

SELEÇÃO, *IN VITRO*, DE ISOLADOS DE *TRICHODERMA* COMO POTENCIAIS AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

SELECCIÓN *IN VITRO* DE AISLADOS DE *TRICHODERMA* COMO POTENCIALES AGENTES PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE HONGOS FITOPATÓGENOS

SELECTION, *IN VITRO*, OF *TRICHODERMA* ISOLATES AS POTENTIAL BIOLOGICAL CONTROL AGENTS OF PHYTOPATHOGENIC FUNGI

Apresentação: Comunicação Oral

Andreza Nunes Conceição da Silva¹; Frederico Alberto de Oliveira²; Fabiano Branco Rocha³; Viviane Talamini⁴; Angelise Durigon⁵

DOI:<https://doi.org/10.31692/VCIAGRO.0129>

RESUMO

O Brasil é um dos maiores produtores de grãos do mundo devido às suas condições climáticas favoráveis. No entanto, fatores bióticos e abióticos podem afetar a sustentabilidade da cadeia produtiva e a segurança alimentar. Dentre os fatores que limitam a produtividade das lavouras, destacam-se as doenças radiculares, da parte aérea e aquelas que provocam o aparecimento de grãos ardidos as quais reduzem significativamente a qualidade física e fisiológica dos grãos. É nesse contexto que se insere o uso de espécies de *Trichoderma* como agentes de biocontrole na agricultura. Dessa forma, o trabalho teve como objetivo selecionar isolados de *Trichoderma* sp., coletados em Sergipe, como antagonistas no crescimento de fungos fitopatogênicos, *in vitro*. Foram avaliados os fungos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp., *M. Phaesolina*, *A. Solani*, *T. paradoxa*, *Penicillium* sp. e *A. flavus*. Avaliou-se o crescimento micelial, concentração de conídios e taxa de germinação dos isolados de *Trichoderma*. Em seguida realizou-se o pareamento dos isolados de *Trichoderma* sobre os fungos fitopatogênicos. Todas as atividades foram desenvolvidas em laboratório e conduzidas em experimentos em delineamento experimental inteiramente casualizado. A maior velocidade de crescimento micelial foi entre os isolados TCTsp004 e o Flamboyant, seguido pelos isolados: cenoura e TCTsp017. O Flamboyant ainda produziu a maior quantidade de conídios entre os isolados e TCTsp010 foi o único que obteve taxa de germinação inferior aos demais isolados. Nos testes de pareamento, todos os 10 isolados de *Trichoderma* apresentaram potencial antagonístico para cada fitopatógeno. Os maiores destaques foram para o TCTsp004 e TCTsp030 com as maiores médias para o potencial antagonístico na inibição dos 7 fungos fitopatogênicos.

Palavras-Chave: Controle biológico; culturas pareadas; bioprospecção.

RESUMEN

Brasil es uno de los mayores productores de cereales del mundo debido a sus favorables condiciones climáticas. A pesar del gran potencial, factores bióticos y abióticos pueden comprometer la sostenibilidad de la cadena productiva, así como la seguridad alimentaria. Entre los factores que limitan la productividad de los cultivos destacan las enfermedades radiculares, aéreas y las que provocan la aparición de granos quemados, que reducen significativamente la calidad física y fisiológica de los granos. Es en este contexto que entra en juego el uso de especies de *Trichoderma* como agentes de biocontrol en la agricultura. Así, el

¹ Engenheira Agrônoma, Universidade Federal de Sergipe, andrezanuneees@academico.ufs.br

² Doutor em Engenharia Agrônômica, Universidade Federal de Sergipe, fredericoalberto205@gmail.com.br

³ Doutor em Engenharia Agrônômica, Universidade Federal de Sergipe, rochafb@academico.ufs.br

⁴ Doutora em Fitopatologia, Embrapa Tabuleiros Costeiros, viviane.talamini@embrapa.br

⁵ Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Sergipe, angelisedurigon@gmail.com

objetivo del trabajo fue seleccionar aislados de *Trichoderma* sp., recolectados en Sergipe, como antagonistas en el crecimiento de hongos fitopatógenos, in vitro. Los hongos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp., *M. Phaesolina*, *A. Solani*, *T. paradoxa*, *Penicillium* sp. y *A. flavus*. Se evaluó el crecimiento micelial, la concentración de conidios y la tasa de germinación de aislados de *Trichoderma*. A continuación, se emparejaron aislados de *Trichoderma* con hongos fitopatógenos. Todas las actividades se desarrollaron en el laboratorio y se llevaron a cabo en experimentos en un diseño experimental completamente al azar. La mayor tasa de crecimiento micelial se presentó entre los aislados TCTsp004 y Flamboyant, seguidos por los aislados: zanahoria y TCTsp017. Flamboyant todavía produjo la mayor cantidad de conidios entre los aislados y TCTsp010 fue el único que tuvo una tasa de germinación más baja que los otros aislados. En las pruebas de emparejamiento, los 10 aislados de *Trichoderma* mostraron un potencial antagónico para cada fitopatógeno. Los aspectos más destacados fueron TCTsp004 y TCTsp030 con los promedios más altos de potencial antagonista para inhibir los 7 hongos fitopatógenos.

Palabras Clave: Control biológico; culturas emparejadas; bioprospección.

ABSTRACT

Brazil is one of the largest grain producers in the world due to its favorable climatic conditions. However, biotic and abiotic factors can affect the sustainability of the production chain and food security. Among the factors that limit crop productivity, root and aerial diseases and those that cause the appearance of burnt grains stand out, which significantly reduce the physical and physiological quality of the grains. It is in this context that the use of *Trichoderma* species as biocontrol agents in agriculture comes into play. Thus, the aim of the work was to select isolates of *Trichoderma* sp., collected in Sergipe, as antagonists in the growth of phytopathogenic fungi, in vitro. The fungi *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp., *M. Phaesolina*, *A. Solani*, *T. paradoxa*, *Penicillium* sp. e *A. flavus*. Mycelial growth, conidia concentration and germination rate of *Trichoderma* isolates were evaluated. Next, *Trichoderma* isolates were paired with phytopathogenic fungi. All activities were developed in the laboratory and conducted in experiments in a completely randomized experimental design. The highest rate of mycelial growth was between isolates TCTsp004 and Flamboyant, followed by isolates: carrot and TCTsp017. Flamboyant still produced the largest quantity of conidia among the isolates and TCTsp010 was the only one that had a lower germination rate than the other isolates. In pairing tests, all 10 *Trichoderma* isolates showed antagonistic potential for each phytopathogen. The biggest highlights were for TCTsp004 and TCTsp030 with the highest averages for the antagonistic potential in inhibiting the 7 phytopathogenic fungi.

Keywords: Biological control; paired crops; bioprospecting.

INTRODUÇÃO

A crescente demanda por alimentos, principalmente por grãos, tem gerado grandes avanços em tecnologias de produção agrícola, bem como o desenvolvimento de materiais genéticos com maior potencial produtivo. Dentre os países produtores de grãos, o Brasil se destaca em área, produção e produtividade de diversas culturas, devido principalmente à pesquisa e condições climáticas favoráveis ao cultivo. O 9º levantamento da safra de grãos 2023/24 estimou a produção de grãos, no Brasil, em 297,544 milhões de toneladas, com produtividade de 3.739 kg/ha, em uma área de 79.584 milhões de ha (CONAB, 2024). Mesmo com os avanços tecnológicos e o aumento anual na produção de grãos, os cultivos são constantemente ameaçados pela alta incidência e severidade de várias doenças fúngicas. Estas, quando não controladas de forma adequada, podem ser devastadoras, levando a redução de forma drástica tanto na produtividade quanto na produção (TÖFOLI e DOMINGUES, 2018), além do uso excessivo de agrotóxicos ao longo do

desenvolvimento da cultura.

Apesar de ser complexo mensurar de forma precisa os danos causados pelos agentes fitopatogênicos a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), considera que 20 a 40% da produção universal de alimentos sejam destruídas anualmente por conta da ação de pragas e doenças (FAO, 2017). Nessa mesma linha, dentre os fatores limitantes à expressão do potencial produtivo das culturas, destacam-se as doenças do sistema radicular, da parte aérea e aquelas que provocam o aparecimento de grãos ardidos, as quais reduzem significativamente a qualidade física e fisiológica dos grãos, além de possuírem potencial para a produção de micotoxina.

As doenças radiculares são aquelas causadas por agentes etiológicos presentes no solo e que provavelmente sobrevivem em restos de cultura ou por meio de estruturas de resistência. Além das raízes, as hastes e demais partes aéreas das plantas podem ser afetadas, levando a perdas totais ou parciais no rendimento dos grãos. Entre as doenças radiculares, destacam-se a podridão das raízes em soja (BELLÉ e FONTANA, 2018), a murcha-de-fusarium do algodoeiro (MACHADO et al., 2009) e o damping off de plântulas de feijão (GHINI; ZARONI, 2001), causadas pelos agentes etiológicos *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani*, respectivamente.

A parte aérea das culturas é atacada por diversos patógenos. Além de danos foliares, alguns agentes provocam manchas nos grãos e podem comprometer a qualidade física e fisiológica dos mesmos. A ocorrência de *Alternaria* spp. na parte aérea da canola e de *Alternaria padwickii* em sementes de arroz irrigado, por exemplo, são motivos de preocupação dos produtores (TONIN et al., 2023; de FARIAS et al., 2022). A resinose do coqueiro (DIAS et al., 2014), cujo agente etiológico é o fungo *Thielaviopsis paradoxa*, também se destaca e vem se agravando em função do manejo e do sistema de irrigação utilizado nas áreas de cultivo.

Em muitos casos, as condições do ambiente podem favorecer o desenvolvimento de fungos em pré e pós-colheita, resultando em podridões de espiga e grãos ardidos. O desenvolvimento de fungos micotoxigênicos, por exemplo, coloca a produção de muitas culturas em alto risco de contaminação por micotoxinas. Como destaque tem-se os fungos vinculados aos gêneros *Penicillium* que são produtores de acratoxina e *Aspergillus flavus* de aflotoxinas. Essas micotoxinas originam diversos danos à saúde humana e animal (PINTO, 2006; COSTA et al., 2011; PEREIRA FILHO, 2015; ROCHA et al., 2020).

Embora o uso de defensivos agrícolas, como estratégia de manejo, seja em muitos casos eficiente para o controle de fitopatógenos, a ocorrência de problemas ambientais, até de modo direto à saúde humana, devem ser considerados. A busca de soluções, por meio da pesquisa científica, para esses problemas é crescente. É nesse contexto que se insere o uso de fungos

antagonistas como alternativa sustentável para atuarem como agentes de biocontrole de fitopatógenos (ZIN E BADALUDDIN, 2020).

O controle biológico se torna uma ferramenta de manejo para pragas e doenças na agricultura. Essa estratégia de manejo se refere à diminuição do inoculo ou do desempenho de uma doença provocada por um patógeno, praticadas por um ou mais organismos que não o homem, além da destruição parcial ou total por outros organismos encontrados na natureza (AGRIOS, 2005). Isto quer dizer que qualquer interferência negativa, seja no crescimento, infectividade, virulência, agressividade, dentre outras características de outros microrganismos, pode ser considerada controle biológico (MEDEIROS, SILVA, PASCHOLATI, 2018).

Vários trabalhos com o uso do *Trichoderma* demonstram uma alternativa promissora e com grande potencial para o controle de fungos presentes nas culturas de valor econômico e social (BETTIOL et al., 2019). O fungo atua como antagonista de muitos fitopatógenos, uma vez que, conta com diversos mecanismos de ação. O hiperparasitismo, por exemplo, é o enfrentamento direto onde o *Trichoderma* responde a incentivos químicos realizados pela hifa do patógeno, desenvolvendo-se em direção ao mesmo. A competição de nutrientes e a produção de diástases antifúngicas, em que o *Trichoderma* produz compostos antimicrobianos especialmente metabólitos secundários. Além desses, o agente pode promover a solubilização de nutrientes e fitormônios para o desenvolvimento das plantas (CONSOLO et al., 2012; BETTIOL et al., 2019; LUCIANO et al., 2023).

Diversos estudos vêm comprovando a habilidade do *Trichoderma* sp. na inibição, *in vitro*, do crescimento micelial dos respectivos fungos (COSTA et al., 2022; GABARDO et al., 2020; SRIDHARAN et al., 2020; SANTOS, 2018). No entanto, existem trabalhos que preconizam o uso de isolados locais como forma de conseguir maior sucesso, tanto no estabelecimento do controle de fitopatógenos presentes em uma determinada região (BERNARDO et al., 2019). Nesse contexto, o presente trabalho objetivou-se avaliar a capacidade antagônica de isolados de *Trichoderma* sp. coletados em Sergipe, a fim de serem utilizados como agentes de biocontrole dos fungos fitopatogênicos *Rhizoctonia* sp.; *Fusarium* sp.; *M. phaesolina* (Tassi) Goid; *A. solani*; *T. paradoxa*; *Penicillium* sp e *A. flavus*.

METODOLOGIA

1. Local, época da pesquisa, obtenção dos isolados e reativação

O experimento foi realizado no laboratório de fitossanidade da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju-SE, no período de novembro de 2022 a março de 2023. Os tratamentos foram constituídos pelos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp, *M. phaesolina*, *A.*

solani, *T. Paradoxa* e *A.flavuse* por 7 (sete) isolados de *Trichoderma* codificados (TCTsp004, TCTsp005, TCTsp 010, TCTsp 012, TCTsp 017, TCTsp 026, TCTsp 029, TCTsp030, Cenoura e Flamboyant). Todos os microrganismos foram provenientes do Banco de cepas da Embrapa Tabuleiros Costeiro (Tabela 1).

Tabela 1 - Fungos utilizados e suas atividades.

Fungos fitopatogênicos	Principais áreas infectadas
<i>Rhizoctonia</i> sp.	Sistema radicular
<i>Fusarium</i> sp.	Sistema radicular
<i>M. phaesolina</i>	Sistema radicular
<i>A. solane</i>	Parte aérea
<i>Penicillium</i> sp.	Sementes
<i>A. flavus</i>	Sementes
<i>T. paradoxa</i>	Sistema radicular,caule e frutos

Fonte: Própria (2023).

A reativação dos isolados de *Trichoderma* foi realizada a partir da retirada de conídios em forma de discos de 7 mm das placas de Petri. Já, os isolados dos fitopatógenos foram reativados a partir de discos que estavam conservados em castellani, ambos estavam armazenados em geladeira a 6 °C no banco. Em seguida, cada disco foi transferido para o meio de outra placa de Petri com batata-dextrose-agar (BDA) onde foram incubados a 26°C em estufa tipo BOD durante 7 dias para proporcionar um melhor desenvolvimento.

2.Avaliação do crescimento micelial, concentração de conídios e taxa de germinação dos isolados de *Trichoderma*.

Para avaliar o crescimento micelial, foram feitas marcações representadas por um eixo x e y correspondendo ao diâmetro 1 e 2 nas 10 placas de Petri de 9 cm reservadas para cada isolado. Posteriormente, foram transferidos discos de 7 mm da cultura de cada isolado de *Trichoderma* reativado para o centro da placa contendo BDA, com cinco repetições para cada isolado. As avaliações de medição foram feitas com um paquímetro digital a cada 24h horas, terminando com o preenchimento total da placa. Para avaliação do índice da velocidade de crescimento micelial (IVCM) utilizou-se a fórmula $IVCM = \Sigma (D - Da)/N$, sendo D= diâmetro médio atual da colônia; Da= diâmetro médio da colônia no dia anterior e N= número de dias após a inoculação.

Para avaliação da concentração de conídios, foram colocados 5 discos dos isolados de cada *Trichoderma* em tubos de ensaio com 10 ml de água estéril. Em seguida, os tubos foram levados para o agitador,tipo vortex, para a dispersão e suspensão dos conídios no meio de cultura com água pura estéril. Após, fez-se uma diluição 1:10 de cada suspensão. Posteriormente, realizou-se a

contagem da concentração de esporos no microscópio utilizando a câmara de Neubauer. Para a leitura, foram utilizados 16 campos de contagem e calculadas as médias para cada repetição.

A taxa de germinação foi feita a partir da suspensão de conídios preparada de cada cultura. A suspensão, constituída de 50 microlitros, foi distribuída em placa de Petri contendo BDA por meio da Alça de Drigalsk. As placas ficaram na BOD a 26°C por 18 horas. Em cada placa, foram retirados 10 fragmentos de aproximadamente 1 cm de diâmetro e inseridas em lâmina microscópica. Com o uso do microscópio óptico realizou-se a contagem de conídios germinados e não germinados. No total, foram realizadas 10 avaliações para cada repetição. Em seguida, foram retiradas as médias por meio dos dados obtidos de cada repetição.

3. Teste de antagonismo

No teste de antagonismo a ação dos isolados de *Trichoderma* sobre os fungos fitopatogênicos foi avaliada por meio do método de culturas pareadas. Para isso, os antagonistas bem como os fungos fitopatogênicos foram plaqueados em meio de cultura (BDA) e incubados a 26°C em estufa tipo BOD, durante 7 dias com fotoperíodo de 12 horas para proporcionar o crescimento dos isolados.

Em seguida, para realizar o pareamento foram utilizadas placas de Petri de 9cm, contendo meio de cultura BDA. Cada placa com meio recebeu 2 discos de 7mm, em lados opostos da placa. Em um lado foi inserido o disco com o crescimento fúngico do isolado de *Trichoderma* do lado oposto, um dos isolados fitopatogênicos, depois foram lacrados com papel filme, obtendo-se 70 combinações no total. Em seguida, as placas com os fungos permaneceram em condições de BOD a temperatura de 26°C com fotoperíodo de 12 horas.

A avaliação antagonística do *Trichoderma* em relação aos demais fungos fitopatogênicos foi realizada com 5 dias após o pareamento. Durante esse período foram verificados o crescimento dos fungos utilizando como medida a escala de notas de BELL et al. (1982). As notas variaram de 1 a 5, onde: 1 – Antagonista cresce e ocupa toda placa; 2 – Antagonista cresce sobre 2/3 da placa; 3 – Antagonista e fitopatógeno crescem até metade da placa; 4 – Patógeno cresce sobre 2/3 da placa; 5 – Patógeno cresce por toda placa de Petri.

4. Análise estatística

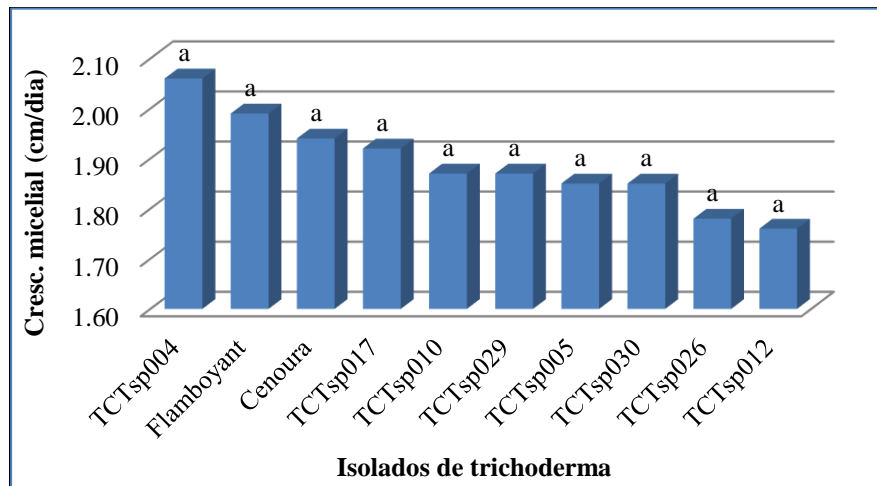
O delineamento experimental foi inteiramente casualizado obtendo 5 repetições, sendo cada repetição caracterizada por uma placa de Petri. No teste de antagonismo, o esquema fatorial foi com (7 isolados fitopatogênicos e 10 isolados de *Trichoderma*). Todos os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 1%,

utilizando o software SISVAR, versão 5.6.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sobre a velocidade de crescimento micelial, o destaque foi para os isolados TCTsp004 e o Flamboyant (Figura 1). A velocidade de crescimento micelial do isolado TCTsp004, com 2,06 cm/dia, não diferiu significativamente ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste Scott-Knott, quando comparado aos demais isolados. No entanto, em ordem decrescente, a maior velocidade de crescimento micelial foi seguida pelos isolados: Flamboyant (1,99), cenoura (1,94) e TCTsp017 (1,92) (Figura1).

Figura 1 – Médias do crescimento micelial (cm/dia) dos isolados de *Trichoderma*.



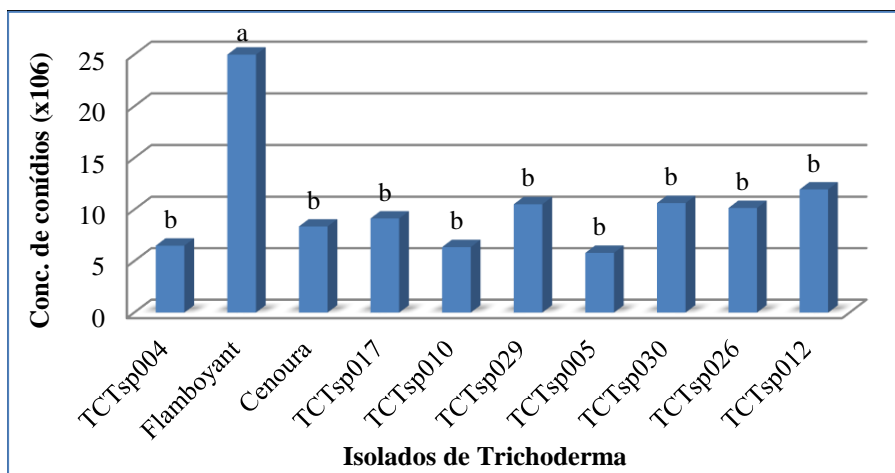
Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P > 0,1$).

Fonte: Própria (2023).

Ainda como destaque, o Flamboyant foi o único que diferiu estatisticamente quando analisado a quantidade de conídios produzidos ($25,3 \times 10^6$) (Figura 2). Já, o TCTsp004 se qualificou como um dos isolados com menor concentração de conídios ($6,5 \times 10^6$) nos testes de diluição (Tabela III e Gráfico 2). No trabalho desenvolvido por Cruz (2021), a crescente concentração de conídios de isolado de *Trichoderma* foram capazes de inibir ou retardar a germinação de conídios de *F. oxysporum* f. sp. *Tracheiphilum*, de 40% a 100%, seguindo a mesma ordem. Essa inibição também já foi relatada com o uso das espécies de *T. asperellum* e *T. Harzianum* (THANGAVELU e GOPI, 2015). De acordo com a literatura, a alta concentração de conídios de trichoderma, pode favorecer o aumento da presença de enzimas, como as quitinases e glucanases, que atuam na inibição da germinação de conídios de vários patógenos, ao mesmo tempo em que o filtrado de micélios também possui a mesma característica (THANGAVELU e GOPI, 2015; ZEPEDA-GIRAUD et al., 2020).

Quanto a germinação dos conídios, todos os isolados, com exceção do TCTsp010, não diferiram estatisticamente entre as altas taxas (Figura 3). Para a produção do antagonista devem considerar não apenas o rendimento ou concentração de esporos, mas também a qualidade dos mesmos para garantir a eficácia do controle biológico (LEITE et. al., 2003). Nesse sentido, a qualidade dos conídios, no qual é expressa pela taxa de germinação é muito importante para garantir a viabilidade e assim, a sobrevivência do fungo (PINTO et al., 2019)

Figura 2 - Médias da concentração de conídios ($\times 10^6$) dos isolados de *Trichoderma*.

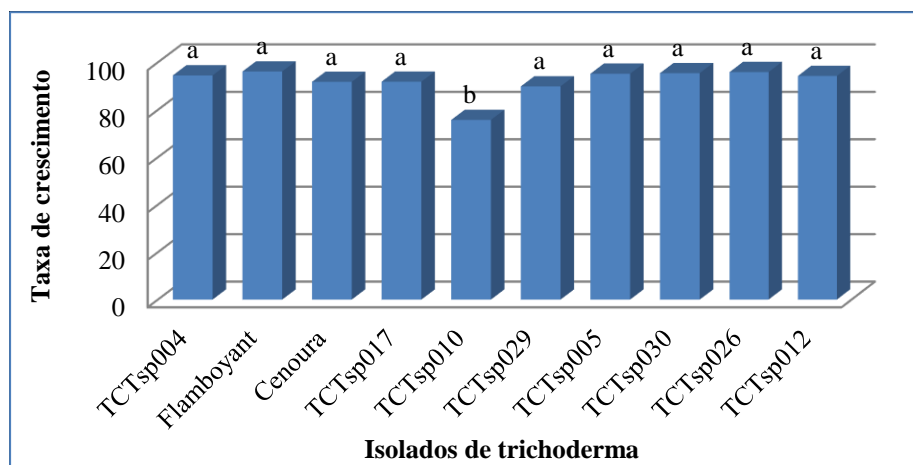


Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P > 0,1$).

Fonte: Própria (2023).

Nos testes de pareamento a interação entre *Trichoderma* e fitopatógenos foi significativa a 1% de probabilidade. Logo, os isolados de *Trichoderma* apresentaram-se como potencial antagonista, *in vitro*, aos 7 fitopatógenos avaliados (Tabela 2). Nota-se que a inibição dos fungos *M. phaesolina*, *Fusarium* sp e *A. Solani* pelos isolados de *Trichoderma*, não diferiram estaticamente, ou seja, todos os isolados de *Trichoderma* obtiveram a mesma eficiência, com a ocupação de 2/3 das placas, de forma antagonica (Tabela 2).

Figura 3. Médias da taxa de germinação dos isolados de *Trichoderma*



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P>0,1$).

Fonte: Própria (2023).

Entre os isolados, os maiores destaques foram para o TCTsp004 e TCTsp030 que obtiveram as melhores médias na inibição do crescimento micelial dos 7 isolados fitopatogênicos (Tabela 2; Figuras 4 e 5). Nota-se que o TCTsp004 e o TCTsp030 apresentaram alta taxa de germinação de conídio, acima de 94% e 95%, respectivamente (Figura 3). Alguns isolados obtiveram as mesmas notas, de pareamento, para os diferentes fitopatógenos. O TCTsp012 e o TCTsp017, por exemplo, obtiveram notas de 2 a 3,2, não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 2). Isso demonstra a mesma eficiência que os dois isolados de *Trichoderma* possuem quando confrontado, *in vitro*, com todos os fungos em questão. Conforme Cruz (2021) e Druzhinina et al. (2011), a ação antagônica do trichoderma pode ser favorecida pela atividade micoparasítica sobre as estruturas vegetativas e reprodutivas do patógeno, bem como a liberação de metabólitos secundários e enzimas hidrolíticas de degradação da parede celular.

Tabela 2. Médias do antagonismo dos isolados de *Trichoderma* frente aos fungos fitopatogênicos.

<i>Trichoderma</i> spp.	<i>Rizhoctonia</i> sp.	<i>M. phaesolina</i>	<i>A. flavus</i>	<i>Fusarium</i> sp.	<i>T. paradoxa</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>A. solani</i>
TCTsp004	1,0 Aa	2,0 Ba	2,6 Ba	2,0 Ba	2,4 Ba	2,0 Ba	2,0 Ba
TCTsp005	2,0 Ab	2,0 Aa	3,2 Bb	2,0 Aa	3,0 Bb	2,0 Aa	2,0 Aa
TCTsp010	2,0 Ab	2,0 Aa	2,8 Ba	2,0 Aa	2,4 Ba	2,8 Bb	2,0 Aa
TCTsp012	2,0 Ab	2,0 Aa	3,0 Bb	2,0 Aa	2,4 Aa	3,2 Bb	2,0 Aa
TCTsp017	2,0 Ab	2,0 Aa	3,0 Bb	2,0 Aa	2,4 Aa	3,2 Bb	2,0 Aa
TCTsp026	2,0 Ab	2,0 Aa	3,0 Bb	2,0 Aa	2,0 Aa	2,6 Ba	2,0 Aa
TCTsp029	2,0 Ab	2,0 Aa	3,6 Bb	2,0 Aa	3,0 Bb	2,8 Bb	2,0 Aa
TCTsp030	2,0 Ab	2,0 Aa	2,4 Aa	2,0 Aa	2,4 Aa	2,0 Aa	2,0 Aa
Cenoura	2,0 Ab	2,0 Aa	2,4 Aa	2,0 Aa	2,8 Bb	3,0 Bb	2,0 Aa
Flamboyant	2,0 Ab	2,0 Aa	2,6 Ba	2,0 Aa	2,8 Bb	2,4 Ba	2,0 Aa
Médias	1,9	2	2,8	2	2,5	2,6	2
CV% 11,37							

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P>0,1$).

Fonte: Própria (2024).

De forma geral, os fungos mais afetados pelo antagonismo dos isolados de *Trichoderma* foram *Fusarium* sp. (Figura 8), *Rhizoctonia* sp. (Figura 6), *A. solani* (Figura 7) e *M. phaseolina* (Figura 4). No entanto, as maiores notas, ou seja, a menor ocupação da placa pelos isolados de *Trichoderma* foi em pareamento com os fungos *A. flavus*, *Penicillium* sp. e *T. paradoxa*, demonstrando menor eficiência dos agentes antagônicos. Em outros trabalhos, também *in vitro*, os resultados foram promissores sobre a eficácia do *Trichoderma* em relação ao *F. solani*, visto que, ele é capaz de inibir o crescimento micelial do patógeno (MEZA et al., 2008). COSTA et al. (2022) cita que o antagonismo dos isolados de *Trichoderma* sp. com relação a *F. oxysporum* possivelmente foi realizado por meio da antibiose, devido aos Actinomicetos que possuem características da produção de substâncias tóxicas. A maior parte das cepas de *Trichoderma* sp. geram metabólitos tóxicos voláteis e não voláteis que impossibilita a ocupação por microrganismos antagonistas.

O mesmo potencial antagônico em *Rhizoctonia* foi observado por Guédez et al. (2009). O autor relata bons resultados nos testes *in vitro*, quando pareado com isolados de *Trichoderma* regional. Ainda, Gabardo et al. (2020) também observou, pelo método de produção de metabólitos a potencialidade do *Trichoderma* em antagonizar a *R. solani*. Nozaki et al. (2018) realizou o estudo de controle *in vitro* para o fungo do gênero *Alternaria*, onde apenas um dos oito isolados de *Trichoderma*, apresentou taxa de controle menor que 50%, demonstrando uma alta eficácia no controle. Além da competição por nutrientes e espaço, o *Trichoderma* é eficiente na redução da evolução micelial de alguns patogênicos como a *M. phaseolina*, por meio de compostos voláteis (SRIDHARAN et al., 2020).

A alta capacidade competitiva de *A. flavus* e *Penicillium* é relatada por alguns autores como Costa et al. (2022) e Santos (2018). Os autores observaram em seus experimentos, *in vitro*, a baixa eficiência de isolados de *Trichoderma* na inibição do *A. flavus*. Relatam que isso se deve ao fato do *Aspergillus* ser um fungo saprofítico, como o *Trichoderma*. Isso torna ambos os fungos com capacidade competitiva por nutrientes, espaço e produção de metabólitos. Outra característica de um agente saprofítico é o crescimento rápido em relação aos fungos fitopatogênicos, dificultando a ação antagônica do *Trichoderma*.

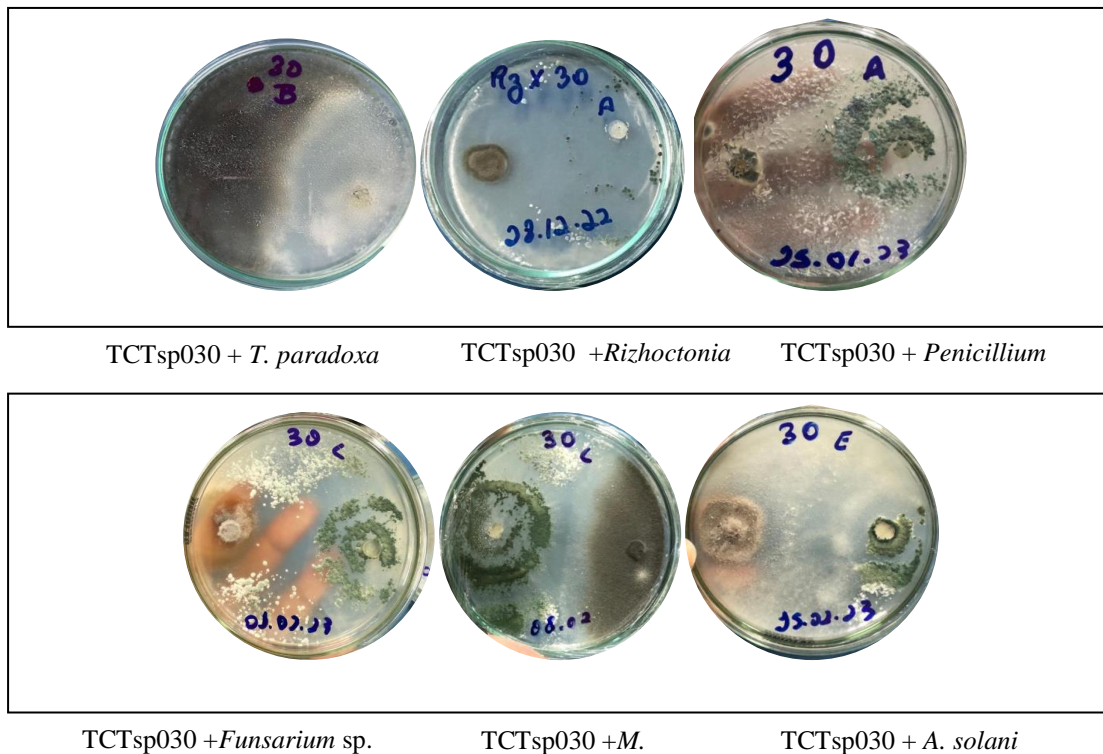
Quando pareado com o *Penicillium* sp., apenas 5 isolados conseguiram ter alguma capacidade antagônica com ocupação de 2/3 da placa (Tabela 2). Pela observação visual, o *Penicillium* sp. teve uma esporulação mais intensa que os demais fungos do experimento, além da grande liberação dos conídios na placa. Porém, Astorga et al. (2014) conseguiu resultados promissores na inibição do progresso do *Penicillium* sp., em testes *in vitro*. O *Penicillium* sp. também é um fungo saprofítico. Em tese, os isolados de *Trichoderma* possuem uma maior dificuldade na inibição dos fungos saprófitas analisados nesse pareamento. Sendo que, ambos os

fungos possuem uma alta capacidade de competição por nutrientes e produção de metabólitos tóxicos, o que pode torná-los mais difíceis de serem predados ou inibidos pelo gênero *Trichoderma*(SANTOS, 2018).

Quanto ao *T. paradoxa*, apenas 5 isolados de *Trichoderma*, apresentaram maior eficiência como antagonista(Tabela 2).Santos et al.(2012), também, evidenciou-se a maior competição desse fitopatógeno em testes *in vitro*. Mas, o autor também obteve resultados promissores com alguns isolados antagonísticos.

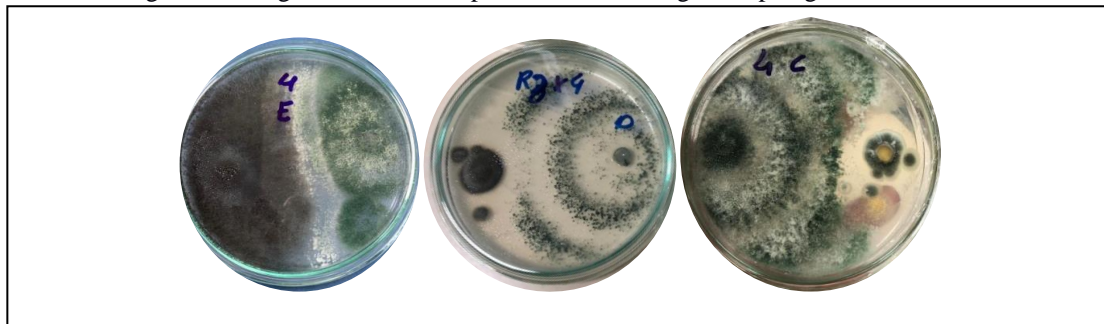
As condições ambientais possuem grande influência na atividade antagonística do *Trichoderma*. Bernardo et al. (2019) retrata em sua pesquisa a importância da seleção dos isolados de *Trichoderma* estarem relacionadas a região a qual pretende se utilizar, pois possuem uma maior adequação às macro e micro condições do cultivo local. Por isso, a bioprospecção de isolados regionais é muito importante visto que já estão adaptadas as condições locais, principalmente as edafoclimáticas.

Figura 4. Antagonismo do TCTsp030 frente aos fungos fitopatogênicos.



Fonte: Própria (2024).

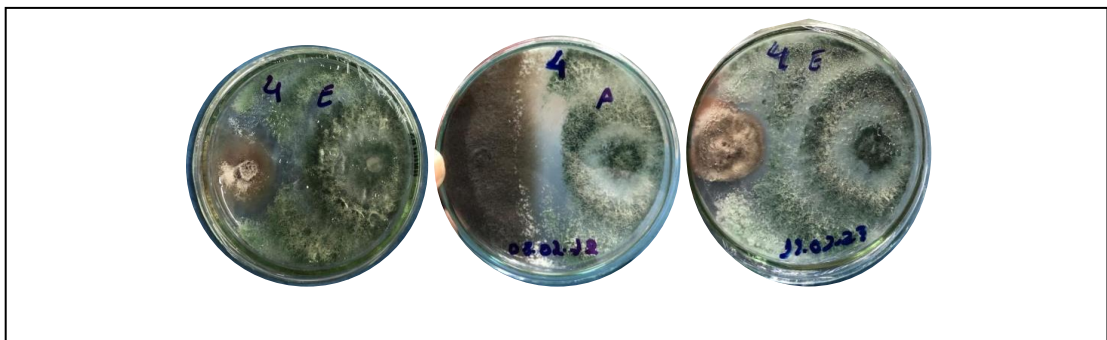
Figura 5. Antagonismo do TCTsp004 frente aos fungos fitopatogênicos.



T. paradoxa + TCTsp004

Rizhoctonia sp. + TCTsp004

Penicillium sp. + TCTsp004



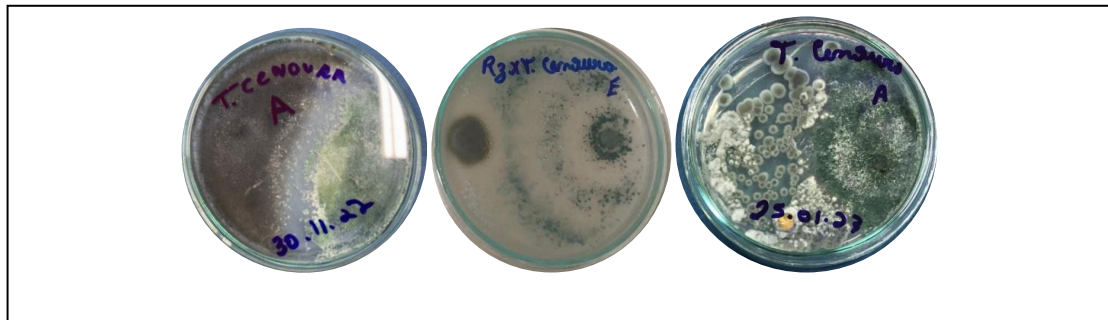
Funsarium sp. + TCTsp004

M. phaesolina + TCTsp004

A. Solani + TCTsp004

Fonte: Própria (2024).

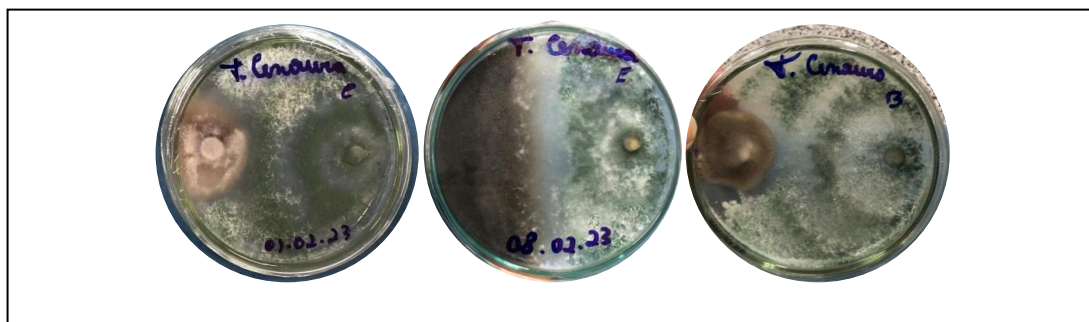
Figura 6. Antagonismo do isolado Cenoura frente aos fungos fitopatogênicos.



T. paradoxa + Cenoura

Rizhoctonia sp. + Cenoura

Penicillium sp. + Cenoura



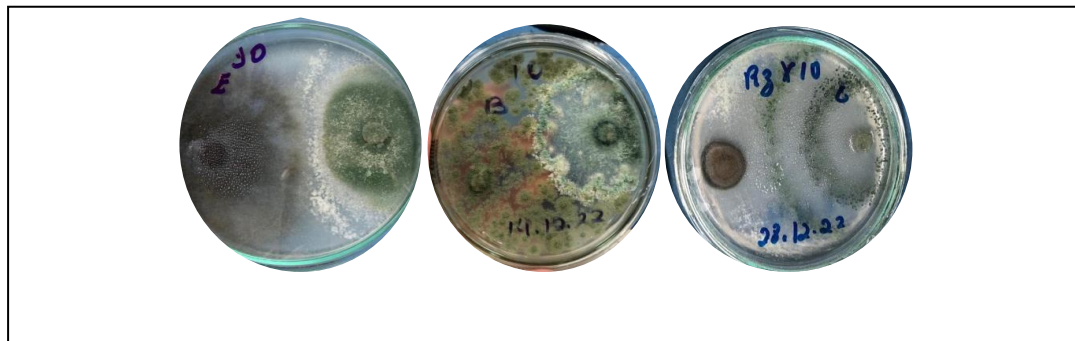
Funsarium sp. + Cenoura

M. phaesolina + Cenoura

A. solani + Cenoura

Fonte: Própria (2024).

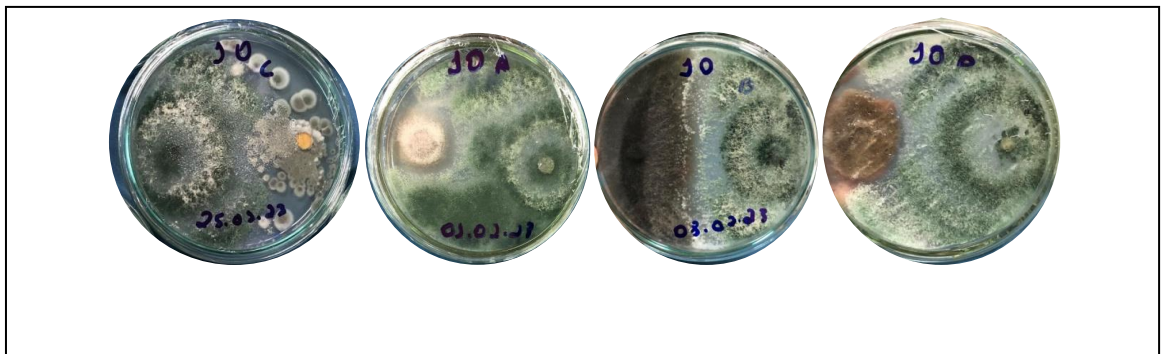
Figura 7. Antagonismo do TCTsp010 frente aos fungos fitopatogênicos.



T. paradoxa + TCTsp010

A. flavus + TCTsp010

Rizhoctonia sp+ TCTsp010



TCTsp010 + *Penicillium* sp.

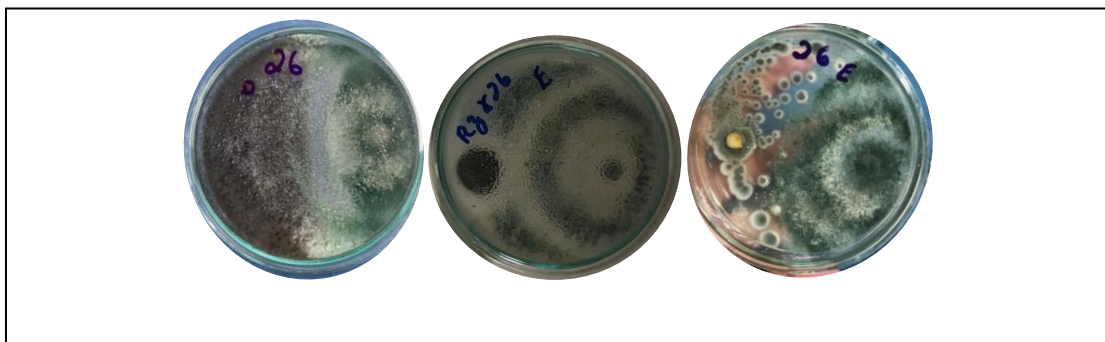
Funsarium sp. + TCTsp010

M. phaesolina + TCTsp010

A. solani+ TCTsp010

Fonte: Própria (2024).

Figura 8. Antagonismo do TCTsp026 frente aos fungos fitopatogênicos.



T. paradoxa + TCTsp026

Rizhoctonia sp.+ TCTsp026

*Penicillium*sp. + TCTsp026



Funsarium sp. + TCTsp026

M. phaesolina + TCTsp026

A. solani + TCTsp026

Fonte: Própria (2024).

CONCLUSÕES

Considerando todas as variáveis estudadas, os isolados TCTsp004 e TCTsp030 foram os mais promissores como agentes antagonísticos na inibição dos 7 fungos fitopatogênicos.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. Elsevier, 2005.
- ASTORGA-QUIRÓS, K. et al. Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. **Revista Tecnología en Marcha**, v. 27, n. 2, p. ág. 82-91, 2014.
- BELLÉ, R.; FONTANA, D. C. Patógenos de solo: principais doenças vasculares e radiculares e formas de controle. **Enciclopédia biosfera**, v. 15, n. 28, 2018.
- BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, v. 72, n.4, p. 379-382, 1982.
- BERNARDO, J. T. et al. Isolamento on farm de *Trichoderma*: uma ferramenta no controle de doenças de solo para os agricultores no Brasil. **Revista Eletrônica Científica da UERGS**, v. 5, n. 3, p. 263-270, 2019.
- BETTIOL, W. et al. Uso atual e perspectivas do *Trichoderma* no Brasil. Meyer, MC; Mazaro, SM; Silva, JC. **Trichoderma: uso na agricultura. Brasília: Embrapa**, p. 21-43, 2019.
- CONAB - **COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO**. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, Brasília, DF, v. 10, safra 2023/24, n. 9º levantamento, 2024.
- CONSOLO, V. F. et al. Characterization of novel *Trichoderma* spp. isolates as a search for effective biocontrollers of fungal diseases of economically important crops in Argentina. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, p. 1389-1398, 2012.
- DA COSTA, R. V. S. et al. Efeito de *Trichoderma* spp. na qualidade de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). **Scientia Plena**, v. 18, n. 7, 2022.
- DA COSTA, R. V. et al. **Recomendações para a redução da incidência de grãos ardidos em milho**. 2011.
- CRUZ, J. M. F. de L. et al. Murcha de Fusário do Caupi: Caracterização do patógeno e potencial de *Trichoderma* spp. no manejo. 2021.
- DE FARIAS, C. R. J., AFONSO, A. P. S., BRANCAO, M. F., & PIEROBOM, C. R. Occurrence of *Alternaria padwickii* (ganguly) in lots of rice (*oryza sativa* L.)(poaceae) seeds produced in different regions of Rio Grande do Sul and the effect of this pathogen on plantlets. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, p. 245-249, 2022.
- DIAS, I. M. et al. Formação de coleção biológica de *Thielaviopsis paradoxa* e determinação de patogenicidade e virulência dos isolados em coqueiro. 2014.

DRUZHININA, I.S. et al. Trichoderma: a genômica do sucesso oportunista. **Nature revisa microbiologia**, v. 9, n. 10, pág. 749-759, 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **The future of food and agriculture: Trends and challenges**. Fao, 2017.

GABARDO, G. et al. Trichoderma asperellum e Bacillus subtilis como antagonistas no crescimento de fungos fitopatogênicos in vitro. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 55870-55885, 2020.

GHINI, R.; ZARONI, M. M. **Relação entre coberturas vegetais e supressividade de solos a Rhizoctoniasolani**. Fitopatologia Brasileira, v. 26, n.1, p. 10-15, 2001.

GUÉDEZ, C. et al. Efecto antagónico de Trichoderma harzianum sobre algunos hongos patógenos postcosecha de la fresa (*Fragaria* spp). **Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología**, v. 29, n. 1, p. 34-38, 2009.

LEITE, L.G.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J.E.M.; ALVES, S.B. Produção de fungos entomopatogênicos. Ribeirão Preto: A.S. Pinto. 92p. 2003.

DE OLIVEIRA LUCIANO, D. et al. Bacillus e Trichoderma como promotores de crescimento de Eucalyptus urograndis. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 2, p. e11012239509-e11012239509, 2023.

MACHADO, L. P. et al. Um método simples e rápido de seleção para resistência à murcha-de-fusário em genótipos de algodoeiro. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 1, p. 51–55, jan. 2009.

MEDEIROS, F. H.; Vasconcelos de; SILVA, J. C. P. da; PASCHOLATI, S. F. Controle biológico de doenças de plantas. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**, v. 1, 2018.

SUÁREZ MEZA, C. L. et al. Antagonismo in vitro de Trichoderma harzianum Rifai sobre Fusarium solani (Mart.) Sacc., asociado a la marchitez en maracuyá. **Revista Colombiana de Biotecnología**, v. 10, n. 2, p. 35-43, 2008.

DE HOLANDA NOZAKI, M. et al. Controle in vitro de Alternaria solani por diferentes isolados de Trichoderma spp. **Revista Cultivando o Saber**, v. 11, n. 4, p. 9-16, 2018.

PEREIRA FILHO, I. A. et al. Cultivo do milho. **EMBRAPA Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG**, v. 9, 2015.

PEREIRA, J. M. et al. Corynespora cassiicola f. sp. lantanae: um potencial agente de biocontrole do Brasil para Lantana camara. **Biological Control**, v. 26, n. 1, p. 21-31, 2003.

PINTO, N. F. J. de E.A. **Podridão branca da espiga de milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo**. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado Técnico, 141). 6 p, 2006.

PINTO, Z. et al. **Controle de qualidade de produtos biológicos à base de Trichoderma**. Embrapa, p. 275-295, 2019.

ROCHA, M. P. et al. Sistema de armazenamento e incidência dos principais fungos produtores de micotoxinas em grãos. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 50176-50193, 2020.

SANTOS, C. C. et al. Influência de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Thielaviopsis paradoxa*. **Scientia Plena**, v. 8, n. 4 (b), 2012.

SANTOS, I. S. Antagonismo de isolados de *Trichoderma* frente a fungos associados a sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). 2018.

SRIDHARAN, A.P. et al. Perfil abrangente dos VOCs de *Trichoderma longibrachiatum* EF5 enquanto interage com *Sclerotium rolfsii* e *Macrophomina phaseolina*. **Pesquisa microbiológica**, v. 236, p. 126436, 2020.

TANGAVELU, R.; GOPI, M. Aplicação combinada de isolados nativos de *Trichoderma* com múltiplas funções para o controle da murcha de *Fusarium* em bananeira cv. Grande Naine. **Ciência e tecnologia do biocontrole**, v. 25, n. 10, pág. 1147-1164, 2015.

TÖFOLI, J.G.; DOMINGUES, R.J. Doenças fúngicas. In: BRANDÃO FILHO, J.U.T., FREITAS, P.S.L., BERIAN, L.O.S., and GOTO, R., comps. **Hortaliças-fruto [online]**. Maringá: EDUEM, pp. 271-313.

TONIN, R. J. et al. Manejo de mancha de alternária em canola em função de espaçamentos de semeadura e uso de fungicidas. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 22, n. 1, p. 44-51, 2023.

ZEPEDA-GIRAUD, L. F. et al. Controle Biológico de *Thielaviopsis paradoxa* e *Colletotrichum gloeosporioides* pelas Enzimas Extracelulares de *Wickerhamomyces anomalus*. **Agricultura**, v. 10, n. 8, pág. 325, 2020.

ZIN, Nur A.; BADALUDDIN, Noor A. Funções biológicas de *Trichoderma* spp. para aplicações agrícolas. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 65, n. 2, p. 168-178, 2020.