatoria Mart. oriundo de diferentes ecossistemas amazônicos. **Acta Amazônica**, v. 41, n. 4, p. 545-552, 2011.
- ZEILINGER, S. et al. Secondary metabolism in *Trichoderma* - Chemistry meets genomics. **Fungal Biology Reviews**, v. 30, n. 2, p.74-90, 2016.