



**CONTROLE DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS DE PALMA
FORRAGEIRA POR MEIO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE
CACTÁCEAS**

ALINE GLEYCE JULIAO BOMFIM

RECIFE

FEVEREIRO/2015



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE BIOCIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS

**CONTROLE DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS DE PALMA
FORRAGEIRA POR MEIO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE
CACTÁCEAS**

ALINE GLEYCE JULIAO BOMFIM

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos.

Área de Concentração: Fungos de interesse industrial

Orientador Dra. Keila Aparecida Moreira

Co- orientador: Dra. Cristina Maria de Souza Motta

RECIFE

FEVEREIRO/2015

Catalogação na Fonte:
Bibliotecária Marylu Souza, CRB-4/1564

Bomfim, Aline Gleyce Julião

Controle de fungos fitopatogênicos de palma forrageira por meio de fungos endofíticos isolados de cactáceas/ Aline Gleyce Julião Bomfim – Recife: A Autora, 2015.

67 f.: il.

Orientadora: Moreira, Keila Aparecida

Coorientadora: Motta, Cristina Maria de Souza

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Mestrado em Biologia de Fungos, 2015.

Inclui referências

1. Fungos endofíticos 2. Fungos fitopatogênicos 3. Cactos – Doenças e pragas 4. Palma forrageira I. Moreira, Keila Aparecida II. Motta, Cristina Maria de Souza III. Título.

579.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2017-427

**CONTROLE DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS DE PALMA FORRAGEIRA POR MEIO DE
FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE CACTÁCEAS**

ALINE GLEYCE JULIAO BOMFIM

Aprovada em 25/02/2015

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos.

COMISSÃO EXAMINADORA

MEMBROS TITULARES

Keila Aparecida Moreira- (Orientador)
Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Garanhuns

Lidiane Roberta Cruz
PNPD/Universidade Federal Rural de Pernambuco

Laura Mesquita Paiva
Departamento de Micologia – Universidade Federal de Pernambuco

A Deus,

A minha mãe Helizabete Julião e a minha avó
Antonia Julião (*In memoriam*)

Que presente ou apenas em pensamentos, sempre
estão presentes em minha vida.

**ñ...Onde quer que Tu me chames, me leve mais fundo do que os meus pés possam
chegar; E minha fé será mais forte...ò**

- Oceans, Hillsong United

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por me conceder sabedoria para chegar até aqui. Sem Ele, nada seria possível.

A Fundação de Amparo a Ciência de Pernambuco – FACEPE, pela bolsa de pesquisa concedida durante o mestrado.

Ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco.

A minha mãe Helizabete, por aguentar meus estresses e sempre me falar que tudo daria certo. Peço desculpas por ãter neurôniosò que só trabalham bem à noite. Agradeço as visitas no meu quarto para saber se ãinda faltava muito para terminarò. Aos infinitos abraços, constantes orações e incentivo. Obrigada por ser você, minha Mãe!

A minha avó Antonia Julião (*in memorian*) a pessoa que eu mais amei até hoje. Que me acompanhou em todas as etapas da minha vida, porém, não esteve presente para ver mais esta conquista. Mas esteve presente no meu pensamento a cada momento vivido. Era em você que eu me inspirava para ter força e coragem.

Ao amigo e *superbrother*, Lucas. Obrigada por escrever as identificações dos experimentos e por me fazer companhia no laboratório quando eu precisei ficar sozinha. E ao meu pai coruja, Oziel que esteve comigo no laboratório nos feriados. Sem o apoio e as orações de vocês, meus tesouros, eu não teria conseguido caminhar.

A minha querida e incrível orientadora, Keila Aparecida Moreira. Agradeço a confiança, a sua dedicação, paciência, seu companheirismo e conhecimentos compartilhados. Pedia muito a Deus que quando eu desse esse passo na minha vida, que Ele colocasse alguém que fosse contribuir para o meu crescimento, ainda bem que as minhas orações foram atendidas. Um obrigado não chega nem perto da minha gratidão.

A querida Profa. Dra. Laura Mesquita Paiva por me receber de braços abertos há três anos no Laboratório de Citologia e Genética de Fungos – UFPE. Foi aí que minha paixão pelos fungos começou. Agradeço de coração, sua dedicação, amizade e suas palavras de incentivo.

A minha co-orientadora, Dra. Cristina Maria de Souza Motta. O meu muito obrigado por seus conhecimentos compartilhados, sua confiança e por sua amizade. Tenho muito a agradecer-lá!

A toda minha família, muito obrigada por sempre enviar palavras de carinho. Também agradeço as orações dos que realmente se preocuparam em pedir a Deus por mim,

em especial, meu primo H. Júnior Julião e ao meu tio Herenilton Julião. Obrigada pela força de sempre.

A Karen Freitas, amiga e irmã no coração por sempre estar presente quando eu preciso (e quando não preciso também!), pelo companheirismo, por me fazer rir quando eu nem tinha motivos. Que mesmo longe, não deixou de me dar apoio. Sempre falando que tudo daria certo. Não existem palavras para descrever todo o seu apoio. Muito obrigada por ser essa amiga e irmã!

A minha amiga e irmã do coração, Gabriella Medeiros. Pelo apoio, companheirismo, por cada palavra de incentivo. Por entender a minha ausência, por me ligar no seu horário de trabalho (madrugada) só para saber se estava tudo caminhando bem. Seu apoio foi essencial.

A Josélia Sena, minha segunda mãe. Obrigada por abrir as portas da sua casa sempre que eu precisei, por me escutar, por sempre me dizer palavras de incentivo. Também agradeço as suas orações.

A Carla Sena de Paula por sua amizade de tanto tempo. Por me dar apoio, por sempre me mandar mensagens e por se preocupar comigo.

Agradeço ao amigo e companheiro de laboratório, Jadson Bezerra. Não existem palavras suficientes para agradecer por tudo que você fez por mim todo esse tempo. Por sua amizade, pelas risadas e brincadeiras que tornaram tudo mais fácil. Deus te abençoe e que Ele te recompense.

As minhas amigas e companheiras de pesquisa, Marília Gomes e Daniela Buonafina. Não tenho palavras para agradecer a Deus por ter vocês em minha vida. Agradeço cada incentivo, cada ajuda quando eu precisei, e quando eu não precisei também!! Obrigada por ficarem no laboratório até altas horas, sem essa ajuda, não existiria experimentos! Vocês são incríveis. Só Deus pode recompensá-las.

Ao meu amigo Michellângelo Nunes, Pamella Ximenes e Carliane Lins, que estiveram ao meu lado me dando apoio e palavras de carinho. Obrigada por serem essas pessoas lindas!

Aos amigos e companheiros do Laboratório de Citologia e Genética, todos que compõem esta grande equipe. Aos mais antigos que convivi e aos que chegaram há pouco tempo.

As minhas queridas do Laboratório de Imunodiagnóstico de Micoses Sistêmicas: Heloiza Oliveira e Ildinay Brandão. Agradeço por tê-las bem perto. Sem vocês, meus dias não seriam os mesmos.

Aos meus colegas do Departamento de Micologia da UFPE. Franz Assis, Rafael Vilela, Melyna Chaves e Fabíola Cahú.

Ao Pr. Valter Rabelo e sua esposa Edivânia Rabelo pelo carinho, torcida e orações.

A minha regente do Coral Juvenil, Ana e a minha dirigente do vocal Eliane Moraes da Assembléia de Deus em Jardim Jordão pelo apoio, orações e palavras de carinho, por compreender minha ausência em alguns momentos.

Aos colegas do curso de inglês do SENAC pela preocupação e incentivo. Foram dois anos juntos na torcida. Obrigada: Lilian Gomes, Larissa Oliveira, João Paulo Freitas, Camila Paffer e as *Teachers*: Maria Neves e Luara Nascimento, vocês não sabem da importância do apoio que me deram! Obrigada por entender quando eu precisei de vocês.

Aos professores do Departamento de Micologia, obrigada pelos conhecimentos compartilhados.

RESUMO GERAL

Fungos fitopatogênicos são aqueles que, assim como endófitos, habitam no interior dos tecidos vegetais. No entanto, os micro-organismos denominados como fitopatogênicos, diante de estresses bióticos e abióticos, tornam-se patógenos e causam doenças nas plantas por meio de distúrbios em seu metabolismo celular. A família Cactaceae possui uma fisiologia propícia para o surgimento de doenças, a incidência de fungos fitopatogênicos é alta devido a sua fisiologia, por apresentarem caule, ramos e cladódios suculentos. O controle das doenças tem sido feito principalmente por meio da utilização de defensivos agrícolas, produtos como inseticidas, fungicidas, herbicidas, vermífugos e solventes. Porém, diante dos prejuízos causados por esses produtos de natureza química, tem levantado uma preocupação com a saúde e o meio ambiente e alternativas estão sendo procuradas para substituir o uso desses produtos. Entre as alternativas, encontram-se os fungos isolados de plantas da Caatinga, dentre elas os cactos. Esses fungos isolados das partes aéreas dos vegetais, denominados fungos endofíticos têm despertado o interesse da comunidade científica, especialmente por seus potenciais na produção de metabólitos. O presente estudo objetivou selecionar fungos endofíticos de cactáceas crescendo em áreas da Caatinga que estão depositados na Micoteca URM-UFPE quanto à atividade antagonica a fungos fitopatogênicos isolados de palma forrageira (*Nopalea cochenillifera*). Foram testados 20 espécies de fungos endofíticos frente a 10 isolados de fitopatógenos da palma forrageira. O potencial antagonico foi analisado por três parâmetros: inibição, parasitismo e competição. O antagonismo por inibição foi o mais expressivo, contando com 17 espécies de endófitos com potencial inibitório. As melhores espécies foram *Aspergillus tamarii* e *Penicillium griseofulvum* que inibiram todos os isolados de fitopatógenos utilizados no teste. Além destas, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. parasiticus*, *A. versicolor*, *Cladosporium sphaerospermum*, *P. chrysogenum*, *P. commune* e *Purpureocillium lilacinum* que obtiveram 90% no potencial de inibição. *Trichoderma longibrachiatum* obteve resultado expressivo, porém, apresentou apenas antagonismo por parasitismo. Todas as 20 espécies de fungos endofíticos isolados de cactáceas depositadas na Micoteca URM-UFPE mostraram-se eficientes na produção de quitinase. *Aspergillus parasiticus* URM6868 foi o fungo endofítico que apresentou maior atividade 4,28 (U/mL).

Palavras-chave: Antagonismo. Endófitos. *Nopalea cochenillifera*. Quitinase

ABSTRACT

Phytopathogenic fungi live within internal plant tissues like endophytic fungi. However microorganisms phytopathogenic when they are affected by biotic and abiotic stresses, these become pathogens and cause disease in plants through disturbances in their cellular metabolism. The Cactaceae family has a favorable physiology to the emergence of diseases, the incidence of pathogenic fungi is high due to their physiology, presenting stem, branches and succulent cladodes. The disease control has been done mainly through the use of pesticides. Such as insecticides, fungicides, herbicides, wormers and solvents. However, the damage caused by these products of chemical nature, a concern have been raised about health and environment and the alternatives are being sought to replace the use of these products. Amongst the alternatives are the fungi isolated from Caatinga's plants, among them fungi from cactaceae. These fungi isolated from the aerial parts of the plant, called endophytes have awoken the interest of the scientific community, especially for its potential in the production of metabolites. This study aimed to select endophytic fungi isolated from Caatinga's cactaceae that are deposited in the URM Culture Collection-UFPE with antagonistic activity to pathogenic fungi isolated from the cacti (*Nopalea cochenillifera*). Twenty species of endophytic fungi against 10 isolated of pathogenic fungi were tested. The antagonistic potential was analyzed by three parameters: Inhibition, parasitism and competition. Antagonism by inhibition was the most expressive, presented 17 species of endophytic with inhibitory potential. The best species were *Aspergillus tamaris* and *Penicillium griseofulvum* with 100% of inhibition. *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium commune* and *Purpureocillium lilacinum* showed 90% of inhibition. *Trichoderma longibrachiatum* obtained significant results, however, showed only antagonism by parasitism. All 20 species of endophytic fungi isolated from cactus deposited in the URM Culture Collection -UFPE were effective in producing chitinase. *Aspergillus parasiticus* URM 6868 was the endophytic fungus that demonstrated higher activity 4.28 (U / mL).

Key i Words: Antagonism. Endophytic. *Nopalea cochenillifera*. Chitinase

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 FUNGOS FITOPATOGÊNICOS E MECANISMOS DE AÇÃO	16
2.2 FUNGOS FITOPATOGÊNICOS EM PALMA FORRAGEIRA	17
2.3 FUNGOS ENDOFÍTICOS	20
2.4 CONTROLE BIOLÓGICO	22
2.4.1 Quitina e Quitinase	22
2.5 FLORESTA TROPICAL SECA	25
2.6 CAATINGA	25
2.6.1 Importância Econômica da Caatinga para o Nordeste	27
2.7 FAMÍLIA CACTACEAE	29
2.8 PALMA FORRAGEIRA [<i>Nopalea cochenillifera</i> (L.) Salm-Dyck]	30
2.8.1 Usos da Palma Forrageira	32
3. MATERIAL E MÉTODOS	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5. CONCLUSÕES	57
REFERÊNCIAS	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Heterogeneidade da vegetação da Caatinga.	18
Figura 2. Estrutura química da quitina.	22
Figura 3. Estrutura química da quitinase.	23
Figura 4. Família Cactaceae.	26
Figura 5. <i>Nopalea cochenillifera</i> (L.) Salm-Dyck cultivada em área de Floresta Tropical Seca ã Caatinga.	29
Figura 6. Doenças da palma forrageira causadas por fungos.	31
Figura 7. Taxa de colonização dos fragmentos de <i>N. cochenillifera</i> por fungos fitopatogênicos e total de fungos isolados a partir dos fragmentos colonizados.	38
Figura 8. Frequência absoluta (Fa); número total por espécie de fungos isolados de <i>N. cochenillifera</i> .	47
Figura 9: Antagonismo por parasitismo (A-D1) e antagonismo por competição (E-H1).	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Espécies de fungos depositadas na Micoteca URM e selecionadas para o teste de antagonismo.	34
Tabela 2. Isolados de fungos fitopatogênicos selecionados para o teste de cultura pareada.	35
Tabela 3. Frequências absoluta (fa) e relativa (fr) de fungos fitopatogênicos isolados <i>N. cochenillifera</i> cultivada em área de floresta tropical seca no Brasil.	42
Tabela 4. Fungos endofíticos que apresentaram antagonismo por inibição do crescimento dos fungos fitopatogênicos de <i>N. cochenillifera</i> .	44
Tabela 5. Fungos endofíticos que apresentaram antagonismo por parasitismo do crescimento dos fungos fitopatogênicos de <i>N. cochenillifera</i> .	48
Tabela 6. Fungos endofíticos que apresentaram antagonismo por competição do crescimento dos fungos fitopatogênicos de <i>N. cochenillifera</i> .	49
Tabela 7. Interações antagônicas dos fungos endofíticos frente a seis espécies de fungos fitopatogênicos	52
Tabela 8. Atividade enzimática de quitinase em fermentação submersa por fungos endofíticos isolados de cactáceas	55

1. INTRODUÇÃO

Espécies da família Cactaceae fazem parte de ambientes naturais em todas as regiões do mundo, sendo encontradas em locais distintos (Nobel, 1994). Entre as cactáceas cultivadas em larga escala no mundo, destacam-se as espécies *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. e *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck, conhecida popularmente como palma forrageira, constituindo uma importante cultura agrícola em regiões áridas e semiáridas (Souza et al., 2010).

Dentre os países que mais cultivam a palma forrageira com fins econômicos ou de subsistência, destaca-se o México, onde apresentam um alto grau de diversidade genética e tem sido utilizada por mais tempo em comparação com outros lugares, abrangendo três milhões de hectares (Pimienta, 1993). Esta cactácea é rica em água e mucilagem, com significativos teores de minerais, principalmente cálcio (Ca), potássio (K) e magnésio (Mg) e apresenta altos teores de carboidratos não fibrosos (CNF) (Wanderley et al., 2002).

Na América do Sul, países como Peru, Chile, Bolívia, Argentina e Brasil cultivam a palma forrageira para diversos fins, principalmente para a alimentação de ruminantes, mas em alguns também à produção do corante carmim. O Brasil possui cerca de 460.000 hectares de cultivo da palma, concentradas principalmente na região Nordeste e entre os estados da Paraíba, Pernambuco e Alagoas, onde são largamente cultivadas as forrageiras das espécies *O. ficus-indica* e *N. cochenillifera*.

Apesar de a palma forrageira ser oriunda de regiões de clima quente e seco possuindo adaptações de resistência às condições extremas desses ambientes isso não a isenta de estresses bióticos e abióticos (Souza et al., 2010). Esses estresses podem desencadear uma série de fatores que alterarão o estado fisiológico da planta deixando assim uma vulnerabilidade para o crescimento de patógenos. A principal origem desses patógenos é de natureza fúngica que possuem preferência pelos cladódios. Esses micro-organismos causam doenças em plantas por meio de distúrbios no metabolismo celular causado pela secreção de enzimas, toxinas, fitorreguladores e pela absorção de nutrientes da célula para seu próprio crescimento (Bomfim et al., 2013).

Entre os patógenos de origem fúngica que apresentam perdas significativas de produção, os mais comuns são *Scytallidium lignicola*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum* (Granata e Sidoti, 2000; Souza et al., 2010) que

Bomfim, Aline G. J. ï Controle de fungos fitopatogênicos de palma...

desencadeiam uma série de prejuízos para a agricultura com perdas que refletem na economia.

O controle das doenças tem sido feito principalmente por meio da utilização de defensivos agrícolas. São produtos como inseticidas, fungicidas, herbicidas, vermífugos e solventes que no país, apresentam uma taxa de 3,2 kg de agrotóxicos por hectare, que segundo estudos, ocupa a décima posição mundial no uso destes produtos (Ministério do Meio Ambiente, 2014).

A busca de novas substâncias de fonte biológica que possam substituir produtos sintéticos (fungicidas/inseticidas químicos) utilizados no controle de agentes causadores de doenças, encontra-se em fungos isolados de plantas, uma alternativa de interesse econômico e ecológico bastante promissor (Magalhães et al., 2008). Alguns desses fungos isolados das partes aéreas dos vegetais, denominados fungos endofíticos têm despertado o interesse da comunidade científica, especialmente por seus potenciais na produção de metabólitos como a produção de enzimas de interesse biotecnológico, (Zampieri et al., 2005; Bezerra et al., 2012; Orlandelli et al., 2012; Rinu et al., 2013).

Vários estudos têm demonstrado o potencial dos fungos endofíticos na utilização em processos biotecnológicos e ambientais (Russel et al., 2011; Wang et al., 2011; Chandra, 2012). Dentre as várias plantas analisadas até o momento, fungos endofíticos associados aos cactos têm demonstrado grande potencial no controle de micro-organismos fitopatogênicos.

Os vários metabólitos produzidos por fungos endofíticos, pode-se destacar a enzima extracelular quitinase que tem a função de degradar a parede celular de outros micro-organismos e obter nutrientes, na ausência de outras fontes. Em fungos, além da possível utilização no seu controle biológico, a quitinase atua na divisão da parede celular, autólise, germinação de esporos, desenvolvimento de micélio e ramificações, crescimento de hifas, separação de células, nutrição e parasitismo (Brzezinska e Jankiewicz, 2012; Bezirganoglu et al., 2013; Patil et al., 2013; Brzezinska, 2014).

O presente estudo objetivou selecionar fungos endofíticos de cactáceas crescendo em áreas da Caatinga que estão depositados na Micoteca URM-UFPE quanto à atividade antagonica a fungos fitopatogênicos isolados de palma forrageira (*Nopalea cochenillifera*) e diante da importância econômica da palma forrageira em diversas regiões do mundo e principalmente do Nordeste do Brasil, que abriga uma vasta área de cultivo da *N. cochenillifera*, se faz necessário o controle das doenças da palma, nativa da Caatinga, ecossistema exclusivamente brasileiro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FUNGOS FITOPATOGÊNICOS E MECANISMOS DE AÇÃO

Micro-organismos fitopatogênicos são aqueles que assim como endófitos, habitam no interior dos tecidos vegetais. Estes, por sua vez, habitam no interior da planta, mas não causam danos aparentes ao hospedeiro (Hallmann et al., 1997). No entanto, os micro-organismos denominados como fitopatogênicos, diante de estresses bióticos e abióticos, tornam-se patógenos e causam doenças nas plantas por meio de distúrbios em seu metabolismo celular (Bomfim et al., 2013).

O mecanismo de ação de micro-organismos fitopatogênicos funciona de acordo com o estado fisiológico da planta e do estágio de interação com o hospedeiro (Casela e Ferreira, 1998; Strobel et al., 2004). Os agentes causadores de origem fúngica, secretam enzimas, toxinas e fitorreguladores para a retirada de nutrientes da célula para seu próprio consumo e crescimento. Com a retirada desses nutrientes, que seriam aproveitados pelo próprio hospedeiro, pode ser o suficiente para levar a planta a exibir os sintomas típicos de colonização fúngica (Caligiorne et al., 2010).

Fungos pigmentados acumulam a melanina na parede das suas células e esse acúmulo tem sido considerado como um mecanismo para conferir tolerância ao estresse ambiental: radiação UV, lise microbiana e respostas de defesas de plantas hospedeiras e animais contra a infecção fúngica (Hyakumachi et al., 1987; Wang e Casadevall, 1994; Jacobson et al., 1995; Redman et al., 2002). Contudo, alguns experimentos sugerem que o acúmulo de melanina em algumas espécies de fungos, tais como *Alternaria alternata* e *Magnaporthe grisea* é um dos caminhos para a patogenicidade (Kawamura et al., 1997) e também parece estar envolvida com o fator de virulência de fungos patogênicos aos animais e vegetais (Langfelder et al., 2003).

Doenças em plantas causadas por fungos fitopatogênicos são responsáveis por uma parcela de 10% de perda na produção agrícola mundial, o que causa grande impacto na economia (Strange, 2005; Brzezinska, 2014). Atualmente, são conhecidas 800 espécies de fungos que são patógenos de vegetais, principalmente em culturas importantes do nosso país a exemplo do tomate (*Lycopersicon esculentum*) (Tomazoni et al., 2013), mandioca (*Manihot* spp.) (Wong et al., 2011; Borba et al., 2012) e podridão pós-colheita em uvas (*Vitis* spp.) (Camargo et al., 2011). Dentre os fungos de grande importância para a

agricultura mundial encontra-se o gênero *Fusarium*, não só por causar patologias em plantas, mas também, porque algumas espécies que produzem toxinas como tricotecenos, fumonisinas, zearalenona, moniliformina e o ácido fusárico (Tinoco, 2010). O mecanismo de ação dos fungos fitopatogênicos irá depender exclusivamente do estado fisiológico da planta. Geralmente, traumatismos causados por insetos são uma porta de entrada para o crescimento fúngico.

Segundo Caligiorne et al. (2010) traumatismos causados por insetos nas partes da planta, constituem uma porta de entrada para a colonização dos fungos. Possuem a capacidade de secretar metabólitos, dentre eles, enzimas que irão auxiliar na colonização degradando celulose, açúcares, gorduras e proteínas que serão transformados em fonte de energia e desta forma torna-se possível o crescimento e reprodução fúngica. Esses metabólitos que foram degradados e utilizados pelo fungo, seriam convertidos em fonte de energia para a planta. Entretanto, a perda desse benefício por parte da planta, leva ao surgimento dos sintomas específicos da doença causada pelo micro-organismo e dependendo da patogenicidade, a morte da planta.

2.2 FUNGOS FITOPATOGÊNICOS EM PALMA FORRAGEIRA

Para as doenças causadas por fungos fitopatogênicos em palma forrageira, existe uma escassez de estudos, porém são conhecidos alguns fungos com patogenicidade bastante elevada dentre eles *Sclerotium rolfsii* Sacc, *Scytalidium lignicola* Pes., *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *Macrophoma* sp., *Pollaccia* sp., *Rhizoctonia solani* Kühn, *Dothiorella ribis* (Fuck.) Sacc. e *Alternaria tenuis* Nees. Ex Pers. (Barbosa et al., 2007). Esses causam doenças desde as raízes até as raquetes da forrageira e que possuem sintomas bem diversificados como os descritos abaixo (Farr et al., 1989; Swart e Kriel, 2002; Menezes et al., 2005; Barbosa et al., 2007; Souza et al., 2010).

ÂPodridão negra: causada pelo fungo *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff & Maubl. ocorre de início na inserção das raquetes, apresenta cor marrom e logo após torna-se enegrecida. É consistente, com abundante exsudação de goma de coloração amarelo leitosa e tornando-se, posteriormente, enegrecida (Figura 1A). As infecções das raquetes causam o tombamento da planta e por consequência danos

para a produção. Essa doença pode ser controlada ou evitada na época do plantio, usando raquetes sadias ou uso de fungicidas.

ÂRizoctoniose: causada por *Rhizoctonia solani* Kühn a rizoctoniose é concentrada no estado do Rio Grande do Norte. Caracteriza-se por podridão aquosa de coloração castanha no início e, em seguida, negra. O ponto inicial de infecção são as raquetes tenras da base, podendo estender-se para outros artículos. Na superfície da podridão são formados esclerócios do fungo que constituem a forma propagativa e de sobrevivência, para o controle recomenda-se eliminação das raquetes doentes

ÂPodridão de *Fusarium*: é causada pelo fungo *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. (Figura 1B) e ocorre com o plantio da palma em solos com umidade elevada, podendo ocorrer nas raquetes usadas como sementes ou nas plantas adultas. Para o controle recomenda-se o uso de raquetes-sementes sadias e evitar plantio no período das chuvas. Sua disseminação ocorre por raquetes-sementes infectadas, vento e água. Solos compactados, ácidos e com umidade e adubação orgânica excessiva proporcionam maior severidade da doença (Menezes et al., 2005).

ÂMancha de *Alternaria* e alternariose: o responsável pela mancha de *Alternaria* é o fungo *Alternaria tenuissima* Nees. Ex Pers. (Figura 1C). Os sintomas da doença são caracterizados por manchas pretas nas raquetes, de formas circulares com lesões que se estendem de uma face a outra da raquete, com perfurações devido à queda do tecido infeccionado. O controle é feito através da eliminação das raquetes afetadas. Já a alternariose, cujo agente causador é a espécie *Alternaria alternata*, dentre os sintomas causados pela colonização desta espécie, pode ser observado numerosas manchas pequenas, quase pretas, com formato circular, sobre as quais podem se desenvolver estruturas típicas do gênero *Alternaria* (Farr et al., 1989; Swart e Kriel, 2002).

ÂPodridão escamosa: causada pelo fungo *Scytalidium lignicola* Pes. (Figura 1D), geralmente a podridão ocorre a partir do local de inserção das raquetes primárias, secundárias ou terciárias, sendo no início de cor marrom e, em seguida, torna-se escura devido à produção de estruturas do fungo. A ñescamaò formada é consistente, com abundante exsudação de goma de coloração amarelo leitosa e tornando-se, posteriormente, enegrecida. As infecções em raquetes primárias ou

secundárias promovem o tombamento de partes da planta, causando prejuízos na produção (Souza et al., 2010).

ÂGomose: a gomose da palma é causada pelo fungo *Dothiorella ribis* (Fuck.) Sacc (Figura 1E). A sobrevivência do fungo ocorre em raquetes infectadas e restos de cultura. A doença ocorre nos principais países produtores de palma forrageira, como o México, Brasil e Itália. No Nordeste do Brasil, tem sido observado com frequência no sertão do estado de Pernambuco, causando prejuízos na produção. Induz lesões na forma de cancrs ressecando as raquetes e provocando declínio da planta.



Figura 1. Doenças da palma forrageira causadas por fungos. A - Podridão Negra; B - Podridão de Fusarium; C - Mancha de alternaria; D - Podridão Escamosa; E - Gomose (**Fonte:** Barbosa et al., 2007).

A maioria das pesquisas sobre fungos fitopatogênicos está concentrada em plantas de grande impacto econômico, deixando assim, um número escasso de pesquisas realizadas no campo relacionadas com micro-organismos fitopatogênicos de cactáceas tendo em vista que, fungos associados em indivíduos sadios da família Cactaceae, isolados de Floresta

Bomfim, Aline G. J. ÿ Controle de fungos fitopatogênicos de palma...

Tropical Seca (Caatinga) vêm sendo utilizados em pesquisas biotecnológicas (Saleem et al., 2006; Bezerra et al., 2012).

2.3 FUNGOS ENDOFÍTICOS

Ao longo das últimas três décadas, os fungos endofíticos atraíram atenção crescente entre os taxonomistas, agrônomos, ecologistas e biólogos evolucionistas. Fungos endofíticos vivem de forma assintomática dentro dos tecidos da planta hospedeira. Incluem uma ampla variedade de fungos, incluindo patógenos latentes e saprófitas inativos que podem ocupar diferentes habitats e locais na cadeia alimentar durante as diferentes fases de seus ciclos de vida (Osono, 2006). Possuem uma diversidade de espécies e até o presente momento, de praticamente todas as plantas estudadas, pelo menos uma espécie foi encontrada e com enfoque para plantas lenhosas que podem conter dezenas de espécies (Saikkonen, 2014).

Estudos trazem informações bastante positivas sobre o estudo de fungos endofíticos da família Cactaceae, onde nestes, a diversidade de espécies é elevada (Fischer et al., 1994; Suryanarayanan et al., 2005; Bezerra et al., 2012; 2013). Geralmente, a ecologia dos fungos endofíticos é estudada observando-se a interação entre o fungo e a planta, atuação do fungo no controle de herbivoria e proteção a estresse biótico e abiótico. A maioria dos endófitos produzem uma ou mais classes de alcalóides que provavelmente desempenham algum papel na defesa da planta hospedeira contra pragas (Clay e Schardl, 2002).

Ainda existem incertezas de qual forma ocorre a infecção dos endófitos nas plantas. Estudos realizados por Saikkonen et al. (2004) indicam que os endófitos podem ser transmitidos verticalmente, pela penetração em sementes ou pela zona radicular, de forma horizontal penetrando através dos estômatos ou diretamente na parede celular utilizando apressórios e haustórios. Em pesquisas realizadas por Clay & Schardl (2002) foi observado que a superinfecção pode resultar na fusão de hifas e recombinação parassexual, originando assim, novas espécies ou até mesmo recombinação genética. Devido a essa diversidade, é possível a realização de pesquisas com uma infinidade de gêneros e espécies.

A alternativa para o controle de doenças de plantas é amplamente realizada por meio de herbicidas, pesticidas e fungicidas. Devido ao uso indiscriminado desses produtos,

Bomfim, Aline G. J. ã Controle de fungos fitopatogênicos de palma...

os micro-organismos fitopatogênicos criam mecanismos de resistência à maioria dos produtos de origem química (Silva et al., 2005)

Em decorrência dos malefícios que os pesticidas vêm causando ao homem e à natureza, torna-se imprescindível buscar medidas alternativas de controle de pragas e doenças, com o uso de produtos naturais, eficientes e com pouco impacto ambiental. E essa alternativa pode ser encontrada nos micro-organismos endofíticos que já existem estudos que comprovam a capacidade destes em produzir metabólitos de alta especificidade. Dentre estes metabólitos, pode-se citar a produção de enzimas por fungos endofíticos isolados de cactáceas de floresta tropical seca [Caatinga] (Bezerra et al., 2012) que pode ser uma alternativa de interesse econômico e ecológico bastante promissor para o controle de doenças.

2.4 CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico é um processo desenvolvido para minimizar a população de patógenos e pragas por meio da utilização de um competidor natural (Mota et al., 2003). Os fungos entomopatogênicos são considerados promissores agentes biocontroladores (Lopes et al., 2008). Atualmente, existem dezenas de espécies de fungos usados para o controle de pragas, tais como *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin, *Beauveria bassiana* (Bals. ã Criv) Vuill (Hayashida et al., 2012; Svedese et al., 2012), *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare & W. Gams (Galvão, 2012), *Nomuraea rileyi* (Farl.) Samsom (Forza, 2013; Finkler, 2012) e *Hirsutella thompsonii* F.E. Fisher (Picoli e Vieira, 2013). *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* estão entre os fungos entomopatogênicos mais conhecidos e utilizados em larga escala. Estes fungos são utilizados com eficiência no controle da cigarrinha da cana-de-açúcar (*Maharnava posticata* e *Mahanarva fimbriolata*) e contra o moleque da bananeira (*Cosmopolites sordidus*) (Loureiro et al., 2012).

A utilização de defensivos agrícolas para o controle das doenças e pragas tem sido realizada intensivamente. Existem cerca de quatro mil tipos de agrotóxicos, que resultam em cerca de quinze mil formulações distintas, dos quais oito mil estão licenciadas no Brasil. De acordo com o Ministério do Meio Ambiente, o Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos no mundo e possuem uma ampla cobertura legal pela Lei nº 7802/89, que rege o processo de registro de um produto agrotóxico, regulamentada pelo Decreto nº 4074/02. São produtos como inseticidas, fungicidas, herbicidas, vermífugos e solventes que no país,

Bomfim, Aline G. J. *Controle de fungos fitopatogênicos de palma...*

apresentam uma taxa de 3,2 kg de agrotóxicos por hectare, que segundo estudos, ocupa a décima posição mundial no uso destes produtos (Ministério do Meio Ambiente, 2014).

O uso intensivo e indiscriminado de fungicidas sistêmicos a longo prazo, tem causado diversos problemas, como a seleção de patógenos resistentes aos princípios ativos mais utilizados, além de aspectos negativos para o ambiente que acometem a saúde do ser humano em função da poluição causada pelos resíduos, além de efeitos oncogênicos e teratogênicos (Marini et al., 2012).

Devido às desvantagens como toxicidade, altos níveis de contaminação e custo elevado destes produtos químicos, a busca de novas substâncias de fonte biológica que possam substituir produtos sintéticos (fungicidas/inseticidas químicos) utilizados no controle de agentes causadores de doenças, podem ser fungos isolados de plantas, uma alternativa de interesse econômico e ecológico bastante promissor (Magalhães et al., 2008).

A opção do uso de produtos de fonte biológica está na vantagem de não ser poluente, não provoca desequilíbrios biológicos, é duradouro e atóxico para o homem e fauna (Alves e Almeida, 1997). Entre as opções, encontram-se os fungos isolados de plantas da Caatinga, dentre eles os cactos (Bezerra et al., 2012; 2013). Esses fungos isolados das partes aéreas dos vegetais que têm despertado o interesse da comunidade científica, especialmente por seus potenciais na produção de metabólitos destacando-se para a produção de enzimas de interesse biotecnológico dentre estas, a produção da enzima quitinase (Zampieri et al., 2005; Bezerra et al., 2012; Orlandelli et al., 2012; Rinu et al., 2013).

2.4.1 Quitina e Quitinase

A quitina é um polímero de N-acetilglicosamina com ligações β -1,4 (Figura 2) e ocorre em combinação com outros polímeros, como as proteínas (Brzezinska, 2014). É o segundo polímero mais abundante na natureza depois da celulose (Ornum, 1992) e pode ser encontrada na forma α (alfa), a qual possui ligações de hidrogênio intermoleculares, este polímero é encontrado na carapaça de camarões e caranguejos; ou na forma β (beta) que é uma forma que possui cadeias paralelas da própria quitina sendo encontrada em uma estrutura chamada de *lula* ou uma estrutura constituinte do cefalotórax da lula (Zhang et al., 2000).

Este polímero possui uma massa molecular elevada e a mesma estrutura química da celulose, diferenciado pelo grupo hidroxila na posição C₂ substituído por um grupo acetamida (Lower, 1984). É encontrado em insetos como um importante componente da cutícula, na membrana peritífica do intestino dos insetos atuando como uma ãluva protetoraò (Cabib, 1987). Seu principal componente constitui o polissacarídeo estrutural da parede celular dos fungos e na carapaça de crustáceos e nematóides (Wang et al., 2001). Possui uma grande variedade de aplicações destacando-se em indústrias de alimentos e farmacêutica pode atuar como anti-colesterol, possuir função anti-microbiana além de atividade antitumoral (Patil et al., 2000).

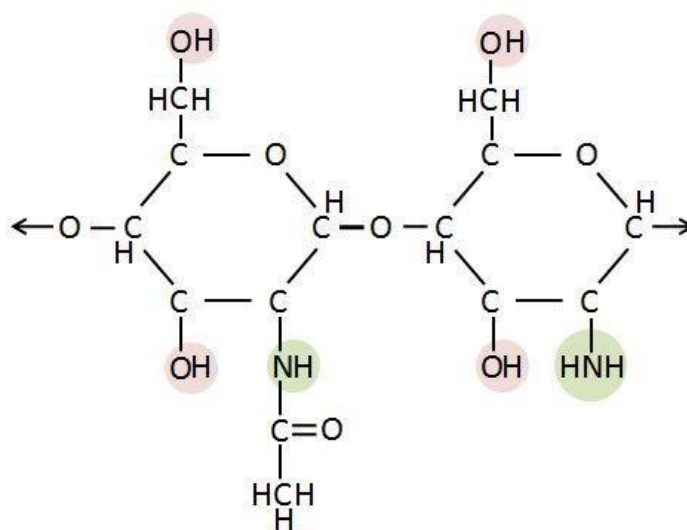


Figura 2. Estrutura química da quitina. **Fonte:** <http://gnomespunyarn.com>

A enzima responsável pela degradação e modificação deste polímero é a quitinase (Figura 3) (Bhushan, 2000). Também denominada de {Poli[1,4-(N-acetil-β-D-glicosamina)] glucanoidrolase}, que catalisa reações de hidrólise das ligações β-1,4 de N-acetil-β-D-glicosamina da quitina e de quitodextrinas. Esta enzima desempenha um papel importante na nutrição e parasitismo de bactérias e fungos, assim como, envolvida na morfogênese e autólise fúngica (Brzezinska e Jankiewicz, 2012). As quitinases estão presentes nestes micro-organismos com uma diversidade de papéis, como o metabolismo da quitina, no crescimento de hifas, na nutrição, nos mecanismos de defesa em resposta a patógenos e estresses abióticos (Patil et al., 2013).

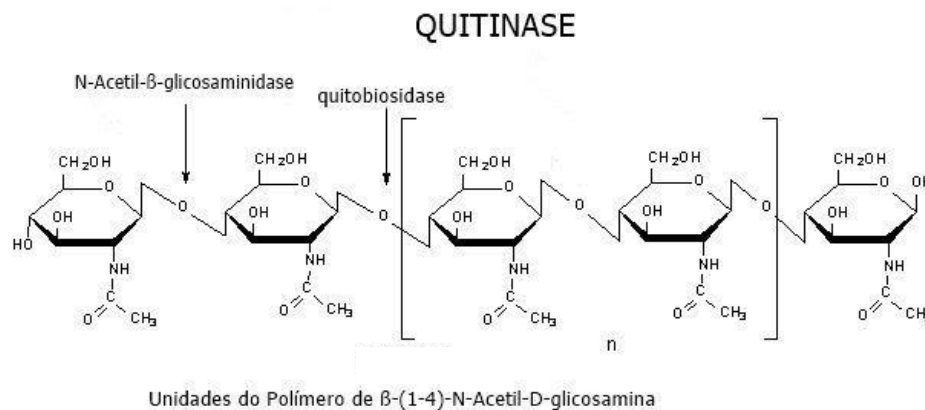


Figura 3. Estrutura química da quitinase. **Fonte:** <http://www.sigmaaldrich.com/>

No setor agrotecnológico, o enfoque está sob os bioefeitos fungicidas e bioinseticidas das quitinases produzidas por micro-organismos. Os fungos utilizam estes metabólitos que possuem eficácia sobre patógenos de plantas e controle de pragas. (Beziranoglu et al., 2013; Brzezinska, 2014).

As quitinases são produzidas por vários fungos, como *Trichoderma harzanium* (Machado et al., 2012), *Penicillium aculeatum* (Ait-Lahsen et al., 2001), *Lecanicillium fungicola* (Duo-Chuan, 2006), *Myrothecium verrucaria* (Mitsunaga, 2004), e outros. Em pesquisas realizadas por Mitsunaga (2004) e Matsumoto (2006), a quitinase produzida por *Myrothecium verrucaria* foi eficiente na degradação da cutícula do mosquito *Aedes aegypti* e a por *Beauveria bassiana* foi usada no controle das larvas de *Galleria mellonella* e *Trichoplusia ni* (Lepdoptera) e pode-se determinar que a quitinase secretada pelo fungo entomopatogênico *Nomuraea riley* obteve uma eficiência sobre larvas de *Trichoplusia ni*.

Quitinases também estão presentes em plantas, sementes, caules, tubérculos e flores. A produção das quitinases são induzidas pelo ataque de fitopatógenos que estão relacionadas com a patogênese, proteínas de auto defesa ou por contato com elicitores como quitooligosacarídeos ou até como reguladores de crescimento (Goodday, 1996). A biotecnologia agrícola oferece novas ferramentas para a proteção de plantas aos patógenos pela utilização de plantas transgênicas resistentes e estudos realizados por Lorito et al. (1996) mostram que o isolamento de genes de quitinases do fungo do gênero *Trichoderma* spp. aumentaram resistência das plantas contra fitopatógenos.

2.5 FLORESTA TROPICAL SECA

A definição de Floresta Tropical Seca (FTS) é distintamente geral e inclui formações tão diversas como florestas altas em locais úmidos até a existência de arbustos e cactos em regiões extremamente secas. Muitos nomes diferentes são usados para FTS, dentre eles, exemplificamos: tropical seca e florestas subtropicais, caatinga, mesotrófica floresta mesófica, floresta semidecídua ou decídua, bosque caducifólio, cerrado, entre outros (Pennington et al., 2004). As FTS são também caracterizadas por possuir precipitações anuais muito baixas com cerca de 1600 mm por ano e temperatura elevada que pode chegar a 50 °C nos períodos de estiagem.

O Brasil se destaca por possuir as maiores áreas de FTS da América do Sul. Possui o Cerrado com uma extensão de 2.036.448 km², cerca de 22% do território nacional englobando os estados brasileiros de Goiás, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Rondônia, Paraná, São Paulo e Distrito Federal, além de regiões do Amapá, Roraima e Amazonas e principalmente no Nordeste do Brasil, a Caatinga que se estende do sul até o leste de Minas Gerais, englobando 11% do território nacional (Ministério do Meio Ambiente, 2014).

Na flora da FTS as famílias Fabaceae e Bignoniaceae dominam a flora lenhosa seguida das famílias Anacardiaceae, Burseraceae, Myrtaceae, Rubiaceae, Sapindaceae, Euphorbiaceae, Flacourtiaceae e Capparidaceae também estão fortemente representadas neste tipo de floresta (Gentry, 1995). Os representantes da família Cactaceae são proeminentes, especialmente na formação de extremos latitudinais e são um elemento importante na diversidade dessas florestas.

2.6 CAATINGA

O nome Caatinga vem da língua Tupi que significa kaô (mata) + tinga (branca) = mata branca, e decorre da paisagem esbranquiçada apresentada pela vegetação durante o período seco: a maioria das plantas perde as folhas e os troncos tornam-se esbranquiçados e secos (Associação Caatinga, 2014). Pode ser caracterizada como floresta arbórea ou

arbustiva e até mesmo como FTS compreendendo principalmente árvores e arbustos baixos muitos dos quais, apresentam espinhos, microfilia e algumas características xerofíticas (Prado, 2003). É a única grande região natural brasileira e seus limites estão inteiramente restritos ao Brasil, o que significa que grande parte do seu patrimônio biológico não pode ser encontrado em nenhum outro lugar do planeta (Leal et al., 2003; Silva, 2003).

A Caatinga ocupa uma área de cerca de 844.453 Km², o equivalente a 70% da região Nordeste e 11% do território nacional. Engloba os estados Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Piauí, Sergipe e o norte de Minas Gerais também sendo incluído o Arquipélago de Fernando de Noronha (Prado, 2003; MMA, 2014). Dos 70% desse território, aproximadamente 50% das terras recobertas são de origem sedimentar, ricas em águas subterrâneas, porém, o volume de água, em geral, é limitado, sendo insuficiente para a irrigação (Giulietti et al., 2002). A temperatura é elevada e varia entre 25 a 30 °C e devido a influência do clima semiárido, a média de precipitação pode chegar a 800mm por ano que tem duração de três a cinco meses, ficando assim o resto dos meses sem chuva, influenciando a existência de rios intermitentes, ou seja, só possuem água corrente no período das chuvas, tendo o seu curso interrompido durante a seca (Associação Caatinga, 2014).

No Brasil, a Caatinga é o ecossistema menos conhecido do país, por isso, pouco valorizado, e ao contrário do que se imagina, é uma região muito rica em espécies vegetais e animais e sítios arqueológicos sendo fundamental para o desenvolvimento do semiárido brasileiro (MMA, 2014). Segundo Silva (2003) a biodiversidade da Caatinga esteve em discussão por um tempo, dentre estas, são questionadas a homogeneidade, sua pobreza em espécies e endemismos, e o fato de que é um ecossistema pouco alterado. Essas questões estão praticamente resolvidas, pois a Caatinga não é homogênea e sim considerada extremamente heterogênea incluindo centenas de diferentes paisagens únicas, de todas as regiões semiáridas do planeta, a Caatinga é a mais rica em biodiversidade (Figura 4).

A vegetação da Caatinga no semiárido nordestino é bastante variada, não forma um conjunto estrutural e florístico homogêneo, no entanto, varia em função de fatores como solo, índice xerotérmico, fisionomia e gêneros característicos. A flora é ainda pouco conhecida, incluindo aproximadamente 932 espécies de árvores e arbustos que constituem espécies lenhosas, como as da família Euphorbiaceae e Fabaceae, e não lenhosas como Poaceae e Cactaceae, dessas, 318 são endêmicas (Albuquerque e Andrade, 2002; Giulietti et al., 2002; Zappi, 2008; Lucena et al., 2012). Esse ecossistema abriga a maior diversidade

Bomfim, Aline G. J. ï Controle de fungos fitopatogênicos de palma...

de cactos, a família Cactcaeeae está representada por aproximadamente 58 espécies, sendo 42 endêmicas (Taylor e Zappi, 2002; Zappi et al., 2012) e algumas espécies que possuem valor econômico, como ornamental e forrageiro (Rocha e Agra, 2002).



Figura 4. Heterogeneidade da vegetação da Caatinga. **Fonte:** Autor.

2.6.1 Importância Econômica da Caatinga para o Nordeste

A Caatinga tem um enorme potencial para a conservação ambiental, uso sustentável e bioprospecção, além de amparar diversas atividades econômicas, voltadas para fins agrosilvopastoris e industriais (MMA, 2014). A economia da região Nordeste está ligada também com os recursos gerados na Caatinga. Com bases de dados do Ministério do Meio Ambiente, cerca de 30% da matriz energética da região provém da vegetação nativa da Caatinga. O ecossistema fornece diversos produtos florestais que geram uma gama de emprego auxiliando na renda da população. Os produtos gerados atingem grande potencial, onde estes são explorados por indústrias químicas, farmacêuticas e principalmente alimentícias.

De acordo com a Associação Caatinga (2014) ainda em uma abordagem econômica, o ecossistema possui áreas protegidas, unidades de conservação e terras indígenas, que mesmo não sendo exploradas para fins industriais, geram rendas em atividades de ecoturismo, serviços ambientais com abordagem do uso sustentável da biodiversidade, conservação da água e do solo e também recursos que geram energia.

Apesar de programas de conservação, segundo dados do Relatório do Monitoramento do Desmatamento do Ecossistema Caatinga, sabe-se que 43% da área de Caatinga foi desmatada até 2009. Além de se tornar o ecossistema mais alterado do Brasil, a Caatinga está predisposta às variações de mudanças climáticas, sofre com o processo de desertificação e a pressão populacional bastante elevada (28 milhões de habitantes) que dependem dos recursos naturais (Ministério do Meio Ambiente, 2011).

Praticamente todas as florestas tropicais secas existentes estão altamente expostas a uma variedade de diferentes ameaças, em grande parte, resultantes da atividade humana. Além das ameaças humanas, as doenças causadas por fungos fitopatogênicos em plantas da Caatinga, entre estas as da família Cactaceae que é a mais susceptível ao ataque destes patógenos, devem ser levadas em consideração como um risco. (Zappi et al., 2008). Doenças causadas por fungos refletem na economia da região bem como no campo científico, levando em consideração o desenvolvimento de pesquisas na área biotecnológica relacionadas a fungos isolados deste ambiente.

Estudos na Caatinga são necessários para buscar uma alternativa de controle de fungos fitopatogênicos que anule o uso de produtos de natureza química que além de tentar combater patógenos, acabam comprometendo outras áreas que tomando o seu valor em termos de biodiversidade, indicando que as florestas tropicais secas devem ter elevada prioridade de conservação, pois proporcionam a possibilidade de pesquisas, além de aumentar o conhecimento sobre as riquezas da região que abriga uma grande e única diversidade de cactos com ocorrência de cerca de 80 espécies (Miles et al., 2006; Zappi et al., 2012).

2.7 FAMÍLIA CACTACEAE

Os indivíduos que compõem a família Cactaceae podem ter surgido há 30 milhões de anos em meados do período Terciário, seguindo a rápida diversificação e desenvolvimento dos desertos Americanos (Hershkovitz e Zimmer, 1997). Espécies da família Cactaceae, abrangem um grande e diversificado grupo de suculentas, fazem parte de ambientes naturais em todas as regiões do mundo, sendo encontradas em locais distintos, mas a sua distribuição é predominante em regiões de clima quente e árido (Nobel, 1994). No entanto, esta distribuição pode variar da região sul da Patagônia, na Argentina até Alberta no Canadá. Também abrange vários habitats, incluindo desertos, trechos de areia costeiras, cerrados, caatinga (exclusivo do Brasil), florestas secas, estepes alpinos, e até mesmo, as florestas tropicais (Nyffeler, 2002).

A família Cactaceae está dividida em quatro subfamílias, Maihuenioideae, Pereskioideae, Opuntioideae e Cactoideae (Figura 5) sendo as duas últimas abrangentes de maior diversidade (Wallace, 1995; Taylor e Zappi, 2008). Possuem aproximadamente 124 gêneros e 1.440 espécies descritas (Mohamed-Yasseen et al., 1996; Correia et al., 2011).

As cactáceas constituem uma família diversificada de plantas, podendo ser encontradas espécies arbóreas e rasteiras. Segundo Barbosa e Andrade (2009), a diversidade existente na família se expressa em diversas características, anatômicas, fisiológicas, morfológicas e adaptativas, sendo estas características motivo de sua ampla distribuição no mundo. As espécies da família geralmente são plantas xerofíticas, áfilas, com caule e ramos suculentos, espinhosos, flores solitárias e vistosas (Rocha e Agra, 2002). As flores são constituídas de sépalas e pétalas, são andróginas, com folhas modificadas em espinhos cuja base é uma auréola para evitar a perda de água excessiva.

De acordo com Barthlott e Hunt (1993), existem três núcleos de diversidade das cactáceas: o centro norte do México e a região semiárida do oeste dos Estados Unidos, onde nesses locais, estão distinguidas as tribos Cactae e Pachycereeae; na América do Sul, está situado na região árida e semiárida Andina, parte do Peru, Bolívia, Chile e Argentina. O segundo centro de diversidade, sendo os representantes deste centro Browningieae, Notocacteae e Trichocereae, está no Brasil, um dos centros de origem Sul Americano, sendo a Caatinga o centro da tribo Cereeae.



Figura 5. Família Cactaceae. Representantes das Sub-famílias: **A** - Maihuenioideae; **B** - Pereskioideae **C** - Cactoideae; **D** - Opuntioideae. **Fonte:** cactiguide.com

Mais de 300 espécies de cactos são cultivadas mundialmente como ornamentais, forrageiras, medicinais e alimentícias (Castro, 2007; Nascimento, 2011). Esta multiplicidade de usos se dá pelo seu endemismo na região semiárida, bem como pelo seu uso que abrangem os mais diversos fins (Barbosa e Andrade, 2009). No Brasil, especificamente na região Nordeste, que é o terceiro maior centro de cultivo em larga escala, possui representantes de 35 gêneros e 230 espécies, das quais 184 são endêmicas (Barbosa et al., 1996; Machado, 2009; Silva et al., 2011).

2.8 PALMA FORRAGEIRA [*Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck]

Nopalea cochenillifera (L.) Salm-Dyck syn = *Opuntia cochenillifera* (L.) Mill (Figura 6) é uma espécie da família Cactacea, pertencente a subfamília Opuntioideae que compreende cerca de 200 espécies descritas no mundo (Gomez-Flores et al., 2006). É oriunda do México e amplamente cultivada no semiárido da região nordeste brasileira onde os estados de Alagoas, Pernambuco e Paraíba compreendem as maiores áreas de cultivo

Bomfim, Aline G. J. *Controle de fungos fitopatogênicos de palma...*

sendo popularmente conhecida como palma miúda ou palma doce (Barbosa et al., 1996; Castro et al., 2011).

Segundo Wanderley et al. (2002), esta cactácea é rica em água e mucilagem, com expressivos teores de minerais, cálcio (Ca), potássio (K) e magnésio (Mg) e carboidratos não fibrosos (CNF) onde estes são de fácil absorção pelo intestino e utilizados como principal fonte de energia pelo organismo. No Nordeste, a estimativa é de que existam cerca de 500 mil hectares cultivados (Santos et al., 2006). Visto isso, esta cactácea é bastante utilizada como base alimentar para ovinos e caprinos, e sobretudo na criação de gado de leite das regiões da Caatinga (Barbosa et al., 1996; Castro et al., 2011; Almeida, 2012). A palma forrageira é também utilizada para fins medicinais, produção de energia, elaboração e composição de cosméticos (Sáenz-Hernández, 2001), no paisagismo, alimentação humana, corantes e conservação de solos (Leite, 2006).

A palma forrageira é uma cultura bem adaptada às condições adversas do semiárido e isso é devido as características anatômicas, morfológicas e fisiológicas das Cactaceae que permitem adaptações às condições climáticas desse tipo de região (Gibson e Nobel, 1986). A espécie apresenta-se como uma alternativa primordial para estas regiões, visto que é uma cultura que apresenta aspecto fisiológico especial quanto à absorção, aproveitamento e perda de água, sendo bem adaptada às condições adversas do cenário em questão. As raízes das palmas desenvolvem características fisiológicas inerentes de plantas xerófilas, que dão maior resistência às plantas em períodos prolongados de estiagem. A estrutura responsável pela fotossíntese nas plantas, na sua grande maioria, são as folhas, nas palmas, quem possui essa função são os cladódios (Santos et al., 2006).

Assim como boa parte das plantas xerófilas, e de ambientes semiáridos a desérticos, as palmas apresentam o metabolismo do ácido crassuláceo, conhecido como mecanismo CAM (Crassulacean acid metabolismo) que resulta no processo de fechamento dos estômatos durante o período diurno, para evitar a perda excessiva de água, e a abertura durante o noturno (Souza e Lorenzi, 2005; Martins, 2011).



Figura 6. *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck cultivada em área de Floresta Tropical Seca - Caatinga.

Fonte: Autor.

2.8.1 Usos da Palma Forrageira

Acredita-se que desde muito tempo, a palma forrageira é usada para fins medicinais e alimentícios. De acordo com Martins (2011), esse vegetal sempre esteve presente na medicina tradicional e utilizada por curandeiros e tribos indígenas do México. São utilizadas como analgésico, antimicrobianos (Gomez-Flores et al., 2006), diuréticos (Galati et al., 2002), para o tratamento de alguns tipos de úlceras (Galati et al., 2001), como antioxidantes (Zhong et al., 2010) e no controle de diabetes (Barbera et al., 1999) e colesterol (Hollis e Sheinvar, 1995).

A grande diversidade de usos e aplicações da palma forrageira revela a versatilidade dessa espécie vegetal (Nunes, 2011). No nordeste brasileiro, principalmente em regiões de Caatinga, o uso da palma é bem diversificado, entretanto, sua principal utilização é para alimentação animal e cobertura do solo. A palma é um alimento de grande importância para os rebanhos, notadamente nos períodos de estiagens prolongadas, pois além de fornecer um alimento verde, supre grande parte das necessidades de água dos animais na época de escassez e o valor nutricional da palma é comparado com as silagens de sorgo e de milho (Santos et al., 2006).

Na alimentação humana, como preparações culinárias, os brotos da palma ou raquetes (cladódios) jovens e o fruto da palma são consumidos frescos ou cozidos

Bomfim, Aline G. J. ï Controle de fungos fitopatogênicos de palma...

(Reinolds e Arias, 2004). Possui uma constituição de 92% de água, 4-6% de carboidratos que são denominados como carboidratos não fibrosos (CNF) e esses são facilmente absorvidos pelo organismo, 1% de proteína, 0,2% de gordura, 1% de minerais, vitamina C (12,7 mg/100g) e β -caroteno (Martins, 2011).

Entre os diversos usos da palma, está a produção do corante carmim, que possui um valor comercial significativo. Este é produzido pelo inseto *Dactylopius coccus* que utiliza a palma como hospedeira. Como o próprio nome sugere, é um corante de cor avermelhada e que é largamente utilizado nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética (Barbera, 2001; Nunes, 2011).

Este cacto é de grande importância e é usado para fins econômicos. Apesar de a palma forrageira ser oriunda de regiões de clima quente e seco como a Caatinga e possuir adaptações de resistência às condições extremas desse ambiente, não a isenta de estresse biótico e abiótico, o que a torna susceptível a patógenos. A origem dos patógenos do cacto é principalmente de natureza fúngica que atacam os cladódios, causando assim perdas na plantação que refeltem na economia da região.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Material Botânico e Local de Coleta

Os cladódios de *Nopalea cochenillifera* foram coletados no município de Águas Belas situados no Agreste do estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil (08°39'49"S, 36°19'12"W) em áreas de agricultura familiar sustentável (sem utilização de agrotóxicos e adubos químicos). Esta região está inserida na unidade geoambiental do Planalto da Borborema. A vegetação desta unidade é formada por Florestas Subcaducifólica e Caducifólica (Caatinga), próprias das áreas agrestes. O clima é do tipo semiárido com temperaturas variando entre 25-37 °C e precipitação pluviométrica média anual de 380-800 mm, concentradas em um curto período de dois a quatro meses seguido por um longo período de seca que pode se estender por até oito meses.

Isolamento de Fungos Fitopatogênicos

Os cladódios coletados foram avaliados inicialmente por análise clínica fitopatológica através de observação direta, com auxílio de uma lupa e microscópio para observação de estruturas dos possíveis agentes patogênicos.

Fragmentos de cerca de 2cm² foi retirado da zona de intercessão entre o tecido sadio e o tecido com sintomas de doença causada por fungo. Em seguida, os fragmentos foram superficialmente desinfestados com etanol 70% por um minuto, hipoclorito de sódio (2,5% de cloro ativo) por três minutos, e foram efetuadas três lavagens com água destilada esterilizada (Pereira, 1993; Souza et al., 2010). Os fragmentos foram transferidos para placas de Petri contendo o meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA). Cinco fragmentos, equidistantes, foram colocados em cada placa e incubados a temperatura de 28 ± 2 °C por até oito dias em fotoperíodo de 12h sob luz branca e 12h no escuro (Menezes e Assis, 2004). À medida que ocorreu a colonização dos fragmentos, as colônias fúngicas foram transferidas para placas de Petri contendo o meio BDA.

Identificação de Fungos Fitopatogênicos

A identificação morfológica dos fungos fitopatogênicos foi realizada pela equipe da Micoteca URM604 do Departamento de Micologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. Foram preparados microcultivos e observados os aspectos macro e micro morfológicos das estruturas somáticas e reprodutivas,

Bomfim, Aline G. J. ã Controle de fungos fitopatogênicos de palma...

comparando-se os resultados com base em literatura específica (Ellis, 1971; Ellis, 1976; Sutton, 1980; Domsh et al., 2007).

Micro-organismos utilizados para o teste de antagonismo

Para o ensaio de antagonismo foram utilizadas 20 culturas pertencentes a 10 gêneros de fungos endofíticos dos cactos *Cereus jamacaru* DC. e *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill da Caatinga pernambucana devidamente depositadas na Coleção de Cultura da Micoteca ã URM do Departamento de Micologia, UFPE, Recife, PE, Brasil (Bezerra et al., 2012; 2013) (Tabela 1).

Tabela 1. Culturas de fungos endofíticos de cactos depositadas na Micoteca URM e selecionadas para o teste de antagonismo.

Espécies selecionadas	Registro URM	Hospedeiro
<i>Acremonium pteridii</i> W. Gams & JC Frankland	URM 6838	<i>Cereus jamacaru</i>
<i>Aspergillus</i> sp.	-	<i>Opuntia ficus-indica</i>
<i>Aspergillus japonicus</i> Saito	URM 6873	<i>Cereus jamacaru</i>
<i>A.niger</i> Tiegh	URM 6870	<i>Cereus jamacaru</i>
<i>A. ochraceus</i> Wilh	URM 6869	<i>Cereus jamacaru</i>
<i>A. parasiticus</i> Speare	URM 6868	<i>Cereus jamacaru</i>
<i>A. tamarii</i> Kita	-	<i>Opuntia ficus-indica</i>
<i>A. versicolor</i> Vuill. Tirab.	URM 6865	<i>Cereus jamacaru</i>
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen) G.A de Vries	URM 6859	<i>Cereus jamacaru</i>
<i>C. sphaerospermum</i> Penz	URM 6862	<i>Cereus jamacaru</i>
<i>Cunninghamella echinulata</i> (Thaxt.) Thaxt.	-	<i>Opuntia ficus-indica</i>
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	URM 6831	<i>Cereus jamacaru</i>
<i>P. commune</i> Thom	URM 6845	<i>Cereus jamacaru</i>
<i>P. griseofulvum</i> Dierckx	-	<i>Opuntia ficus-indica</i>
<i>P. minioluteum</i> Dierckx	URM 6889	<i>Cereus jamacaru</i>
<i>Purpureocillium lilacinum</i> (Thom) Luangsa-ard, Houbaken, Hywel-Jones & Samson	URM 6818	<i>Cereus jamacaru</i>
<i>Syncephalastrum racemosum</i> Cohn ex J. Schröt	URM 6819	<i>Cereus jamacaru</i>
<i>Tetraploa aristata</i> Berk. & Broome	-	<i>Opuntia ficus-indica</i>
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> Rifai	-	<i>Opuntia ficus-indica</i>
<i>Tritirachium dependens</i> Limber	URM 6822	<i>Cereus jamacaru</i>

Controle Biológico de Fungos Fitopatógenos

Determinação da Taxa de Crescimento Micelial dos Isolados

As culturas de endófitos e isolados de fitopatógenos, foram cultivados em placas de Petri contendo meio de cultura BDA, e a taxa de crescimento micelial foi determinada pela fórmula adaptada de Lilly e Barnet (1951): $T_c = (C_{lii} - C_{li}) / (T_{ii} - T_i)$. Onde: T_c ã taxa de crescimento micelial; C_{lii} crescimento radial da colônia obtida no tempo ii ; C_{li} ã crescimento radial da colônia obtida no tempo i ; T_{ii} ã tempo em que se realizou a segunda leitura; T_i ã tempo em que se realizou a primeira leitura.

Técnica de Cultura Pareada

O potencial antagônico de fungos endofíticos contra fitopatógenos de palma forrageira foi determinado a partir do método de pareamento entre antagonista e fitopatógeno descrito por Dennis e Webster (1971). Desta forma, em placas de Petri contendo BDA, foi colocado um disco ($\varnothing$ 6 mm) da cultura do fitopatógeno e no lado oposto, um disco ($\varnothing$ 6 mm) com o isolado endofítico a ser avaliado, ambos a 1,0 cm da borda. Considerando-se a taxa de crescimento micelial de cada fungo, de tal forma que possibilitassem as colônias alcançarem simultaneamente o centro da placa. Para avaliação do potencial antagônico dos fungos endofíticos foi adotada a metodologia descrita por Mejía et al. (2008). Foram utilizados dois controles negativos que consistiu no inóculo central em placa de Petri contendo apenas o inóculo do fitopatógeno e o outro apenas com o inóculo do endófito. Os fungos fitopatogênicos que foram utilizados para o teste encontram-se na Tabela 2. O experimento foi conduzido em triplicata.

Tabela 2. Isolados de fungos fitopatogênicos do cacto *Nopalea cochenillifera* selecionados para o teste de cultura pareada.

Fungos fitopatogênicos	Número de isolados
<i>Alternaria alternata</i> Keissl	3
<i>Curvularia lunata</i> var. <i>aeria</i> (Bat., J.A. Lima & C.T. Vasconc.) M.B. Ellis	1
<i>C. lunata</i> (Wakker) Boedijn	1
<i>Pseudocochliobolus eragrostidis</i> Tsuda & Ueyama [Syn= <i>C. eragrostidis</i>]	1
<i>Fusarium lateritium</i> Ness	2
<i>Scytalidium lignicola</i> Pesante	2
Total de isolados selecionados	10

Análise de dados

A taxa de colonização (TC) foi calculada pela razão entre o número de fragmentos que apresentaram crescimento fúngico (Nf) e o número total de fragmentos (Nt) ($TC = Nf/Nt \times 100$); Nf- Número de fragmentos colonizados; (Araújo et al., 2002). A frequência relativa (FR) de isolamento foi determinada com o número de isolados de uma espécie dividido pelo total do número de isolados (Photita et al., 2001).

Ensaio enzimático

Padronização do inóculo

Os fungos endofíticos selecionados foram repicados em tubos de ensaio contendo o meio de cultura batata-dextrose-água (BDA) e incubados durante 5 dias a 28-30 °C. Em seguida, foram suspensos em 10 mL de Tween 80 (0,02%). A contagem dos esporos será realizada em câmara de Neubauer e a concentração ajustada para 10^7 esporos por mL.

Fermentação submersa

Foi preparado um meio seletivo contendo NaNO_3 , KH_2PO_4 , sacarose, KCl, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ com pH do meio ajustado para 6,5. Para induzir a produção da enzima, quitina coloidal foi utilizada como fonte para a verificação da produção de quitinase. Da suspensão de esporos foram retirados 2mL e transferidos para frascos de Erlenmeyer de 250mL, contendo 50mL do meio seletivo. Os frascos foram mantidos sob agitação orbital de 150 rpm à temperatura de 37 °C, por um período de 96 horas. A cada 24 horas, frascos Erlenmeyer foram retirados e filtrados em papel de filtro CELAB com o auxílio de uma bomba a vácuo e centrifugado a 12.300 xg por 30 minutos a 4 °C, sendo o sobrenadante considerado o extrato enzimático bruto (Murugan et al., 2007). Os ensaios foram realizados em triplicata.

Determinação da atividade enzimática

A determinação da atividade da quitinase foi realizada conforme o método de Waghmare e Ghosh (2010). A mistura reacional continha 1mL de quitina coloidal, 0,5 mL de tampão fosfato de sódio 25 mM, pH 7,0, e 0,5 mL do extrato enzimático bruto,

incubada a 37 °C por 30 minutos. Para detectar os açúcares redutores da atividade foi utilizado o método descrito por Miller (1959), onde, 100µL da amostra resultante da atividade foram acrescidos em 1 mL de DNSA, fervido por 10 minutos, a reação foi interrompida em banho de gelo e as determinações realizadas em espectrofotômetro a 570 nm. Uma unidade de quitinase foi definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 µmol de N-acetilglicosamina por minuto. As análises foram conduzidas em triplicata.

Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Foi utilizado o programa Assistat 7.7 beta® (Silva & Azevedo 2009).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Isolamento e identificação

Os fungos foram isolados a partir da observação do crescimento micelial. Dos 270 fragmentos utilizados para isolamento dos fungos fitopatogênicos, 236 fragmentos (x %) foram colonizados, de onde foram 156 fungos em apenas sete dias de incubação. A taxa de colonização dos fragmentos foi de 87% (Figura 7). A alta taxa de colonização dos fragmentos indica a possibilidade de crescimento fúngico em meio de cultura, no entanto, 3% dos fragmentos não apresentaram colonização, isso ocorre devido ao fato de alguns fungos não se adaptarem às condições de meio de cultura ou só crescerem quando estão associados aos hospedeiros ou a temperaturas específicas (Freire, 2012).

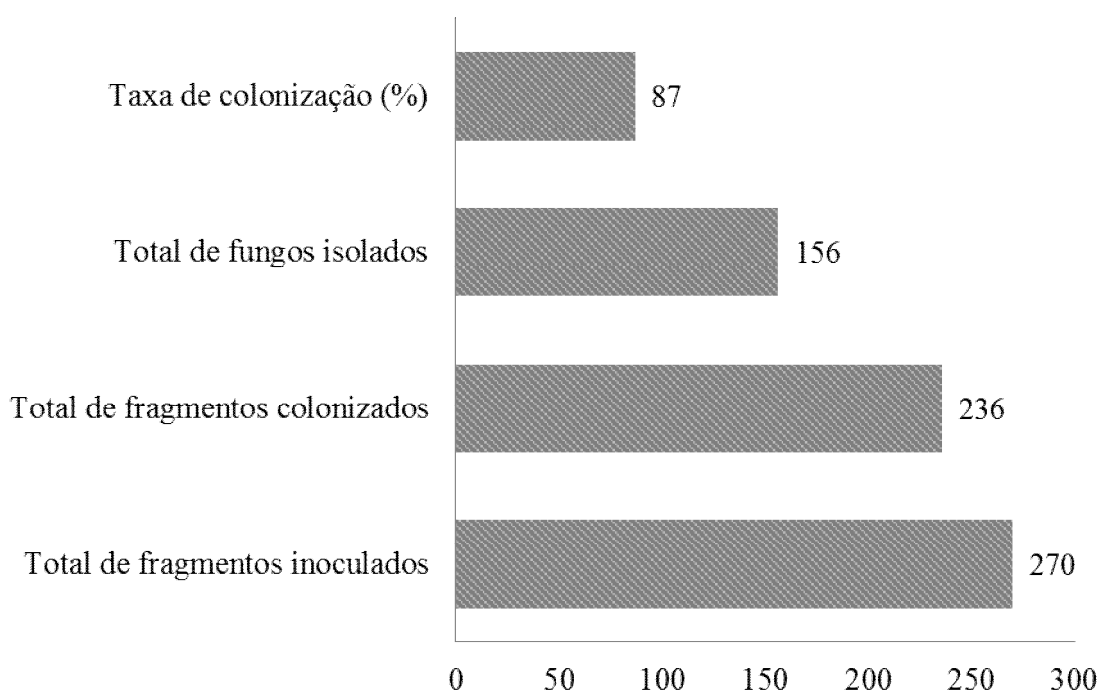


Figura 7. Taxa de colonização dos fragmentos de *N. cochenillifera* por fungos fitopatogênicos e total de fungos isolados a partir dos fragmentos colonizados.

A maioria das espécies isoladas é relatada como fungo fitopatogênico de palma forrageira e outros cactos. Os fungos isolados são pertencentes a sete gêneros, com predominância dos gêneros *Alternaria* (43,48%), *Fusarium* (12,81%) e *Scytalidium* (9,61%)

(Tabela 3). Fungos fitopatogênicos possuem um rápido crescimento micelial, o baixo índice de diversidade de gêneros isolados pode estar relacionado com o fato de que fungos que causam doenças em plantas são competidores de crescimento, diminuindo assim, a possibilidade de outros fungos que possuem um crescimento mais lento de se desenvolverem.

Uma das maiores incidências de isolados estão agrupadas como *Mycelia sterilia*, que assim como no trabalho realizado por Bomfim et al. (2013), também foi obtido um percentual significativo de fungos não esporulantes. Esse tipo de isolamento é frequente em regiões de clima tropical devido ao fungo não se adaptar a condições artificiais (Bezerra et al., 2013). Os outros gêneros com incidência relevante são pertencentes aos gêneros *Alternaria*, *Fusarium*, *Scytalidium* e *Curvularia* (Tabela 3). Fungos desses gêneros já foram isolados por Souza et al. (2010) causando doenças em *N. cochenillifera* e *Opuntia ficus-indica* no estado da Paraíba, região Nordeste do Brasil.

Dos fungos identificados, o gênero *Alternaria* foi o que obteve a maior frequência de isolamentos. A espécie *Aternaria alternata* causa doença em cactos conhecida como áalternarioseô, dentre os sintomas causados pela colonização deste fungo, podem ser observadas numerosas manchas pequenas, quase pretas, com formato circular. Os sintomas desta mesma doença causada pela espécie *Alternaria tenuissima* apresenta-se com lesões que se estendem de uma face a outra da raquete, com perfurações devido à queda do tecido infeccionado (Swart e Kriel, 2002).

O gênero *Alternaria* é reportado por Souza et al. (2010) causando doenças em *N. cochenillifera* e *Opuntia ficus-indica* no Brasil e Swart & Kriel (2002) e Farr et al. (1989) relatam o mesmo gênero causando doenças na África do Sul e Estados Unidos, respectivamente. Além dos cactos, o gênero *Alternaria* é relatado causando doenças em outras culturas como mandioca (Notaro et al., 2013), em plantas ornamentais como *Gerbera jamesonii* (Farhood & Hadian, 2012) e *Aloe vera* (Bajwa et al., 2010). A mancha de *Alternaria*, como é popularmente chamada, é de grande incidência em cultivares de palma forrageira, que levam a morte da planta devido a sua patogenicidade.

A partir da década de 1990, algumas doenças fúngicas foliares, pelo aumento da frequência e da severidade com que vêm ocorrendo, têm causado sensível redução qualitativa e quantitativa na produção de diversas culturas (Pinto, 2004). Espécies de *Fusarium* são responsáveis por 60% das podridões de colmo e das raízes (Gama, 2014).

Entre estas doenças e podridões está a *fusariose* que é uma das mais importantes doenças causadas por fungos comumente encontrados no solo, que pode causar podridão das sementes e redução da cultura (Mello et al., 2010).

No presente estudo, o gênero *Fusarium* obteve a segunda maior ocorrência nos isolados de fungos patógenos da palma forrageira. Nesta doença causada por *Fusarium* os cladódios da palma forrageira murcham e tombam sobre a planta poucos dias após a infecção, as raízes apodrecem, exibindo coloração marrom-avermelhada. Sua disseminação ocorre por raquetes-sementes infectadas, vento e água. Solos compactados e ácidos proporcionam maior severidade da doença (Menezes et al., 2005). Souza et al. (2010) relatam outra doença causada por *Fusarium*, a podridão ou murcha de *Fusarium* que vive no solo em forma de clamidósporos que germinam e atacam preferencialmente os cladódios da palma forrageira acarretando podridão nas raquetes da base da planta apodrecendo as raízes até o tombamento.

No Brasil, que é o segundo produtor de mandioca (Notaro et al., 2013), o gênero *Fusarium* é relatado como causador de podridão radicular desta cultura com perdas significativas entre 30 e 70% (Fakuda, 1991; Barros et al., 2014), além da murcha do feijão comum (Sala et al., 2005) e podridão pós colheita em maracujá amarelo (Fischer et al., 2007). Esse fitopatógeno é o principal produtor de micotoxinas em sementes de milho, destacando-se no grupo das fumonisinas (Wordell Filho, 2010), o que se torna um fator preocupante uma vez que a palma forrageira é usada para alimentação animal e humana em regiões de Caatinga.

Espécies do gênero *Fusarium* também são frequentemente isolados como fungos endofíticos (Bezerra et al., 2012; Bezerra et al., 2013; Ribeiro et al., 2014) que dependendo do estado fisiológico da planta, pode vir a exibir sintomas característicos da doença, denominando-se fitopatogênico.

Outro gênero que obteve frequência significativa foi *Scytalidium*. Este fungo teve sua primeira ocorrência como patógeno de mandioca descrita no Brasil (Laranjeira et al., 1994). Este gênero está associado à podridão escamosa em cladódios de palma forrageira (Lopes et al., 2007), causando lesões necróticas em mandacaru (*Cereus jamacaru*) (Freire, 2009). Estudos relatam essa espécie com importância biotecnológica na produção das enzimas β -glucosidase e celulasas (Desai et al., 1982; Desai et al., 1983). Porém,

Bomfim, Aline G. J. ï Controle de fungos fitopatogênicos de palma...

atualmente está relacionado com perdas significativas em culturas de mandioca no Brasil (Notaro et al., 2013).

Isolados do gênero *Curvularia* também foram obtidos. Souza et al. (2010) relatam espécies de *Curvularia* causando doenças em cladódios de palma forrageira. Também são relatadas como espécies fitopatogênicas em outros cactos como o pitahaya (*Hylocereus* spp.) (Valencia-Botín et al., 2013) e como causador de necroses em frutos e folhas de bananeira (Furtado, 2011), além de causar doenças em goiabeira (Junqueira et al., 2001).

A espécie *Curvularia eragrostidis*, também isolada neste estudo, tem sido relatada causando a queima das folhas do inhame, levando algumas vezes à perda total da produção (Moura, 2001). No entanto, espécies deste gênero são comumente isoladas como fungos endofíticos em diversas espécies de plantas, incluindo os cactos (Brady et al., 2000; Jadulco et al., 2002; Bezerra et al., 2012).

As espécies *Monodictys levis* e *Sordaria fimicola* são relatadas como primeira ocorrência de isolamento a partir de tecidos necrosados de palma forrageira. Não existem registros de doenças causadas às plantas por estes fungos. *Sordaria fimicola* é relatada por contaminar sementes e está associada a gramíneas (Varga e Nagy, 2008), isolada de solos desérticos (Ranzoni, 1968) e do solo de oásis do Mar Morto (Steiman et al., 1997). A espécie *Monodictys levis* foi apenas relatada por Suryanarayanan e Venkatesan (2002) como endofítico em plantas de florestas tropicais.

Doenças de plantas são tratadas inicialmente com defensivos agrícolas, no entanto, o controle biológico de doenças de plantas visa a utilização de meios alternativos e eficazes que diminuam os custos e os danos causados pelo uso de produtos de natureza química. Segundo Tenorio et al. (2012), uma alternativa está associada ao tipo de controle que faz uso de micro-organismos antagonistas com ação em alguns tipos de patógenos. Para estudos preliminares, o pareamento entre antagonista e patógeno é uma técnica útil para a seleção inicial de fungos potencialmente antagonistas (Lima, 2013).

Fungos endofíticos, principalmente os isolados de plantas crescendo em FTS, vêm sendo relatados com uma diversidade de atuações, entre estas, podemos citar o uso no controle biológico. No presente estudo, fungos endofíticos isolados de cactáceas nativas da Caatinga, mostraram-se eficientes em testes de antagonismo quando testados frente a patógenos de *Nopalea cochenillifera* (palma forrageira).

O resultado de quase 100% de atividade antagônica dos fungos endofíticos contra fitopatogênicos de palma forrageira vem corroborar com estudos realizados por Albuquerque (2014) onde foi obtido um resultado significativo com o uso de fungos endofíticos isolados de planta da Caatinga e testados contra fungos patogênicos de *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae).

Tabela 3. Frequências absoluta (fa) e relativa (fr) de fungos fitopatogênicos isolados *N. cochenillifera* cultivada em área de floresta tropical seca no Brasil.

Fungos	Frequência (fa)*	Frequência (fr)**
<i>Alternaria alternata</i>	56	35,89%
<i>A. tenuissima</i>	12	7,69%
<i>Curvularia lunata</i> var. <i>aerea</i>	1	0,64%
<i>C. lunata</i>	2	1,28%
<i>C. pallescens</i>	2	1,28%
<i>Pseudocochliobolus eragrostidis</i>	2	1,28%
<i>Fusarium oxysporum</i>	2	1,28%
<i>F. lateritium</i>	18	11,53%
<i>Scytalidium lignicola</i>	15	9,61%
<i>Monodictys levis</i> ***	2	1,28%
<i>Sordaria fimicola</i> ***	2	1,28%
<i>Mycelia sterilia</i>	42	26,92%
Total de isolados	156	100%
Total de táxons	6	-
Total de espécies	11	-

* A frequência absoluta se dá pelo número de vezes que o fungo foi isolado.

** A frequência relativa se dá pelo número total da espécie dividido pelo número total de isolados.

*** *Monodictys levis* e *Sordaria fimicola* não patogênicos de palma forrageira.

As espécies *Monodictys levis* e *Sordaria fimicola* são relatadas como primeira ocorrência de isolamento para palma forrageira. Não existem registros de doenças causadas por esses fungos no cacto. Até o momento também não foi comprovada a sua patogenicidade.

Potencial antagônico de fungos endofíticos frente a fungos fitopatogênicos

As 20 espécies de fungos endofíticos utilizadas no teste, apresentaram potencial antagônico frente aos fungos fitopatogênicos. A atividade antagônica foi analisada diante de três parâmetros: inibição (Figura 8), parasitismo e competição.

O antagonismo por inibição foi o que apresentou melhor desempenho contra os fungos fitopatogênicos testados (Tabela 4). As espécies que obtiveram resultados mais significativos foram *Aspergillus tamarii* e *Penicillium griseofulvum* inibidoras de todos os isolados de fungos fitopatogênicos utilizados no teste. Trabalhos abordando os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* para antagonismo de fungos fitopatogênicos ainda são escassos. A maioria dos trabalhos envolvendo inibição estão voltados para atividades antibacterianas como o realizado por Silva et al. (2010) relatam a atividade antimicrobiana de várias espécies do gênero *Penicillium* a bactérias multirresistentes.

Aspergillus niger (URM6870), *A. ochraceus* (URM6869), *A. parasiticus* (URM6868), *A. versicolor* (URM6865), *Cladosporium sphaerospermum* (URM6862), *P. chrysogenum* (URM6831), *P. commune* (URM6845) e *Purpureocillium lilacinus* (URM6818) foram os endófitos que demonstraram 90% de inibição e as espécies que apresentaram o segundo melhor potencial antagônico, inibindo nove dos 10 fungos testados. *Purpureocillium lilacinus* é conhecido por sua capacidade nematocida (Wilson & Jackson, 2013). No presente trabalho, a espécie apresentou um resultado significativo na inibição de fitopatógenos de palma forrageira. Este mesmo fungo, isolado de Cnidários no Mar da China é relatado por Zhang et al. (2012) com potencial antimicrobiano a três bactérias marinhas e com atividade antifúngica a dois patógenos de Gorgonian marinho (Cnidaria). *Penicillium minioluteum* (URM6889), *Aspergillus* sp. e *Cladosporium cladosporioides* (URM6859) inibiram 80% dos fungos fitopatogênicos. A espécie *Cladosporium sphaerospermum* inibiu o crescimento de cinco das seis espécies de patógenos testados. Velasco et al. (2005) relataram a eficiência do antagonismo pelo gênero *Cladosporium* contra *Puccinia horiana* Henn. agente causal da ferrugem branca do crisântemo.

Cladosporium cladosporioides apresentou atividade inibitória de quatro das seis espécies de patógenos. Na literatura, não existem relatos do uso destes fungos no controle de fitopatógenos de palma forrageira. No entanto, pode-se citar o trabalho realizado por Angélico (2012) que avaliou a potencialidade de *C. cladosporioides* como bioprotetor da

Bomfim, Aline G. J. ÿ Controle de fungos fitopatogênicos de palma...

qualidade do café, a espécie inibiu consideravelmente o crescimento de outros fungos nos frutos. *Aspergillus japonicus* (URM6873), *Syncephalastrum racemosum* (URM6819) e *Tritirachium dependens* (URM6822) apresentaram inibição de 20%. O menor índice de inibição foi da espécie *Cunninghamella echinulata* que demonstrou apenas 10% de inibição dos isolados utilizados no teste de antagonismo.

Tabela 4. Fungos endofíticos que apresentaram antagonismo por inibição do crescimento dos fungos fitopatogênicos de *N. cochenillifera*

Atividade	Fungo endofítico	Fungos fitopatogênicos
Inibição	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Fusarium lateritium</i>
		<i>Curvularia lunata</i> var <i>aeria</i>
		<i>C. luanata</i>
		<i>C. eragrostidis</i>
	<i>Aspergillus japonicus</i> (URM6873)	<i>Curvularia lunata</i> var <i>aeria</i>
		<i>C. luanata</i>
	<i>A. niger</i> (URM6870)	<i>Fusarium lateritium</i>
		<i>Alternaria laternata</i>
		<i>Curvularia lunata</i> var <i>aeria</i>
		<i>C. luanata</i>
		<i>C. eragrostidis</i>
	<i>A. ochraceus</i> (URM6869)	<i>Fusarium lateritium</i>
		<i>Alternaria laternata</i>
		<i>Curvularia lunata</i> var <i>aeria</i>
		<i>C. luanata</i>
		<i>C. eragrostidis</i>
	<i>A. parasiticus</i> (URM6868)	<i>Fusarium lateritium</i>
		<i>Alternaria laternata</i>
		<i>Curvularia lunata</i> var <i>aeria</i>
		<i>C. luanata</i>
		<i>C. eragrostidis</i>
	<i>A. tamarii</i>	<i>Fusarium lateritium</i>
		<i>Alternaria laternata</i>

	<i>Curvularia lunata</i> var <i>aeria</i>
	<i>C. lunata</i>
	<i>C. eragrostidis</i>
	<i>Scytalidium lignicola</i>
<i>A. versicolor</i> (URM6865)	<i>Fusarium lateritium</i>
	<i>Alternaria laternata</i>
	<i>Curvularia lunata</i> var <i>aeria</i>
	<i>C. lunata</i>
	<i>C. eragrostidis</i>
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (URM6859)	<i>Fusarium lateritium</i>
	<i>Curvularia lunata</i> var <i>aeria</i>
	<i>C. lunata</i>
	<i>C. eragrostidis</i>
<i>C. sphaerospermum</i> (URM6862)	<i>Fusarium lateritium</i>
	<i>Alternaria laternata</i>
	<i>Curvularia lunata</i> var <i>aeria</i>
	<i>C. lunata</i>
	<i>C. eragrostidis</i>
<i>Cunninghamella echinulata</i>	<i>Curvularia lunata</i> var <i>aeria</i>
<i>Penicillium chrysogenum</i> (URM6831)	<i>Fusarium lateritium</i>
	<i>Alternaria laternata</i>
	<i>Curvularia lunata</i> var <i>aeria</i>
	<i>C. lunata</i>
	<i>C. eragrostidis</i>
<i>P. commune</i> (URM6845)	<i>Fusarium lateritium</i>
	<i>Alternaria laternata</i>
	<i>Curvularia lunata</i> var <i>aeria</i>
	<i>C. lunata</i>
	<i>C. eragrostidis</i>
<i>P. griseofulvum</i>	<i>Fusarium lateritium</i>
	<i>Alternaria laternata</i>
	<i>Curvularia lunata</i> var <i>aeria</i>
	<i>C. lunata</i>
	<i>C. eragrostidis</i>

P. minioluteum(URM6889)*Fusarium lateritium**Alternaria laternata**Curvularia lunata* var *aeria**C. luanata**C. eragrostidis**Purpureocillium lilacinus*
(URM6818)*Fusarium lateritium**Alternaria laternata**Curvularia lunata* var *aeria**C. luanata**C. eragrostidis**Synccephalastrum racemosum*
(URM6819)*C. eragrostidis**Scytalidium lignicola**Tritirachium dependens*
(URM6822)*Alternaria laternata*

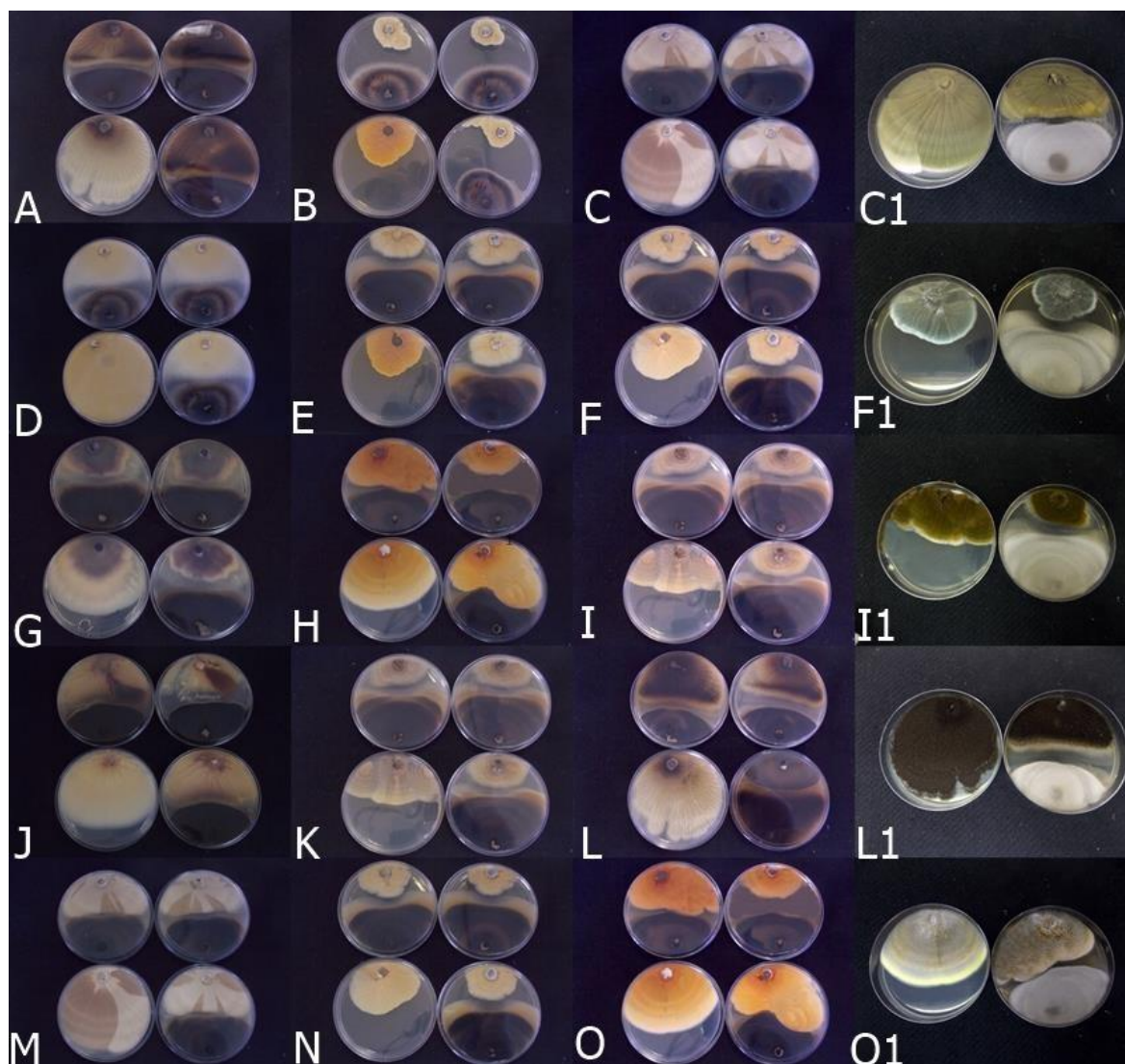


Figura 8. Antagonismo por inibição. A- *Aspergillus niger* x *Alternaria alternata*; B- *Penicillium chrysogenum* x *Curvularia luanata* var *aerea*; C/C1- *A. parasiticus* x c; D- *Cunninghamella echinulata* x *C. luanata* var *aérea*; E- *P. chrysogenum* x *A.alternata*; F/F1- *P. commune* x *A. alternata*; G- *Purpureocillium lilacinus* x *A.alternata*; H- *P. minioluteum* x *A. alternata*; I/I1- *A. tamarii* X *A.alternata*; J- *A.Ochraceus* x *A. alternata*; K- *A. tamarii* X *A.alternata*; L/L1- *A. niger* x *A. alternata*; M- *A. parasiticus* x *A. alternata*; N- *P. commune* x *A. alternata*; O- *P. minioluteum* x *A. alternata*.

No antagonismo por parasitismo (Tabela 5) as espécies *Trichoderma longibrachiatum* e *Tetraploa aristata* obtiveram percentual de 100% de atividade antagônica para os 10 isolados de fitopatógenos, seguido das espécies *Syncephalastrum racemosum* (URM6819) (80%) e *Cunninghamella echinulata* (50%) que apresentaram antagonismo em oito e cinco dos 10 patógenos, respectivamente. Fungos representantes dos Zygomycota são conhecidos por seu potencial na produção de enzimas lipase, endoglucanases (Amorima et al., 2003; Wonganua et al., 2008). Até o momento, atividades por antagonismo não foram relatadas por estes gêneros/grupos de fungos. *Aspergillus* sp. e

Bomfim, Aline G. J. ï Controle de fungos fitopatogênicos de palma...

Aspergillus japonicus (URM6873) obtiveram atividade antagonica de 10% dos fitopatógenos com o menor índice de antagonismo por parasitismo.

O gênero *Trichoderma*, apesar de ser utilizado em larga escala para o controle biológico (Dilley et al., 2012), não apresentou potencial por inibição. A espécie *Trichoderma longibrachiatum* obteve atividade antagonica por competição frente à *Scytalidium lignicola* e atividade por parasitismo nas demais espécies utilizadas no teste. Estudos realizados por Mejía et al. (2008) corroboram ao resultado obtido neste estudo, onde o gênero *Trichoderma* apresentou apenas potencial de parasitismo quando testados contra patógenos do cacau.

A espécie *Cladosporium cladosporioides* apresentou antagonismo contra *F. lateritium* e *A. alternata*. Resultados obtidos por Moricca et al. (2001) comprovam a eficiência do gênero *Cladosporium* em antagonismo por parasitismo, em seu estudo foi analisada a capacidade do gênero de inibir o crescimento do fungo causador da ferrugem do pinheiro na Europa. No entanto, em análise, foi observado que o fungo parasitou e impediu o crescimento dos aeciosporos tanto *in vitro* e quando inoculados na própria planta. Moricca et al. (2001) ainda descreveram sobre a capacidade de parasitismo do gênero *Cladosporium* sobre o crescimento de diversos fitopatógenos. Na Figura 9 pode ser observado alguns resultados do antagonismo por parasitismo.

Tabela 5. Fungos endofíticos que apresentaram antagonismo por parasitismo do crescimento dos fungos fitopatogênicos de *N. cochenillifera*.

Atividade	Fungo Endofítico	Fungos fitopatogênicos
Parasitismo	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Alternaria laternata</i>
	<i>Aspergillus japonicus</i> (URM6873)	<i>Fusarium lateritium</i>
	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (URM6859)	<i>Fusarium lateritium</i> <i>Alternaria laternata</i>
	<i>Cunninghamella echinulata</i>	<i>Fusarium lateritium</i> <i>Curvularia luanata</i> <i>C. eragrostidis</i>
	<i>Syncephalastrum racemosum</i>	<i>Fusarium lateritium</i>

(URM6819)	<i>Alternaria laterata</i> <i>Curvularia lunata</i> var <i>aeria</i> <i>C. luanata</i>
<i>Tetraploa aristata</i>	<i>Fusarium lateritium</i> <i>Alternaria laterata</i> <i>Curvularia lunata</i> var <i>aeria</i> <i>C. luanata</i> <i>C. eragrostidis</i> <i>Scytalidium lignicola</i>
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	<i>Fusarium lateritium</i> <i>Alternaria laterata</i> <i>Curvularia lunata</i> var <i>aeria</i> <i>C. luanata</i> <i>C. eragrostidis</i> <i>Scytalidium lignicola</i>

O antagonismo por competição foi o menos frequente entre as espécies de fungos endofíticos (Tabela 6)(Figura 9). As espécies *Aspergillus japonicus* (URM6873) (40%) e *Cunninghamella echinulata* (30%) obtiveram o maior índice. Com menor índice antagônico por parasitismo, as espécies *Aspergillus ochraceus* (URM6869), *Aspergillus versicolor* (URM6865), *Aspergillus parasiticus* (URM6868), *Cladosporium cladosporioides* (URM6859), *Cladosporium sphaerospermum* (URM6862), *Penicillium chrysogenum* (URM6831), *Penicillium griseofulvum*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Tritirachium dependens* (URM6822), *Syncephalastrum racemosum* (URM6819), *Aspergillus* sp. e *Purpureocillium lilacinus* (URM6818) apresentaram 10% de atividade antagônica por competição.

Tabela 6. Fungos endofíticos que apresentaram antagonismo por competição do crescimento dos fungos fitopatogênicos de *N. cochenillifera*.

Atividade	Fungo Endofítico	Fungos fitopatogênicos
Competição	<i>Acremonium pteridii</i>	<i>Fusarium lateritium</i> <i>Alternaria laterata</i> <i>Curvularia lunata</i> var <i>aeria</i> <i>C. luanata</i> <i>C. eragrostidis</i>

<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Scytalidium lignicola</i>
<i>Aspergillus japonicus</i>	<i>Fusarium lateritium</i>
	<i>Alternaria laternata</i>
	<i>C. eragrostidis</i>
<i>A. niger</i>	<i>Scytalidium lignicola</i>
<i>A. ochraceus</i>	<i>Scytalidium lignicola</i>
<i>A. parasiticus</i>	<i>Scytalidium lignicola</i>
<i>A. versicolor</i>	<i>Scytalidium lignicola</i>
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Scytalidium lignicola</i>
<i>C. sphaerospermum</i>	<i>Scytalidium lignicola</i>
<i>Cunninghamella echinulata</i>	<i>Alternaria laternata</i>
	<i>Scytalidium lignicola</i>
<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Scytalidium lignicola</i>
<i>P. commune</i>	<i>Scytalidium lignicola</i>
<i>P. griseofulvum</i>	<i>Scytalidium lignicola</i>
<i>P. minioluteum</i>	<i>Fusarium lateritium</i>
	<i>Scytalidium lignicola</i>
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	<i>Scytalidium lignicola</i>
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	<i>Alternaria laternata</i>
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	<i>Scytalidium lignicola</i>
<i>Tritirachium dependens</i>	<i>Fusarium lateritium</i>
	<i>Curvularia lunata</i> var <i>aeria</i>
	<i>C. luanata</i>
	<i>C. eragrostidis</i>
	<i>Scytalidium lignicola</i>

Todas as 20 espécies de fungos endofíticos isolados de cactáceas mostraram-se eficientes diante das seis espécies de fungos fitopatogênicos isolados de *N. coecheenillifera* cultivada em área de Caatinga. No entanto, antagonismo por competição e por parasitismo não se mostram tão eficazes quanto aos que apresentaram antagonismo por inibição. Schulz e Boyle (2005), afirmam que cerca de 80% dos fungos endofíticos produzem compostos biologicamente ativos como: antibacterianos, fungicidas e herbicidas, o que vem a correlacionar e afirmar o presente estudo onde 17 das 20 espécies de fungos

endofíticos apresentaram potencial de inibição de pelo menos um dos micro-organismos patogênicos. Os dados obtidos no presente estudo podem ser observados na Tabela 7 onde estão apresentadas todas as atividades antagônicas dos fungos endofíticos frente a fungos fitopatogênicos isolados de *N. cochenilifera*.

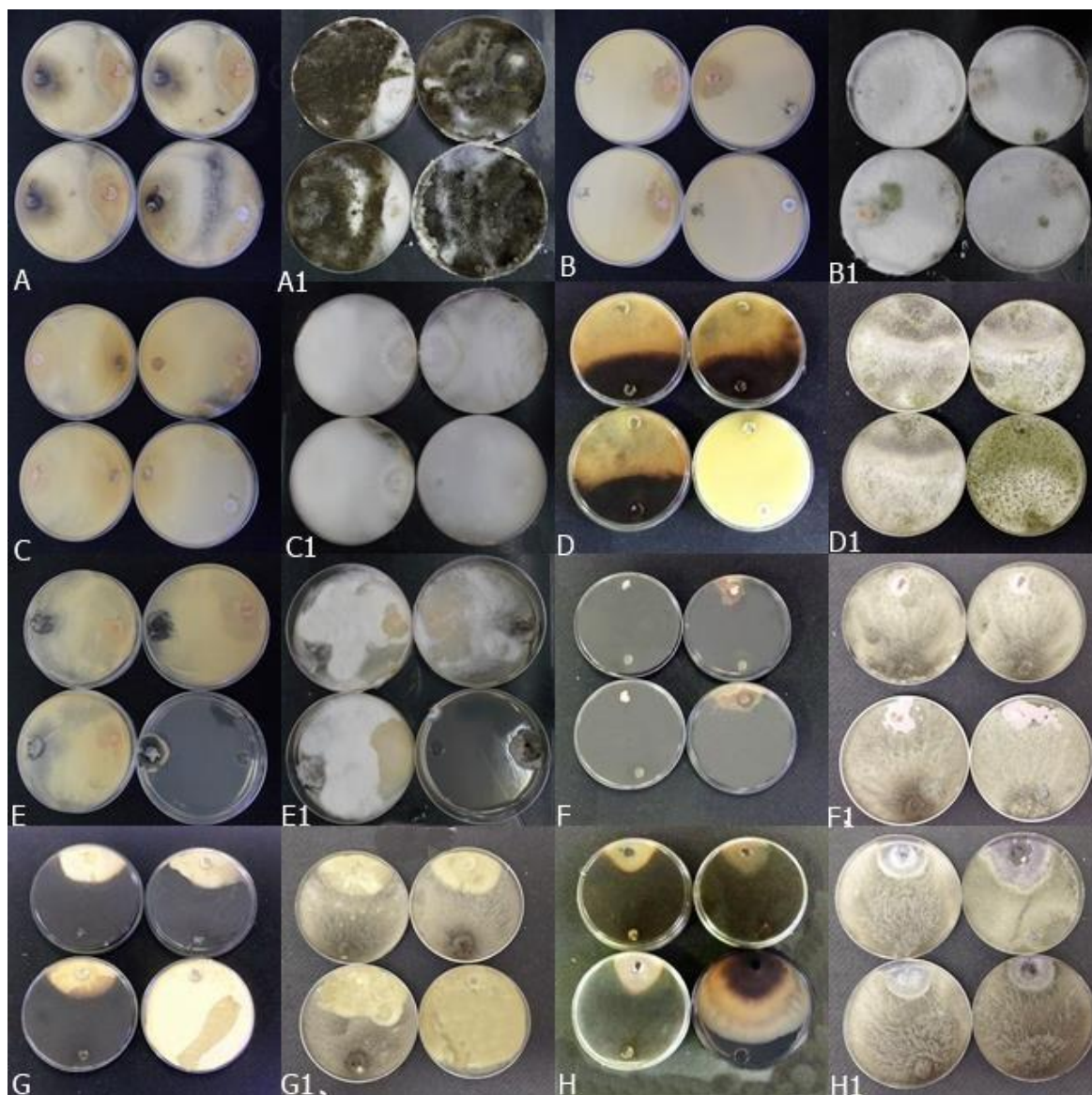


Figura 9: Antagonismo por parasitismo (A-D1) e antagonismo por competição (E-H1). A/A1- *Aspergillus niger* x *Fusarium lateritium*; B/B1- *Trichoderma longibachiatum* x *F. lateritium*; C/C1- *Cunninghamella echinulata* x *F. lateritium*; D/D1- *T. longibachiatum* x *Scytalidium lignicola*; E/E1- *Cladosporium cladosporioides* x *F. lateritium*; F/F1- *Tritirachium dependens* x *S. lignicola*; G/G1- *A. parasiticus* x *S. lignicola*; H/H1- *Purpureocillium lilacinum* x *S. lignicola*.

Tabela 7. Interações antagônicas dos fungos endofíticos frente a seis espécies de fungos fitopatogênicos.

Fungos Endofíticos	Fungos fitopatogênicos					
	<i>Fusarium lateritium</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Curvularia lunata</i> var. <i>aeria</i>	<i>C. Lunata</i>	<i>C. eragrostidis</i>	<i>Scytalidium lignicola</i>
<i>Acremonium pteridii</i>	C	C	C	C	C	-
<i>Aspergillus</i> sp.	I	P	I	I	I	C
<i>Aspergillus japonicus</i>	C/P	C	I	I	C	C
<i>A. niger</i>	I/C	I	I	I	I	C
<i>A. ochraceus</i>	I	I	I	I	I	C
<i>A. parasiticus</i>	I	I	I	I	I	C
<i>A. tamarii</i>	I	I	I	I	I	I
<i>A. versicolor</i>	I	I	I	I	I	C
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	P/I	P	I	I	I	C
<i>C. sphaerospermum</i>	I	I	I	I	I	C
<i>Cunninghamella echinulata</i>	P	C/P	I	P	P	C
<i>Penicillium chrysogenum</i>	I	I	I	I	I	C
<i>P. commune</i>	I	I	I	I	I	C
<i>P. griseofulvum</i>	I	I	I		I	C/I
<i>P. minioluteum</i>	C	I	I	I	I	C
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	I	I	I	I	I	C
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	P	C/P	P	P	I	I
<i>Tetraploa aristata</i>	P	P	P	P	P	P
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	P	P	P	P	P	C/P
<i>Tritirachium dependens</i>	C/I	I	C	C	C	C

C : Competição / I: Inibição / P: Parasitismo

O resultado de quase 100% de atividade antagônica dos fungos endofíticos contra fitopatogênicos de palma forrageira vem corroborar com os estudos realizados por Albuquerque (2014) onde foi obtido resultado significativo com o uso de fungos endofíticos

Bomfim, Aline G. J. ÿ Controle de fungos fitopatogênicos de palma...

isolados de planta da Caatinga e testados contra fungos patogênicos de *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae).

Produção de quitinase por fungos endofíticos em fermentação submersa

Para a produção de quitinase, foram testados 20 fungos endofíticos, isolados de cactáceas cultivada na Caatinga. Estes apresentaram atividade enzimática variando de 0,20-4,28 (U/mL) em 96h de fermentação (Tabela 8). *Aspergillus parasiticus* URM6868, foi a espécie que obteve maior atividade enzimática apresentando 4,28 (U/mL) em 72 horas de cultivo.

Avaliando a atividade de quitinase por *Aspergillus niger* Brzezinska e Jankiewicz (2012) descrevem a espécie com produtora de quitinase em unidades aproximadas das obtidas neste estudo. Quando avaliaram a atividade em 72h de incubação, foi obtida atividade de 5,00 (U/mL), resultados próximos aos obtidos por com *A. parasiticus* que foi de 4,28 (U/mL) no mesmo tempo de incubação.

Muitas espécies dos gêneros *Aspergillus* são utilizadas para a obtenção de enzimas, na biossíntese química e na transformação de compostos. As espécies *Aspergillus* sp., *Aspergillus japonicus* URM 6873, *A.niger* URM 6870, *A. ochraceus* URM 6869, *A. parasiticus* urm 6868, *A. tamarii* e *A. versicolor* URM 6865 apresentaram atividade para a quitinase variando de 0,21-4,28 (U/mL). Rattanakit et al. (2002), obtiveram 1,85 (U/mL) utilizando resíduos de casca de camarão como substrato para a produção de quitinase por espécies do gênero *Aspergillus*. Patidar et al. (2005) analisando as espécies *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger* isolados do solo de campos de secagem de camarão, obsevaram boa atividade quitinolítica. A espécie de *Aspergillus niger* do presente estudo apresentou 1,69 (U/mL) após 24h de incubação.

As espécies de *Trichoderma* são relatadas como boas produtoras de metabólitos, estas também, produzem quitinase importante na degradação e na lise da parede celular de fungos fitopatogênicos.(Martins-Corder & Melo, 1998). Os resultados aqui obtidos mostram a importância deste gênero como produtor de quitinase com 2,224 U/ml em 96h de incubação. Guthrie e Castle (2006) estudando a atividade enzimática de *Trichoderma aggressivum* e *Agaricus bisporus* relatam que o *Trichoderma* obteve atividade significativa no estudo e afirmam que a capacidade para produzir quitinase pode variar entre espécies.

Espécies de *Penicillium* são citadas como boas produtoras de quitinase. Fenice et al. (1998) obtiveram altos índices de atividade enzimática por *Penicillium janthinellum*

Bomfim, Aline G. J. ï Controle de fungos fitopatogênicos de palma...

após otimização na produção da enzima. Giambattista et al (2001) utilizando a mesma espécie de *Penicillium*, obtiveram atividade superior a 6,0 U/ml.

Binod et al. (2005) relataram que *Penicillium aculeatum* como bom produtor da enzima após 72h de incubação. Lee et al. (2009) mostraram que a maior atividade da quitinase por *Penicillium* sp. foi observada no terceiro dia de cultivo confirmando os resultados obtidos neste estudo onde, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium commune* e *Penicillium griseofulvum* apresentaram maior atividade com 72h de cultivo. Os resultados obtidos nessa pesquisa mostram a importância deste gênero como produtor de quitinase, contudo a atividade enzimática, entre os isolados do gênero *Penicillium* a produção variou entre 0,59-1,56 (U/mL).

A espécie de *Acremonium* isoladas por Roberts et al. (1992) como espécie endofítica de *Festuca arundinacea* uma gramínea perene e resistente a ambientes estressados foram testadas quanto a resistência e produção de quitinase, obsevou-se que *Acremonium coenophialum* foi a espécie que obteve a melhor atividade enzimática. A atividade de quitinase analisada por espectroscopia de reflectância no infravermelho mostrou 0,90-7,2 (U/mL). Gunaratna e Balasubramanian (1994) avaliaram o potencial antagônico de *Acremonium obclavatum*, para a ferrugem do amendoim, foi eficiente na produção da enzima quitinase em meio de cultura contendo quitina coloidal onde foram obtidos 49,0 U/mL. Os resultados obtidos no estudo atual, não diferem das obtidas por Gunaratna e Balasubramanian (1994) quando *Acremonium pteridii* URM 6838 mostrou atividade de 0,74 (U/ml) após 72h de cultivo.

Cunninghamella echinulata apresentou atividade significativa para a quitinase a partir da análise de 24h de fermentação 2,05 (U/mL) no entanto, houve um decréscimo até a análise de 96h. Este decréscimo pode estar relacionado com a diminuição da fonte de quitina do meio de cultura uma vez que fungos do filo Zygomycota, em sua grande maioria, possuem rápido crescimento micelial, consumindo assim a glicose rapidamente. O gênero *Cunninghamella* é conhecido por seu potencial na produção de metabólitos como as enzimas lipase, endoglucanases (Amorima et al., 2003; Wonganua et al., 2008), no entanto, assim como o gênero *Cladosporium*, não são encontrados na literatura trabalhos que indiquem atividade quitinolítica destes gêneros.

Os resultados aqui apresentados são de extrema importância para o conhecimento do potencial dos fungos endofíticos isolados de plantas de ambientes secos quanto à

Bomfim, Aline G. J. ï Controle de fungos fitopatogênicos de palma...

capacidade de produzir metabólitos. A verificação da produção e caracterização destes metabólitos produzidos por esses fungos é de extrema importância, a fim de se obter novos compostos de origem biológica para ser aplicado no controle de doenças.

Tabela 8. Atividade enzimática de quitinase em fermentação submersa por fungos endofíticos isolados de cactáceas

URM	Fungo endofítico	Atividade (U/mL)			
		DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4
6838	<i>Acremonium pteridii</i>	0,562	0,624	0,746	0,705
6873	<i>Aspergillus japonicus</i>	0,230	0,542	2	2,325
6870	<i>A. niger</i>	1,691	0,922	0,22	0,224
6869	<i>A. ochraceus</i>	0,214	0,261	0,474	1,244
6868	<i>A. parasiticus</i>	0,21	3,576	4,281	3,308
-	<i>Aspergillus. sp.</i>	0,264	0,868	2,815	1,881
-	<i>A. tamarii</i>	0,885	2,62	1,386	0,203
6865	<i>A. versicolor</i>	0,217	0,393	0,315	0,264
6859	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	0,715	0,810	0,834	0,800
6862	<i>C. sphaerospermum</i>	0,627	0,671	0,874	0,766
-	<i>Cunninghamella echinulata</i>	2,047	1,244	1,169	0,227
6831	<i>Penicillium chrysogenum</i>	0,789	0,668	1,393	0,793
6845	<i>P. commune</i>	0,593	0,678	0,759	0,647
-	<i>P. griseofulvum</i>	1,569	0,569	1,067	0,773
6889	<i>P. minioluteum</i>	0,749	0,749	0,891	1,322
6818	<i>Purpureocillium lilacinus</i>	0,705	0,824	0,932	0,925
6819	<i>Syncephalastrum racemosum</i>	0,210	0,200	0,224	0,244
-	<i>Tetraploa aristata</i>	0,783	0,752	0,824	0,763
-	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	0,207	0,224	0,217	2,224
6822	<i>Tritirachium dependens</i>	0,207	0,203	0,203	0,203

Teste de Tukey com nível de significância de 5%. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

5. CONCLUSÕES

O estudo de fungos fitopatogênicos é de extrema relevância. Principalmete em plantas de ambientes secos que devido a sua fisiologia, estão mais susceptíveis ao ataque de patógenos. A identificação destes patógenos vem contribuir com o conhecimento da comunidade científica e da população para propor a inovação de estratégias para combater os fitopatógenos.

O teste de antagonismo *in vitro* utilizando fungos endofíticos de cactáceas isolados do mesmo ambiente foram testados como possíveis biocontroladores destes patógenos mostrando-se eficientes contra fungos fitopatogênicos de *N. cochenillifera*. *Aspergillus tamarii* e *Penicillium griseofulvum* foram os que apresentaram maior atividade antagônica.

Fungos endofíticos isolados de cactáceas possuem a capacidade de produzir quitinase. *Aspergillus parasiticus* URM6868 foi o fungo endofítico que apresentou maior habilidade para síntese da quitinas e por isso, é indicada para estudos mais detalhados de produção desta enzima. Os endófitos aqui testados são de extrema importância para pesquisa de produção enzimática tornando-os assim promissores no controle biológico de fungos de interesse agrícola.

REFERÊNCIAS

- Ait-Lahsen, H., Soler, A., Rey, M. de la Cruz J, Monte E, Llobell A. 2001. An antifungal exo-a 1,3 glucanase (AGN13.1) *Applied Environmental Microbiology*, v. 67, n. 12, 5833-5839
- Albuquerque, G. M. R. 2014. *Controle biológico de fungos fitopatogênicos da palma forrageira (Cactaceae) por endófitos isolados de planta da caatinga. Monografia de conclusão de curso*. Universidade Federal de Pernambuco. Recife-PE. 53p.
- Albuquerque, U.P de, Andrade, L. de H. 2002. Conhecimento botânico tradicional e conservação em uma área de caatinga no estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. *Acta Bot. bras.* 16, n. pp. 273-285.
- Almeida, R.F., 2012. Palma forrageira na alimentação de ovinos e caprinos no semiárido brasileiro. *Revista Verde* (Mossoró ÿ RN), v. 7, n. 4, pp. 08-14, out-dez.
- Alves, S.B.; Almeida, J.E.M. 1997. *Controle biológico das pragas das pastagens*. Simpósio sobre ecossistema de pastagens, 3.1997, Jaboticabal, SP. Anais. Jaboticabal. pp.318-341.
- Amorima, R.V.S.; Melo, E.S.; Carneiro-da-Cunha, M.G.; Ledinghama, W.M.; Campos-Takacic, G.M. 2003. Chitosan from *Syncephalastrum racemosum* used as a film support for lipase immobilization. *Biores. Tech.* v 89, n.1, pp 35-39.
- Angélico, C.L. 2012. *Aplicação do agente Cladosporium cladosporioides (Fresen) de Vries ñCladosporinõ como bioprotetor da qualidade do café (Coffea arábica L.). Tese de Doutorado*. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. Universidade de Lavras ÿ MG. 320p.
- Araújo, W.L., Marcon, J., Maccheroni Junior, W., Elsas, J.D.V., Vuurde, J.W.L., Azevedo, J.L. 2002. Diversity of endophytic bacterial populations and their interaction 175 with *Xylella fastidiosa* in citrus plants. *Applied and Environmental Microbiology* 68, n.176 4906-4914.
- Associação Caatinga. A caatinga. Caatinga: um bioma exclusivamente brasileiro. Disponível em: <<http://www.acaatinga.org.br/index.php/o-bioma/sobre-o-bioma/caracterizacao/>>. Acesso em 19 de novembro de 2014.
- Barbera, G. 2001. *Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira*. Paraíba SEBRAE/PB, p. 1-11.
- Barbera, G., Inglese, P., Barrios, E. 1999. Agroecología, cultivos y usos del nopal. *Estudio FAO producción y protección vegetal*. Roma: FAO, (mimeo).
- Barbosa, A. da S., Andrade, A. P. de. 2009. *Cactaceae: Uma Breve Descrição e Ecologia de Algumas Cactáceas de Ocorrência no Semiárido Paraibano, Brasil*. Disponível em: <<http://www.insa.gov.br/grupodepesquisa-lavouraxerofila>>
- Barbosa, M., Mayo, S., Castro, A., Freitas, G., Pereira, M., Neto, P.; Moreira, H. 1996. Checklist preliminar das angiospermas. *Pesquisa botânica nordestina. Progresso e perspectivas*. pp. 253-415
- Barbosa, R.S., Cavalcanti, V.A.L.B., Lopes, E.B. 2007. E. Doenças da Palma. In: *Palma Forrageira: Cultivo, Uso Atual e Perspectivas de Utilização no Semi-árido Nordeste*. pp. 46-55. João Pessoa-PB.
- Barros, J. A., Medeiros, E.V., Notaro, K.A., Moraes, W.S. Silva, J.M. Nascimento, T.C.E.S., Moreira, K.A. 2014. Different cover promote sandy soil suppressiveness to root rot disease of cassava caused by *Fusarium solani*. *Afr. J. Microbiol. Res.* v. 8, n. 10, pp. 967-973.
- Barthlott, W.; Hunt, D.R. 1993. Cactaceae. The Families and Genera of Vascular Plants. *Kubitzki, K. Berlin: Springer-Verlag.* v 2. pp.161-196.
- Bezerra, J.D.P., Lopes, D.H.G., Santos, M.G.S., Svedese, V.M., Paiva, L.M., Almeida-Cortez. J.S.A., Souza-Motta, C.M. 2012. Riqueza de micro-organismos endofíticos em espécies da

- família Cactaceae. *Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas*. v 9, p. 19-23.
- Bezerra, J.D.P., Santos, M.G.S., Barbosa, R.N., Svedese, V.M., Lima, D.M.M., fernandes, M.J.S., Gomes, B.S., Paiva, L.M., Almeida-Cortez, J.S., Souza-Mota, C.M. 2013. Fungal endophytes from cactus *Cereus jamacaru* in Brazillian tropical dry forest: a first study. *Symbiosis*. 60, pp. 53-63.
- Bezerra, J.D.P., Santos, M.G.S., Svedese, V.M., Lima, D.M.M., Fernandes, M.J.S., Paiva, L.M., Souza-motta, C.M. 2012. Richness of endophytic fungi isolated from *Opuntia ficus-indica* Mill. (Cactaceae) and preliminary screening for enzyme production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. v. 28, pp1989-1995.
- Bezirganoglu I, Hwang S.Y., Fang T.J., Shaw J.F. 2013. Transgenic lines of melon (*Cucumis melo* L. var. *makuwa* cv. Silver Light) expressing antifungal protein and chitinase genes exhibit enhanced resistance to fungal pathogens. *Plant Cell Tissue Organ Cult*. v. 112, pp.227237.
- Bhushan, B. 2000. Production and characterization of a thermostable chitinase from new alkalophilic *Bacillus* sp. BG-11. *J Appl Microbiol*. 88:8008.Biosci. J., Uberlândia, v. 29, n. 5, p. 1832-1839, Sept./Oct.
- Binod, P.; Pusztahely, T.; Nagy, V.; Sandhya, C.; Szaka`cs, G.; Po`csi, L.; Pandey, A. 2005 Production and purification of extracelular chitinases from *Penicillium aculeatum* NRRL 2129 under solidstate fermentation. *Enzym Microbiol Technol*. v. 36, pp. 880887.
- Bomfim, A.G.J., Albuquerque, G.M.R., Bezerra, J.D.P., Silva, D.C.V., Svedese, V.M., Paiva, L.M., Souza-Motta, C.M. 2013. Fungos fitopatogênicos de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Cultivada em área de floresta tropical seca no Brasil. 2013. *Bol. Soc. Latin. Carib. Cact. Suc*. 10, n.2, mayo-agosto. pp. 27-33.
- Borba, A.L.C., Carlos, E.B., Schmidt-Bellini, J., Seibert, E. 2012. Fungos fitopatogênicos na pós-colheita de mandioca sob processamento mínimo. *Rev. Técnico Científica (IFSC)*, 3, n. 1.
- Brady, S.F., Wagenaar, M.M., Singh, M.P., Janso, J.E., Clardy, J. 2000. The Cytosporones, New Octaketide Antibiotics Isolated from an Endophytic Fungus. *Organic Letters*, v. 2, pp. 443-446.
- Brzezinska M.S ; Jankiewicz U. 2012. Production of antifungal chitinase by *Aspergillus niger* LOCK 62 and its potential role in the biological control. *Curr Microbiol*. 65(6):666672.
- Brzezinska, M. S., Jankiewicz, U., Burkowska, A., Walczak, M. 2014. Chitinolytic microorganisms and their possible application in environmental protection. *Curr Microbil* v. 68, pp. 7181.
- Cabib E. 1987. The synthesis and degradation in chitin. *Adv Enzymol* 1987;59:59101.
- Caligiorne, R.B., Resende, M.A., Oliveira, R.C.B.W., Cordeiro, R.A., Azevedo, V. 2010. Fungos dematiáceos. *Rev Biotec Ciên e Desenvolvimento*. v. 11. p. 22-25.
- Camargo R.B., Peixoto A.R.D., Terao E.O, Cavalcanti LS. 2011. Fungos causadores de podridões pós-colheita em uvas apirênicas no pólo agrícola de Juazeiro-BA e Petrolina-PE. *Rev. Caatinga*. 24,n. 1, pp. 15-19.
- Casela, C.R.; Ferreira, A.S. 1998. *Antracnose do sorgo (Colletotrichum graminicola)*. Sete Lagoas: EMBRAPA_CNPMS. *Circular técnica*, 28.
- Castro, J. P. *Números cromossômicos em espécies de Cactaceae ocorrentes no nordeste do Brasil. Dissertação de Mestrado*. Universidade Federal da Paraíba, Areia. 2007.
- Castro, J.P de., Araújo, E.R., Rêgo, M.M. do., Rêgo, E.R. do. 2011. *In vitro* germination and disinfestation of sweet cactus (*Nopalea cochenillifera* (L.) Salm Dyck). *Acta Scientiarum. Agronomy*. Maringá, v. 33, n.3, pp. 509-512.

Bomfim, Aline G. J. ï Controle de fungos fitopatogênicos de palma...

- Chandra, S. 2012. Endophytic fungi: novel sources of anticancer lead molecules. *Applied Microbiology and Biotechnology*. v. 95, pp 47ï 59
- Clay, K., Schardl, C. 2002. *Consequences of infection for ecology and evolution of hosts. Evolutionary Origins and Ecological Consequences of Endophyte Symbiosis with Grasses. The American Naturalist Symposium*, Vol. 160, n. S4, pp. S99-S127.
- Correia, D., Nascimento, E.H.S. do, Araújo, J.D.M., Anselmo, G.C., Coelho, P.J de A. 2011. *Germinação de Sementes de Cactáceas in vitro*. EMBRAPA, *Comunicado Técnico* 181. pp. 1-6.
- Dennis, C.; Webster, J. 1971. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. I - Production of non-volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*, v.57, pp.25-39.
- Desai, J. D., R. M. Ray, N. P. Patel. 1983. Purification and Properties of Extracellular α -Glucosidase from *Scytalidium lignicola*. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 25, pp. 307-31. John Wiley & Sons, Inc. Gujarat, India.
- Desai, J.D., Desai, A. J., Patel N.P. 1982, Production of Cellulases and β -Glucosidase by Shake Culture of *Scytalidium lignicola* . *Journal of fermentation technology*. v. 60, n. 2, 117-124. The Society for Biotechnology, Japan.
- Dildey, O. D. F. 2012. *Efeito antagonista de Trichoderma sp. sobre Macrophomina phaseolina causadora de podridão-cinzenta*. *Anais: II encontro de Pernambucano de Micologia*. Pernambuco, pp. 75-212, 2012.
- Domsch, K.H.; Gams, W; Anderson, T-H., 2007. *Compendium of soil fungi*. Eching: IHW-189 Verlag, 672p.
- Duo-Chuan L. 2006. Review of fungal chitinases. *Mycopathologia*. v.163, pp. 345ï 360.
- Ellis, M.B., 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Kew: Commonwealth Mycological Institute.
- Ellis, M.B., 1976. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. Kew: Commonwealth Mycological Institute.
- Fakuda C. 1991. *Podridão das Raízes da Mandioca*. EMBRAPA em foco 08, *Embrapa Mandioca e Fruticultura Publisher*, Cruz das Almas, pp. 1-2
- Farhood, S., Hadian, S. 2012. First report of *Alternaria* leaf spot on Gerbera (*Gerbera Jamesonii* L.) in north of Iran. *Advances in Environmental Biology*, v. 6, n. 2, pp. 621-624.
- Farr, D. F.; Bills, G. F.; Chamuris, G. P.; Rossman, A. Y. 1989. *Fungi on plants and plant products in the United States*. 1252 pp. ISBN 0-89054-099-3.
- Fenice, M.; Leuba, J.L.;Federici, F. 1998. Chitinolytic enzyme activity of *Penicillium janthinellum* P9 in bench-top bioreactor . *Journal of Fermentation and Bioengineering*. v.86, n. 6, pp.620ï 623.
- Finkler, C.L.L., 2012. *Controle de insetos: uma breve revisão*. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica*, Recife, vols. 8 e 9, pp.169-189
- Fischer, I.H., Arruda, M.C de, Almeida, A.M. de, Garcia M.J. de M., Jeronimo, E.M., Pino, R.N., Bertani, R.M. de A., Doenças e características físicas e químicas pós-colheita em maracujá amarelo de cultivo convencional e orgânico no centro oeste paulista. 2007. *Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal* - SP, v. 29, n. 2, p. 254-259.
- Fisher, P. J.; Sutton, B. C.; Petrini, L. E.; Petrini, O. 1994. Fungal endophytes from *Opuntia stricta*: a first report. *Nova Hedwigia*. v. 59, pp. 195-200.
- Freire, F. das C. O. 2009. *Patógenos Associados ao Mandacaru (Cereus jamacaru Dc.) no Estado do Ceará*. Comunicado Técnico nº 148. EMBRAPA. Fortaleza, CE. ISSN 1679-6535
- Freire, K.T.L.S. 2012. *Estudo preliminar de fungos endofíticos isolados de palma forrageira sadia e infestada pela cochonilha-do-carmim*. *Trabalho de conclusão de curso*. Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, pp. 15-43.

- Furtado, M. V. 2011. *Micobiota associada a folhas de bananeira em Cabo Verde*. Lisboa: ISA. *Dissertação de Mestrado*. Instituto Superior de Agronomia.
- Galati, E.M., Monforte M.T., Tripodo M.M., Aquino, A. Dô, Mondello, M.R. 2001. Antiulcer activity of *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. (Cactaceae): ultrastructural study. *Journal of Ethnopharmacology*. v. 76. pp.1-9.
- Galvão, J.A.H. 2012. *Sensibilidade de Lecanicillium lecanii, agente de biocontrole de Hemileia vastatrix, à radiação ultravioleta-B*. *Dissertação de Mestrado*. Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP ã Campus de Botucatu. 69p.
- Gama, D. de S. 2014. Fungos endofíticos em *Brachiaria* e *Cynodon*. *Dissertação de Mestrado*. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola. Universidade Federal de Lavras-MG. 91p.
- Gentry, A. H. 1995. Diversity and floristic composition of neotropical dry forests. In *Seasonally dry tropical forests*. Phil. Trans. R. Soc. Lond . Cambridge University Press. pp. 146ï 194
- Giambattista, R di G.; Federici, F.; Petruccioli, M.; Fenice, M. 2001. The chitinolytic activity of *Penicillium janthinellum* P9: purification, partial characterization and potential applications. *Journal of Applied Microbiology*. v. 91, n. 3, pp. 498-505.
- Gibson, A.C., Nobel, P.S. *The cactus primer*. 1986. Haward University Press, Cambridge.
- Giulietti, A.M., Harley, R.M., Queiroz L.P., Barbosa M.R.V., Bocage Neta A.L.; Figueiredo M.A.. 2002. *Espécies endêmicas da caatinga*. p. 103-118 ed. APNE/CNIP, Recife, PE
- Gomez-Flores, R., Tamez-Guerra, P., Tamez-Guerra, R., Rodriguez-Padilla, C., Monreal-Cuevas, C., Hauad-Marroquin, L.A., Cordova-Puente, C., Rangel-Llanas, A. 2006. *In vitro* antibacterial and antifungal activities of *Nopalea cochenillifera* pad extracts. *American Journal of Infectious Diseases*. v.2, n. 1, pp. 1-8.
- Gooday, G.W., Humphreys, A.M., McIntoch, W.H., 1986. *Chitin in Nature and Technology*, Plenum Press, New York.
- Granata, G., Sidoti, A. 2000. Survey of diseases discovered on *Opuntia ficus-indica* in producer countries. Proceedings of the Fourth International Congress on cactus pear and Cochineal. *Acta Horticulturae*, v. 51, n. 5, pp. 231-237.
- Gunaratna, K. R.; Balasubramanian, R. 1994. Partial purification and properties of extracellular chitinase produced by *Acremonium obclavatum*, an antagonist to the groundnut rust, *Puccinia arachidis*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. v.10, n. 3, pp. 342-345.
- Guthrie, J.L.; Castle, A.J. 2006. Chitinase production during interaction of *Trichoderma aggressivum* and *Agaricus bisporus*. *Canadian Journal of Microbiology*. v. 52, n.10, pp.961-967.
- Hallman, J.A., Quadt-Hallman, W., Mahaffee, F., Kloepper, J.W. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*, v. 43, pp.815-914.
- Hayashida, E.K., Kassab, S.O., Fonseca, P.R.B. da, Rossoni, C., Loureiro, E. de S. Amorim, L. G. P. 2012. Efeito dos isolados DE *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae) sobre parasitoide *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae). *Nucleus*, v.9, n.1.
- HersHKovitz, M. A.; Zimmer, E. A. 1997. On the Evolutionary Origins of the Cacti . *Taxon* v. 46, n. 2, pp. 217-232.
- Hollis, H.; Scheinvar, L. 1995. *El interesante mundo de las cactáceas*. México: Fondo de Cultura Econômica, 235p.
- Hyakumachi, M., Yokoyama, K., Ui, T. 1987. Role of melanin in susceptibility and resistance of *Rhizoctonia solani* to microbial lysis. *Transactions of the British Mycological Society*, v. 89, pp. 27-33.

Bomfim, Aline G. J. ã Controle de fungos fitopatogênicos de palma...

- Jacobson, E.S., Hove, E., Emery, H.S. 1995. Antioxidant function of melanin in black fungi. *Infect. Immun.* v. 63, pp. 4944-4945.
- Jadulco, R., Brauers, G., Edrada, R.A., Ebel, R., Wray, V., Sudarsono; Proksch, P. 2002. New Metabolites from Sponge-Derived Fungi *Curvularia lunata* and *Cladosporium herbarum*. *Journal of Natural Products*, v. 65, p. 730-733.
- Junqueira, N. T. V., Andrade, L. R. M. de., Pereira, M., Lima, M. M., Chaves, R. da C. 2001. *Doenças da goiabeira no cerrado*. Circ. Técnico-EMBRAPA Cerrados, Planaltina, n. 15, p. 1-32, jun.
- Kawamura, C., Moriwaki, J., Kimura, N., Fujita, Y., Fuji, S., Hirano, T., Koizumi, S., Tsuge, T. 1997. The Melanin Biosynthesis Genes of *Alternaria alternata* Can Restore Pathogenicity of the Melanin Deficient Mutants of *Magnaporthe grisea*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, v.10, n. 4, pp. 446-453.
- Langfelder A, K., Streibela, M., Jahn, B., Haase, G., Brakhage, A.A. 2003. Biosynthesis of fungal melanins and their importance for human pathogenic fungi. *Fungal Genetics and Biology*, v.38, n. 2, pp. 143-158.
- Laranjeira, D.; Santos, E.O.; Mariano, R.R.; Barros, S.T. 1994. Ocorrência da podridão negra da maniva e raiz da mandioca (*Manihot esculenta*) causada por *Scytalidium lignicola* no estado de Pernambuco, Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 19, n.3, pp. 466-469.
- Leal, I.R., Silva, J.M.C. da, Tabarelli, M., Lacher Jr, T.E., 2003 Mudando o curso da conservação da biodiversidade na Caatinga do Nordeste do Brasil. *Megadiversidade*. V.1, nº 1.
- Lee, Y.G.; Chung, K.C.; Wi, S.G.; Lee, J.C.; Bae, H.J. 2009. Purification and properties of a chitinase from *Penicillium* sp. LYG 0704. *Protein Expr Purif.* v. 65, pp.244-250.
- Leite, M.L.V. 2006. *Palma Forrageira (Opuntia fícus indica e Nopalea cochenilifera.) Universidade Federal da Paraíba ã UFPB, Centro de Ciências Agrárias ã CCA, Grupo de Pesquisa Lavoura Xerófila ã GPLX, Areia, PB.*
- Lilly, V.G., Barnett, H.L. 1951. *Physiology of the fungi*. New Graw-Hill. New York.
- Lima, M. 2013. *Atividade Antimicrobiana de Fungos Endofíticos Isolados de Folhas de Aceroleira (Malpighia emarginata D. C.). Trabalho de conclusão de curso de graduação.* Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- Lopes, E. B.; Santos, D. C. dos.; Vasconcelos, M. F. de. 2007. Cultivo da palma forrageira. In: *Palma Forrageira: Cultivo, Uso Atual e Perspectivas de Utilização no Semi-árido Nordestino*. pp. 46-55. João Pessoa-PB.
- Lorito M, Sheridan I, Woo, Gary E. H., Sposato P., Muccifora S.; Scala F. 1996. Genes encoding for chitinolytic enzymes from biocontrol fungi: applications for plant disease control. *Atec Edizioni*, Italia. v.2, pp. 95-101.
- Loureiro, E.S., Batista Filho, A., Almeida, J.E.M., Mendes, J.M., Pessoa, L.G.A 2012. Eficiência de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. no controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae), em condições de campo. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.79, n.1, pp.47-53.
- Lower, S.E. 1984. Polymers from the sea: chitin and chitosan. *Manuf Chemist.* 55:73-75.
- Lucena, C.M. de, Costa, G.G. da S., Carvalho, T.K.N., Guerra, N.M., Quirino, Z.G.M., Lucena, R.F.P. de. 2012. Uso e conhecimento de cactáceas no município de São Mamede (Paraíba, Nordeste do Brasil). *Revista de Biologia e Farmácia. BIOFar*. Pp. 121-134.
- Machado, D.F.M., Parzianello, F.R., Silva, A.C.F., Antonioli, Z.I. 2012. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. *Revista de Ciências Agrárias*. 35, 1, jan/jun p. 274-288.
- Magalhães, W.C.S., Missagia, R.V., Costa, F.A.F., Costa, M.C.M. 2008. Diversidade de fungos endofíticos em cadeia *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish. *Cerne, Lavras*, 14, n.3, pp. 267-273.

- Marini, D., Mensch, R., Freiburger, MB., Dartora, J., Franzener, G., Garcia, R.C., Stangarlin, J.R. 2012. Efeito antifúngico de extratos alcoólicos de própolis sobre patógenos da videira. *Arq. Inst. Biol., São Paulo*, 79, n.2, pp.305-308.
- Martins, R.M. 2011. *Farmacobotânica, atividade antiinflamatória e parâmetros bioquímicos de Nopalea cochenillifera Salm-Dick (Cactaceae)*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pósgraduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade de Santa Maria ï USM ï RS. 60p.
- Martins-Corder, M.P.; Melo, I.S de. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. a *Verticillium dahliae* KLEB1.1998. *Sci. agric.* v. 55, n. 1. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90161998000100002>
- Matsumoto, K.S. 2006. Fungal chitinases . Research Signpost. *Advances in Agricultural and Food Biotechnology*, 37/661, n. 2. ISBN: 81-7736-269-0.
- Mejía L.C., Rojas, E.I., Maynard, Z., Bael, S.V., Arnold, A.E., Hebbbar, P. Samuels, G.J., Robbins, N., Herre, E.A. Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. 2008. *Biological Control*, v. 46, pp. 4-14.
- Mello, V. K. de, Medeiros, G. L., Diniz, J. M. P., Stringari, D., Terasawa, L. V. G., Menezes, M.; Assis, S.M.P. 2004. *Guia prático para fungos fitopatogênicos*. 2.ed. UFRPE, Imprensa Universitária. 187p.
- Menezes, R.S.C., Simões, D.A. Sampaio, E.V.S. B. 2005. *A palma no nordeste do Brasil: conhecimento atual e novas perspectivas de uso*. Recife: Ed. Universitária da UFPE., 258p.
- Miles, L.; Newton, A.C., Fries, R. S. de., Ravilious, C., May, I., Blyth, S., Kapos, V.; Gordon, J.E. 2006. A global overview of the conservation status of tropical dry forests. *Journal of Biogeography*. v. 33, n. 3, pp. 491ï 505. DOI: 10.1111/j.1365-2699.2005.01424.x
- Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31, 426-429.
- Ministério do Meio Ambiente. 2014. *Segurança química e agrotóxicos* Disponível em : <<http://www.mma.gov.br/seguranca-quimica/agrotoxicos>> Acesso em: 21 de novembro de 2014.
- Mitsunaga T, Iwase M, Ubhayasekera W, Mowbray SL, Koga D. 2004. Molecular Cloning of a Genomic DNA Encoding Yam Class IV Chitinase. *Biosci Biotech Bioch.* v. 68, n. 7, pp. 1508-1517.
- Mohamed-Yasseen, Y.; Barringer, S.A.; Splittstoesser, W.E. 1996. A note on the uses of *Opuntia* spp. in Central/North America. *Journal of Arid Environments*, v. 32, n. 3, pp. 347-353.
- Moricca, S.; Ragazzi, A.; Mitchelson, K.R.; Assante, G. 2001. Antagonism of the Two-Needle Pine Stem Rust Fungi *Cronartium flaccidum* and *Peridermium pini* by *Cladosporium tenuissimum* *In Vitro* and *In Planta*. *Phytopathology*. v. 91, n. 5, pp. 457-468
- Mota, M. A., Campos, A. K., Araújo, J. V. 2003. Controle Biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 23, n. 3, pp. 93-100 julho/set.
- Moura, R.M., Ribeiro, G.P. Coelho, R.S.B., Silva Júnior, J.N. 1976. *Penicillium sclerotigenum* Yamamoto, principal fungo causador de podridão em túberas de inhame (*Dioscorea cayennensis* Lam.) no estado de Pernambuco (Brasil). *Fitopatologia Brasileira* v. 1, pp. 67-78.
- Nascimento, E. H. S. do. 2011. *Crescimento inicial de mudas de Pilosocereus gounellei sub sp. gounellei em diferentes substratos*. 2011. 59f. Monografia (graduação) ï Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Fitotecnia, Curso de Agronomia, Fortaleza, CE.
- Nobel, P.S. 1994. *Remarkable agaves and cacti*. Oxford Univ. Press, New York.

Bomfim, Aline G. J. ã Controle de fungos fitopatogênicos de palma...

- Notaro, K.A., Medeiros, E.V., Silva, C.A.D., Barros, J.A. 2013. Prospecção de fitopatógenos associados á podridão radicular da mandioca em Pernambuco, Brasil. *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 29, n. 5, pp. 1832-1839.
- Nunes, C dos S. 2011. Usos e aplicações da palma forrageira como uma grande fonte de economia para o semiárido nordestino. *Revista Verde* (Mossoró ã RN ã Brasil) v.6, n.1, p. 58 ã 66
- Nyffeler, R. 2002. Phylogenetic relationships in the cactus family (Cactaceae) based on evidence from *TRNK/MATK* and *TRNL-TRNF* Sequences. *American Journal of Botany* v. 89, n. 2, pp. 312ã 326.
- Orlandelli, RC., Specian V., Felber, AC, Pamphile, JA. 2012. Enzimas de interesse industrial: produção por fungos e aplicações. *SaBios: Rev. Saúde e Biol.*, v. 7, n. 3, pp.97-109, set.-dez., ISSN:1980-0002.
- Ornum JV. 1992. Shrimp waste-must it be wasted. *Infofish Int Mag.*6:48ã 52.
- Osono T, 2006. Role of phyllosphere fungi of forest trees in the development of decomposer fungal communities and decomposition processes of leaf litter. *Canadian Journal of Microbiology* v.52, pp.701ã 716.
- Patil RS, Ghormade V, Deshpande MV. 2000. Chitinolytic enzymes: an exploration. *Enzyme Microb Technol.*v. 26,pp. 473ã 83.
- Patil, NS, Waghmare, SR.,Jadhav, JP. 2013. Purification and characterization of an extracellular antifungal chitinase from *Penicillium ochrochloron* MTCC 517 and its application in protoplast formation. *Process Biochemistry*, v. 48, pp. 176ã 183.
- Pennington, T. R., Lavin, M., Prado, D. E., Pendry C.A, Pell, S.K; Charles A. 2014. *Historical climate change and speciation: neotropical seasonally dry forest plants show patterns of both Tertiary and Quaternary diversification* Online: rstb.royalsocietypublishing.org.
- Pereira, J. O., Azevedo, J. L., Petrini, O. 1993. Endophytic fungi of *Stylosanthes*: A first report. *Mycologia*, v. 85, pp. 362-364.
- Picoli, P.R.F., Vieira, M.R. 2013. Primeiro relato de atividade patogênica de *Hirsutella thompsonii* (Fischer) sobre o ácaro-da-erínose-da-lichia *Aceria litchii* (Keifer). *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 34, n. 1, pp. 187-190.
- Pimienta, B.E. 1993. El nopal tunero (*Opuntia* spp.): una alternativa ecológica productiva para las zonas áridas y semiáridas. *Ciencia*. 44: 345-356 pp.
- Pinto, N. F. J. A. 2004. Controle químico de doenças foliares em milho. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 3, n. 1, p0. 134-138.
- Prado, D. 2003. *As caatingas da América do Sul. Ecologia e conservação da Caatinga*. Editora Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil. p. 3-73.
- Ranzoni, F.V. 1968. Fungi Isolated in Culture from Soils of the Sonoran Desert. *Mycologia*. v. 60, n. 2. pp. 356-371.
- Rattanakit, N.; Plikomol, A.; Yano, S.; Wakayama, M.;Tachiki, T. 2002.Utilization of shrimp shellfish waste as a substrate for solid-state cultivation of *Aspergillus* sp. S1-13: Evaluation of a culture based on chitinase formation which is necessary for chitin-assimilation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. v. 93, n. 6, pp.550ã 556.
- Redman, R.S., Sheehan, K.B., Stout, R.G., Rodriguez, R.J., Henson, J.N. 2002. Thermotolerance generated by plant/fungal symbiosis. *Science*, 298:1581.
- Reinolds, S. G.; Arias, E. 2004. *General background on opuntia*. Disponível em: <http://www.fao.org/DOCREP/005/2808E/y2808e04.htm> Acesso em: 21 de novembro de 2014.

- Ribeiro, F.D., Chaves, F.C.M., Galvão, R. de M., Pereira, J.O., Neto, P. de Q. C. 2014. *Fungos endofíticos de Sacha Inchi (Plukenetia volubilis L.)*. Anais do III Congresso Brasileiro de Recursos Genéticos. ISBN- 978-85-66836-07-3
- Rinu, K., Sati, P., Pandey, A. 2013. Trichoderma gamsii (NFC- CI 2177): A newly isolated endophytic, psychrotolerant, plant growth promoting, and antagonistic fungal strain. *Journal of Basic Microbiology*, Berlin, DOI: 10.1002/ jobm.201200579. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jobm.201200579/pdf>>. Acesso em: 12 novembro de 2014.
- Roberts, C.A.; Marek, S.M.; Niblack, T.L.; Karr, A.L. 1992. Parasitic Meloidogyne and mutualistic Acremonium increase chitinase in tall fescue. *Journal of Chemical Ecology*. v.18, n. 7, pp. 1107-1116.
- Roberts, C.A.; Marek, S.M.; Wang, L.; Karr, A.L. 1994. Determination of Chitinase Activity in Tall Fescue by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. *Crop Science*. v. 34, n. 4, pp. 1070-1073
- Rocha, C.P. *Otimização da produção de enzimas por Aspergillus niger em fermentação em estado sólido*. 2010. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. *Dissertação de mestrado*. 136 p.
- Rocha, E. A.; Agra, M. de F. 2002. Flora do Pico do Jabre, Paraíba, Brasil: Cactaceae juss. *Acta Bot. Bras.* vol.16, n.1, pp. 15-21. ISSN 0102-3306.
- Russell, J.R., Huang, J., Anand, P., Kucera, K., Sandoval, A.G., Dantzler, K.W., Hickman, D., Jee, J., Kimovec, F.M., David Koppstein, D., Marks, D.H., Mittermiller, P.A., Núñez, S.J., Santiago, M., Townes, M.A., Vishnevetsky, M., Williams, N.E., Vargas, M.P.N., Boulanger, L-A., Bascom-Slack, C., Strobel, S.A. 2011. Biodegradation of polyester polyurethane by endophytic fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 77, n. 17, pp. 6076-6084.
- Sáenz-Hernández, D. 2001. *Fabricação de alimentos e obtenção de subprodutos. Agroecologia, cultivos e usos da palma forrageira*. FAO, *Produção e Proteção Vegetal*. SEBRAE/PB, pp 140-146.
- Saikkonen K, Wäli P, Helander M, Faeth SH. 2004. Evolution of endophyte-plant symbioses. *Plant Sci.*v. 9, pp. 275-280.
- Sala, G. M.; Ito, M. F.; Carbonell, S. A. M. 2005. Reaction of genotypes of common bean to four races of Fusarium oxysporum f. sp phaseoli. *Summa Phytopathologica*. v.32, n.3, pp.286-287.
- Saleem, M., Kim, H.J., Han, C.K, Jin, C., Lee, Y.S. 2006. Secondary metabolites from Opuntia ficus-indica var. saboten. *Phytochemistry*, v. 67, pp. 1390-1394.
- Santos, D. C. dos; Farias, I.; Lira, M. de A.; Santos, M. V. F. dos; Arruda, G. P. de; Coelho, R. S. B.; Dias, F. M.; Melo, J. N. de. 2006. *Manejo e utilização da palma forrageira (Opuntia e Nopalea) em Pernambuco*. Recife. IPA. 48p.
- Schulz, B., Boyle, C. 2005. The endophytic continuum. *Mycological Research*, v. 109, n. 6, pp. 661-686.
- Silva, F. de A. S. e. & Azevedo, C. A. V. de. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. *World Congress on Computers in Agriculture*, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.
- Silva, I.D. da., Takatsuka, F.S., Rocha, M.R. da, Cunha, M.G. da. 2005. Efeito do extrato de sucupira (*Pterodon emarginatus* vog.) sobre o desenvolvimento de fungos e bactérias fitopatogênicos. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 35, n. 2, pp. 109-115.
- Silva, J.C. da, Fernandes, O.C.C., Martinsa, M. da S., Rodrigues Jr, A. da C., Teixeira, M.F.S. 2010. Atividade antimicrobiana de espécies de Penicillium mantidas sob duas condições de preservação. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. v. 30, pp.48-54

- Silva, J.M.C., Tabarelli, M., Fonseca, M.T. 2003. O processo de seleção de áreas e ações prioritárias para a conservação da Caatinga. In: *Biodiversidade da caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação*. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente. Universidade Federal de Pernambuco, 2003. 382 p.
- Silva, S. R.; Zappi, D.; Taylor, N.; Machado, M. 2011. *Plano de ação nacional para conservação das cactáceas: Série Espécies Ameaçadas nº 24*. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, ICMBio. 113 p.
- Souza CV; Lorenzi H. 2005. *Botânica Sistemática. Guia Ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II*. Nova Odessa, Instituto Plantarum. São Paulo.
- Souza, A. E. F. de, Nascimento, L. C., Araújo, E., Lopes, E. B., Souto, F. M. 2010. Ocorrência e identificação dos agentes etiológicos de doenças em palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill.) no semiárido paraibano. *Biotemas*, v. 23, n. 3, pp. 11-20.
- Steiman, R., Guiraud, P. Sage, L., Seigle-Murandi. F. 1997. Soil mycoflora from the Dead Sea Oases of Ein Gedi and Einot Zuqim (Israel). *Antonie van Leeuwenhoek* 72: 261-270.
- Strange R.N., Scott, P.R. 2005. Plant disease: a threat to global food security. *Annu Rev Phytopathol*, v. 43, pp.83-116.
- Strobel, G., Daisy, B., Castillo, U., Harper, J. 2004. Natural Products From Endophytic Microorganisms. *Journal of Natural Products*, v. 67, pp. 257-268.
- Suryanarayanan TS, Wittlinger SK, Faeth SH. 2005. Endophytic fungi associated with cacti in Arizona. *Mycol. Res.* v. 109, pp. 635-639.
- Suryanarayanan, T.S., Murali, T.S., Venkatesan, G. 2002. Occurrence and distribution of fungal endophytes in tropical forests across a rainfall gradient. *Canadian Journal of Botany*. v. 56, n. 1. DOI 10.1556/AAgr.56.2008.1.9
- Sutton, B.C., 1980. The Coelomycetes: fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. *Commonwealth Mycological Institute*, 96p.
- Svedese, V.M., Silva, A. P. de A. P. da, Lopes, R. da S., Santos, J.F. dos, Lima, E. Á. de L. A. Lima. 2012. Ação de fungos entomopatogênicos em larvas e adultos da mosca do figo *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae). *Ciência Rural*, v.42, n.11.
- Swart, W. J.; Kriel, W. M. 2002. *Disease Notes Pathogens Associated with Necrosis of Cactus Pear Cladodes in South Africa*. Department of Plant Sciences, University of the Free State, South Africa.
- Taylor, N.; Zappi, D. 2008. Diversidade e endemismo das Cactaceae na Cadeia do Espinhaço. *Megadiversidade*, v.4, n.1-2, 2008.
- Taylor, N.P. and D. Zappi. 2002. *Distribuição das espécies de Cactaceae na Caatinga; Vegetação e Flora da caatinga*. Recife: Associação de Plantas do Nordeste. pp. 123-125.
- Tenório. L.B 2012. *Inibição in vitro de Curvularia eragrostides pelos fungos antagônicos Trichoderma spp. e Acremonium caphalosporium*. *Anais: II encontro Pernambucano de Micologia*, pp. 196- 199.
- Tinoco, M. L. P. 2010. *Silenciamento trans-específico in vivo entre fumo e o fungo fitopatogênico Fusarium verticilloides*. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília, Brasília. BRA.
- Tomazoni, EZ., Giani, SG., Ribeiro, RTS., Pauletti, G., Schwambach, J. 2013. *Atividade antifúngica do óleo essencial de Cinnamomum zeylanicum Ness sobre fungos fitopatogênicos do tomateiro (Lycopersicon esculentum Mill.)* Resumos do VIII Congresso Brasileiro de Agroecologia ã Porto Alegre/RS.
- Valencia-Botín, A.J; Kokubu H.; Ortíz-Hernández, Y.D. 2013. A brief overview on pitahaya (*Hylocereus* spp.) diseases. *Australasian Plant Pathology*. v. 42, n. 4, pp 437-440.

- Varga, z., Nagy, P. 2008. Effect of low dose UV-C radiation on the germination rate and fungal contamination of tall fescue (*Festuca arundinacea* schreb.) seeds. *Acta Agronomica Hungarica*. v 56. n. 1. pp. 83-89.
- Velasco, R.G., Zavaleta-Mejía, E., Rojas-Martínez, R.I. 2005. Antagonismo de *Cladosporium* sp. contra *Puccinia horiana* Henn. Causante de la Roya Blanca del Crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev). *Revista Mexicana de Fitopatologia*. v. 23, n. 1, pp. 79-86.
- Waghmare, S.R. Ghosh, J.S. 2010. Chitobiose production by using a novel thermostable chitinase from *Bacillus licheniformis* strain JS isolated from a mushroom bed. *Carbohydr. Res.* v. 345, n. 18, pp. 2630-2635.
- Wallace, R.S. 1995. Molecular systematic study of the Cactaceae: using chloroplast DNA variation to elucidate Cactus. *Phylogeny. Bradleya*. v.13, pp. 1-12.
- Wanderley, W.L., Ferreira, M.A., A, D.K.B. 2002. Palma forrageira (*Opuntia ficus indica*, Mill) em substituição à silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) na alimentação de vacas leiteiras. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 31, n.1, p.273-281.
- Wang S, Moyn A, Thottappilly G, Wu S, Locy RD, Singh NK. 2001. Purification and characterization of a *Bacillus cereus* exochitinase. *Enzyme Microb Technol*, v. 28, pp 492-498.
- Wang, Q-X., Li, S-F., Zhao, F., Dai, H-Q., Bao, L., Ding, R., Gao, H., Zhang, L-X., Wen, H-A., Liu, H-W. 2011. Chemical constituents from endophytic fungus *Fusarium oxysporum*. *Fitoterapi*, v. 82, pp. 777-781.
- Wang, Y., Casadevall, A. 1994. Decreased susceptibility of melanized *Cryptococcus neoformans* to UV light. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 60, pp. 3864-3866.
- Wilson, M.J.; Jackson, T.A. 2013. Progress in the commercialisation of bionematicides. *BioControl*. v.58, n. 6, pp 715-722.
- Wong, L.C., Ambrósio, M.M.Q., Souza, N.L. 2011. Sobrevivência de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Raça 2 submetido a técnica da solarização associada à incorporação de folhas de mandioca. *Summa Phytopathologica*, 37, n.2, pp.129-133.
- Wonganu, B.; Pootanakit, K.; Boonyapakron, K.; Champreda, V.; Tanapongpipat, S.; Eurwilaichitr, L. 2008. Cloning, expression and characterization of a thermotolerant endoglucanase from *Syncephalastrum racemosum* (BCC18080) in *Pichia pastoris*. *Protein Expression and Purification*. v. 58, n.1, pp. 78-86.
- Wordell Filho, J.A. 2010. Micotoxinas na cultura do milho. *Agropecuária Catarinense*, v. 23, n. 2, pp. 46 - 48.
- Zampieri, D.R., Silva, R.T., Azevedo, J.L. 2005. Avaliação qualitativa da secreção de enzimas hidrolíticas por fungos endofíticos isolados do cacaueiro (*Theobroma cacao* L.) E o controle biológico de *Crinipellis pernicios*. *Salão de iniciação científica. Livro de resumos UFRGS*. 17< <http://hdl.handle.net/10183/59737>>.
- Zappi D, Taylor N, Machado M. 2012. *Cactaceae: Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Rio de Janeiro, Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000070>.
- Zappi, D. 2008. Fitofisionomia da Caatinga associada à Cadeia do Espinhaço. *Megadiversidade*. v.4, n.1-2.
- Zhang, J., Kopparapu, N.K., Qiaojuan, Y., Shaoqing, Y., Zhengqiang, J. 2013. Purification and characterisation of a novel chitinase from persimmon (*Diospyros kaki*) with antifungal activity. *Food Chemistry*, v. 138, pp. 1225-1232.
- Zhang, M, Haga A, Sekiguchi H, Hirano S. 2000. Structure of insect chitin isolated from beetle larva cuticle and silkworm (*Bombyx mori*) pupa exuvia. *Int J Biol Macromol*, v. 27, pp. 99-105.

Bomfim, Aline G. J. ï Controle de fungos fitopatogênicos de palma...

- Zhang, X.Y.; Bao, J.; Wang, G.H.; He, F.; Xu, X.Y.; Qi, S.H. 2012. Diversity and Antimicrobial Activity of Culturable Fungi Isolated from Six Species of the South China Sea Gorgonians. *Microbial Ecology*. v. 64, n. 3, pp. 617-627.
- Zhong, X-K., Jin, X., Lai, F-Y., Lin, Q-S., Jiang, J-G. 2010. Chemical analysis and antioxidant activities in vitro of polysaccharide extracted from *Opuntia ficus indica* Mill. cultivated in China. *Carbohydrate Polymers*, v.82. pp. 722ï 727.