

Antagonismo de *Trichoderma* spp. ao agente etiológico da Murcha de *Ceratocystis* em cacauero

Giselle de Souza Rodrigues¹; Dilze Maria Argôlo Magalhães²; Andréa Miura da Costa³; Edna Dora Martins Newman Luz²

¹Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Rod. Jorge Amado, Km 16, 45662-900, Ilhéus, Bahia, Brasil; ²Centro de Pesquisas do Cacau (Cepec), Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (Ceplac); ³Departamento de ciências biológicas, UESC

Autor para correspondência: Giselle Rodrigues (igisele@hotmail.com)

Data de chegada: 29/11/2016. Aceito para publicação em: 26/04/2017.

10.1590/0100-5405/172774

RESUMO

Rodrigues, G.S.; Magalhães, D.M.A.; Costa, A.M.; Luz, E.D.M.N. Antagonismo de *Trichoderma* spp. ao agente etiológico da Murcha de *Ceratocystis* em cacauero. *Summa Phytopathologica*, v.44, n.1, p.72-78, 2018.

O controle biológico da Murcha de *Ceratocystis* do cacauero (*Ceratocystis cacaofunesta*) pode ser uma alternativa promissora ainda inexplorada para controlar esta doença. Testaram-se doze isolados de *Trichoderma* spp. como agentes de biocontrole (BCAs) para *C. cacaofunesta*. Neste estudo, avaliou-se: i) antagonismo por confronto *in vitro* entre BCAs e patógeno, e por inibição da germinação de esporos do patógeno pelo secretoma dos antagonistas; ii) efeito dos BCAs na formação de peritécios do patógeno sobre discos de folhas; iii) efeito dos BCAs no controle da Murcha

de *Ceratocystis* em mudas de cacauero em condição de casa de vegetação. Os BCAs testados inibiram 100% do crescimento *in vitro* do patógeno no terceiro dia; e reduziram a germinação de esporos do patógeno. *Trichoderma virens* (T68), *T. harzianum* (2927), *T. longiopsis* (Tc26) e *T. atroviride* (7CC) inibiram entre 98,5 e 92,3% a formação de peritécios do patógeno. Os isolados 7CC, T68, Tc26 e 2729 são promissores como BCAs. Em BCAs combinados, maior inibição ocorreu nos tratamentos incluindo T68. Não se evidenciou a eficiência esperada nos testes com mudas.

Palavras-chave: *Ceratocystis cacaofunesta*, *Theobroma cacao*, controle biológico.

ABSTRACT

Rodrigues, G.S.; Magalhães, D.M.A.; Costa, A.M.; Luz, E.D.M.N. Antagonism of *Trichoderma* spp. To the etiological agent of *Ceratocystis* wilt in cacao. *Summa Phytopathologica*, v.44, n.1, p.72-78, 2018.

The biological control of *Ceratocystis* wilt of cacao (*Ceratocystis cacaofunesta*) may be a promising alternative not explored yet to control this disease. Twelve isolates of *Trichoderma* spp. were tested as biocontrol agents (BCAs) for *C. cacaofunesta*. In this study, the following items were evaluated: i) antagonism by *in vitro* confronting between BCAs and the pathogen and by inhibition of the pathogen's spore germination by the antagonist's secretome; ii) effect of BCAs on the pathogen's perithecium formation over leaf discs; iii) effect of BCAs on *Ceratocystis* wilt control

in cacao seedlings under greenhouse conditions. The tested BCAs inhibited 100% *in vitro* growth of the pathogen on the third day and reduced the pathogen's spore germination. *Trichoderma virens* (T68), *T. harzianum* (2927), *T. longiopsis* (Tc26) and *T. atroviride* (7CC) inhibited by 98.5 to 92.3% the pathogen's perithecium formation. Isolates 7CC, T68, Tc26 and 2729 are promising as BCAs. In combined BCAs, greater inhibition occurred for treatments including T68. There was no evidence of the expected efficiency in tests with seedlings.

Keywords: *Ceratocystis cacaofunesta*, *Theobroma cacao*, biological control.

Dentre os problemas enfrentados na cacauicultura, destaca-se como uma das mais severas enfermidades do cacauero (*Theobroma cacao* L.) a Murcha de *Ceratocystis*, cujo agente etiológico é o fungo *Ceratocystis cacaofunesta* Engelbrecht & T.C. Harrington (12). Esta doença destrói o sistema vascular da planta, assim, quando os sintomas aparecem na parte aérea da planta a mesma já está muito comprometida, o que torna o controle desta enfermidade muito difícil (22). Amplamente disseminada na região cacaueira da Bahia, as mortes relatadas equivalem a 24% das plantas, principalmente as derivadas do clone ICS-1, como a variedade Theobahia (13, 15, 19). Em um levantamento feito em 2000 nos agrossistemas da região cacaueira da Bahia, a maior incidência da doença ocorreu no município de Uruçuca, atingindo até 30% das plantas (1).

Sabe-se que diversos fitopatógenos são controlados por agentes antagonistas que agem com considerável eficiência. Inclusive, algumas

espécies de *Trichoderma* mostraram-se promissoras para o controle de doenças do cacauero como a Monilíase causada por *Moniliophthora roreri* (Cif.) Evans et al. (2, 3, 14), a Podridão Parda cujos agentes etiológicos são espécies de *Phytophthora* (14, 17) e a Vassoura de Bruxa causada por *M. perniciosa* (Stahel Singer) Aime & Phillips-Mora (2, 8, 14). Segundo Costa et al. (5), o fungo *T. stromaticum* inibe a esporulação de *M. perniciosa*, reduzindo até 56,7% nas vassouras localizadas na copa dos cacaueros e 99% a produção de basidiocarpos em vassouras sobre a serrapilheira, demonstrando, assim, seu potencial como agente de controle biológico da enfermidade. Entretanto, até o presente momento não foram encontrados relatos utilizando o controle biológico como alternativa para o controle de *C. cacaofunesta*, o que pode ser uma alternativa viável e promissora, visto que existe uma ampla variedade genética de microrganismos que pode ser explorada para esse fim.

Cientes da ampla capacidade de *Trichoderma* spp. em atuar no controle de diferentes fitopatógenos, foram utilizados doze isolados deste gênero para testes quanto ao antagonismo *in vitro* e *in vivo* a *C. cacaofunesta*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na Seção de Fitopatologia do Cepec (Centro de Pesquisas do Cacau) da Ceplac (Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira, 14°75'54,23 S, 39°23'11,35 W), município de Ilhéus – Bahia. O isolado do fitopatógeno testado foi o Cc20 da coleção de *Ceratocystis* do Cepec, na concentração de 3×10^4 UFC/mL. Os isolados dos antagonistas utilizados com concentração de 1×10^7 esporos/mL foram: *Trichoderma martiale* (ALF 247), *T. atroviride* (7CC), *T. longibrachiatum* (Tc 25), *T. koningiopsis* (Tc 26), *T. virens* (T68), *T. martiale* (312), *T. asperellum* (316), *T. pseudokoningii* (854) e *T. harzianum* (2927) obtidos como endófitos de cacaueiros em quatro municípios da Bahia e pertencentes à coleção do Laboratório de Biocontrole do Cepec; *T. harzianum* (AR 006) e *T. stromaticum* (Ts 1092) oriundos da coleção do Laboratório de Microbiologia Aplicada da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC); e *T. virens* (Pc4c1) pertencentes à coleção micológica de Feira de Santana.

Confronto dos agentes de controle biológico com o patógeno

Para o cultivo pareado (6), discos de cultura ($\varnothing = 5$ mm) contendo estruturas do antagonista e do fitopatógeno, respectivamente, foram colocados diametralmente opostos em placas de Petri contendo BDA (batata-dextrose-ágar). Devido ao lento crescimento do *C. cacaofunesta* em meio de cultura, os discos de Cc20 foram colocados nas placas três, quatro e cinco dias antes de serem pareados com os antagonistas. A testemunha continha um disco de ágar-ágar no lugar do disco de micélio do antagonista. As placas foram vedadas e incubadas a 28 °C em BOD. Os experimentos *in vitro* foram montados em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com seis repetições por tratamento.

Avaliação do potencial dos agentes de biocontrole como inibidores da germinação dos esporos de *C. cacaofunesta*

Para avaliar a inibição da germinação de esporos do patógeno pelos antagonistas, placas de Petri contendo ágar-ágar foram divididas em seis quadrantes. Aliquotas da suspensão do patógeno [3×10^4 UFC/mL] e do secretoma do antagonista em seis concentrações (90, 75, 50, 25, 10 e 0% do antagonista [1×10^7 esporos/mL]), foram colocadas em tubos de 2 mL, agitadas por 30 s e, posteriormente, colocou-se uma alíquota de 10 μ l da mistura em cada quadrante. As placas foram incubadas em BOD, a 28 °C, por 6 h, após adicionou-se uma gota de lactofenol + azul de algodão. A contagem dos esporos de *C. cacaofunesta* germinados e não germinados foi realizada em microscópio ótico em aumento de 100X para a obtenção de um total de 100 esporos por campo. Por fim, calculou-se o percentual de inibição em relação a testemunha (0% do antagonista) e os valores foram comparados pelo teste de Scoot-knott ($p < 0,05$).

Efeito dos biocontroladores sobre a infecção e formação de peritécios em discos de folhas de cacaueiro

Na avaliação *in vivo*, três métodos foram testados utilizando o clone de cacaueiro CCN51, susceptível à Murcha de *Ceratocystis* (20). Os métodos foram: 1) discos de folhas (9); 2) tratamento de sementes com antagonistas e; 3) tratamento dos ferimentos em mudas, antes da

inoculação com *C. cacaofunesta*.

No primeiro experimento *in vivo*, folhas coletadas de plantas saudáveis e desinfestadas com álcool 70%, hipoclorito de sódio 2,5% e água estéril tiveram a parte superficial da nervura central removida com um bisturi e cortados discos de 1,5 cm de diâmetro (9). Os discos foram imersos nas suspensões dos antagonistas por cinco minutos e posteriormente arrumados com a nervura para cima em caixas contendo espumas umedecidas com água destilada estéril (câmara úmida), e incubadas a 28 °C em BOD. Após 24 h, inoculou-se 20 μ L de Cc20 [3×10^4 UFC/mL], arrastando o inóculo pela nervura central do disco. Quatro dias depois contou-se o número de peritécios formados na superfície dos discos. Os discos controle foram imersos em água estéril. O experimento foi montado em DIC, com 13 tratamentos e 60 repetições. Para testar o efeito combinado de antagonistas, foram selecionados os quatro fungos que individualmente produziram os melhores resultados, combinando-os dois a dois, três a três e os quatro juntos volume a volume seguindo a mesma metodologia de discos de folhas. O experimento em DIC contou com 16 tratamentos de 10 repetições com seis unidades experimentais. Para medir a eficiência dos biocontroladores, calculou-se o percentual de inibição em relação à testemunha, aplicando-se a fórmula: Percentual de inibição (%) = [(Média das Testemunhas – Média do Tratamento)/Média das Testemunhas] $\times 100$.

Efeito dos antagonistas no controle da Murcha de *Ceratocystis* através da inoculação em plantas de cacaueiro

As sementes de cacaueiro foram despeletizadas e colocadas para pré-germinação por 24 h em água corrente. Com a radícula emitida, as sementes foram mergulhadas nas suspensões dos antagonistas por 12 h e posteriormente plantadas em sacos contendo a mistura de solo e substrato na proporção de 2:1, previamente esterilizada em autoclave por duas vezes consecutivas. Duas doses de 10 mL da suspensão de cada antagonista foram aplicadas aos 15 e aos 30 dias antes da inoculação do patógeno. Após 150 dias de desenvolvimento das plantas, procedeu-se a inoculação de *C. cacaofunesta* [3×10^4 UFC/mL] no caule após incisão com bisturi no sentido diagonal descendente acima do primeiro entrenó (21). A avaliação foi realizada 22 dias depois da inoculação do fitopatógeno, quantificando-se: número de plantas vivas; área da lesão nas plantas sobreviventes; peso da parte aérea e do sistema radicular e; altura e diâmetro das plantas. Este experimento foi em blocos ao acaso, com 12 tratamentos com antagonistas, uma testemunha inoculada e uma testemunha absoluta, cada tratamento com nove repetições e cada repetição com cinco unidades experimentais.

No terceiro experimento *in vivo* foram utilizadas mudas seminais cultivadas em condições de casa de vegetação por um ano. As mudas destinadas a cada um dos tratamentos (exceto a testemunha) foram irrigadas com 10 mL da suspensão de cada antagonista, respectivamente, aos 15 e aos 30 dias antes da inoculação do patógeno. No dia da inoculação do patógeno foi feita uma incisão com bisturi, no sentido diagonal cerca de 10 cm acima do coleto, onde se depositou uma alíquota de 30 μ L da suspensão do antagonista na concentração de 1×10^7 esporos/mL ou água estéril para a testemunha e no dia seguinte o disco de cultura do patógeno. Abaixo da incisão colocou-se um pedaço de algodão umedecido em água estéril e envolveu-se com fita de vedação o local de inoculação, a fim de compor uma câmara úmida, criando condições favoráveis à penetração e colonização do hospedeiro. O experimento em DIC constou de seis tratamentos, sendo T1 a testemunha inoculada somente com o patógeno, os quatro isolados que obtiveram individualmente melhores resultados no experimento de discos de folhas [T2 (isolado T68), T3 (2927), T4 (Tc26) e T5 (7CC)] e T6 com a mistura das suspensões dos quatro

isolados juntos, volume a volume e 60 repetições. A avaliação dos mesmos parâmetros do experimento citado anteriormente foi realizada 35 dias após a inoculação do patógeno. Os dados dos experimentos *in vivo* foram analisados através dos softwares SISVAR® versão 5.6 (7), realizando testes de Scoot-knott ($p < 0,05$) e SAS® (18), para os testes de Dunnett ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No experimento de confronto entre patógeno e antagonistas observou-se que todos os isolados de *Trichoderma* spp. apresentaram rápido crescimento micelial, e, inibiram o crescimento do patógeno em 100% no terceiro dia de avaliação, exceto o isolado T68 (*T. virens*) que apresentou 98% de inibição do patógeno. Já no segundo dia de avaliação, os isolados 312 (*T. martiale*), 7CC (*T. atroviride*), AR006 (*T. harzianum*), Pc4c1 (*T. virens*), Tc26 (*T. koningiopsis*) e Ts1092 (*T. stromaticum*) inibiram totalmente o desenvolvimento do patógeno. Não houve diferença significativa entre os dias de vantagens atribuídos ao patógeno, pois os antagonistas inibiram o desenvolvimento das colônias de *C. cacaofunesta* independentemente de seu tamanho inicial. Oliveira et al. (11) constataram que os isolados de *T. harzianum*, *T. longibrachiatum*, *T. pseudokoningii* e *T. viride* por eles testados, em três dias já haviam tomado toda a placa de Petri e se destacaram pela sobreposição total e rápida das colônias de *C. cacaofunesta*. Já Santos et al. (16) relataram que dez isolados de *Trichoderma* spp. inibiram o crescimento micelial de *Thielaviopsis paradoxa*, anamorfo de *C. paradoxa* (16).

Melo (10) mostrou que, do total de 50 isolados de *Trichoderma* spp. testados, todos foram capazes de inibir, significativamente, o crescimento de *P. nicotianae*, com valores de inibições que variaram de 29 a 83% no tamanho da colônia do fitopatógeno, e acrescentou que os isolados de *Trichoderma* spp. cresceram sobre o fitopatógeno. Corrêa et al. (4) concluíram que *Trichoderma pseudokoningii* (isolado ACB-37) e *T. virens* (ACB-32) foram os que mais inibiram o desenvolvimento de *P.*

parasitica por meio do cultivo pareado e pela produção de metabólitos tóxicos ao patógeno. Sugerindo, assim que os mecanismos responsáveis pelo antagonismo, provavelmente, são competição e antibiose, uma vez que os mesmos não apresentaram atividade celulolítica. Com relação a *T. aureoviride* (ACB-33), houve inibição do crescimento micelial de *P. parasitica*, em cultivo pareado e produção de enzimas capazes de degradar a celulose presente no meio de cultura, indicando a ocorrência dos mecanismos de ação por competição, antibiose e parasitismo.

Quanto à inibição da germinação de esporos de *C. cacaofunesta* em presença do secretoma de *Trichoderma* spp. não foi possível estabelecer uma concentração padrão de inibição para todos os 12 isolados testados, no entanto, para a maioria (oito isolados), a concentração de 10% do secretoma pode ser considerada ideal para demonstrar a inibição dos esporos (conídios, aleuroconídios e ascósporos) do patógeno (Figura 1). Alguns isolados (312, ALF247, 854 e 768) requereram uma concentração mais elevada. Porém, a concentração de 90% do secretoma dos antagonistas não deve ser usada, tendo em vista os resultados de inibição apresentados para esta concentração por todos os isolados (Tabela 1). Provavelmente ocorreu **ação sinérgica** à esta concentração. *Trichoderma asperellum* (316) e *T. martiale* (AR006) destacaram-se dos demais ao apresentar valores acima de 80% de inibição (Tabela 1). Nenhum dos isolados nas concentrações do secretoma testados inibiu 100% a germinação dos esporos do patógeno, porém, todos os 12 isolados de antagonistas reduziram a germinação dos esporos do patógeno que são a principal fonte de dispersão da Murcha de Ceratocystis. Zivković et al. (23) com suspensões de esporos de isolados de *T. harzianum* e *Gliocladium roseum* contra *Colletotrichum acutatum* e *C. gloeosporioides*, verificaram que os antagonistas inibiram de 86% e 89% a germinação de conídios dos dois isolados de *Colletotrichum* testados. Esses dados corroboram que *T. harzianum* é um bom inibidor da germinação de esporos de vários fungos.

Nas inoculações do patógeno em discos de folhas destacou-se o isolado T68, que inibiu 98,52% a formação de peritécios pelo patógeno, o que permite afirmar que este isolado coloniza rapidamente a superfície dos discos, impedindo o estabelecimento do patógeno e a sua esporulação.

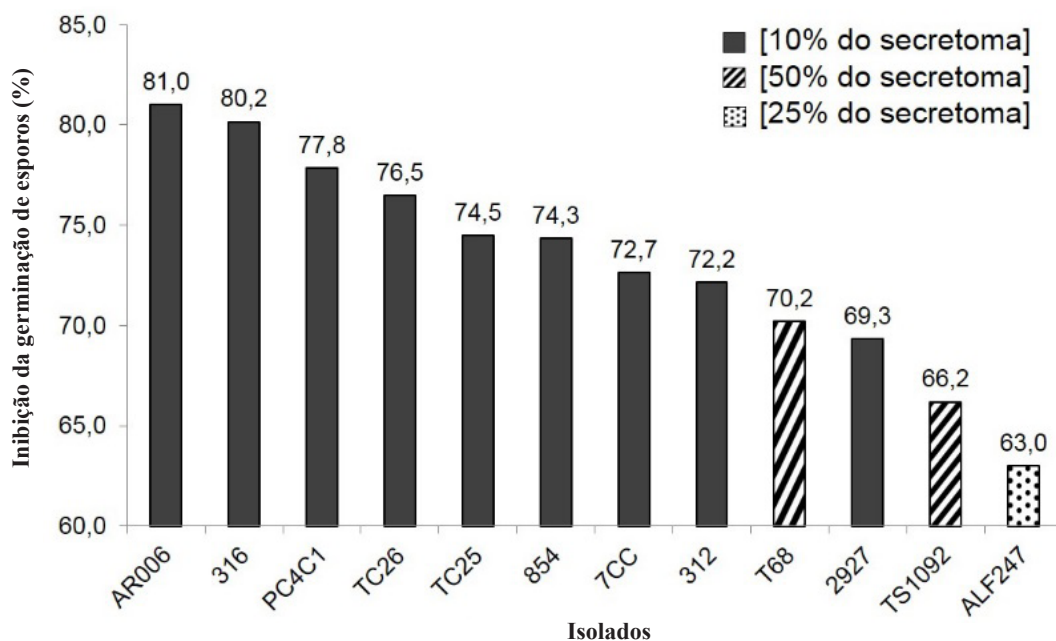


Figura 1. Percentual da inibição da germinação de esporos de *Ceratocystis cacaofunesta* por isolados antagonistas de *Trichoderma* spp. em concentrações de secretomas a 10, 25 e 50%.

Tabela 1 Inibição da germinação de esporos de *Ceratocystis cacaofunesta* quando tratados com seis concentrações de secretoma dos antagonistas do gênero *Trichoderma*.

Isolado	Concentrações do antagonista (%)											
	10		25		50		75		90			
312	72,2	b B	55,5	b B	61	b C	73,3	a A	52	b D		
316	80,2	a A	72	b A	73	b B	71,7	b A	65	c B		
854	74,3	b B	68,5	b A	79,2	a A	74	b A	62	c C		
2927	69,3	a B	52,8	b B	62,5	b C	58	b B	60,5	b C		
7CC	72,7	a B	64,8	b A	66	b C	67,7	b A	61	b C		
ALF247	49,2	b D	63	a A	62,7	a C	55,5	a B	46	b E		
AR006	81	a A	69,8	b A	64,3	b C	66,5	b A	61	b C		
PC4C1	77,8	a A	61,2	b A	67,3	b C	63,3	b B	64,5	b B		
T68	57,3	b C	55	b B	70,2	a C	52,8	b B	51	b D		
Tc25	74,5	a B	64,4	b A	68,8	b C	79,5	a A	70	b A		
Tc26	76,5	a A	63,2	b A	63,5	b C	53,3	b B	57,3	b C		
Ts1092	58,5	a C	50,3	b B	66,2	a C	54,5	b B	48	b E		

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0.05$).

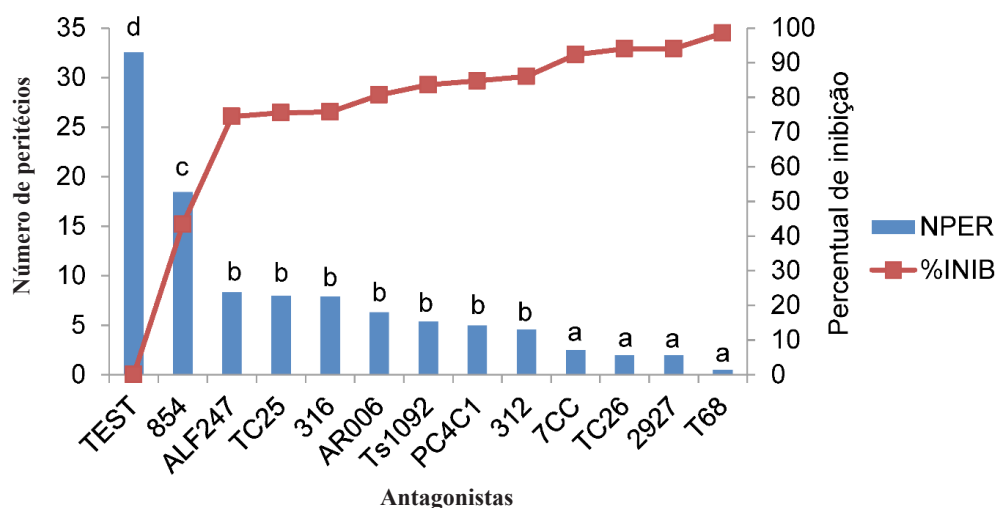


Figura 2 Número de peritécios de *Ceratocystis cacaofunesta* formados após quatro dias nos discos de folhas tratados com os antagonistas e inoculados com o patógeno (NPER) e percentagem de inibição em relação à testemunha (%INIB).

Inibições significativas foram observadas também utilizando os isolados 2927 e Tc26 com 94,03% e 7CC com 92,34% de inibição (Figura 2). O menor percentual de inibição (43,49%) foi do isolado 854. Todos os isolados diferiram estatisticamente da testemunha e causaram inibições ao patógeno.

No experimento seguinte, visando comparar a atuação individual de cada um dos quatro melhores isolados de biocontroladores – T68, Tc26, 2927 e 7CC –, com as combinações entre eles, todos os quinze tratamentos com antagonistas inibiram a formação de peritécios de *C. cacaofunesta* em porcentagens entre 67 e 100% pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). O isolado T68 foi capaz de inibir sozinho acima de 99% a formação de peritécios de *C. cacaofunesta* e quando em combinação com outros isolados a inibição chegou a 100% (Figura 3).

Quando as sementes em germinação foram tratadas e inoculadas as plantas aos 150 dias de idade, o número de plantas mortas e

com sintomas da Murcha de *Ceratocystis* foi elevado em todos os tratamentos, à exceção da testemunha absoluta onde as plantas não morreram (Figura 4A). Todos os tratamentos, sem exceção, diferiram da testemunha absoluta pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade (Tabela 2). Houve diferença significativa entre o tratamento 7CC em relação à testemunha inoculada, sendo este o único tratamento a diferir da testemunha inoculada, por apresentar 28,21% de plantas sobreviventes. Como o número de plantas sobreviventes foi pequeno, a avaliação das demais variáveis ficou prejudicada. No entanto, para as variáveis peso do sistema radicular e peso da parte aérea (Tabela 3), o isolado 7CC distinguiu-se dos demais, apresentando valores médios de 0,86 e 4,9 g, respectivamente, porém inferiores e distintos das médias da testemunha absoluta (1,32 e 9,02 g, respectivamente). Na forma como os antagonistas foram aplicados, nenhum dos tratamentos conseguiu controlar o desenvolvimento da

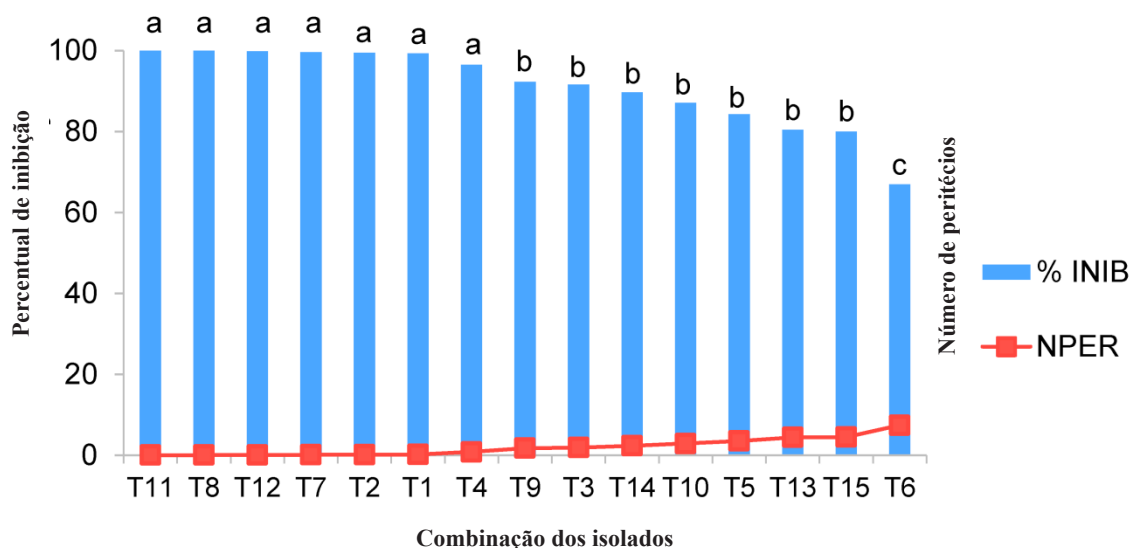


Figura 3 Número de peritécios de *Ceratocystis cacaofunesta* formados após quatro dias sobre discos de folhas de cacaueteiro e percentuais de inibição provocados pela ação combinada ou isolada de antagonistas em relação à testemunha (T1= T68+Tc26; T2= T68+2927; T3= T68+7CC; T4=Tc26+2927; T5= Tc26+7CC; T6=2927+7CC; T7= T68+Tc26+2927; T8= T68+Tc26+7CC; T9=T68+2927+7CC; T10=Tc26+2927+7CC; T11= T68+Tc26+2927+7CC; T12= T68; T13= 7CC; T14= Tc26; T15= 2927).

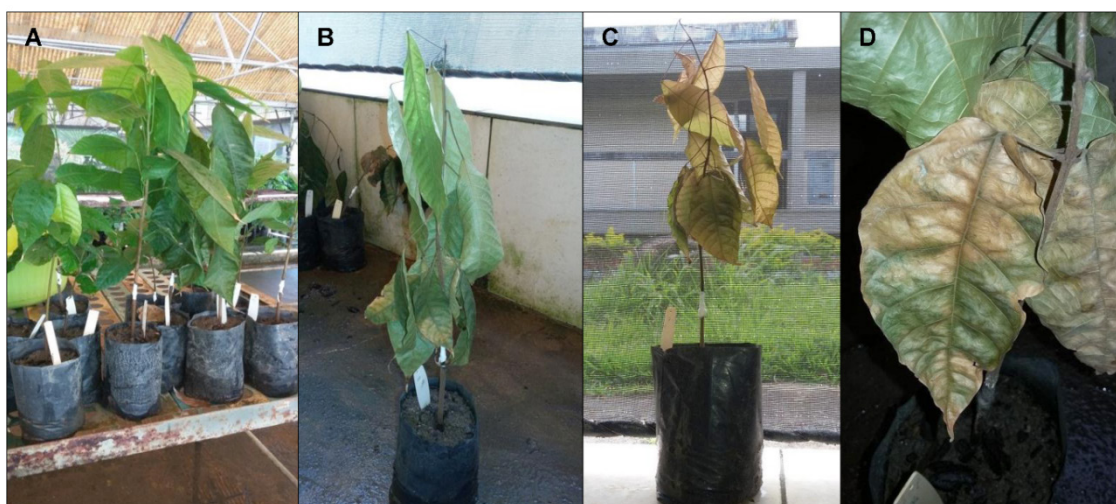


Figura 4 Mudanças de cacaueteiro do experimento com tratamento de sementes: A) plantas controle sem sintomas; B, C) mortas por *Ceratocystis cacaofunesta*; C) detalhe das folhas murchas.

Murcha de *Ceratocystis*, porém, apresentaram indícios promissores de que é possível se obter um biocontrolador a partir dos antagonistas testados, desde que aplicados com outras metodologias *in vivo* a fim de não descartar a possibilidade de eficiência dos agentes de biocontrole conforme observado nos experimentos anteriores. Porém, o fato de haver plantas sobreviventes para os tratamentos com antagonistas pode implicar em alternativa para o melhoramento genético do cacaueteiro para esta doença.

Segundo Oliveira & Luz (12), os sintomas da Murcha de *Ceratocystis* na parte aérea da planta são caracterizados por murcha, amarelecimento e seca de folhas que perdem a turgidez, pendem verticalmente, encarquilham-se, secam, permanecendo aderidas aos ramos por algumas semanas mesmo após a morte aparente da planta.

Este quadro sintomático foi observado nas mudas inoculadas com *C. cacaofunesta*, todavia, as folhas nas plantas inoculadas não chegaram a amarelecer, penderam verticalmente e secaram rapidamente, seguindo-se a morte das plantas (Figura 4B, C, D). Este fato pode ser atribuído à fragilidade das plantas e a agressividade do patógeno diante do ferimento provocado nas plantas para inoculação.

No experimento com mudas de um ano de idade, como as plantas já estavam mais velhas, o número de plantas mortas foi bem inferior ao do experimento anterior, um total de 19,4% de mortalidade, sendo que 4,16% das plantas da testemunha morreram (Tabela 4). Verificou-se que houve diferença significativa entre os tratamentos apenas quanto à altura do caule, em que os tratamentos T2 e T4 se destacaram dos demais e diferiram estatisticamente da testemunha.

Tabela 2 Porcentagem de plantas vivas dos tratamentos com os antagonistas ao 22º dia após a inoculação de *Ceratocystis cacaofunesta* em relação às testemunhas inoculada e absoluta.

Isolado	Plantas vivas (%)	Comparação com as testemunhas	
		Absoluta	Inoculada
AR006	15,56	***	***
7CC	28,21	***	
ALF247	11,63	***	***
854	7,50	***	***
312	13,95	***	***
T68	4,76	***	***
316	2,27	***	***
Ts1092	9,09	***	***
PC4C1	10,00	***	***
2927	13,51	***	***
Tc25	12,12	***	***
Tc26	11,76	***	***
Test inoculada	0,00	***	***
Test absoluta	100,00		

***Médias não diferem entre si pelo teste de Dunnett (P<0.05).

Tabela 3 Peso médio do sistema radicular e da parte aérea das plantas tratadas com os antagonistas e sobreviventes à inoculação com *Ceratocystis cacaofunesta* e da testemunha absoluta.

Isolado	PSR (g)		PPA (g)	
316	0.070889	a	0.465778	a
Ts1092	0.224444	a	1.184.667	a
T68	0.259333	a	1.520.444	a
ALF247	0.264000	a	1.848.000	a
Test inoculada	0.2553.333	a	1.876.000	a
AR006	0.294222	a	1.985.111	a
312	0.319556	a	2.299.333	a
854	0.332889	a	2.409.333	a
PC4C1	0.424444	a	2.570.444	a
2927	0.494889	a	3.073.333	a
Tc25	0.674222	a	4.016.000	a
Tc26	0.694222	a	4.120.222	a
7CC	0.867556	b	4.940.889	b
Test absoluta	1.326.667	c	9.026.667	c

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (P<0.05).

Tabela 4 Valores médios das variáveis avaliadas no tratamento com ferimentos após 35 dias da inoculação de *Ceratocystis cacaofunesta*.

Tratamento	PV (%)	AL (cm)		AC (cm)		DC (mm)		PPA (g)		PSR (g)	
1	95,84 a	2.05	a	50.94	a	6.66	a	25.21	a	5.90	a
2	95,84 a	1.80	a	54.68	a	7.28	a	30.17	a	6.75	a
3	98,62 a	0.97	a	61.98	b	7.40	a	32.99	a	7.67	a
4	95,84 a	1.52	a	55.16	a	7.05	a	25.04	a	6.25	a
5	94,45 a	0.84	a	62.49	b	7.80	a	31.22	a	7.95	a
6	95,84 a	1.68	a	50.45	a	7.40	a	28.89	a	6.54	a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0.05). AL: área da lesão; AC: altura do caule; DC: diâmetro do caule; PPA: peso da parte aérea; PSR: peso do sistema radicular. Tratamentos: T1= testemunha; T2= T68; T3= 2927; T4= Tc26; T5= 7CC; T6= T68+2729+Tc26+7CC.

AGRADECIMENTOS

A CAPES e ao CNPq pela concessão de bolsas e financiamento da pesquisa, à CEPLAC, ao PPGPV/UESC, à Coleção Micológica de Feira de Santana, ao matemático e estatístico Lindolfo Pereira dos Santos Filho (CEPLAC), bem como a todos os funcionários da CEPLAC/CEPEC/SEFIT que colaboraram nessa pesquisa.

REFERÊNCIAS

- Almeida, L.C.C.; Costa, A.Z.M.; Lopes, J.R.M.; Bezerra, J.L. Distribuição geográfica da murcha-de-Ceratocystis do cacauero na Bahia, Brasil. *Agrotropica*, Ilhéus, v.17, p.83-86, 2005.
- Bernales, G.R.K. Remoción de tejidos enfermos y la aplicación de *Trichoderma* sp., para el control de Moniliasis (*Moniliophthora roreri* Cif. & Par) y Escoba de bruja (*Crinipellis pernicioso* (Stahel Singer) del Cacao (*Theobroma cacao* L.) en Tarapoto - San Martín. 2001. 87f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Agrônoma)-Universidad Nacional de San Martín, Tarapoto.
- Carvajal, J.E.V.; Rosero, S.E.V.; Orozco, W.L.V. Aplicación de Antagonistas

- Microbianos para el Control Biológico de *Moniliophthora roreri* Cif & Par en *Theobroma cacao* L. Bajo Condiciones de Campo. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, Medellín, v.68, n.1, p.7441-7450, 2015.
- Corrêa, E.B.; Kupper, K.C.; Goes, A. Controle biológico da podridão radicular em plantas de limão cravo. *Citrus Research & Technology*, Cordeirópolis, São Paulo, v.32, n.3, p.127-132, 2011.
 - Costa, J.C.B.; Bezerra, J.L.; Veloso, J.L.M.; Niella, G.R.; Bastos, C.N. Controle biológico da vassoura-de-bruxa do cacauero. In: Venzon, M.; Paula J.R., T.J.; Pallini, A. *Tecnologias alternativas para o controle de pragas e doenças*. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema Gráfica e Editora Ltda., 2006. v.1, cap.2, p.25-48. 2006.
 - Dennis, C.; Webster, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. III-Hyphal interaction. *Transactions of the British Mycological Society*, London, v.57, p.368-369, 1971.
 - Ferreira, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.
 - Loguercio, L.L.; Pomella, A.W.V.; Souza, J.T.; Niella, G.R.; Veloso, J.L.M.; Costa, J.C.B. Controle biológico das doenças do cacauero. In: Valle, R.R.M. *Ciência, tecnologia e manejo do cacauero*. Brasília, DF: Ceplac/Cepec, 2012. p. 277-292.
 - Magalhães, D.M.A.; Luz, E.D.M.N.; Lopes, U.V.; Niella, A.R.R.; Damaceno, V.O. Leaf disc method for screening *Ceratocystis* Wilt resistance in cacao. *Tropical Plant Pathology*, Viçosa, v.41, p.21-27, 2016.

10. Melo, J.F. Avaliação de isolados de *Trichoderma* spp. para controle de *Phytophthora nicotianae*. 2015. 31p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) – Universidade Estadual Paulista Campus de Jaboticabal, Jaboticabal.
11. Oliveira, B.F.; Silva, S.D.V.M.; Santos, M.V.O. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. a patógenos do cacauero. *Agrotropica*, Ilhéus, v.25, n.2, p.117-120, 2013.
12. Oliveira, M.L.; Luz, E.D.M.N. Principais doenças do cacauero e seu manejo. In: Valle, R.R.M. Ciência, tecnologia e manejo do cacauero. Brasília, DF: Ceplac/Cepec, 2012. p.187-275.
13. Ram, A.; Valle, R.R.; Freitas, D.B. Controle de cancro ou Murcha de *Ceratocystis* do cacauero na Bahia, Brasil. *Agrotropica*, Itabuna, v.16, p.111-114, 2004.
14. Rene, R. Control de las principales enfermedades del cacao (*Theobroma cacao* L.) com tres especies de seca de *Trichoderma* y oxido cuproso. 2003. 110f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Agrônômica)- Instituto Agrícola, Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo Maria.
15. Sanches, C.L.G.; Pinto, L.R.M.; Pomella, A.W.V.; Silva, S.D.V.M., Lo-guercio, L.L. Assessment of resistance to *Ceratocystis cacaofunesta* in cocoa genotypes. *European Journal of Plant Pathology*, Wageningen, v.122, p.517-528, 2008.
16. Santos, C.C.; Oliveira, F.A.; Santos, M.S.; Talamini, V.; Ferreira, J.M.S.; Santos, F.J. Influência de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Thielaviopsis paradoxa*. *Scientia Plena*, Aracajú, v.8, n.4, p.1-5, 2012.
17. Santos, M.V.O.; Araújo, D.C.S.; Santos, T.R.; Silva, S.D.V.M.; Bezerra, J.L.; Luz, E.D.M.N. Identificação de potenciais agentes fúngicos biocontroladores de *Phytophthora* spp. *Agrotropica*, Ilhéus, v.26, p.145-220, 2014.
18. SAS Institute. SAS/STAT9.1 user's guide. 1.ed. Cary: SAS Institute, 2004. 5136p.
19. Silva, S.D.V.M.; Luz, E.D.M.N. *Ceratocystis fimbriata* em cacaueros das variedades Theobahia cultivadas na Bahia. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, DF, v.25, n. 2, p. 424-425, 2000.
20. Silva, S.D.V.M.; Paim, M.C.; Castro, W.M. Cacau 'Jaca' Resistente a *Ceratocystis fimbriata* na Região Cacaueira da Bahia, Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, DF, v.29, p.538-540, 2004.
21. Silva, S.D.V.M.; Pinto, L.R.M.; Oliveira, B.F.; Damaceno, V.O.; Pires, J.L.; Dias, C.T.S. Resistência de progênies de cacauero à murcha-de-*Ceratocystis*. *Tropical Plant Pathology*, Viçosa, v.37, n.3, p.191-195, 2012.
22. Tumura, K.G.; Pieri, C.; Furtado, E.L. Murcha por *Ceratocystis* em eucalipto: avaliação de resistência e análise epidemiológica. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v.38, n.1, p.54-60, 2012.
23. Zivković, S.; Stojanović, S.; Ivanović, Ž.; Veljko, G.; Popović, T.; Balaž, J.S. Screening of antagonist activity of microorganisms against *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *Biological Sciences*, Belgrade, v.62, p.611-623, 2010.

Acesso aos dados: Os dados detalhados obtidos nesta pesquisa, bem como os testados, estão disponíveis para consulta mediante solicitação.