



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS DE CURITIBANOS
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
CURSO DE AGRONOMIA

Kamila Leite

***Trichoderma* spp. como agente de controle biológico contra *Sclerotinia sclerotiorum* e
Sclerotium rolfsii: Avaliação de eficácia e mecanismos de ação**

Curitibanos

2024

Kamila Leite

***Trichoderma* spp. como agente de controle biológico contra *Sclerotinia sclerotiorum* e
Sclerotium rolfii: Avaliação de eficácia e mecanismos de ação**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Agronomia, do Centro de Ciências Rurais, do Campus de Curitibanos, da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharela em Agronomia.

Orientador: Profa. Dra. Adriana Terumi Itako.
Coorientador: Prof. Dr. João Batista Tolentino Júnior.

Curitibanos

2024

Leite, Kamila

Trichoderma spp. como agente de controle biológico
contra Sclerotinia sclerotiorum e Sclerotium rolfsii:
Avaliação de eficácia e mecanismo de ação /Kamila Leite ;
orientadora, Adriana Terumi Itako, coorientador, João
Batista Tolentino Júnior, 2024.

53 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus
Curitibanos, Graduação em Agronomia, Curitibanos, 2024.

Inclui referências.

1. Agronomia. 2. Fitopatologia . 3. Controle
Biológicobentabilidade . I. Itako, Adriana Terumi . II.
Tolentino Júnior, João Batista . III. Universidade Federal
de Santa Catarina. Graduação em Agronomia. IV. Título.

Kamila Leite

***Trichoderma* spp. como agente de controle biológico contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*: Avaliação de eficácia e mecanismos de ação**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi avaliado e aprovado, em 19 de novembro de 2024, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Banca examinadora

Profa. Dra. Adriana Terumi Itako
Orientadora

Ma. Danielle Cristina Ortiz
Universidade do Estado de Santa Catarina

Dra. Camila Bitencourt
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do Trabalho de Conclusão de Curso que foi julgado adequado para obtenção do título de Engenheiro(a) Agrônomo(a).



Documento assinado digitalmente
Adriana Terumi Itako
Data: 16/12/2024 21:58:07-0300
CPF: ***.130.099-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Profa. Dra. Adriana Terumi Itako
Orientadora

Curitiba

2024

Ao meu pai Sergio M. Leite e minha mãe Eliane F. P. Gonçalves, por me ensinarem
que não há limites quando buscamos um sonho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que em sua infinita bondade me permitiu chegar até aqui, e cumprir a sua promessa.

Aos meus pais, Sergio e Eliane, por serem meus maiores incentivadores, acreditarem em mim mesmo quando nem eu mesmo acreditei e por serem um verdadeiro pilar de esperança, sabedoria, respeito a Deus e amor em minha vida.

Ao meu namorado Patrick que desde o primeiro dia de aula esteve ao meu lado, desde os momentos mais felizes aos mais tristes. Foi essencial nessa caminhada lhe ter comigo, obrigado por todo amor, cuidado e carinho. Te amarei para sempre!

A minha amada orientadora Prof. Dr. Adriana e ao meu Coorientador Prof. Dr. João. Sem a sabedoria de vocês essa pesquisa não seria realizada, obrigada por todo o conhecimento repassado e o acolhimento.

A toda equipe GEFAI, pela parceria e acolhimento, com toda certeza somos uma grande família na universidade. Em especial a Danielle, um exemplo de pessoa a seguir, obrigado pelos ensinamentos e por essa amizade. Levarei sempre comigo.

A toda equipe técnica do laboratório de Biologia, pela ajuda e auxílio com os materiais utilizados na pesquisa.

Aos colegas de graduação, nossa amizade durante estes cinco anos foi uma verdadeira parceria, obrigado por todos os trabalhos, ansiedade, preocupações, conhecimento e boas risadas que compartilhamos. Em especial a Valéria, que me acompanhou desde antes dessa trajetória, que nossa amizade perdure para sempre.

A todas que de uma forma ou outra puderam contribuir nessa jornada.

Nunca me esquecerei de vocês!

Obrigada!

“Todos verão o que aconteceu e ficarão sabendo que fui eu, o SENHOR, quem fez isso. Todos pensaram bem e entenderam que tudo isso foi feito pelo Santo Deus de Israel”

(Isaías 41:20)

RESUMO

O mofo-branco e a podridão do colo, causados pelos fungos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*, são doenças graves que acometem os grandes cultivos. Embora o controle mais comum seja realizado com fungicidas químicos, a crescente busca por práticas mais sustentáveis tem impulsionado o uso do controle biológico, que vem ganhando destaque. O fungo *Trichoderma* se mostra uma alternativa promissora, reduzindo o inóculo dos fitopatógenos com eficiência e especificidade, além de diminuir o impacto ambiental. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar *in vitro* o potencial de controle dos fungos *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii* submetidos a diferentes isolados de *Trichoderma* coletados na região de Brunópolis-SC. Foram analisados oito isolados identificados 1A; 36A; 98A; 99A; 111B; 112B; 36B; 102 e um isolado do produto comercial Thichodermil®. O teste de inibição do crescimento micelial após a exposição aos compostos orgânicos voláteis (COVs) consistiu na utilização de dois fundos de placa de Petri, contendo meio BDA, um disco de micélio do fungo fitopatogênico e um disco de micélio colonizados por *Trichoderma* spp., as mesmas foram sobrepostas uma à outra, formando uma atmosfera compartilhada. Quanto ao teste de inibição do crescimento micelial após a exposição aos compostos orgânicos não voláteis (COÑVs), consistiu-se da raspagem do micélio do fungo antagonista com 10 dias de cultivo, filtrados com o auxílio de gazes e adicionado juntamente com meio B.D.A a uma proporção de 30%. Para ambos, os dados obtidos foram calculados a porcentagem de inibição e porcentagem de redução da velocidade do crescimento. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 10 tratamentos e 5 repetições. As médias obtidas foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, ao nível de significância de 5%. Para avaliação da germinação miceliogênica, seis escleródios produzidos em BDA com 30 dias, foram transferidos para placas contendo colônias de *Trichoderma* e incubadas por 7 e 20 dias para *S. rolfsii* e 20 dias para *S. sclerotiorum*. A viabilidade foi avaliada pelo teste de Trifenil Cloreto de Tetrazólio (0,5%), julgado viável os escleródios de coloração rosada e não viável os escleródios amarelados. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 10 tratamentos e 4 repetições. Os resultados obtidos foram comparados ao teste qui-quadrado. Apesar de alguns isolados não terem demonstrado potencial antagonístico sobre *S. sclerotiorum* quando submetidos aos COVs, a grande maioria mostrou resultados satisfatórios no controle do *S. rolfsii*. Já os COÑVs, para o *S. rolfsii* os isolados que mais se destacaram foram TCOM e 36B, ambos com aproximadamente 50% de controle total. Já para o fungo *S. sclerotiorum* houve um maior número de tratamentos satisfatórios, sendo estes 111B, TCOM, 99A e 98A, que obtiveram resultados superiores a 50% de controle. Quanto a redução da viabilidade dos escleródios, com 7 dias nenhum dos isolados demonstrou controle, porém, com 20 dias de avaliação para ambos os fungos fitopatogênicos, o isolado 1A e 102B demonstraram capacidade de inibição dos escleródios. Os resultados obtidos para ambos os testes e fungos fitopatogênicos foram satisfatórios, evidenciando um grande potencial de controle dos isolados encontrados na região de Santa Catarina.

Palavras-chave: controle biológico; doenças em plantas; eficiência de antagonismo; sustentabilidade.

ABSTRACT

White mold and collar rot, caused by the fungi *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotium rolfsii*, are serious diseases affecting large-scale crops. The most common control method is the use of chemical fungicides, but due to the demand for more sustainable practices, biological control has gained prominence. The fungus *Trichoderma* presents itself as a promising alternative, efficiently and specifically reducing pathogen inoculum while also reducing environmental impact. Therefore, the objective of this study was to evaluate in vitro the control potential of *S. sclerotiorum* and *S. rolfsii* subjected to different isolates of *Trichoderma* collected in the region of Brunópolis, SC. Eight isolates were analyzed, identified as 1A, 36A, 98A, 99A, 111B, 112B, 36B, 102, and a commercial product isolate, Trichodermil®. The mycelial growth inhibition test after exposure to volatile organic compounds (VOCs) involved using two Petri dish bases containing PDA medium, one disk of the phytopathogenic fungus mycelium and one disk colonized by *Trichoderma* spp.; they were overlaid, forming a shared atmosphere. The mycelial growth inhibition test after exposure to non-volatile organic compounds (NVOCs) involved scraping the antagonist fungus mycelium after 10 days of cultivation, filtering it with gauze, and adding it to PDA medium at a 30% proportion. For both, the inhibition percentage and growth rate reduction percentage were calculated. A completely randomized design with 10 treatments and 5 repetitions was used. The means obtained were compared by the Scott-Knott test at a 5% significance level. For myceliogenic germination evaluation, six sclerotia produced in PDA for 30 days were transferred to plates containing *Trichoderma* colonies and incubated for 7 days for *S. rolfsii* and 20 days for *S. sclerotiorum*. Viability was assessed by the Tetrazolium Triphenyl Chloride (0.5%) test, where viable sclerotia were pink and non-viable sclerotia were yellow. The experimental design was completely randomized with 10 treatments and 4 repetitions. The results were compared using the chi-square test. Although some isolates did not demonstrate antagonistic potential against *S. sclerotiorum* when exposed to VOCs, the majority showed satisfactory results in controlling *S. rolfsii*. For NVOCs, the isolates that stood out for *S. rolfsii* were TCOM and 36B, both achieving approximately 50% total control. For *S. sclerotiorum*, a greater number of treatments were satisfactory, namely 111B, TCOM, 99A, and 98A, with control results above 50%. Regarding the reduction in sclerotia viability, none of the isolates showed control after 7 days; however, with 20 days of evaluation for both phytopathogenic fungi, isolates 1A and 102B demonstrated sclerotia inhibition capability. The results obtained for both tests and phytopathogenic fungi were satisfactory, showing a great control potential of the isolates found in the Santa Catarina region.

Keywords: biological control; plant diseases; antagonism efficiency; sustainability.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	OBJETIVOS.....	13
1.1.1	Objetivo geral.....	13
1.1.2	Objetivos específicos.....	13
2	REFERÊNCIAL TEORICO	14
2.1	MOFO-BRANCO (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>).....	14
2.2	PODRIDÃO DE COLO (<i>Sclerotium rolfsii</i>).....	16
2.3	MÉTODOS DE CONTROLE DOS FUNGOS	18
2.4	CONTROLE BIOLÓGICO	19
2.5	O GÊNERO <i>Trichoderma</i> , ASPECTOS GERAIS E SEU POTENCIAL COMO AGENTE DE BIOCONTROLE.....	21
2.5.1	Características e aspectos gerais	21
2.5.2	Morfologia do <i>Trichoderma</i> spp	21
2.5.3	Mecanismos de ação do <i>Trichoderma</i> spp.....	23
2.5.4	Importância do <i>Trichoderma</i> spp. na agricultura.....	23
3	MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1	OBTENÇÃO DOS FUNGOS	25
3.1.1	Procedência dos fungos	25
3.1.2	Reativação dos fungos	25
3.2	INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>S. sclerotiorum</i> E <i>S. rolfsii</i> APÓS A EXPOSIÇÃO AOS COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS DE <i>Trichoderma</i> spp	26
3.3	INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>S. sclerotiorum</i> E <i>S. rolfsii</i> APÓS A EXPOSIÇÃO AOS COMPOSTOS ORGÂNICOS NÃO VOLÁTEIS DE <i>Trichoderma</i> spp. 27	
3.4	TESTE DE INIBIÇÃO DA GERMINAÇÃO MICELIOGÊNICA DE ESCLERÓDIOS.....	29
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
4.1	INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>S. sclerotiorum</i> E <i>S. rolfsii</i> APÓS A EXPOSIÇÃO AOS COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS DE <i>Trichoderma</i> spp	34

4.2	INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>S. sclerotiorum</i> E <i>S. rolfsii</i> APÓS A EXPOSIÇÃO AOS COMPOSTOS ORGÂNICOS NÃO VOLÁTEIS DE <i>Trichoderma</i> spp.	37
4.3	TESTE DE INIBIÇÃO DA GERMINAÇÃO MICELIOGÊNICA DE ESCLERÓDIOS DE <i>S. rolfsii</i> E <i>S. sclerotiorum</i>	40
5	CONCLUSÃO	45
	REFERÊNCIAS	46

1 INTRODUÇÃO

As doenças de plantas são uma das principais causas de perdas agrícolas em todo o mundo e representam um desafio significativo para a segurança alimentar global (Oerke, 2006; Strange & Scott, 2005). Dentre as principais doenças que acometem as culturas, podemos citar as de origem fúngica, popularmente conhecidas como Mofo-branco e Podridão de colo, causadas respectivamente, pelos agentes etiológicos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii* (Ito, 2013). Ambas as doenças ocorrem de maneira muito semelhante na planta, além de produzirem estruturas de sobrevivência denominadas de escleródios, que podem se manter ativas e viáveis no solo por até 10 anos, dificultando ainda mais o controle desses patógenos (Serra & Silva, 2005).

O controle de doenças com o uso exclusivo de fungicidas químicos já se mostrou insustentável, especialmente para patógenos transmitidos pelo solo, como *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii* (Smolińska & Kowalska, 2018). Além disso, esses produtos podem ocasionar impactos negativos na saúde de trabalhadores rurais, prejudicar o meio ambiente e, com o tempo, favorecer o desenvolvimento de resistência do patógeno (Zubrod *et al.*, 2019). Diante desse cenário, o uso de agentes de controle biológico surge como uma alternativa para o manejo de doenças de plantas (Akhtar & Javaid, 2018).

O controle biológico de doenças em plantas consiste na utilização de organismos benéficos as plantas capazes de controlar agentes causadores de doenças (Bettiol *et al.*, 2019). Os fungos e as bactérias são os mais estudados atualmente. Dentre os principais representantes fúngicos que vêm ganhando destaque nas pesquisas, destacam-se os pertencentes ao gênero *Trichoderma* spp. (Medeiros *et al.*, 2018; Morandi *et al.*, 2009).

Com a alta demanda de produtos de base ecológica, torna-se fundamental a criação de cepas mais eficientes e adaptadas às condições ambientais em que serão utilizados, o que requer um contínuo processo de caracterização e seleção de bioagentes (Carvalho *et al.*, 2019). Com isso, a pesquisa tem como objetivo estudar as interações entre diferentes espécies de *Trichoderma* coletados na região de Brunópolis-SC e avaliar o nível de controle que esses organismos apresentam sobre os agentes etiológicos *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii*.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial de isolados de *Trichoderma* spp. na inibição dos fungos fitopatogênicos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*, ambos coletados na microrregião do Planalto Sul Catarinense.

1.1.2 Objetivos específicos

- Avaliar, “*in vitro*”, o potencial de controle do crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii* quando submetidos à exposição de Compostos orgânicos voláteis (COVs) produzidos por isolados de *Trichoderma* spp.;
- Avaliar, “*in vitro*”, o potencial de controle do crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii* quando submetidos à exposição de Compostos orgânicos não voláteis (COÑVs) produzidos por isolados de *Trichoderma* spp.;
- Avaliar a viabilidade de escleródios produzidos pelos fitopatógenos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii* quando tratados com isolados de *Trichoderma* spp.

2 REFERÊNCIAL TEORICO

2.1 MOFO-BRANCO (*Sclerotinia sclerotiorum*)

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary é o agente etiológico causador da doença popularmente conhecida como mofo-branco, capaz de infectar mais de 400 espécies de plantas sendo, sua grande maioria, de interesse econômico. Entre as culturas afetadas estão a alface, alfafa, algodão, batata, canola, cenoura, ervilha, feijão, girassol, lentilha, morango, mostarda, soja, tomate, entre outras (Derbyshire *et al.*, 2017; Fernando *et al.*, 2004).

A doença é caracterizada por acometer diversas partes das plantas e possuir potencial para se desenvolver desde o período vegetativo até o pós-colheita (Derbyshire *et al.*, 2017). Prefere temperaturas amenas entre 10 e 20°C, alta umidade e molhamento foliar. Devido a essas condições, a doença afeta culturas implantadas em regiões de clima temperado, subtropicais e tropicais com elevada altitude (Agrios, 2005).

Os sintomas característicos do mofo-branco ocorrem de formas semelhantes entre várias culturas. Eles são caracterizados por possuir manchas com um aspecto de encharcamento, que, com o passar do tempo, sua coloração passa a ser castanha. Posteriormente, ocorre a formação de uma massa de micélio densa e de coloração branca, que, com o passar dos dias, dá origem às estruturas de sobrevivência denominadas de escleródios (Almeida *et al.*, 2005).

Figura 1 – Esquema do ciclo de vida de *S. sclerotiorum*.



Fonte: Tese Roseli Muniz Giachini adaptado de Wharton e Kirk, 2007

Os escleródios são produzidos durante a sua fase assexuada, o fungo produz estruturas de sobrevivência constituídas por um aglomerado de hifas, denominadas escleródios. Essas estruturas geralmente apresentam formato arredondado, alongado ou irregular, com a parte interna constituída de carboidratos e proteínas, enquanto a casca é formada por células cujas paredes contêm melanina (Le Tornea, 1979), através deles, o fungo possui a capacidade de permanecer viável por até 10 anos, tornando a doença uma das mais severas e de difícil controle no campo (Choi *et al.*, 2017).

Figura 2 – Escleródios de *S. sclerotiorum* na cultura da soja



Fonte: Matthieu Morel (s.d)

A gravidade dos danos provocados pelo fungo varia conforme o clima, a localização geográfica, a sensibilidade da cultura afetada e a virulência do fungo em questão (Cunha, 2010). Em relação à temperatura, o mofo-branco é caracterizado por se desenvolver melhor em temperaturas amenas e úmidas, tornando-se extremamente severo quando mantido em temperaturas em torno de 10 - 20°C. Ambientes em que se predomina uma elevada umidade do ar e água em abundância favorecem a germinação das estruturas no solo e disseminando-se para a planta, trazendo grandes infestações do fungo (Agrios, 2005; Meyer *et al.*, 2010).

A germinação carpogênica acontece quando os escleródios são expostos à radiação solar adequada, desencadeando a emissão dos estipes e a formação dos apotécios. Por outro lado, em condições de baixa luminosidade, ocorre apenas a germinação miceliogênica, na qual

os micélios resultantes têm a capacidade de invadir os tecidos das plantas hospedeiras, iniciando assim a infecção (Meyer *et al.*, 2010).

Quando as condições são propícias, os apotécios liberam uma grande quantidade de ascósporos, que são dispersos pelo vento e têm o potencial de infectar plantas suscetíveis em um raio de 50 a 100 metros (Meyer *et al.*, 2010). O apotécio é caracterizado por possuir um formato de taça, ser carnoso e pedicelado, com coloração variando de rosa a pardo-claro, podendo chegar a medir 10 mm de diâmetro (Kurozawa; Pavan *et al.*, 2005).

Figura 3: Reprodução miceliogênica de *S. sclerotiorum* (A); Apotécios de *S. sclerotiorum* (B).



Fonte: Batista, 2022; Mais soja (s.d).

2.2 PODRIDÃO DE COLO (*Sclerotium rolfsii*)

O *Sclerotium rolfsii* é um fungo fitopatogênico habitante do solo, responsável por causar podridões de raízes, colo, bulbos e frutos em uma ampla gama de plantas, afetando mais de 500 espécies, incluindo culturas agrícolas significativas como amendoim, soja, algodão e tomate (Bosah; Igeleke; Omorusi, 2010; Punja e Rahe, 1992).

Figura 4 – Ocorrência de *Sclerotium rolfsii* em fruto de tomate, com presença de escleródios.

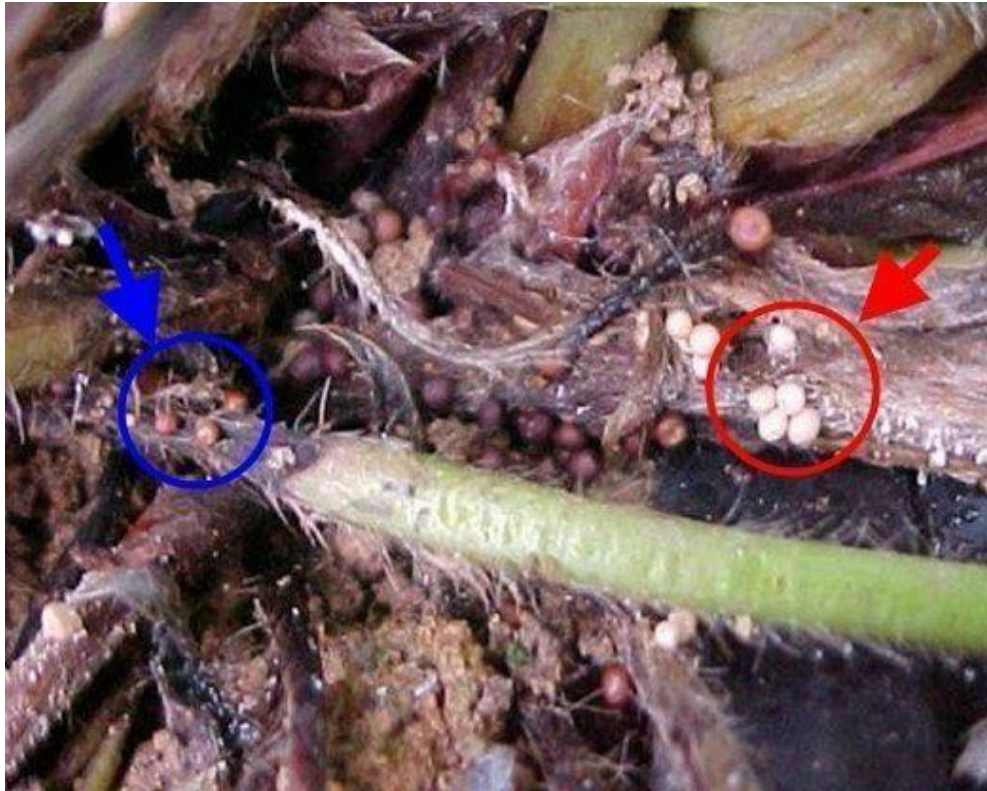


Fonte: Blancard, 2022

Assim como a *S. sclerotiorum*, o *S. rolfsii* tem a capacidade de produzir estruturas de resistência conhecidas como escleródios, que permanecem viáveis no solo, resistindo às adversidades climáticas por vários anos, representando uma fonte persistente de infecção para as plantas (Martins *et al.*, 2003; Duarte *et al.*, 2006).

A doença causada por *S. rolfsii* é tipicamente mais comum em solos úmidos e em temperaturas quentes, condições que favorecem a decomposição da matéria orgânica no solo. A infecção pode ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento da planta e resultar em podridão das raízes e do colo, levando eventualmente à morte da planta (Amorim *et al.*, 2016).

Figura 5 - Planta de morangueiro com sintomas de podridão do colo causada por *S. rolfsii*, com presença de escleródios. Escleródios marrons (seta com círculo azul); Escleródios brancos (Seta com círculo vermelho).



Fonte: Hércio Costa (s.d.)

Os escleródios desempenham um papel crucial no ciclo de vida do fungo, pois sua estrutura de resistência dá origem aos apotécios e, posteriormente, aos ascósporos. Nas plantas afetadas pela doença, ocorre o crescimento do micélio do fungo nas partes próximas ao solo, formando uma massa de micélio branca sobre a lesão. O fungo então produz numerosos escleródios arredondados e pequenos, de tamanho uniforme, resultando na murcha e morte da planta (Ueno, 2023).

O crescimento micelial e a formação de escleródios são inibidos em condições de baixas concentrações de oxigênio e alta concentração de dióxido de carbono, em torno de 15% e 3%, respectivamente. A taxa de germinação no solo é reduzida em profundidades superiores que 2,5 cm, quando comparadas com a superfície do solo. À medida que a umidade aumenta, o crescimento micelial diminui progressivamente, a incidência da doença é mais comum em solos arenosos e bem drenados, com umidade abaixo da capacidade de campo (Punja *et al.*, 1984).

2.3 MÉTODOS DE CONTROLE DOS FUNGOS

Por se tratar de dois patógenos muito parecidos, o controle dos mesmos pode ser abordado de maneira semelhante. O principal método utilizado atualmente para o controle do

S. sclerotiorum e *S. rolfsii* é o químico, porém, com a pouca quantidade de moléculas registrados no mercado (entre elas: fluazinam e procimidone) (Agrofit, 2024) e o uso inadequado desses produtos, vem-se trazendo vários relatos de resistência dos fungos pelos diversos mecanismos de ação em que os mesmos atuam, tornando o produto um gasto sem retorno para a produção (Berger Neto, 2015; Li; Zhou, 2004; Meyer *et al.*, 2018). Atualmente existem 4 produtos registrados para o controle de mofo-branco na cultura da soja e 11 produtos para o controle da podridão de colo na cultura do tomate (Agrofit, 2024).

A estratégia mais eficaz para controlá-los é a adoção combinada das três principais formas de controle: biológica, química e cultural (Meyer *et al.*, 2016). O controle biológico pode ser definido como o uso de organismos vivos e benéficos no controle de pragas e doenças. O controle químico utiliza-se de fungicidas capazes de prevenir a infecção de tecidos de plantas vivas. O controle cultural, por sua vez, é caracterizado por todas as práticas de manejo realizadas que buscam dificultar e/ou reduzir o desenvolvimento das doenças (Meyer *et al.*, 2016).

É crucial seguir rigorosamente os manejos básicos da lavoura, incluindo a aplicação de medidas preventivas, como a higienização dos implementos e materiais a serem utilizados na lavoura, a fim de evitar a introdução do fungo no cultivo. Além disso, é fundamental utilizar sementes de qualidade comprovada, livres de inóculos e certificadas (Bianchini *et al.*, 2005; Ferraz, 1999; Venturoso *et al.*, 2013).

Vale ressaltar que, em áreas já infectadas, é importante que haja o controle e redução da população carpogênica dos escleródios (Ferguson & Shew, 2001). Para esse controle, pesquisas apontam que trabalhar sempre com rotações de cultura e o uso de palhadas na cobertura do solo ocorre a criação de uma barreira física que impedirá o crescimento do corpo de frutificação do fungo (Ferraz *et al.*, 1999).

2.4 CONTROLE BIOLÓGICO

O crescente interesse nos estudos sobre controle biológico é atribuído ao aumento significativo de relatos de resistência dos fungos aos ingredientes ativos dos agrotóxicos. Além disso, a crescente preocupação com a preservação dos recursos naturais, como a contaminação da água, alimentos, fauna e flora, bem como a degradação da biodiversidade e alteração da microflora do solo, tem impulsionado a pesquisa nesse campo (O'Brien, 2017).

O controle biológico é uma técnica milenar que utiliza um ou mais agentes biológicos para diminuir ou eliminar a densidade de pragas e patógenos causadores de doenças. Essa prática tem suas origens no controle de pragas, remontando ao século III, quando os chineses usavam formigas para combater pragas em suas plantações de citros (Gonçalves *et al.*, 1996). No caso do controle biológico de doenças de plantas, trata-se do manejo de microrganismos patogênicos por meio do uso de microrganismos não patogênicos ou antagonistas (Bettioli *et al.*, 2019).

De acordo com o estudo realizado por Cook *et al.* (1983), o controle biológico de agentes invasores em plantas ocorre de duas maneiras: naturalmente, através da manipulação do ambiente, hospedeiro ou antagonista, ou pela introdução em grande escala de um ou mais organismos vivos.

O controle biológico pode ser classificado em diversas categorias, incluindo controle natural, controle clássico, controle artificial e controle aplicado (Medeiros *et al.*, 2018). Atualmente, há uma grande quantidade de estudos que evidenciam a eficácia do controle biológico, independentemente da abordagem utilizada (Bettioli *et al.*, 2019).

Embora haja poucos registros de produtos para controle de fungos à base de agentes bióticos, pesquisas realizadas por Amorim *et al.* (2018) indicam que os biodefensivos são produtos agrícolas feitos a partir de organismos vivos ou de produtos derivados desses organismos, destinados ao combate de pragas e doenças de plantas cultivadas. Para desenvolver novos produtos baseados em agentes biológicos, é crucial a criação de cepas mais eficientes e adaptadas às condições ambientais em que serão utilizados, o que requer um contínuo processo de caracterização e seleção de bioagentes (Carvalho *et al.*, 2019).

Com a crescente demanda por alimentos livres de agrotóxicos e que promovem a preservação ambiental, muitos produtores estão adotando práticas de produção orgânica (Meyer *et al.*, 2018), o que tem aumentado a busca por estudos que explorem o uso de agentes biológicos a cada ano.

Os principais agentes de biocontrole utilizados no controle de doenças fitossanitárias são fungos e bactérias, com destaque para o gênero *Trichoderma* (Amorim *et al.*, 2018). No Brasil, os biofungicidas registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), são baseados em *Trichoderma harzianum*, *T. asperellum*, *T. stromaticum*, *T. koningiopsis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus methylotrophicus* e *Bacillus licheniformis* (Agrofit, 2024).

2.5 O GÊNERO *Trichoderma*, ASPECTOS GERAIS E SEU POTENCIAL COMO AGENTE DE BIOCONTROLE.

2.5.1 Características e aspectos gerais

O gênero *Trichoderma* possui várias espécies de fungos filamentosos. Esses microrganismos pertencem ao filo *Ascomycota*, classe *Sordariomycetes*, ordem *Hypocreales* e família *Hypocreaceae* (Mycobank, 2022). O gênero também é conhecido por ter em seu grupo uma vasta quantidade de espécies que se reproduzem de forma assexuada, predominando principalmente solos de regiões de clima temperado e tropical, sendo capazes de estabelecer relações benéficas com as plantas presentes (Machado *et al.*, 2012; Nieto-Jacobo *et al.*, 2017). As espécies do gênero *Trichoderma* são conhecidas principalmente pela característica de rápido crescimento de suas colônias, as quais apresentam tufos ou pústulas de coloração geralmente esverdeadas, conidióforos ramificados e conídios formados nas extremidades de fiálides. Os conídios são globosos ou ovóides, possuem coloração verde, verde-amarelada ou hialina, com tamanho aproximado de 2,0 x 4,0 μm (Chaverri, *et al.*, 2003).

Atualmente, mais de 250 espécies de *Trichoderma* são conhecidas. A maioria dessas espécies possuem distribuição restrita e são parasitas de fungos macroscópicos e decompositores de madeira. Apenas algumas dezenas de espécies do gênero são, de fato, oportunistas ambientais e colonizam diversos solos no planeta, sendo facilmente encontrados associados à fração orgânica e à rizosfera das plantas (Druzhinina *et al.*, 2011; Monte *et al.*, 2019).

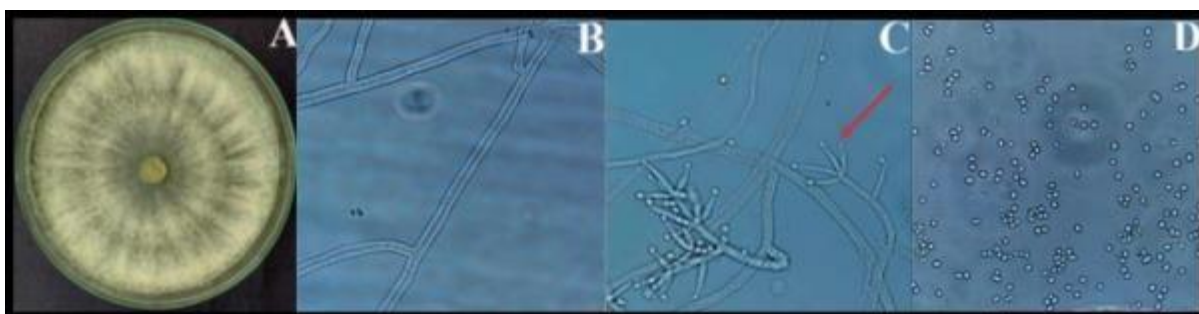
2.5.2 Morfologia do *Trichoderma* spp.

A maneira mais adequada de realizar a identificação do *Trichoderma* é através de seus caracteres morfológicos, por meio de análises genéticas. Apesar de ainda existir dificuldades e controvérsias na definição segura das espécies presentes nesse gênero (Robbertse *et al.*, 2017).

Em meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA), as espécies de *Trichoderma* se desenvolvem de forma rápida, apresentando no início do seu crescimento, uma superfície translúcida que, posteriormente, torna-se compacta, com a formação de tufos. O micélio inicialmente é de coloração esbranquiçada, que mais tarde adquire tonalidade esverdeada na colônia, essa coloração pode variar de acordo com o tipo de meio de cultura em que o *Trichoderma* está sendo cultivado (Bettiol; Morandi, 2005).

Durante a fase assexuada, os conidióforos são formados a partir do micélio vegetativo, apresentando um eixo central e ramificações laterais, as quais terminam em espirais divergentes de células conidiogênicas (fiálide), com formas alongadas ou de garrafa (Jaklitsch, 2011).

Figura 6 - A. *Trichoderma azevedoi* em meio BDA ; B. Hifas; C: Hifas e conidióforos liberando conídios; D: Conídios com formato globosos e ovóides.



Fonte: Silva; Zacaroni; Pereira et al., 2022.

Os conídios unicelulares podem assumir várias formas, como alongadas, ovais ou esféricas, e são produzidos na ponta das fiálide, geralmente, apresentam cor verde, os conidióforos, em sua maioria, estão agrupados em pústulas e distribuídos pela colônia. (Jaklitsch, 2011).

A fase sexuada do gênero *Trichoderma* ainda é pouco conhecida, principalmente devido à sua ocorrência rara. Nos poucos exemplares em que essa fase é observada, é possível notar a formação de corpos de frutificação chamados peritécios. Esses peritécios são formados em estromas e podem apresentar coloração creme, amarelada, verde ou marrom. Dentro dos peritécios, são produzidos ascos cilíndricos contendo 8 ascósporos bicelulares, que são oblongos a elipsoides. Esses ascósporos se dividem em 16 esporos de coloração amarelada, castanho-claro, verde ou amarelo-esverdeado (Chaverri; Samuels, 2003; Kuhls *et al.*, 1997).

Estudos desenvolvidos atualmente comprovam a grande capacidade que o gênero *Trichoderma* possui em controlar fungos fitopatogênicos que habitam os solos. Esse fato se deve à capacidade do fungo em colonizar escleródios, microescleródios, esporos e clamidósporos, que, de maneira geral, são alvos difíceis de serem atingidos por fungicidas sintéticos. Isto pode também estar relacionado à ocorrência natural do fungo na maioria dos solos agricultáveis (Alvarado-Marchena; Rivera-Médez, 2016; O'Brien, 2017).

2.5.3 Mecanismos de ação do *Trichoderma* spp.

As características mais atrativas do gênero *Trichoderma*, que têm despertado o interesse de pesquisadores, são seus diversos mecanismos de ação contra fitopatógenos, sem causar danos às plantas (Machado *et al.*, 2012). Conforme estudos realizados por Machado *et al.* (2012), esses mecanismos incluem competição por espaço e nutrientes, hiperparasitismo através da produção de enzimas líticas, indução de resistência, promoção de crescimento e antibiose, por meio da produção de compostos secundários.

Dentre todos os mecanismos citados acima, a competição é o que mais se destaca em eficiência para controle de doenças, devido à alta agressividade que diversas espécies do gênero apresentam e o fato de vários organismos fitopatogênicos serem sensíveis à falta de alguns nutrientes. O *Trichoderma* se multiplica rapidamente, colonizando a rizosfera, antes do patógeno, utilizando os recursos disponíveis, tais como fontes de carbono, nitrogênio, oxigênio, ferro, água, luz, espaço, entre outros (Benítez *et al.*, 2004, Machado *et al.*, 2012).

Algumas espécies possuem a capacidade de produzir compostos bioativos e elicitores que interagem com a rizosfera das plantas promovendo o crescimento, resistência sistêmica a doenças e a tolerância a estresses abióticos, como a salinidade e o estresse hídrico (Abreu & Pfenning, 2019).

2.5.4 Importância do *Trichoderma* spp. na agricultura

Várias espécies do gênero *Trichoderma* possuem um grande interesse econômico, principalmente para produtores rurais, uma vez que, eles são utilizados como biofungicidas, biofertilizantes, fitoestimulantes e como fonte de enzimas celulolíticas (Mukherjee *et al.*, 2013).

As espécies *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. harzianum* e *T. virens* têm recebido grande destaque na utilização como produtos para tratamento de sementes ou aplicadas em áreas de cultivo, visando o controle biológico de doenças de plantas e a promoção do crescimento vegetal. Essas espécies possuem uma ampla distribuição no solo e são capazes de estabelecer interações benéficas com as raízes das plantas (Abreu & Pfenning, 2019).

No experimento conduzido por Zeng *et al.* (2012), mostram o potencial do *T. harzianum* no controle do mofo-branco na cultura da soja. Segundo dados apresentados no mesmo estudo, obteve-se uma redução de 43,1% na severidade da doença e 38,5% na produção de escleródios de *S. sclerotiorum*. Estudos realizados por Carvalho *et al.* (2015) avaliaram a campo, a eficiência de diversos isolados de *Trichoderma* para o manejo de *S. sclerotiorum* em duas safras

de feijão, obtendo redução no número médio de apotécios por metro quadrado de solo. Os isolados mais eficazes foram capazes de reduzir de 46 a 62% a germinação dos apotécios.

Haddad *et al.* (2017) avaliaram *in vitro* a inibição da germinação de *S. sclerotiorum*, por 120 linhagens de *Trichoderma* spp., das quais 22 resultaram em 100% de inibição do patógeno. Além disso, nove linhagens mostraram a capacidade do fungo em proteger a soja durante a fase de germinação e de crescimento das plantas. As melhores linhagens foram identificadas como *T. koningiopsis*, *T. asperelloides*, *T. atroviride* e *T. virens*.

Atualmente, apenas algumas espécies do gênero *Trichoderma* estão registradas e comercializadas. Portanto, é crucial que novos estudos e isolamentos sejam conduzidos para identificar novos bioagentes. Isso possibilitaria a introdução de novos produtos e formulações no mercado, ampliando a oferta e estimulando a demanda por esses bioagentes (Bettioli *et al.*, 2019).

Conseqüentemente, no ambiente, ele desempenha um papel crucial na redução do uso de agrotóxicos, evitando a contaminação do solo e da água, melhorando a saúde do solo ao estimular a biodiversidade microbiana e contribuir para a decomposição da matéria orgânica, facilitando o ciclo de nutrientes (Hernández *et al.*, 2019). Para os produtores, o *Trichoderma* é uma ferramenta valiosa que promove o crescimento das plantas ao estimular o desenvolvimento das raízes e melhorar a absorção de nutrientes, o que aumenta a produtividade das lavouras reduzindo os custos ao minimizar a necessidade de insumos químicos e tratamentos para doenças (Franchi, 2019).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DOS FUNGOS

As pesquisas foram desenvolvidas no laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal de Santa Catarina - Campus de Curitibanos. Os fungos utilizados foram obtidos pela micoteca do laboratório, onde os antagonistas e os fitopatógenos encontravam-se conservados pelo método de Castellani, que consiste na preservação de discos de micélios colonizados por fungos em água destilada estéril (Gonçalves *et al.*, 2007).

3.1.1 Procedência dos fungos

O fungo *S. rolfsii* foi coletado e isolado do cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*) da horta do Campus, enquanto o fungo *S. sclerotiorum* foi isolado a partir de escleródios coletados em cultivo de soja (*Glycine max*) por Graf Junior (2018) no município de Brunópolis/SC, safra 2017/2018, sendo os mesmos isolados e mantidos por meio de multiplicação seriada em meio BDA.

Os isolados de *Trichoderma* foram coletados em solos cultivados com soja, pastagens e mata nativa no município de Brunópolis-SC, conforme relatado por Medrado (2019), e obtidos utilizando o método de diluição seriada (Alfenas & Mafia, 2007).

Brunópolis é um município localizado a 845 metros acima do nível do mar, classificado por Köppen como Cfb, caracterizado como temperado constantemente úmido, com temperatura média anual variando entre 15°C e 18°C, e frequentes ocorrências de temperaturas negativas e geadas. A região possui invernos rigorosos e uma precipitação média anual de 1600 a 2400 mm (Ciram; Epagri, 2024).

Dentre os isolados de *Trichoderma* obtidos por Medrado (2019), foram selecionados oito (1A, 36A, 36B, 98A, 99A, 102B, 111B e 112B) e um isolado do produto comercial Trichodermil® da espécie *Trichoderma harzianum* (TCOM), fabricado pela empresa Koppert para fins de comparação.

3.1.2 Reativação dos fungos

Para ativar os fungos, discos de micélio de 5 mm de diâmetro, conservados pelo método de Castellani, foram colocados no centro de placas de Petri contendo aproximadamente 15-20 mL de meio BDA (batata-dextrose-ágar) suplementado com antibiótico penicilina (1 µL de antibiótico para cada 1 mL de meio). Em seguida, as placas foram lacradas e incubadas em uma

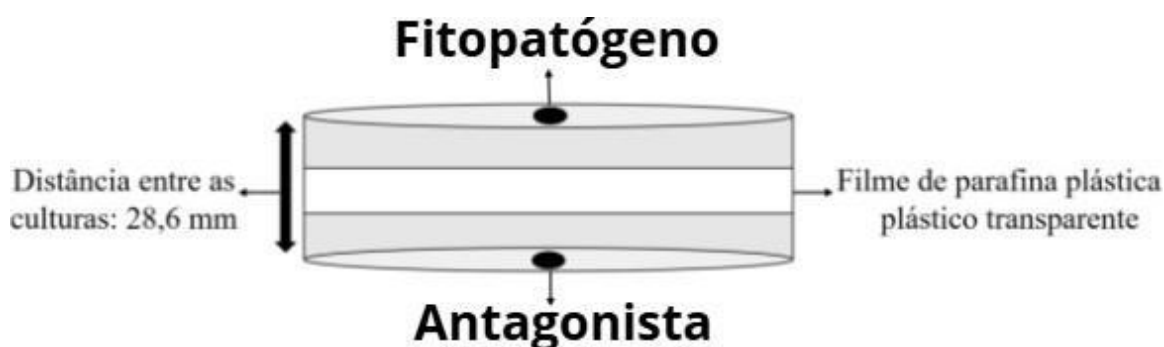
câmara de crescimento (B.O.D.) com um fotoperíodo de 12 horas e a uma temperatura de 25°C. Esse processo levou cerca de 7 dias para o *Trichoderma* e 5 dias para *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii*, tempo necessário para que as culturas atingissem tamanho suficiente para serem utilizadas nos ensaios.

3.2 INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii* APÓS A EXPOSIÇÃO AOS COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS DE *Trichoderma* spp.

Após a reativação dos fungos, para avaliar o potencial dos compostos orgânicos voláteis, utilizou-se a metodologia adaptada proposta por Denis & Webster (1971), na qual foram dispostas duas bases de placas de Petri de 90 mm de diâmetro contendo meio BDA, juntamente com antibiótico e nas mesmas repicado um disco (5 mm de diâmetro) da cultura dos patógenos e do antagonista. As placas foram sobrepostas uma na outra formando uma atmosfera compartilhada e unidas com filme plástico. O tratamento testemunha foi composto somente com meio BDA e antibiótico. Posteriormente as placas foram incubadas em B.O.D. com fotoperíodo de 12h a 25°C.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado contendo 10 tratamento e 5 repetições de cada tratamento para cada um dos fungos, a parcela experimental foi constituída por um conjunto de bases de placas de Petri.

Figura 7 - Diagrama representando a unidade experimental.



Fonte: Adaptado de Silva, 2020.

Para a análise dos dados, após a coleta, o crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos foi avaliado usando o Índice de Velocidade do Crescimento Micelial (IVCM) e a Área Abaixo da Curva de Crescimento Micelial (AACCM).

Para o cálculo do IVCM (Fórmula (1), foi utilizada a fórmula proposta por Maguire (1962) e adaptada por Oliveira (1992):

$$\text{IVCM} = \frac{\sum \frac{(y_{i+1} - y_i)}{(t_{i+1} - t_i)}}{(n-1)} \quad (1)$$

Já a avaliação da AACCM (Fórmula (2) foi obtida através da equação proposta por Campbell & Madden (1990).

$$\text{AACCM} = \sum (y_{i+1} + y_i) \cdot (t_{i+1} - t_i) \quad (2)$$

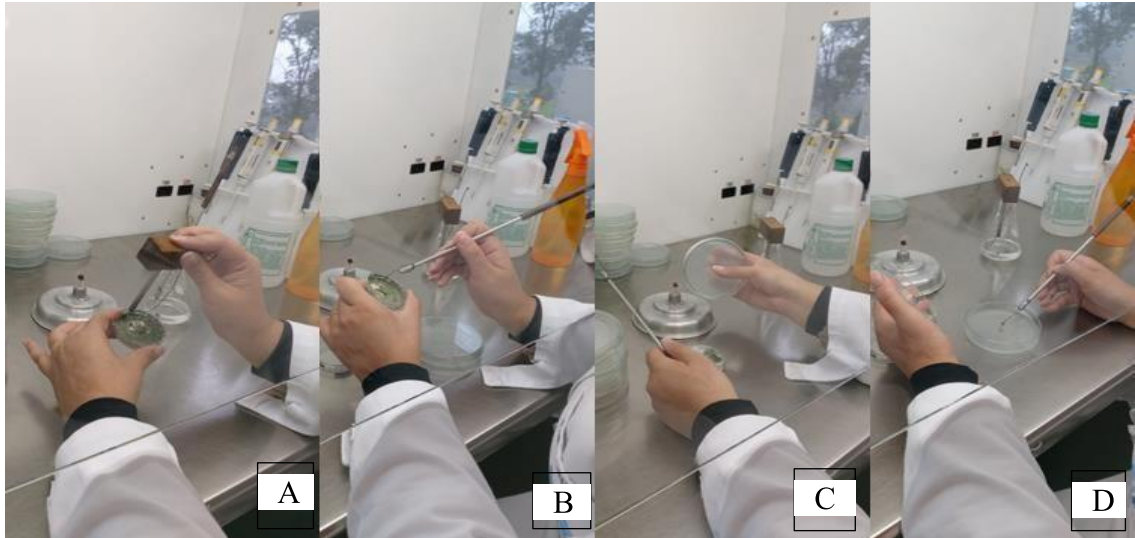
Para ambas as equações, y_i e y_{i+1} são os valores médios do diâmetro da colônia observados em duas avaliações consecutivas; t_{i+1} e t_i são os períodos das avaliações e n é o número de avaliações. Tanto a AACCM quanto o IVCM, foram convertidos em porcentagem de inibição e porcentagem de redução do crescimento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância no software R e o IVCM e AACM das colônias de cada tratamento, quando significativos, suas médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

As avaliações iniciaram 24 horas após a vedação das placas contendo o patógeno e *Trichoderma* spp., e eram realizadas utilizando-se uma régua graduada, efetuando as medições dos diâmetros verticais e horizontais da colônia do fungo fitopatogênico. As medições eram executadas duas vezes ao dia e encerradas até que no tratamento testemunha cobrisse todo o diâmetro da placa (em torno de 4-5 dias).

3.3 INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii* APÓS A EXPOSIÇÃO AOS COMPOSTOS ORGÂNICOS NÃO VOLÁTEIS DE *Trichoderma* spp.

Após a reativação dos fungos, para avaliar o potencial dos compostos orgânicos não voláteis os fungos antagonistas foram cultivados em meio BDA (Figura 8).

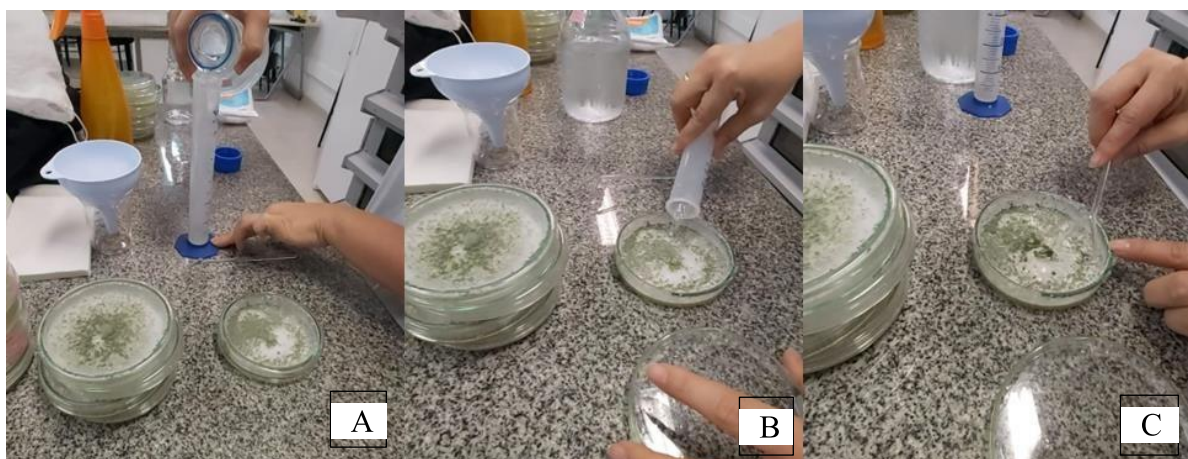
Figura 8 – Processo de Repicagem de *Trichoderma* spp. para obtenção dos conídios. Corte dos discos de micélio de *Trichoderma* spp. (A); Apanhamento dos discos de micélio, com o auxílio de uma alça (B); Flambagem da placa (C); Posicionamento do disco de micélio no centro da placa de Petri (D).



Fonte: Autora, 2024

Após 10 dias, o micélio foi removido por raspagem utilizando uma alça de Drigalski e 10 ml de água esterilizada (Figura 9). A seguir, a mistura de água e micélio foi filtrada com o auxílio de gaze estéril, e a solução resultante foi entregue para frascos, respeitando a proporção de 30% de micélio em água. Posteriormente, foi acrescentada a mistura para meio BDA, que foi então autoclavada

Figura 9 – Medida da quantidade de água para raspagem (10 ml) (A); Adição da água nas placas de *Trichoderma* spp. (B); Raspagem do micélio de *Trichoderma* spp. com água e o auxílio da alça de Drigalski (C).

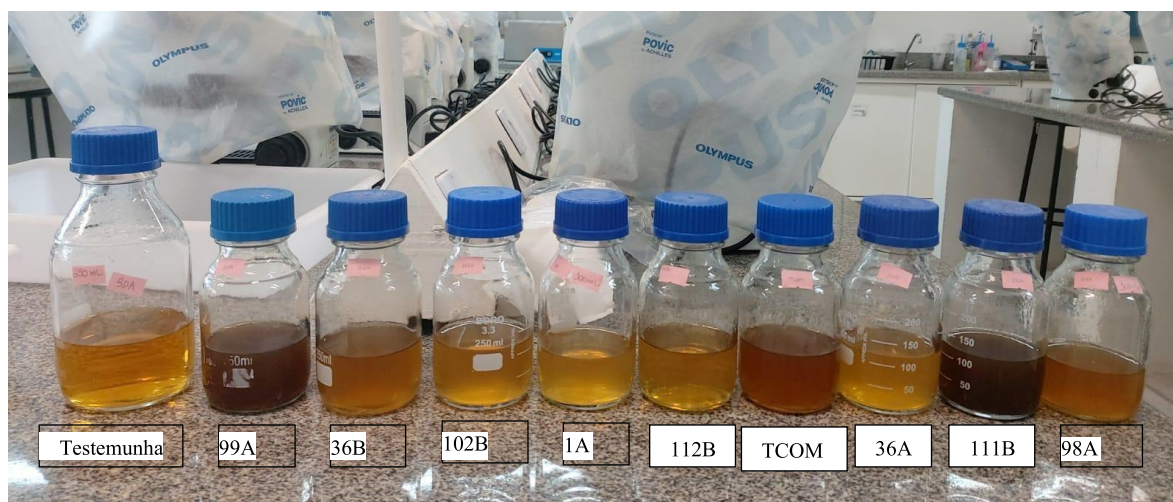


Fonte: Autora, 2024

Depois da autoclavagem (Figura 10), cada frasco contendo a mistura foi distribuído em placas de Petri, em uma proporção de 20 mL da mistura por placa. Após a solidificação do meio

contendo o filtrado de micélio de *Trichoderma* spp. um disco de micélio (com 5 mm de diâmetro), retirado de culturas dos fitopatógenos, foi posicionado no centro de cada placa. No tratamento controle, o meio consistia apenas de BDA. As placas foram vedadas e incubadas em câmara de BOD a 23 °C, com fotoperíodo de 12 horas.

Figura 10 – Disposição dos frascos contendo o filtrado de *Trichoderma* spp. (proporção de 30%) mais meio BDA, após a autoclavagem.



Fonte: Autores, 2024

Com os dados obtidos referentes ao crescimento dos fungos, foram calculados a Área Abaixo da Curva de Crescimento Micelial (AACCM) e o Índice de Velocidade do Crescimento Micelial, por meio das fórmulas 1 e 2, citadas no item 3.2.

As medições do diâmetro dos discos foram realizadas diariamente e as avaliações encerraram-se quando toda a superfície do meio, nas placas testemunhas, apresentaram-se colonizadas pelos patógenos.

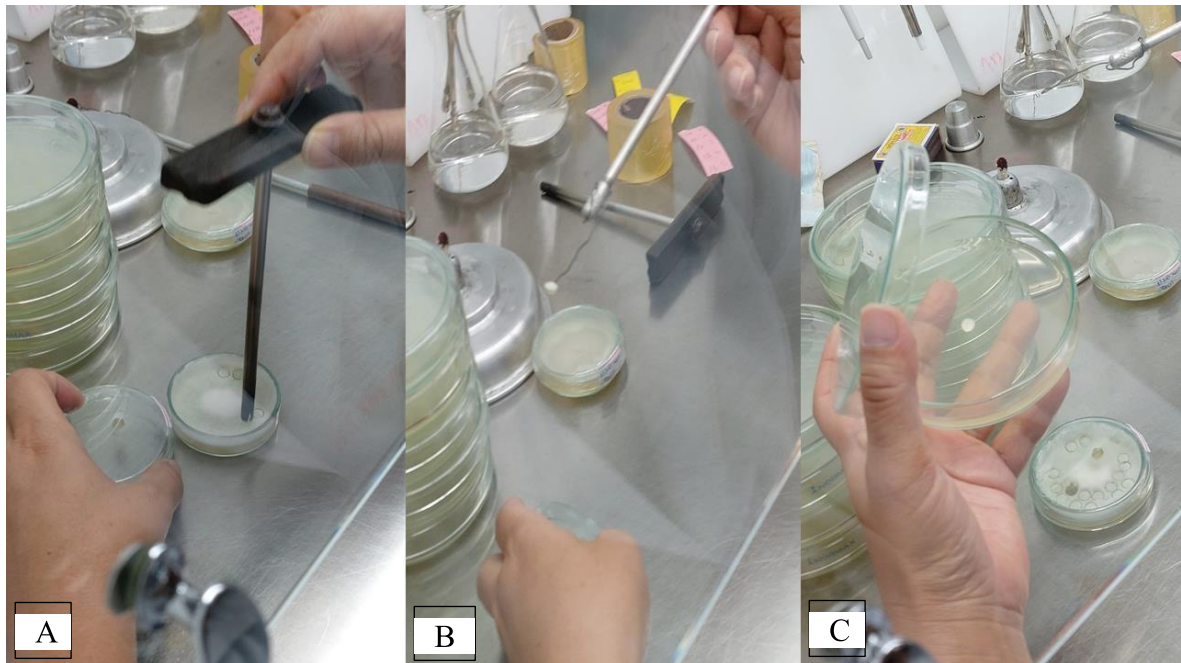
O delineamento foi inteiramente casualizado com cinco repetições por tratamento. Os dados obtidos no teste foram submetidos à análise de variância para verificação da significância e, quando significativos, foi aplicado o teste de comparação de médias pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, com auxílio do software R.

3.4 TESTE DE INIBIÇÃO DA GERMINAÇÃO MICELIOGÊNICA DE ESCLERÓDIOS

Inicialmente foi necessário produzir os escleródios que seriam utilizados no teste. Para isso, foram repicados discos de micélio das colônias de *S. rolfsii* e *S. sclerotiorum* em 15 placas

de Petri com BDA para cada fitopatógeno, em seguida as placas foram vedadas com filme plástico e incubadas em câmara de crescimento (BOD), em fotoperíodo de 12 horas, com temperatura de 25°C por 10 dias, tempo suficiente para a produção da quantidade necessária de escleródios.

Figura 11 – Processo de repicagem dos fungos fitopatogênicos para produção de escleródios. Corte dos discos de micélio (A); Transferência do disco de micélio (B); Posicionamento do disco de micélio em placas de Petri (C).



Fonte: Autora, 2024

Da mesma forma, foi realizada a repicagem de discos de micélio de *Trichoderma* em 5 placas de Petri (BDA) para cada isolado avaliado. Foram utilizados 9 isolados, totalizando 45 placas de Petri para cada fungo fitopatogênico. As placas foram vedadas e incubadas em BOD em fotoperíodo de 12 horas, a 25°C por 10 dias.

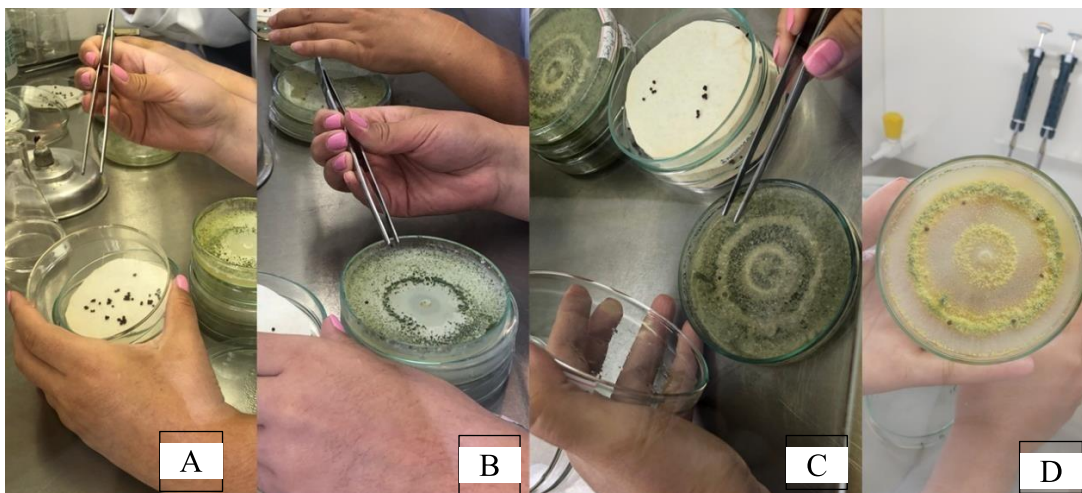
Figura 12 - Exemplos de colônias de *Trichoderma* spp. com dez dias de crescimento.



Fonte: Autora, 2024.

Após dez dias de incubação das colônias de *Trichoderma*, foram transferidos seis escleródios para cada placa. No grupo de controle, os escleródios foram depositados em placas contendo apenas meio BDA. Em seguida, as placas foram vedadas novamente e incubadas por 7 e 20 dias para o *S. rolfsii* e 20 dias para *S. sclerotiorum*, em uma câmara de crescimento (BOD), mantida a 25°C e com um fotoperíodo de 12 horas. Durante esse período, foi observada a presença ou ausência de micélio dos fitopatogênicos sobre as colônias de *Trichoderma*.

Figura 13 – Esquema da montagem do experimento. Limpeza dos escleródios (A); Disposição dos escleródios nas placas de *Trichoderma* spp. (B), (C); Exemplo de unidade experimental pronta (C).



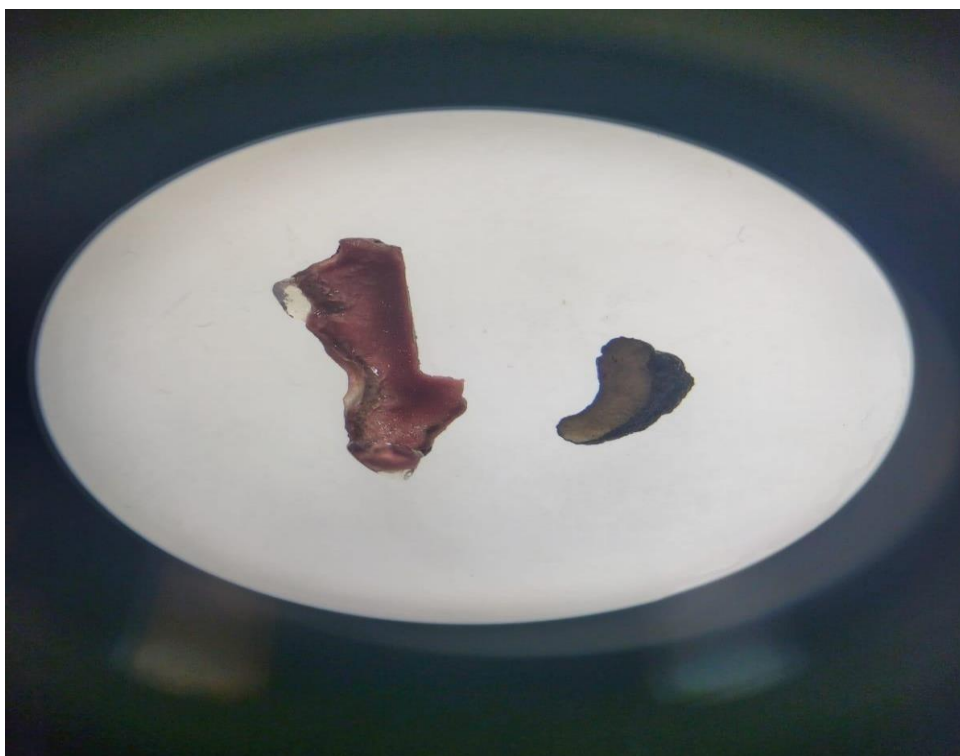
Fonte: Autora, 2024

Após o tempo de incubação determinado para cada fungo fitopatogênico, foi feita a retirada dos escleródios e separados conforme suas respectivas colônias e submetidos ao teste de Trifenil Cloreto de Tetrazólio (TCT). A metodologia utilizada foi adaptada de França Neto & Krzyzanowski (2018).

Os seis escleródios de cada repetição foram transferidos para frascos de vidro de penicilina contendo 1 mL de água e 1 mL de água contendo o sal TCT dissolvido. Utilizou-se uma solução de 0,5% do sal de TCT, e os escleródios foram mantidos submersos por 48 horas nessa solução.

Após 48 horas, os escleródios foram lavados em água, secos em papel filtro, e então cortados ao meio para avaliação quanto à presença da coloração característica. Os escleródios com coloração avermelhada foram considerados viáveis, enquanto aqueles com coloração amarelada foram considerados não viáveis (Figura 14).

Figura 14 - Escleródio viável (coloração interna rosada à esquerda) e escleródio não viável (coloração amarelada à direita), através da lupa.



Fonte: Autora, 2024

O delineamento experimental adotado para cada teste foi o inteiramente casualizado, com 10 tratamentos e 4 repetições, cada um contendo 6 escleródios em cada placa. A comparação entre os diferentes isolados de *Trichoderma* e sua viabilidade (presença ou ausência da coloração) foi realizada utilizando o teste Z com nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii* APÓS A EXPOSIÇÃO AOS COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS DE *Trichoderma* spp.

Os resultados dos testes de AACCM e IVCM para *S. rolfsii* estão apresentados na Tabela 1. Os isolados de *Trichoderma* mostraram diferentes respostas em relação à inibição e redução do crescimento do fungo, diferindo da Testemunha. De acordo com os resultados da inibição do crescimento, os isolados 102B, 36B, 112B e 1A apresentaram redução de 16%, 14%, 13% e 13%, respectivamente. Além dos tratamentos citados anteriormente, os isolados 111B, 99A e 36A também diferiram estatisticamente da Testemunha (Figura 15). Em relação à velocidade do crescimento, todos os isolados testados demonstraram um crescimento menor em comparação com o grupo controle, diferenciando estatisticamente do mesmo.

Tabela 1 – Porcentagem de inibição do crescimento micelial (%) e redução da velocidade de crescimento (cm/dia) do fungo *Sclerotium rolfsii* após a exposição aos Compostos Orgânicos Voláteis de *Trichoderma* spp.

Tratamentos	Inibição do crescimento (%)	Velocidade de crescimento micelial (cm/dia)
102B	16a	1,01a
36B	14a	1,18a
112B	13a	1,09a
1A	13a	1,10a
111B	11a	1,49a
99A	9a	1,25a
36A	9a	1,26a
TCOM	5b	1,49a
98A	4b	1,40a
TEST	0b	2,59b
CV (%)	56,30	21,40

*Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($p < 0,05$). CV – Coeficiente de variação

Fonte: Autores, 2024.

Estudos demonstram a capacidade das espécies de *Trichoderma* em produzir uma ampla variedade de compostos orgânicos voláteis, pertencentes a diversas classes químicas, os quais são capazes de inibir fitopatógenos e promover o crescimento das plantas (Chen *et al.*, 2016; Kottb *et al.*, 2015). Na pesquisa conduzida por Isaias *et al.* (2014), foram avaliados os metabólitos voláteis de isolados de *Trichoderma* CEN725 (*T. harzianum*), CEN776 (*T. koningiopsis*) e CEN786 (*T. asperellum*). Foi constatado que houve uma inibição superior a 60% do crescimento de *S. rolfsii*, e em relação a *V. dahliae*, o isolado CEN768 (*T. koningiopsis*) inibiu completamente o crescimento, enquanto o isolado CEN698 (*T. koningiopsis*) alcançou uma inibição em torno de 70%. Em outro estudo, Guimarães *et al.* (2016) avaliaram a ação de metabólitos voláteis e não voláteis de cinco isolados de *Trichoderma harzianum* sobre o crescimento de *Cladosporium herbarum*, e constataram que o isolado CEN288 apresentou a melhor ação antifúngica, inibindo o crescimento do patógeno.

Figura 15 – Teste de inibição micelial de *Sclerotium rolfsii* (Placas sem identificação) quando submetido a exposição de compostos orgânicos voláteis de *Trichoderma* spp. (Isolados identificados na imagem).



Fonte: Autora, 2024

Os resultados dos testes de AACCM e IVCM para *S. sclerotiorum* estão apresentados na Tabela 2. Os isolados não demonstraram uma porcentagem significativa de inibição em

relação ao crescimento do fungo (Figura 16). Nota-se que os isolados que apresentaram alguma taxa de controle no crescimento micelial do fungo foram o 102B, 99A e 36B, com uma porcentagem de controle de, respectivamente, 3%, 2% e 2% de inibição.

Tabela 2 – Porcentagem de inibição do crescimento micelial (%) e redução da velocidade de crescimento (cm/dia) do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* após a exposição aos Compostos Orgânicos Voláteis de *Trichoderma* spp.

Tratamentos	Inibição do crescimento (%)	Velocidade de crescimento micelial (cm/dia)
102B	3,33a	4,07a
99A	2,40a	4,16a
36B	2,01a	4,17a
TEST	0a	4,37b
98A	-1,33a	4,38b
1A	-0,12a	4,55c
36A	0,67a	4,57c
TCOM	2,46a	4,63c
112B	2,30a	4,65c
111B	3,73a	4,70c
CV (%)	2,82	3,57

*Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($p < 0,05$). CV – Coeficiente de variação.

Fonte: Autores, 2024.

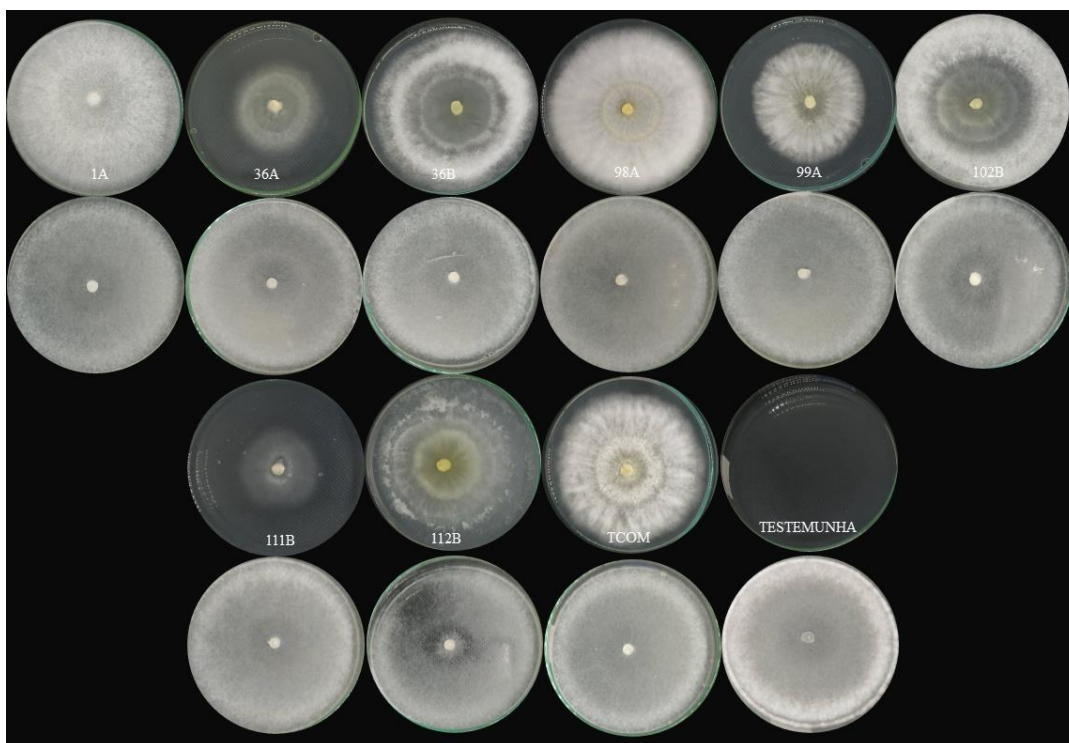
Uma possível explicação para a ausência de controle pode ser encontrada em pesquisas conduzidas por Benhamou & Chet (1996) que sugerem que, além do parasitismo direto, outros mecanismos podem estar envolvidos na ação antagonista dos fungos do gênero *Trichoderma*. Esses mecanismos incluem antibiose e competição, os quais podem resultar em um certo estresse no fungo fitopatogênico. Esse estresse pode, por sua vez, acelerar o desenvolvimento do fungo fitopatogênico e favorecê-lo nas condições ambientais disponíveis.

Entretanto, apesar da produção de compostos orgânicos voláteis produzidas por isolados de *Trichoderma* spp. não apresentaram resultado em inibir o *S. sclerotiorum* nesse estudo, Marques *et al.* (2018) demonstraram que é possível retardar o avanço micelial de *S. sclerotiorum* através dos metabólitos voláteis produzidos por isolados de *Trichoderma*. Assim como, na pesquisa realizada por Silva (2022) que obteve resultados positivos ao submeter o fungo *S. sclerotiorum* em exposição aos compostos orgânicos voláteis de linhagem de *Trichoderma*, o mesmo identificado no então trabalho como CEN1241 foi o que mostrou

maiores porcentagens inibitórias com médias de 28,0, 35,8 e 35,2% nos três ensaios conduzidos pelo autor.

Figura 16 - Teste de inibição micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* (Placas sem identificação) quando submetido a exposição de compostos orgânicos voláteis de *Trichoderma* spp.

(Isolados identificados na imagem)



Fonte: Autora, 2024

4.2 INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *S. sclerotiorum* E *S. rolfsii* APÓS A EXPOSIÇÃO AOS COMPOSTOS ORGÂNICOS NÃO VOLÁTEIS DE *Trichoderma* spp.

Os resultados atingidos em relação aos testes de AACCM e IVCN para *S. rolfsii* podem ser observados na Tabela 3. Os isolados de *Trichoderma* apresentaram diferentes respostas em relação à inibição e redução do crescimento do fungo. De acordo com os resultados obtidos em relação a inibição do crescimento, os isolados TCOM e 36B, apresentaram redução de 48% e 41%, respectivamente, em relação a testemunha (Figura 17). Em relação a velocidade do crescimento, todos os isolados testados com exceção do 1A diferiram estatisticamente da testemunha, apresentando controle significativo da velocidade de crescimento do fitopatógeno.

Tabela 3 – Porcentagem de inibição do crescimento micelial (%) e redução da velocidade de crescimento (cm/dia) do fungo *Sclerotium rolfsii* após a exposição aos Compostos Orgânicos Não Voláteis de *Trichoderma* spp.

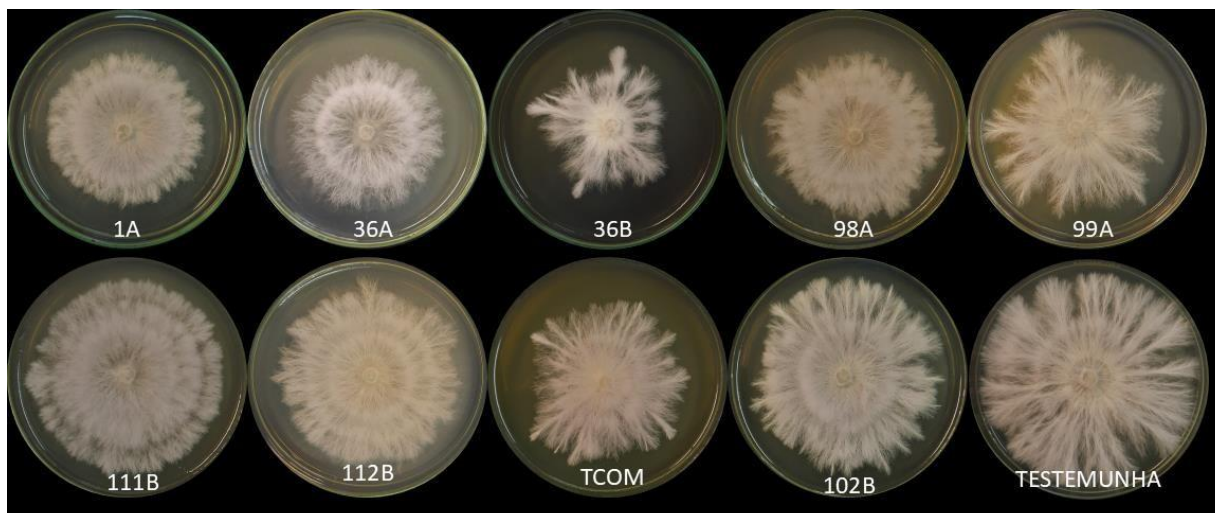
Tratamentos	Inibição do crescimento (%)	Velocidade de crescimento micelial (cm/dia)
TCOM	48a	1,03a
36B	41a	0,99a
99A	16b	1,29b
102B	16b	1,35b
111B	14b	1,42b
36A	11b	1,25b
112B	8c	1,34b
1A	6c	1,51c
98A	5c	1,36b
TEST	0c	1,68c
CV (%)	7,7	12,4

*Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($p < 0,05$). CV – Coeficiente de variação.

Fonte: Autora, 2024.

Através dos dados estatísticos obtidos, podemos observar que todos os isolados testados apresentaram controle em relação ao fungo *S. rolfsii*. No estudo realizado por Kushwaha *et al.* (2018), foi avaliado o antagonismo de três espécies do gênero *Trichoderma* contra o fungo fitopatogênico *S. rolfsii*. A pesquisa teve como objetivo principal analisar o efeito de compostos produzidos por espécies de *Trichoderma* no controle do patógeno, no experimento em questão, foi utilizado o filtrado dos antagonistas para verificar a ação de compostos não voláteis, que atuam de forma direta sobre o desenvolvimento de *S. rolfsii*, os resultados obtidos indicaram que, entre as espécies de *Trichoderma* estudadas, os compostos não voláteis produzidos por *T. harzianum* foram os mais eficazes na supressão do patógeno, destacando-se como a espécie que promoveu maior inibição do crescimento de *S. rolfsii*. Segundo o relato feito pelo autor isso se deve provavelmente à produção de metabólitos secundários com forte ação antifúngica, o que interfere diretamente nos mecanismos de crescimento e desenvolvimento do patógeno.

Figura 17 – Teste de inibição micelial de *Sclerotium rolfsii* quando submetido a exposição de compostos orgânicos não voláteis de *Trichoderma* spp.



Fonte: Autora, 2024

Já em relação ao teste realizado com o *S. sclerotiorum*, os resultados de AACCM e IVCM estão expostos na Tabela 4. Os isolados 111B, TCOM, 99A e 98A demonstraram um controle significativo do fungo fitopatogênico, apresentando uma porcentagem de controle, respectivamente, 83%, 70%, 66% e 51%. Já para a velocidade de crescimento apenas os isolados citados anteriormente diferiram estatisticamente da testemunha.

Tabela 4 – Porcentagem de inibição do crescimento micelial (%) e redução da velocidade de crescimento (cm/dia) do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* após a exposição aos Compostos Orgânicos Não Voláteis de *Trichoderma* spp.

Tratamentos	Inibição do crescimento (%)	Velocidade de crescimento micelial (cm/dia)
111B	83a	0,64a
TCOM	70b	0,87a
99A	66b	1,11a
98A	51c	1,67b
36B	22d	2,41c
36A	8e	2,41c
1A	4e	2,47c
112B	1e	2,54c
TEST	0e	2,51c
102B	-1e	2,50c
CV (%)	10,24	15,6

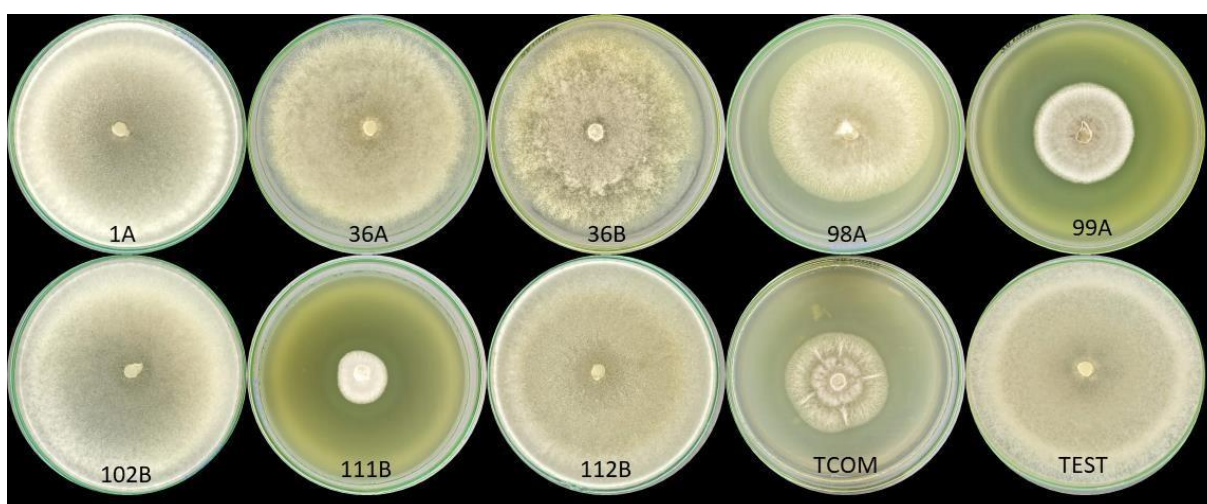
*Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($p < 0,05$). CV – Coeficiente de variação.

Fonte: Autores, 2024.

Analisando os dados obtidos para o controle do fungo *S.sclerotiorum* observamos que o tratamento com isolado 102B, o fungo fitopatogênico desenvolveu-se mais rápido que a testemunha. No estudo elaborado por Chagas Junior *et al*, 2018 relataram que isolados de *Trichoderma* spp. podem demonstrar maior ou menor capacidade de inibição no controle micelial de fitopatógenos, isso dependerá da atividade de defesa que exercem, da produção de substâncias inibitórias e também da estrutura física dos mesmos.

No estudo desenvolvido por Carvalho *et al*, 2019, foram verificadas reduções no crescimento micelial de *S. sclerotiorum* devido aos metabólitos não voláteis de *T. harzianum*, nos quais os isolados CEN287 e CEN316 inibiram o crescimento do patógeno em 95% e 90%, respectivamente, confirmando que várias espécies de *Trichoderma* podem atuar efetivamente como antagonistas no biocontrole do fungo *S. sclerotiorum*.

Figura 18 – Teste de inibição micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* quando submetido a exposição de compostos orgânicos voláteis de *Trichoderma* spp.



Fonte: Autora, 2024

4.3 TESTE DE INIBIÇÃO DA GERMINAÇÃO MICELIOGÊNICA DE ESCLERÓDIOS DE *S. rolfsii* e *S. sclerotiorum*

Ao analisar o teste de inibição da germinação, observa-se que apenas 7 dias não são suficientes para alcançar o controle da germinação micelial dos escleródios de *S. rolfsii*. Exceto pelo isolado identificado como 111B, que apresentou pequeno controle, porém insuficiente para um controle significativo do fungo, como evidenciado na Tabela 5.

Tabela 5 – Porcentagem de inibição da viabilidade de escleródios de *Sclerotium rolfsii* tratados com isolados de *Trichoderma* coletados em Brunópolis – SC.

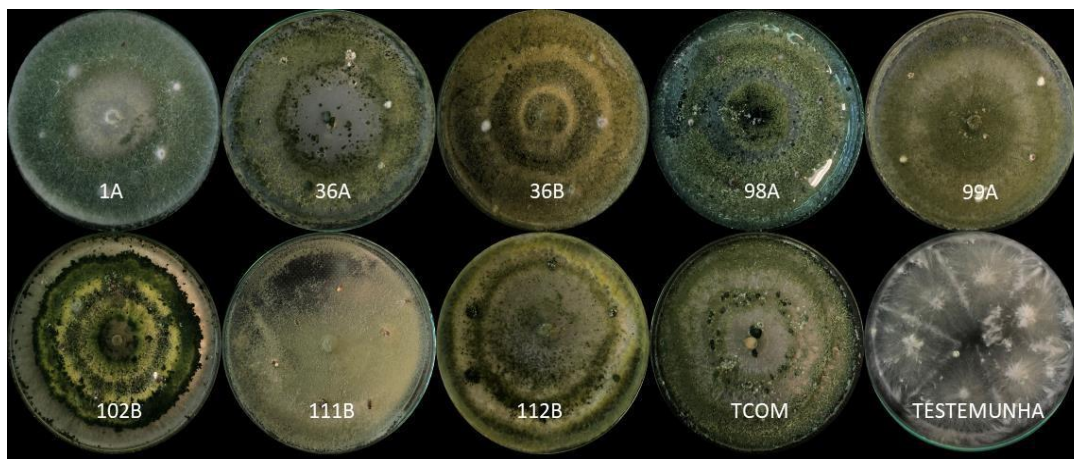
Tratamentos	Inibição da viabilidade (%) (7 dias)	Inibição da viabilidade (%) (20 dias)
1A	0	100a
102B	0	100a
99A	0	60b
111B	2	50b
36B	0	40b
112B	0	0c
98A	0	0c
36A	0	0c
TCOM	0	0c
TEST	0	0c

Fonte: Autora, 2024.

Por outro lado, após 20 dias de incubação, dois isolados demonstraram um potencial de inibição de 100% do fungo, sendo eles os identificados como 1A e 102B. Além disso, os isolados 99A, 111B e 36B também apresentaram resultados satisfatórios no controle, com porcentagens de inibição de, respectivamente, 60%, 50% e 40%. Entretanto, os demais isolados não demonstraram nenhum controle efetivo (Tabela 5).

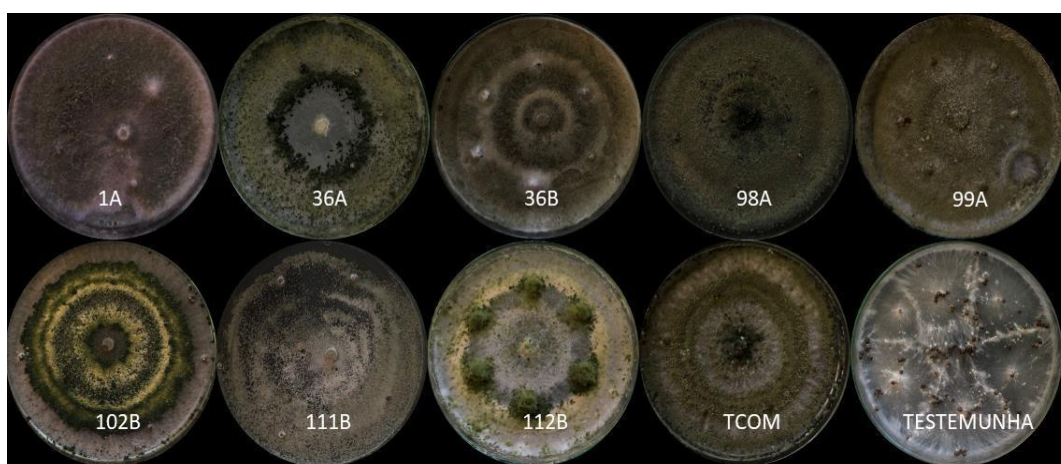
Os resultados indicam que, embora os isolados 1A e 102B tenham apresentado resultados satisfatórios aos 20 dias, eles não demonstraram eficácia apenas após 7 dias, sugerindo que os mecanismos de ação presentes nos fungos antagonistas necessitam de mais tempo para afetar a viabilidade dos escleródios do fungo fitopatogênico. Além disso, mesmo o isolado 111B mostrando algum controle após 7 dias, o mesmo precisa de mais tempo para que seus mecanismos de ação atuem de forma significativa no controle do *S. rolfsii*. Essas observações são consistentes com os dados apresentados nas Figuras 19 e 20.

Figura 19 – Escleródios de *Sclerotium rolfsii* sobre *Trichoderma* spp. após 7 dias de incubação.



Fonte: Autora, 2024

Figura 20 – Escleródios de *Sclerotium rolfsii* sobre *Trichoderma* spp. após 20 dias de incubação.



Fonte: Autora, 2024

Em estudos conduzidos por Morandi *et al.* (2006), foi investigada a capacidade de controle de 20 isolados diferentes de *Trichoderma* em inibir a germinação e parasitar os escleródios de *S. sclerotiorum*. Nesse teste, os escleródios foram enterrados no solo e os isolados de *Trichoderma* spp. foram aplicados em uma concentração de 107 conídios/mL. Os resultados obtidos pelos autores revelaram que 6 isolados foram eficazes tanto na inibição da germinação quanto no parasitismo dos escleródios. Além disso, alguns isolados mostraram eficácia na inibição da germinação, porém não tiveram efeito sobre o parasitismo das estruturas de resistência do fungo, sugerindo a ocorrência de antibiose como o principal mecanismo de ação desses isolados.

Já para o ensaio de análise de inibição da germinação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* ocorreu até o vigésimo dia após a instalação do experimento. Com os resultados

encontrados na Tabela 6, podemos verificar que neste tempo os isolados 1A, 102B e TCOM obtiveram 9%, 5% e 5%, respectivamente (Figura 21).

Tabela 6 – Porcentagem de inibição da viabilidade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* tratados com diferentes isolados de *Trichoderma* coletados em Brunópolis – SC.

Tratamentos	Inibição da viabilidade (%) (20 dias)
1A	9a
102B	5a
TCOM	5a
111B	0b
36B	0b
112B	0b
98A	0b
36A	0b
99A	0b
TEST	0b

Fonte: Autora, 2024.

Nos ensaios conduzidos por Vargas (2022) com os mesmos isolados de *Trichoderma* testados neste experimento e na inibição de *S. sclerotiorum*, não houve controle observado aos 15 dias. No entanto, aos 40 dias, os isolados 1A, 102B e TCOM inibiram 90%, 77% e 30%, respectivamente. Isso sugere que esses isolados começam a exercer controle a partir de 20 dias e podem alcançar 100% de inibição após mais de 40 dias.

Milan (2015), testou o efeito de regimes de luz na produção de conídios de *T. harzianum* e na efetividade destes em inibir a germinação miceliogênica de escleródios de *S. sclerotiorum*. O isolado identificado trabalho como CEN287 inibiu a germinação miceliogênica de 80% dos escleródios avaliados. Tal efetividade não se alterou quanto ao regime de luz empregado para a obtenção dos conídios de *T. harzianum*.

Figura 21 – Escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* sobre *Trichoderma* spp. após 20 dias de incubação.



Fonte: Autora, 2024

5 CONCLUSÃO

Os isolados de *Trichoderma* spp. do presente estudo demonstraram diferentes resultados em relação aos testes realizados no controle dos fungos fitopatogênicos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*. Para o teste de inibição do crescimento micelial após a exposição aos compostos orgânicos voláteis todos os isolados testados demonstraram resultados satisfatórios no controle do fungo *S. rolfsii*, porém, os isolados 98A, 1A, 36A, TCOM, 112B e 111B para o fungo *S. sclerotiorum* não demonstraram controle. Destaque para o isolado 102B que se evidenciou no controle de ambos os fitopatógenos.

Já para o teste com os compostos orgânicos não voláteis, com exceção do isolado 102B para o fitopatogênico *S. sclerotiorum*, ambos os testes apresentaram resultados satisfatórios na ação dos isolados de *Trichoderma* spp. na inibição do crescimento micelial dos fungos *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii*. Observamos também que o isolado comercial, identificado como TCOM, destacou-se no controle dos dois fungos fitopatogênicos e o isolado 111B aproximou-se da inibição por completo do fungo *S. sclerotiorum*, tendo uma porcentagem de controle de 80%.

Quanto a redução da viabilidade dos escleródios de ambos os fungos fitopatogênicos os isolados 1A e 102B demonstraram eficiência no controle de *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii*, ficando à frente do produto comercial (TCOM), demonstrando a alta eficiência de controle quando utilizamos de fungos locais.

Quando comparamos os testes feitos com os Compostos Orgânicos Voláteis e Não Voláteis das espécies de *Trichoderma* coletadas na região de Brunópolis - SC, observamos que os testes feitos com os Compostos Orgânicos Não Voláteis tiveram melhores resultados. Já quando comparamos os três experimentos de maneira geral, o experimento sobre a Germinação Miceliogênica dos Escleródios se torna um uma melhor opção para testes a campo.

Vale ressaltar que os testes realizados no presente estudos foram feitos apenas em laboratório, com ambiente inteiramente controlado e que estes devem ser testados a campo também para comprovação dos isolados como agentes antagonistas.

REFERÊNCIAS

- ABREU, L. M.; PFENNING, L. H.; O gênero *Trichoderma*. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. *Trichoderma: Uso na agricultura*. 1.ed. Brasília: Embrapa, 2019, 538 p.
- AGRIOS, G. N. *Plant pathology*. 2.ed. San Diego: Academic Press, 2005b. 635p
- AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários, 2023 Disponível em: https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons Acesso em: 07 ago. 2024
- AKHTAR, R.; JAVAID, A. Biological management of basal rot of onion by *Trichoderma harzianum* and *Withania somnifera*. *Planta Daninha*, v. 36, p. e018170507, 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pd/a/wfXBKJMmDR3Q9FZtWTYvk5M/?lang=en> Acesso em: 07 ago. 2024
- ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. (Ed.). Métodos em Fitopatologia. Viçosa: Editora UFV, 2007. 382 p.
- ALMEIDA, A.M.R.; FERREIRA, J.T.; YORINORI, J.F.V. et al. Doenças da soja. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M. et al. **Manual de fitopatologia**. 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres Ltda, 2005. 663 p.
- ALVARADO-MARCHENA L, RIVERA-MÉNDEZ W. 2016. Molecular identification of *Trichoderma* spp. in garlic and onion fields and in vitro antagonism trials on *Sclerotium cepivorum*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 40: 1-9.
- AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. e A. **Manual de Fitopatologia**. 5. ed. Ouro Fino - MG: Agronômica Ceres, 2016. 810 p.
- AMORIM, L.; BERGAMIM FILHO, A. REZENDE, J.A.M. **Manual de Fitopatologia**. 5.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2, 2018.
- BENHAMOU, N. & CHET, I. 1996. Parasitism de *Sclerotia* of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*: ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. **Phytopathology** 86(4):405-416
- BENITEZ T, RINCÓN AM, LIMÓN MC, CONDÓN AC. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, 7: 249-260.
- BERGER NETO, A. **Controle do mofo branco: efeito de pontas e volumes de pulverização em soja e produtos biológicos em soja e canola**. 2015. 103 f. Dissertação

(Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2015.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. In: MICHEREFF, S.J.; BARROS, R. **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife: UFRPE Imprensa Universitária, 2001. p. 01-03. Disponível em: <https://jbb.ibict.br/handle/1/597> . Acesso: 15 mar 2024.

BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. Solos supressivos. In: MICHEREFF, S.J.; ANDRADE, D.E.G.T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, 2005. P. 125-129.

BETTIOL, W.; SILVA, J. C.; CASTRO, M.L.M.P. Uso atual e perspectivas do *Trichoderma* no Brasil. In: MEYER, M.C.; MAZARO, S.M.; SILVA, J.C. **Trichoderma: uso na agricultura**. 1.ed. Brasília: Embrapa, 2019. p. 22-30

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C.; CARNEIRO, B. S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, A.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (ed.). **Manual de Fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Ceres, 2005. p. 580-581-371.

BOSAH, O.; IGELEKE, C. A.; OMORUSI, V. I. In **Vitro Microbial Control of Pathogenic Sclerotium rolfii**. 2010. Disponível em: https://www.fspublishers.org/Issue.php?no_download=published_papers/31936..pdf&issue Acesso em: 19 mar. 2024.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, Laurence V. Introduction to plant disease epidemiology. New York: Ed. J. Wiley, 1990.

CARVALHO, Daniel Diego Costa et al. Controle biológico do mofo branco por *Trichoderma harzianum* em feijoeiro comum em condições de campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** , v. 50, p. 1220-1224, 2015.

CARVALHO, Daniel Diego Costa et al. **Antagonist activity of *Trichoderma harzianum* against *Sclerotinia sclerotiorum* from common bean**. 2019. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1112900/1/19067801091PB.pdf> Acesso em: 07 ago. 2024

CARVALHO, D. D. C.; MUNIZ, P. H. P. C.; OLIVEIRA, T. A. S.; MARTINS, I.; MELLO, S. C. M. **Antagonist activity of *Trichoderma harzianum* against *Sclerotinia sclerotiorum* from common bean**. Acta Iguazu, Cascavel, v.8, n.1, p. 60-67. 2019.

CHAGAS JUNIOR, A. F. et al. Ação de *Trichoderma* spp. no controle de *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. Revista Agri-Environmental Sciences, Palmas-TO, v. 4, n. 2, 2018.

CHAVERRI P, SAMUELS GJ. 2003. Hypocrea/*Trichoderma* (Ascomycota, Hypocreales, Hypocreaceae): species with green ascospores. **Studies in Mycology**, 48: 1-116.

CHEN JL, SUN SZ, MIAO CP, WU K, CHEN YW, XU LH, GUAN HL, ZHAO LX. 2016. Endophytic *Trichoderma gamsii* YIM PH30019: a promising biocontrol agent with hyperosmolar, mycoparasitism, and antagonistic activities of induced volatile organic compounds on root-rot pathogenic fungi of *Panax notoginseng*. **Journal of Ginseng Research**, 40: 315-324.

CHOI IY, KIM JH, KIM J, HAM KS, GALEA V, SHIN HD. 2017. Confirmation of *Sclerotinia sclerotiorum* as the causal agent of stem rot of stock in Korea. **Australasian Plant Disease**, 12: 1-3

CIRAM; EPAGRI. Zoneamento agroecológico e socioambiental do estado de Santa Catarina. Disponível em: <https://ciram.epagri.sc.gov.br/images/documentos/ZonAgroecoMapas.pdf>. Acesso: 20 mar. 2024.

COOK, R. JAMES et al. A natureza e a prática do controle biológico de fitopatógenos. **American Phytopathological Society**, 1983.

CUNHA, W. G. **Resistência a *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de soja geneticamente modificadas para expressar o gene oxalato descarboxilase de *Flammulina velutipes***. 2010. 96 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biologia Molecular, Universidade de Brasília, Distrito Federal, 2010.

DENIS, C.; WEBSTER, J. Propriedades antagônicas de grupos de espécies de *Trichoderma*: I. Produção de antibióticos não voláteis. **Transações da Sociedade Micológica Britânica**, v. 57, n. 1, pág. 25-IN3, 1971.

DERBYSHIRE M, DENTON-GILES M, HEGEDUSD, SEIFBARGHY S, ROLLINS J, KAN J, SEIDL MF, FAINO L, et al. 2017. The complete genome sequence of the phytopathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum* reveals insights into the genome architecture of broad host range pathogens. **Genome Biology Evolution**, 9: 593-618.

DHUZHININA, I.S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A. et al. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. *Nature Reviews Microbiology*, v.9, n.10, p.749-756, 2011. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrmicro2637>. Acesso: 18 mar. 2024.

DUARTE, MARIA DE LOURDES REIS et al. **Controle Químico da Podridão das-estacas (*Sclerotium rolfsii*) da Pimenteira-do-reino**. 2006. Disponível em:

<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/402217/1/com.tec.157.pdf>. Acesso: 19 mar. 2024

FERGUSON, L.M.; SHEW, B.B. Wheat straw mulch and its impacts on three soilborne pathogens of peanuts in microplots. **Plant Disease**, v.85, p.661-667, 2001.

FERNANDO W. G. D, NAKKEERAN S, ZHANG Y. 2004. Ecofriendly methods in combating *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. **Recent Research in Developmental and Environmental Biology**, 1: 329-347.

FERRAZ, L. C. L. et al. Effects of soil moisture, organic matter and grass mulching on the carpogenic germination of sclerotia and infection of bean by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Pathology**, v.48, p.77-82, 1999.

FRANÇA-NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2018. 109 p. (ISSN 2176-2937).

FRANCHI, Leonardo. **Fungos do gênero Trichoderma ssp.: Eficiência e sustentabilidade**. 2019. Disponível em: <https://agro.genica.com.br/2019/09/27/trichoderma-ssp/> Acesso em: 20 mar. 2024.

GONÇALVES, R.C.; ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. Armazenamento de microrganismos em cultura com ênfase em fungos fitopatogênicos. In: ALFENAS, A.C.; MAFIA, R. G. **Métodos em Fitopatologia**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007. 386p.

GRAF JUNIOR, A. **Uso de óleos essenciais como controle alternativo do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/187835>. Acesso: 20 mar. 2024

GUIMARÃES, Gesiane Ribeiro et al. Ação de metabólitos voláteis e não voláteis de *Trichoderma harzianum* sobre o crescimento de *Cladosporium herbarum*. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 21, n. 1, p. 7-11, 2016.

HADDAD PE, LEITE LG, LUCON CMM, HARAKAVA R. 2017. Selection of *Trichoderma* spp. strains for the control of *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 52: 1140-1148.

HERNÁNDEZ-MELCHOR, Dulce Jazmín; FERRERA-CERRATO, Ronald; ALARCÓN, Alejandro. *Trichoderma*: importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. **Chilean journal of agricultural & animal sciences**, v. 35, n. 1, p. 98-112, 2019.

ISAIAS, Carolina Oliveira *et al.* Ação antagônica e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp. contra os patógenos *Sclerotium rolfii* e *Verticillium dahliae*. **Summa Phytopathologica**, v. 40, p. 34-41, 2014.

ITO, Margarida Fumiko. **Principais doenças da cultura da soja e manejo integrado**. Nucleus, v. 10, n. 3, p. 83-101, 2013.

JAKLITSCH, W.M. European species of *Hypocrea* Part II: species with hyaline ascospores. **Fungal Diversity**, v.48, n.1, p. 1-250, 2011. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13225-011-0088-y>. Acesso:18 mar. 2024.

KOTTB, Metwally et al. Voláteis de *Trichoderma* afetando *Arabidopsis*: da inibição à proteção contra fungos fitopatogênicos. **Fronteiras em microbiologia**, v. 6, p. 156172, 2015.

KUHLS, K.; LIECKFELDT, E.; SAMUELS, G. J.; MEYER, W.; KUBICEK, C. P.; BÖRNER, T. Revision of *Trichoderma* sect. *Longibrachiatum* including related teleomorphs based on analysis of ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *Mycologia*, v. 89, n. 3, p. 442-460, 1997

KUROZAWA, C.; PAVAN, M.A. Doenças do tomateiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A.M. et al. **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 4 ed. São Paulo: Agrônoma Ceres, 2005. 663 p

KUSHWAHA, S. K.; KUMAR, S.; CHAUDHARY, B. (2018). Efficacy of *Trichoderma* against *Sclerotium rolfii* causing collar rot disease of lentil under in vitro conditions. **Journal of Applied and Natural Science**, 10(1): 307-312.

LE TORNEAU D. 1979. Morphology, cytology and physiology of *Sclerotinia* species in culture. **Phytopathology**, 69: 887-890.

LI, H; ZHOU, M. Rapid Identification of Carbendazim Resistant Strains of *Sclerotinia sclerotiorum* Using Allele- Specific Oligonucleotide (ASO)-PCR. **Scientia Agricultura Sinica**, [S. L.], v. 37, n. 9, p. 1396-1399, 2004.

MACHADO DFM, PARZIANELLO FR, DA SILVA ACF, ANTONIOLLI ZI. 2012. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, 35: 274-288.

MARQUES, Éder; MARTINS, Irene; MELLO, Sueli Correa Marques de. Potencial antifúngico de extratos brutos de *Trichoderma* spp. **Biota Neotropica**, v. 18, pág. e20170418, 2018.

MARTINS, MARLON VAGNER VALENTIM et al. **Erradicação de escleródios de *Sclerotium rolfii* em substratos tratados em coletores solares, em campos dos**

Goytacazes-RJ. 2003. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/rbf/a/RxKSfzj4Kj3N9Pkc7nStSdf/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em 19 mar. 2024.

MEDEIROS, F.H.V.; SILVA, J.C.P.; PASCHOLATI, S.F. Controle biológico de doenças de plantas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.B. **Manual de Fitopatologia**. 5. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2018. p.261-272.

MEDRADO, P.H.S. Fungo de solo no controle biológico de fitopatógenos. 2019. Dissertação (Mestrado em Ecossistemas Agrícolas e Naturais) – Pós-graduação, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2019. Disponível em: [Fungos de solo no controle biológico de fitopatógenos \(ufsc.br\)](https://www.ufsc.br/fitopatogenos). Acesso: 19 mar. 2024.

MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C.V. et al. **Ensaio cooperativos de controle biológico de mofo branco na cultura da soja- safra 2012 a 2015**. Londrina: Embrapa Soja, 2016. 46 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1041275/ensaios-cooperativos-de-controle-biologico-de-mofo-branco-na-cultura-da-soja---safra-2012-a-2015> Acesso: 17 mar. 2024.

MEYER, M. C. et al. **Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2017/18: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina: Embrapa, 2018. 6 p. (Circular Técnica 140).

MEYER, M.C.; FERREIRA, L.C.; BAYLÃO, B.S.G. et al., Influência do nível de água no solo sobre a germinação carpopêgica de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Tropical Plant Pathology**, v.35, p.153, 2010.

MILAN, Mariany Dalila et al. Regimes de luz na produção de conídios de *Trichoderma harzianum* para controle do mofo branco em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 45, p. 434-439, 2015.

MONTE, Enrique; BETTIOL, Wagner; HERMOSA, Rosa. *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. **Trichoderma: uso na agricultura**. Brasília: Embrapa, p. 181-199, 2019.

MORANDI, M.A.B.; JÚNIOR, T.J.P.; BETTIOL, W. et al. Controle biológico de fungos fitopatogênicos. **Informe agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, n. 251, p. 73-82, jul./ago. 2009. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/577046> . Acesso: 15 mar. 2024

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle Biológico de doenças em plantas no Brasil. In: MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. **Biocontrole de doenças em plantas: usos e perspectivas**. 1.ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 7-12. Disponível em:

<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/579954/biocontrole-de-doencasde-plantas-uso-e-perspectivas> . Acesso: 15 mar. 2024

MORANDI, M. A. B.; POMELLA, A. W. V.; SANTOS, E. R.; FERNANDES, M.; CAOVILO, L. E.; FERNANDES, A. O. Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, agente causal do mofo-branco do feijoeiro. 2006. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1026272/selecao-de-isolados-de-trichoderma-spp-para-o-controle-de-sclerotinia-sclerotiorum-agente-causal-do-mofo-branco-do-feijoeiro> Acesso em 21 mar. 2024

MUKHERJEE, P. K. HORWITZ, B.A., HERRERA-ESTRELLA, A.; SCHMOLL, M. et al. *Trichoderma* research in the genome era. **Annual Review of Phytopathology**, v.51, p. 105129, 2013.

MYCOBANK. International Mycological Association. *Sclerotinia sclerotiorum*. 2022. Disponível em: <https://www.mycobank.org/page/Basic%20names%20search> Acesso em: 07 ago. 2024.

NIETO-JACOBO, Maria F. et al. Condições ambientais de crescimento de *Trichoderma* spp. afeta derivados do ácido indol acético, compostos orgânicos voláteis e promoção do crescimento das plantas. **Fronteiras na ciência das plantas**, v. 8, p. 245069, 2017.

O'BRIEN PA. 2017. Biological control of plant diseases. **Australasian Plant Pathology**, 46: 293-304.

OERKE, E.-C. Perdas de colheitas devido a pragas. **The Journal of agricultural science** , v. 144, n. 1, p. 31-43, 2006. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/journal-of-agricultural-science/article/abs/crop-losses-topests/AD61661AD6D503577B3E73F2787FE7B2> Acesso em: 07 ago. 2024

OLIVEIRA, J. A. Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum annanum* L.). **Ciência e Prática**, v.16, p. 42-47, 1992.

PUNJA, Z. K; JENKINS, SF Influência da temperatura, umidade, atmosfera gasosa modificada e profundidade do solo na germinação esclerótica eruptiva de *Sclerotium rolfsii*. **Fitopatologia**, v. 74, n. 6, pág. 749-754, 1984.

PUNJA, Z. K.; RAHE, J. E. *Sclerotium*. In: SINGLETON, Larry L.; MIHAIL, Jeanne D.; RUSH, Charles M. (Ed.). **Métodos de pesquisa sobre fungos fitopatogênicos de solo**. 1992.

ROBBERTSE B, STROPE PK, CHAVERRI P, GRAZIS R, CIUFO S, DOMRACHEY M, SCHOCH CL. 2017. Improving taxonomic accuracy for fungi in public sequence databases:

applying one name one species in well-defined genera with *Trichoderma*/*Hypocrea*.
Database, 2017: 1-14

SERRA, I.M.R.S.; SILVA, G.S. Caracterização biológica e fisiológica de isolados de *Sclerotium rolfsii* obtidos de pimentão no estado do Maranhão. **Fitopatologia Brasileira**, Viçosa, v. 30, p. 61-66, 2005.

SILVA, L. R.; ZACARONI, A. B.; MUNIZ, P. H. P. C.; BOTELHO, A. S.; MELLOL, S. C. M. *Trichoderma*: suas interações e uma abordagem metodológica aplicada ao estudo de compostos orgânicos voláteis para o mofo-branco e promoção de crescimento de plantas. **RAPP**, v.28, p. 163-183, 2022.

SMOLIŃSKA, Urszula; KOWALSKA, Beata. Biological control of the soil-borne fungal pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*—a review. **Journal of Plant Pathology**, v. 100, p. 1-12, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42161-018-0023-0> Acesso em: 07 ago. 2024

STRANGE, Richard N.; SCOTT, Peter R. Doenças de plantas: uma ameaça à segurança alimentar global. **Annu. Rev. Phytopathol.** , v. 43, n. 1, p. 83-116, 2005. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev.phyto.43.113004.133839> Acesso em: 07 ago. 2024

UENO, BERNARDO. Podridão do colo (*Sclerotium rolfsii*). 2023. **UZUM Morango - Sistema especialista para diagnóstico de doenças, pragas e distúrbios fisiológicos em morangueiros**. Disponível em: https://www.cnpuv.embrapa.br/uzum/morango/pod_colo.htm. Acesso: 19 mar. 2024

VARGAS, Nicoly Melissa de et al. Potencial de isolados de *Trichoderma* no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum*. 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/242707> Acesso em: 07 ago. 2024

VENTUROSOSO, L. R. et al. Produção de soja e germinação carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum* sob diferentes coberturas de solo. Semina: **Ciências Agrárias**, [S.L.], v. 34, n. 2, p. 615-626, 17 mai. 2013.

ZENG W, KIRK W, HAO J.2012. Field management of *Sclerotinia* stem rot of soybean using biological control agentes. **Biological Control**, 60:141-145.