

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS DE CURITIBANOS
DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA, BIODIVERSIDADE E FLORESTAS
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL

Riani Grimes

**Potencial biológico de *Trichoderma* spp. em fungos fitopatogênicos em condições
*in vitro***

Curitibanos
2019

Riani Grimes

**Potencial biológico de *Trichoderma* spp. em fungos fitopatogênicos em condições
*in vitro***

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Engenharia Florestal do Campus de Curitiba da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal.
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Adriana Terumi Itako

Curitiba

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC

Grimes, Riani

POTENCIAL BIOLÓGICO DE *Trichoderma* spp. EM FUNGOS
FITOPATOGÊNICOS EM CONDIÇÕES in vitro / Riani Grimes;
orientadora, Adriana Terumi Itako, 2019.
39 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus
Curitibanos, Graduação em Engenharia Florestal,
Curitibanos, 2019.

Inclui referências.

1. Engenharia Florestal. 2. Controle biológico.
- 3 . Antagonista. I. Itako, Adriana Terumi. II. Universidade
Federal de Santa Catarina. Graduação em Engenharia
Florestal. III Título.

Riani Grimes

Potencial biológico de *Trichoderma* spp. em fungos fitopatogênicos em condições *in vitro*

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Bacharel em Engenharia Florestal” e aprovado em sua forma final pelo Curso de Engenharia Florestal.

Curitiba, 07 de Novembro de 2019.



Prof. Dr. Mário Dobner Júnior
Subcoordenador de Curso

Banca Examinadora:



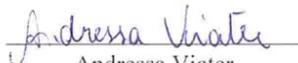
Prof.ª Dr.ª Adriana Terumiltako
Orientadora

Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC



Leticia de Andrade Dias
Engenheira Ambiental

Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC



Andressa Viater
Engenheira Florestal

Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Este trabalho é dedicado à minha família e amigos, que sempre acreditaram em mim.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade de uma vida saudável e maravilhosa.

Aos meus familiares, que sempre me apoiaram e incentivaram, fazendo com que eu não desistisse da minha missão.

Aos meus professores e colegas que caminharam comigo até aqui, trocando conhecimentos e experiências, profissionais e pessoais.

A minha orientadora, Dr^a Adriana Terumi Itako, por todo carinho, atenção, paciência e incentivo.

Ao professor Dr. João Batista Tolentino Júnior, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao meu companheiro de vida, Lucas Ogliari Scartezini, por todo apoio, incentivo, paciência e amor.

RESUMO

A aplicação de produtos químicos no combate às doenças em plantas ainda é o modelo predominante de controle no Brasil. A utilização do controle biológico vem ganhando espaço nas áreas de produção por todo o país, além de gerar menores impactos para a saúde humana e no meio ambiente, contribuindo para a conservação dos recursos hídricos e do solo. Fungos do gênero *Trichoderma* estão sendo estudados com objetivo de futura aplicação em doenças em plantas, como uma técnica de controle biológico, pois são capazes de inibir fitopatógenos por parasitismo, competição e microparasitismo. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial de inibição dos patógenos: *Alternaria* spp., *Botrytis* spp., *Cylindrocladium* spp., *Pestalotiopsis* spp. e *Sclerotium rolfsii* pela ação dos isolados de *Trichoderma* spp. em condições *in vitro*. Os isolados foram coletados de solos das regiões de Brunópolis/SC, Rio do Sul/SC, São Paulo/SP e Curitiba/SC. Ainda foi utilizado o fungo comercial, *Trichoderma harzianum*. Ambos os fungos foram disponibilizados através da Micoteca do laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal de Santa Catarina, Campus de Curitiba. Para avaliar o potencial dos isolados de *Trichoderma* sobre os patógenos, foi realizado o teste de pareamento em placas, na qual os discos de micélio foram dispostos da seguinte forma: um disco do fungo fitopatogênico ao centro da placa e dois discos de *Trichoderma* nas bordas. Foram realizadas medições diárias do diâmetro até que um dos tratamentos atingisse 80% do crescimento na placa. As avaliações foram realizadas a partir da medição dos testes de pareamento em relação aos valores de diâmetros das colônias dos fitopatógenos contra os isolados de *Trichoderma*. Com os dados foi calculada a AACCM (Área Abaixo da Curva de Crescimento Micelial) e o PIC (Porcentagem de Inibição de Crescimento). O delineamento foi inteiramente casualizado utilizando 5 tratamentos (Brunópolis (T1), fungo comercial da espécie *T. harzianum* (T2), Rio do Sul (T3), São Paulo (T4) e Curitiba (T5)) com 5 repetições, cada placa de Petri foi considerada uma repetição. Através dos resultados foi possível observar que todos os isolados de *Trichoderma* spp. utilizados no experimento foram capazes de inibir o crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos testados. Entretanto, no caso do fungo *S. rolfsii*, somente o isolado de *Trichoderma* T5 (Curitiba) foi capaz de inibir o crescimento do patógeno. Foi possível concluir que isolados do gênero *Trichoderma* spp. apresentam elevado potencial como inibidores de fitopatógenos, e que o isolado de *Trichoderma* T5 (Curitiba) apresentou potencial na inibição do crescimento do patógeno *S. rolfsii*.

Palavras-chave: Controle biológico em plantas. *Sclerotium rolfsii*. Antagonismo.

ABSTRACT

The use of pesticides to manage plant diseases is still the predominant control model in Brazil. The use of biological control has been gaining ground in production areas throughout the country, in addition to generate lower impacts on the environment, is contributing to the conservation of water resources, soil and even human health. *Trichoderma* fungi are being studied for future application in plant diseases as a biological control technique because they are able to inhibit phytopathogens by parasitism, competition and microparasitism. The objective of the present work was to evaluate the potential inhibition of the pathogens: *Alternaria* spp., *Botrytis* spp., *Cylindrocladium* spp., *Pestalotiopsis* spp. and *Sclerotium rolfsii* against *Trichoderma* spp. under *in vitro* conditions. The isolates were collected from soils of Brunópolis / SC, Rio do Sul / SC, São Paulo / SP and Curitiba / SC. The commercial fungus *Trichoderma harzianum* was also used. Both fungi were available on the Micoteca of the phytopathology laboratory of the Federal University of Santa Catarina, Curitiba of Campus. To evaluate the potential of *Trichoderma* isolates on fungi, the plating pairing test was performed, in which the mycelium discs were arranged as follows: a phytopathogenic fungus disc in the center of the plate, and two *Trichoderma* discs on the edges. Daily measurements were taken until one of the treatments reached 80% of the growth in the plaque. The evaluations happened by measuring the pairing tests in relation to the diameter values of the phytopathogens colonies against *Trichoderma* isolates. With the data we calculated the AUMGC (Area Under the Mycelial Growth Curve) and the PGI (Percent Growth Inhibition). The statistical design was completely randomized using 5 treatments (Brunópolis (T1), commercial fungus *T. harzianum* (T2), Rio do Sul (T3), São Paulo (T4) and Curitiba (T5)) with 5 replicates. Petri dish was considered as replica. With the results it was possible to observe that all isolates of *Trichoderma* spp. used in the experiment were able to inhibit the mycelial growth of the tested fungi. However, in the case of *S. rolfsii* fungus, only *Trichoderma* T5 isolate (Curitiba) was able to inhibit the growth of the pathogen. It was possible to conclude that isolates of the genus *Trichoderma* spp. have high potential as phytopathogen inhibitors, and that *Trichoderma* T5 isolate (Curitiba) has potential to inhibit the growth of *S. rolfsii* pathogen.

Keywords: Biological control of plants. *Sclerotium rolfsii*. Antagonism.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – (A) Sintomas de mancha de *Alternaria* encontrados em folha de mamoeiro; (B) Isolado de *Alternaria* spp. em meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar). 22
- Figura 2 – (A) Isolado de *Botrytis* spp. em meio de cultura BDA; (B); Muda de *Pinus* doente devido ao ataque do fungo, apresentando a doença conhecida como queima dos ponteiros. 23
- Figura 3 – (A) Isolado de *Cylindrocladium* spp. em meio BDA; (B) Mancha foliar em Eucalipto causada pelo ataque do fungo. 24
- Figura 4 – (A) Isolado de *Pestalotiopsis* spp. em placa de Petri com meio BDA; (B) Lesão em folhas e morte dos ponteiros de mini estacas de eucalipto, causadas pelo fungo. 25
- Figura 5 – (A) Isolado do fungo *Sclerotium rolfsii* em meio BDA; (B) Caule de tomateiro infectado por *Sclerotium rolfsii* com escleródios (C) Fruto de tomate doente. 26
- Figura 6 – Isolados de *Trichoderma* spp. em meio de cultura BDA utilizados no experimento: Brunópolis (T1), fungo comercial da espécie *Trichoderma harzianum* (T2), Rio do Sul (T3), São Paulo (T4) e Curitiba (T5). 27
- Figura 7 – Isolados dos fungos fitopatogênicos em meio BDA: *Alternaria* spp.; *Botrytis* spp.; *Cylindrocladium* spp.; *Pestalotiopsis* spp.; e *Sclerotium rolfsii*. 28
- Figura 8 – Modelo exemplificando o pareamento entre os fungos. Representação da placa de Petri, contendo o fitopatógeno ao centro e os antagonistas nas bordas da placa. 28
- Figura 9 – Pareamento do fungo *Alternaria* spp. contra isolados de *Trichoderma* spp. em meio BDA. (A) Testemunha -T0; (B) *Alternaria* vs. *Trichoderma* isolado de Brunópolis-SC – T1; (C) *Alternaria* vs. *Trichoderma* comercial – T2; (D) *Alternaria* vs. *Trichoderma* isolado de Rio do Sul-SC- T3; (E) *Alternaria* vs. *Trichoderma* isolado de São Paulo – SP – T4; (F) *Alternaria* vs. *Trichoderma* isolado de Curitiba-SC – T5. 31
- Figura 10 – Pareamento do fungo *Botrytis* spp. contra isolados de *Trichoderma* spp. em meio BDA. (A) Testemunha -T0; (B) *Botrytis* vs. *Trichoderma* isolado de Brunópolis-SC – T1; (C) *Botrytis* vs. *Trichoderma* comercial – T2; (D) *Botrytis* vs. *Trichoderma* isolado de Rio do Sul-SC- T3; (E) *Botrytis* vs. *Trichoderma* isolado de São Paulo – SP – T4; (F) *Botrytis* vs. *Trichoderma* isolado de Curitiba-SC – T5. 32

- Figura 11 – Pareamento do fungo *Cylindrocladium* spp. contra isolados de *Trichoderma* spp. em meio BDA. (A) Testemunha -T0; (B) *Cylindrocladium* vs. *Trichoderma* isolado de Brunópolis-SC – T1; (C) *Cylindrocladium* vs. *Trichoderma* comercial – T2; (D) *Cylindrocladium* vs. *Trichoderma* isolado de Rio do Sul-SC- T3; (E) *Cylindrocladium* vs. *Trichoderma* isolado de São Paulo – SP – T4; (F) *Cylindrocladium* vs. *Trichoderma* isolado de Curitiba-SC – T5..... 33
- Figura 12 – Pareamento do fungo *Pestalotiopsis* spp. contra isolados de *Trichoderma* spp. em meio BDA. (A) Testemunha -T0; (B) *Pestalotiopsis* vs. *Trichoderma* isolado de Brunópolis-SC – T1; (C) *Pestalotiopsis* vs. *Trichoderma* comercial – T2; (D) *Pestalotiopsis* vs. *Trichoderma* isolado de Rio do Sul-SC- T3; (E) *Pestalotiopsis* vs. *Trichoderma* isolado de São Paulo – SP – T4; (F) *Pestalotiopsis* vs. *Trichoderma* isolado de Curitiba-SC – T5..... 34
- Figura 13 – Pareamento do fungo *Sclerotium rolfsii* spp. contra isolados de *Trichoderma* spp. em meio BDA. (A) Testemunha -T0; (B) *S. rolfsii* vs. *Trichoderma* isolado de Brunópolis-SC – T1; (C) *S. rolfsii* vs. *Trichoderma* comercial – T2; (D) *S. rolfsii* vs. *Trichoderma* isolado de Rio do Sul-SC- T3; (E) *S. rolfsii* vs. *Trichoderma* isolado de São Paulo – SP – T4; (F) *S. rolfsii* vs. *Trichoderma* isolado de Curitiba-SC – T5..... 35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Doenças, agentes causais e antagonistas estudados para uso em controle biológico.	19
Tabela 2 – AACCM obtidos pelo pareamento em placa de <i>Trichoderma</i> contra os fungos <i>Alternaria</i> spp.; <i>Botrytis</i> spp.; <i>Cylindrocladium</i> spp.; <i>Pestalotiopsis</i> spp.; e <i>Sclerotium rolfsii</i>	30
Tabela 3 – Porcentagem de Inibição do crescimento micelial (PIC) obtidos pelo pareamento em placa de <i>Trichoderma</i> Testemunha -T0; <i>Trichoderma</i> isolado de Brunópolis-SC – T1; <i>Trichoderma</i> comercial – T2; <i>Trichoderma</i> isolado de Rio do Sul-SC- T3; <i>Trichoderma</i> isolado de São Paulo – SP – T4; <i>Trichoderma</i> isolado de Curitiba-SC – T5. Contra os fungos <i>Alternaria</i> spp.; <i>Botrytis</i> spp.; <i>Cylindrocladium</i> spp.; <i>Pestalotiopsis</i> spp.; e <i>Sclerotium rolfsii</i>	31

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	OBJETIVOS	16
1.1.1	Objetivo Geral.....	16
1.1.2	Objetivo Específico	16
2	REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1	CONTROLE BIOLÓGICO	17
2.1.1	HISTÓRICO	17
2.1.2	TIPOS DE CONTROLE BIOLÓGICO	17
2.1.3	<i>Trichoderma spp.</i>	19
2.2	FUNGOS FITOPATOGÊNICOS.....	21
2.2.1	<i>Alternaria spp.</i>	21
2.2.2	<i>Botrytis spp.</i>	22
2.2.3	<i>Cylindrocladium spp.</i>	23
2.2.4	<i>Pestalotiopsis spp.</i>	24
2.2.5	<i>Sclerotium rolfsii</i>	25
3	METODOLOGIA.....	27
3.1	OBTENÇÃO DOS FUNGOS <i>Trichoderma</i> E FITOPATOGÊNICOS	27
3.2	AVALIAÇÃO DO PAREAMENTO ENTRE OS FUNGOS	28
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
5	CONCLUSÃO.....	36
	REFERÊNCIAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

O modelo predominante de controle de doenças ainda é realizado através da aplicação excessiva de produtos químicos, tanto na área agrícola quanto na área florestal. Isso vem acumulando diversos problemas ambientais, sociais e econômicos. A venda de produtos como os fungicidas, por exemplo, apresenta no Brasil um crescimento contínuo, o que mostra a necessidade de combate a doenças causadas especialmente por fungos fitopatogênicos (MORANDI *et al.*, 2009).

Com a necessidade de aumento na produção de diversas matérias-primas e oferta de alimentos mais saudáveis, não só no Brasil como em outros países, o controle biológico está se tornando uma técnica essencial na obtenção de uma produção mais sustentável. Além de poder causar uma grande redução do uso de químicos, o controle biológico ainda contribui na proteção e conservação do meio ambiente, uma vez que seu uso acarreta em uma significativa diminuição da contaminação do solo, recursos hídricos, desequilíbrios biológicos e perda de biodiversidade (MACHADO *et al.*, 2012).

Em plantios florestais ou em viveiros, é mínimo o número de produtos químicos utilizados que estão registrados no Ministério da Agricultura. Muitas vezes os produtos utilizados para espécies florestais são os mesmos que os indicados para espécies agrícolas, o que faz com que cada vez mais se faça necessário estudos e utilização do controle biológico (JÚNIOR *et al.*, 2013).

Com a expansão da produção florestal, e evolução referente à genética, a preocupação por parte dos viveiristas e produtores tem aumentando devido ao número expressivo de doenças que estão causando danos às plantações juvenis. As doenças causadas por fungos, não somente na área florestal como também na agrícola, afetam além da produção de mudas no período de viveiro, mas, também podem causar danos nas plantas enquanto estado juvenil, podendo afetar os plantios até o terceiro ano de vida (AUER; SANTOS, 2011).

As espécies de fungos do gênero *Trichoderma* vem sendo umas das mais utilizadas no controle de fitopatógenos através do controle biológico, por serem facilmente encontradas e cultivadas, apresentarem rápido crescimento, não serem patogênicos para as plantas nem para o homem. São capazes de inibir os fungos fitopatógenos por parasitismo, produção de metabólitos secundários, competição e microparasitismo de estruturas dos patógenos, como esporos e escleródios, que são de difícil destruição (MACHADO *et al.*, 2012).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial *in vitro* de espécies de *Trichoderma* no controle de fungos fitopatogênicos de importância florestal

1.1.2 Objetivo Específico

Avaliar *in vitro* o potencial de fungos do gênero *Trichoderma* isolados das regiões de Curitiba, Rio do Sul, Brunópolis e de São Paulo na inibição do desenvolvimento dos fungos *Alternaria* spp., *Botrytis* spp., *Cylindrocladium* spp., *Pestalotiopsis* spp. e *Sclerotium. rolfsii*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico vem ganhando mais espaço a cada dia, passando a integrar os manejos de diversas cultivares, agrícolas e florestais, por todo o mundo. O reconhecimento dos produtores quanto a melhoria da qualidade dos seus produtos e o aumento da disponibilidade de recursos de controle biológico são uns dos aspectos fundamentais para esta evolução (MEDEIROS; SILVA; PASCHOLATI, 2018).

A introdução dessa técnica no manejo de doenças em plantas vem sendo estudada e aplicada, como objetivo principal de reduzir o uso descontrolado de produtos químicos, reduzindo seus efeitos colaterais e danosos ao ambiente, bem como a redução de custos na produção das culturas e beneficiando a saúde do homem e dos animais (JÚNIOR; SANTOS; AUER, 2000).

2.1.1 HISTÓRICO

A expressão “Controle biológico” foi usada pela primeira vez em 1919, pelo pesquisador Harry S. Smith. Entretanto, os chineses foram os primeiros a aplicar de fato o controle, com a espécie de formiga *Oecophylla smaragdina*, no combate a lepidópteros e coleobrocas, no século III a.C. No Brasil, a introdução dos inimigos naturais iniciou em 1921, com o objetivo de combater a Cochonilha branca do pessegueiro (*Pseudaulacaspis pentagona* (TargTozz)), praga originária dos EUA (SILVA; BRITO, 2015).

Esse tipo de método de controle é baseado na relação que há entre os organismos, que podem ser: antibiose, competição e parasitismo. Pode ocorrer competição por nutrientes, parasitismo direto ou até mesmo pela geração de metabólitos. Dentro desses, o parasitismo se mostra mais eficiente, e dentre tantos organismos estudados, o fungo do gênero *Trichoderma* atualmente está sendo estudado com frequência e demonstrando resultados significativos (JÚNIOR; SANTOS; AUER, 2000).

2.1.2 TIPOS DE CONTROLE BIOLÓGICO

A relação antagonista conhecida como antibiose é aquela em que a interação entre os microrganismos, na produção de metabólitos, inibe o patógeno (crescimento, germinação ou esporulação). A competição se refere à disputa por alimento ou espaço, como por exemplo nutrientes e oxigênio. No caso de organismos que se alimentam de estruturas vegetativas ou reprodutivas do outro, esta relação é conhecida como parasitismo. E além disso, uma relação antagonista também importante é a predação, onde um organismo obtém alimento a partir de outras fontes, como patógenos ou até mesmo outros fungos (MORANDI; BETTIOL; JÚNIOR, 2014).

É possível citar três tipos principais de controle: clássico, natural e aplicado. O natural refere-se à aquele que ocorre, como o nome diz, naturalmente nos diferentes ecossistemas, possível de se reconhecer sempre que o meio não é afetado por práticas inadequadas de manejo e pode ser favorecido quando praticado o manejo de forma a preservar o ecossistema equilibrado, conservando ali os inimigos naturais. O controle clássico se baseia na colonização de predadores no local em que esses são inseridos, combatendo na maioria das vezes pragas exóticas. Trata-se da liberação, através de inóculos, de determinado número de microrganismos. O controle aplicado nada mais é do que a liberação de microrganismos após a criação massal em laboratório, possuindo ação rápida, semelhante aos inseticidas usuais (SILVA; BRITO, 2015).

O sucesso no uso de organismos antagonistas no controle de doenças está relacionado ao conhecimento da ecologia e fisiologia. É necessário saber qual é o nível de resistência suportado pelo antagonista, como é seu comportamento e crescimento em diferentes substratos, qual sua resistência à produtos químicos e como é a relação entre patógeno, hospedeiro e o ambiente em que ambos estão inseridos (solo, planta, etc.) (MORANDI; BETTIOL; JÚNIOR, 2014). Ao contrário do controle químico, o controle biológico não apresenta efeito imediato, e isso pode ser considerado como uma desvantagem aos olhos dos produtores pois, até ocorrer o efeito desejado pode acarretar em perda de produção. A falta de assistência e orientação em como utilizar produtos e até mesmo os próprios isolados também dificulta a aplicabilidade desse controle. Entretanto, esse método apresenta inúmeras vantagens, principalmente no quesito meio ambiente, não causando impactos danosos. Além disso, é um controle de baixo custo e ainda reduz a possibilidade de perda de organismos benéficos que estejam presentes no local (BETTIOL; MORANDI, 2009).

Além do *Trichoderma* spp., outros microrganismos também são classificados como antagonistas e fazem parte do grupo de organismos no controle biológico, como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1 – Doenças, agentes causais e antagonistas estudados para uso em controle biológico.

Doenças	Agentes causais	Antagonistas
Tombamento de mudas	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Pythium</i> ; <i>Cylindrocladium</i> <i>spp.</i> ; <i>Botrytis cinerea</i> ;	<i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Gliocladium</i>
Podridões de sementes, raízes e caules	<i>Rhizoctonia</i> , <i>Pythium</i> , <i>Sclerotium</i> , <i>Phytophthora</i> , <i>Thielaviopsis</i> , <i>Sclerotinia</i> , <i>Gaeumannomyces</i>	<i>Bacillu</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Gliocladium</i> , <i>Coniothyrium</i> , <i>Verticilium</i>
Podridões de frutos	<i>Botrytis</i> , <i>Monilinia</i> , <i>Mucor</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Rhizopus</i>	<i>Bacillus</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Gliocladium</i> , leveduras
Ferrugens	<i>Puccinia</i> , <i>Uromyces</i> , <i>Melampsora</i> , <i>Cronartium</i>	<i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Darlucu</i> , <i>Scytalidium</i> , <i>Verticilium</i>
Mildios e oídios	<i>Sphaerotheca</i> , <i>Podosphaera</i> , <i>Oidium</i> <i>eucalypti</i>	<i>Ampelomyces</i>
Cancros de caule	<i>Nectria</i>	<i>Bacillus</i> , <i>Trichoderma</i>
Manchas e queimas foliares	<i>Cercospora</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Venturia</i> , <i>Cylindrocladium</i> , <i>Pestalotiopsis</i>	<i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Athelia</i> , <i>Alternaria</i>

Fonte: Alfenas *et al.* (2009), adaptado por: O autor (2019).

Com a constante preocupação da sociedade em consumir alimentos e produzir matéria prima de alta qualidade, o uso de métodos de controle biológico tende a aumentar gradativamente (BETTIOL; MORANDI, 2009). Além disso, o alto custo dos produtos químicos, a perda de eficiência devido à resistência dos organismos e todos os problemas ambientais devido ao seu uso excessivo, já ultrapassaram a hora da busca por novos meios de produção, evitando todos esses problemas. O uso do controle biológico representa uma das principais alternativas para produção de matéria-prima e alimentos com qualidade e consciência (MORANDI *et al.*, 2009).

2.1.3 *Trichoderma* spp.

O primeiro estudo realizado com o fungo do gênero *Trichoderma* foi em 1936, por Weindling e Fawcett, com o objetivo de avaliar o potencial no controle de doenças causadas

por *Rhizoctonia solani* Kühn. Desde então, vários estudos vêm sendo realizados com este fungo, na busca dos potenciais benefícios que o mesmo pode gerar (MACHADO *et al.*, 2012).

A primeira publicação sobre o uso do *Trichoderma* no Brasil foi em 1950. No entanto, produtos à base de *Trichoderma* só foram usados no país inicialmente em 1987, para combater podridão de raízes e colo em macieira, causada pelo patógeno *Phytophthora cactorum*. O antagonista foi multiplicado em grãos de sorgo e acondicionado em sacos plásticos com a dose dessa mistura de *Trichoderma* com sorgo recomendada para uma cova de macieira (24 g). Entre os anos 1989 e 1990 a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) produziu mais de 50.000 unidades do produto para uso no Sul do Brasil. (BETTIOL; MORANDI, 2009). O gênero *Trichoderma* habita diversas regiões, desde tropicais até temperadas. Possui alta capacidade reprodutiva, sendo capaz de degradar nutrientes com facilidade e potencializar a absorção dos mesmos pelas raízes das plantas, além de apresentar importância no biocontrole de fungos patogênicos (AMORIM *et al.*, 2018).

As espécies mais conhecidas são: *T. hamatum*, *T. viride*, *T. glaucum*, *T. aureoviride*, *T. pseudokoningii*, *T. longibrachiatum*, *T. polysporum* e *T. harzianum*. As colônias se desenvolvem rápido, apresentando uma superfície lisa e translúcida e depois se tornam compactas com tufos. Geralmente, sua coloração é esverdeada, devido a presença de conídios, podendo também variar de acordo com o meio de cultura (BETTIOL; GHINI, 2005).

Esses microrganismos são capazes de inibir os fitopatógenos por parasitismo (o antagonista se alimenta do patógeno), produção de metabólitos secundários, competição (o antagonista disputa os mesmos recursos, alimento e espaço com o patógeno) e microparasitismo de estruturas dos patógenos, como esporos e escleródios, que são de difícil destruição (MACHADO *et al.*, 2012). Isolados de *Trichoderma* podem ser coletados de qualquer zona climática, incluindo zonas desérticas. Entretanto, o desenvolvimento das espécies mais utilizadas até o momento no controle biológico é favorecido em temperaturas superiores a 25° C. Além disso, a aplicação do inóculo deve ser feita preferencialmente em solos contendo boa cobertura vegetal, bloqueando a passagem dos raios solares diretamente sobre o fungo (MORANDI; BETTIOL; JÚNIOR, 2014).

Bioprodutos comerciais à base de *Trichoderma* spp. vem sendo aplicados em diversas áreas do país, pois atuam no controle principalmente de doenças causadas por fungos de solo, como *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Verticillium*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Armillaria* e *Roselinia*. Alguns desses produtos são indicados também para o controle de patógenos

responsáveis por doenças ou lesões em folhas, ramos, caules, frutos e flores de diversas espécies, em sua grande maioria agrícolas. (BETTIOL; MORANDI, 2009).

Mesmo com os inúmeros benefícios comprovados que o controle biológico pode proporcionar, a aplicação no Brasil ainda é baixa, devido a pequena disponibilidade de produtos à base de *Trichoderma* registrados legalmente no Ministério da Agricultura Pesca e Abastecimento (MAPA), e também a escassez de informação ao produtor sobre como aplicar e qual fonte utilizar (MACHADO *et al.*, 2012).

Pode-se ter como conclusão que o sucesso no uso dos fungos do gênero *Trichoderma* é devido a sua alta capacidade de reprodução, habilidade de adaptação em condições adversas, facilidade em absorver e mobilizar nutrientes, e uma forte agressividade contra fungos patogênicos, por ser um fungo hiperparasita (MACIEL *et al.*, 2012).

No caso de controle biológico utilizando *Trichoderma* spp. em espécies florestais, a maioria dos testes são realizados em mudas ou sementes, visando a prevenção das doenças. Estudos realizados com cedro, angico e canafístula mostraram que o *Trichoderma* foi eficiente no combate a *Penicillium* spp., *Alternaria* spp., *Fusarium* spp., *Trichothecium* spp. e *Chaetomium* spp. Além disso, foram contabilizadas melhoras em desenvolvimento foliar, crescimento de parte aérea e raiz, o que pode ter ocorrido devido à ausência dos patógenos, proporcionando melhor desempenho no desenvolvimento da muda (JUNGES *et al.*, 2016).

2.2 FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

2.2.1 *Alternaria* spp.

Causadora da doença conhecida como “Pinta Preta”, espécies do gênero *Alternaria* pertencem ao grupo dos Ascomicetos e são responsáveis por aproximadamente 30% de danos nas plantas em áreas cultivadas (VASCONCELOS *et al.*, 2014).

É possível observar lesões circulares ou irregulares, de coloração acinzentada na face superior do limbo foliar (Figura 1). Geralmente a infecção em folhas novas tem período potencial de 5 a 7 dias, podendo ser a disseminação dos esporos do fungo através de respingos de água da chuva, ou vento (AMORIM *et al.*, 2016).

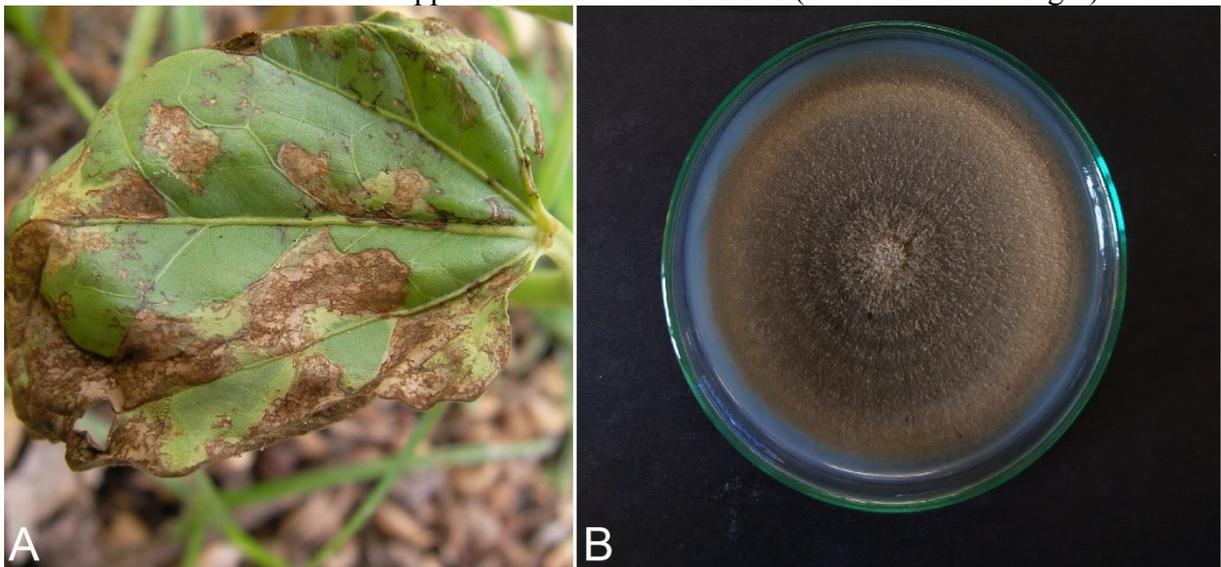
Uma característica importante para identificação são as dimensões dos conídios, que cada espécie apresenta de maneira diversa. Como não existem cultivares comerciais resistentes,

é indicado sempre retirar os restos culturais, incorporando-os imediatamente após a colheita e fazer rotação de cultura (EMBRAPA, 2006).

Em espécies florestais têm-se relatada a ocorrência de *Alternaria* em sementes. Carmo *et al.*, 2017 verificaram a associação de oito gêneros fúngicos, incluindo o fungo *Alternaria* incidindo em sementes florestais nativas, tais como açoita-cavalo (*Luehea divaricata*), araçá amarelo (*Psidium cattleianum*), corticeira (*Erythrina falcata*), rabode-bugio (*Lonchocarpus* sp.), vassoura-vermelha (*Dodonea viscosa*) e pau jacaré (*Piptadenia gonoacantha*).

Para o controle deste patógeno em culturas florestais como *Pinus* e *Eucalipto*, que são as mais plantadas no Sul do Brasil, não há nenhum produto químico registrado até o momento (AGROFIT, 2019).

Figura 1 – (A) Sintomas de mancha de *Alternaria* encontrados em folha de mamoeiro; (B) Isolado de *Alternaria* spp. em meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar).



Fonte: (A) EMBRAPA; (B) O autor (2019).

2.2.2 *Botrytis* spp.

Fungo responsável pela doença conhecida como “Mofo cinzento”. Pertencente ao grupo dos Ascomicetos, possui como fase teleomórfica *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel (AMORIM *et al.*, 2016). Geralmente aparece em condições de alta umidade e temperatura amena. A doença afeta os tecidos mais jovens das plantas, causando a morte do ápice ou até mesmo de toda a muda. Os sintomas iniciais são enrolamento das folhas, seguido de seca e

queda das mesmas. Outro principal sintoma é o surgimento de uma massa pulverulenta, que nada mais é do que um grande acumulado de esporos do fungo (SANTOS; JÚNIOR, 2001).

Em mudas de *Pinus*, esse fungo causa a doença chamada “Queima dos ponteiros”, que causa a seca da parte superficial das mudas, (Figura 2) levando a morte progressiva da muda (AMORIM *et al.*, 2016). Para o controle da doença em espécies florestais, há produto registrado somente para espécies do gênero *Eucalyptus*, à base de *Bacillus pumilus*. Para o *Pinus*, espécie florestal de grande importância econômica no Sul do país, não há produtos registrados até o momento (AGROFIT, 2019).

Figura 2 – (A) Isolado de *Botrytis* spp. em meio de cultura BDA; (B); Muda de *Pinus* doente devido ao ataque do fungo, apresentando a doença conhecida como queima dos ponteiros.



Fonte: (A) O autor, 2019; (B) Embrapa Florestas.

2.2.3 *Cylindrocladium* spp.

Fungos do gênero *Cylindrocladium*, pertencentes ao grupo dos Ascomicetos, são os causadores da mancha-foliar em mudas de eucalipto, *Pinus*, algumas espécies frutíferas e leguminosas (AMORIM *et al.*, 2016). É conhecido como um dos principais responsáveis por doenças em viveiros, e um dos principais causadores de doenças em mudas de eucalipto, em especial (MACIEL *et al.*, 2012). Em sua fase teleomórfica, é conhecido como *Calonectria quinquesepitata* (APARECIDO; FURTADO; FIGUEIREDO, 2007).

É uma doença característica de plantações florestais, porém pode ser encontrada em viveiros. Distribui-se da Amazônia até os estados do Sul do Brasil, e já foi constatado seu aparecimento em mais de 15 espécies de eucalipto (Figura 3). As mais suscetíveis ao ataque são: *Eucalyptus urophylla*, *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus cloeziana* e *Eucalyptus grandis* (SANTOS; JÚNIOR, 2001). Consta no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento,

para as culturas de *Pinus* e Eucalipto, produtos químicos com ingredientes ativos como piraclostrobina e metconazol (triazol) + piraclostrobina, para eucalipto, e fluxapiróxade (carboxamida) + piraclostrobina (estrobilurina) para *Pinus* (AGROFIT, 2019). Os sintomas da doença causada por esse fungo iniciam no ápice ou bordas do limbo foliar e, aumentam em direção a nervura principal das folhas. As manchas são consideradas de grande dimensão, apresentando coloração que varia de marrom claro a marrom arroxeado. Geralmente as folhas lesionadas caem, podendo afetar grande proporção das copas das árvores. Os brotos não são atingidos, o que permite a recuperação da planta quando em condições ambientais desfavoráveis a doença (SANTOS; JÚNIOR, 2001).

Figura 3 – (A) Isolado de *Cylindrocladium* spp. em meio BDA; (B) Mancha foliar em Eucalipto causada pelo ataque do fungo.



Fonte: (A) O autor, 2019; (B) (ALFENAS *et al.*, 2009)

2.2.4 *Pestalotiopsis* spp.

Faz parte do grupo dos Ascomicetos, e em sua fase sexuada é desconhecida. Desenvolve-se comumente sobre folhas velhas em plantas a campo, porém, pode ser observada em viveiros. Um exemplo desse caso é a doença conhecida como Seca-das-acículas, que ocorre em mudas de araucária (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze), onde as mudas acabam morrendo ou sendo descartadas. O fato de as mudas serem muitas vezes submetidas a locais com excesso de umidade ou alta densidade de indivíduos, propicia o surgimento da doença (MUNIZ; POLETTI; LIPPERT, 2015).

Geralmente, fungos do gênero *Pestalotiopsis* são conhecidos como aproveitadores, pois se aproveitam do ataque de outros patógenos, como por exemplo o *Cylindrocladium*, para colonizar a planta em estado já debilitado, facilitando sua infecção (SOARES *et al.*, 2017). Um

dos sintomas clássicos do ataque deste patógeno são manchas foliares, de coloração escura, que avançam para lesões de formato irregular (Figura 4) (AMORIM *et al.*, 2016).

Até o momento, não há registro de nenhum produto químico direcionado para espécies florestais como Pinus ou Eucalipto, com o objetivo de controle desta doença (AGROFIT, 2019).

Figura 4 – (A) Isolado de *Pestalotiopsis* spp. em placa de Petri com meio BDA; (B) Lesão em folhas e morte dos ponteiros de mini estacas de eucalipto, causadas pelo fungo.



Fonte: (A) O autor, 2019; (B) (ALFENAS *et al.*, 2009).

2.2.5 *Sclerotium rolfsii*

Fungo responsável por podridão de raiz e colo, tombamento e murcha das plântulas (Figura 5). Ataca diversos tipos de vegetais, como espécies ornamentais, leguminosas, hortícolas, cereais e espécies botânicas. Na fase anamórfica é classificado *S. rolfsii* e na teleomórfica, *Athelia rolfsii*, e tem a capacidade de sobrevivência no solo, através dos escleródios, por um período mínimo de um ano (ISAIAS *et al.*, 2014).

Predomina em distribuição geográfica de zonas tropicais e subtropicais, em condições de alta umidade e temperatura. Esse fungo já foi encontrado em diversas espécies florestais no Brasil, como *Araucaria excelsa* (Pinheiro-de-Norfolk), *Cryptomeria japonica* (Cedro japonês; Araucária do Japão), *Joanesia princeps* (Indaguaçu), *Tabebuia serratifolia* (Ipê; Pau-d'arco; Peúva) e em *Azadirachta indica* (Amargosa). Porém, o *Sclerotium rolfsii* pode afetar qualquer espécie florestal em viveiro (MAFIA; ALFENAS; JÚNIOR, 2007).

É possível encontrar produtos fitossanitários para as doenças causadas por este fungo para diversas espécies agrícolas, como soja, trigo e alho, por exemplo. Entretanto, para espécies como Ipê, Cedro, Eucalipto, Pinus e Pinheiro-de-Norfolk não é possível encontrar produtos registrados até o presente momento (AGROFIT, 2019).

Figura 5 – (A) Isolado do fungo *Sclerotium rolsii* em meio BDA; (B) Caule de tomateiro infectado por *Sclerotium rolsii* com escleródios (C) Fruto de tomate doente.



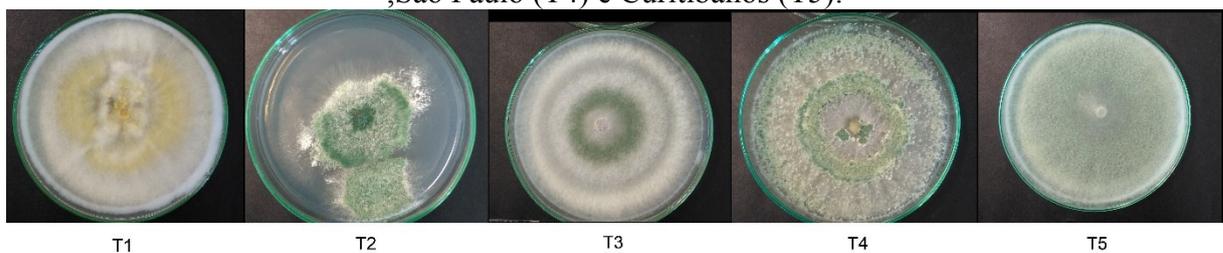
Fonte: O autor, 2019; Fitocon – Consultoria fitossanitária, 2019.

3 METODOLOGIA

3.1 OBTENÇÃO DOS FUNGOS *Trichoderma* E FITOPATOGÊNICOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal de Santa Catarina, Campus de Curitibanos. Os fungos do gênero *Trichoderma* foram obtidos da Micoteca do laboratório. Esses foram obtidos de diferentes locais e foram isolados pelo método da diluição seriada (ALFENAS, 2007). As espécies do gênero *Trichoderma* foram coletadas dos solos de: Brunópolis (T1), Rio do Sul (T3), São Paulo (T4) e Curitibanos (T5) (conforme a Figura 6). Também foi utilizado no experimento, o fungo comercial da espécie *Trichoderma harzianum* (T2).

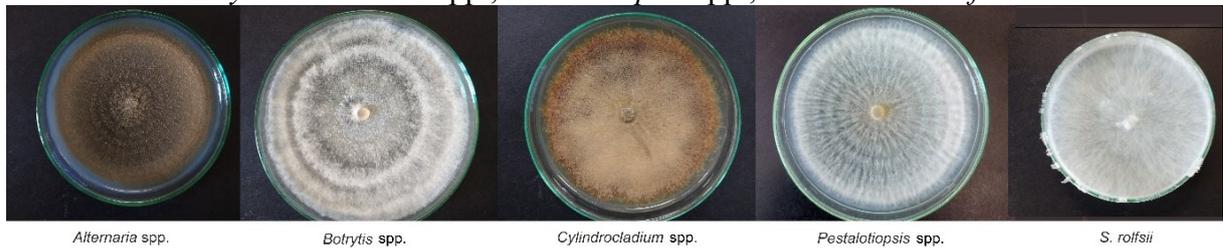
Figura 6 – Isolados de *Trichoderma* spp. em meio de cultura BDA utilizados no experimento: Brunópolis (T1), fungo comercial da espécie *Trichoderma harzianum* (T2), Rio do Sul (T3), São Paulo (T4) e Curitibanos (T5).



Fonte: O autor, 2019.

Os fungos fitopatogênicos foram obtidos da Micoteca (Figura 7), sendo esses: *Alternaria* spp.; *Botrytis* spp., *Cylindrocladium* spp., *Pestalotiopsis* spp. e *S. rolfsii*. Todos os isolados estavam armazenados pelo método de Castellani (ALFENAS; MAFIA, 2007), identificados e fechados hermeticamente com tampas de borracha. Os fungos fitopatogênicos utilizados neste experimento são de origens diversas. A *Alternaria* spp. provém da planta de Girassol, o *Botrytis* spp. foi isolado da cultura do morango, *Cylindrocladium* spp. e *Pestalotiopsis* spp. foram obtidos de folhas de eucaliptos e o *S. rolfsii* foi retirado do caule de tomate.

Figura 7 – Isolados dos fungos fitopatogênicos em meio BDA: *Alternaria* spp.; *Botrytis* spp.; *Cylindrocladium* spp.; *Pestalotiopsis* spp.; e *Sclerotium rolfsii*.



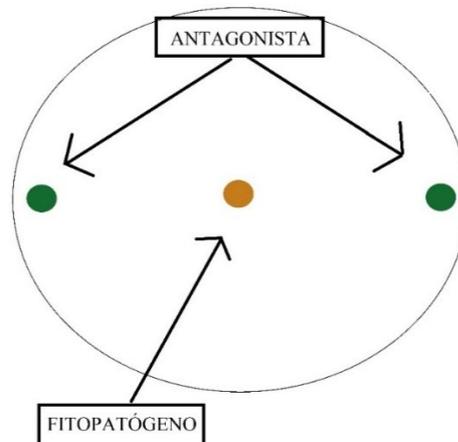
Fonte: o autor (2019).

3.2 AVALIAÇÃO DO PAREAMENTO ENTRE OS FUNGOS

Para a avaliação por pareamento em placas, os fungos foram retirados da Micoteca, em placas de Petri, contendo meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar) previamente autoclavado e adicionado de antibiótico. Esses, foram mantidos em câmara incubadora do tipo BOD por um período entre 7 a 10 dias, em temperatura de $\pm 25^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas.

Em seguida, foram retirados de cada uma das placas, discos de 0,5 cm de diâmetro, contendo o micélio do respectivo fungo. Os discos foram dispostos em placas de Petri da seguinte forma: um disco do fungo fitopatogênico ao centro da placa, e dois discos de *Trichoderma* nas bordas (Figura 8). As placas foram mantidas em BOD e avaliadas diariamente seus diâmetros, até que um dos tratamentos crescesse até 80% do diâmetro da placa. No caso do fungo *S. rolfsii*, as medições foram realizadas duas vezes ao dia, pois seu crescimento é mais acelerado quando comparado aos outros.

Figura 8 – Modelo exemplificando o pareamento entre os fungos. Representação da placa de Petri, contendo o fitopatógeno ao centro e os antagonistas nas bordas da placa.



Fonte: O autor, 2019.

Todos os fungos foram quantificados e os dados obtidos a partir dos testes de pareamento em relação aos valores de diâmetros das colônias dos fitopatógenos foram usados para a obtenção da Área Abaixo da Curva de Crescimento Micelial (AACCM)(1), de acordo com a fórmula de adaptada por Oliveira (1992), representada abaixo:

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

Onde: y_{i+1} e y_i são os valores de crescimento da colônia observados, t_{i+1} e t_i são os períodos de avaliação.

Através dos resultados obtidos também foi possível determinar a percentagem de inibição do crescimento micelial (2) (PIC), por meio da fórmula proposta por Edigngton *et al.* (1971):

$$PIC = \frac{\text{diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento}}{\text{diâmetro da testemunha}} \cdot 100 \quad (2)$$

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância no Software RStudio e a AACM e o PIC das colônias de cada tratamento foram comparadas a testemunha (T0) pelo teste Dunnett ao nível de 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a obtenção dos resultados da AACCM e a partir das análises estatísticas (Tabela 2) foi possível observar que todos os isolados de *Trichoderma* spp. utilizados no experimento foram capazes de inibir o crescimento micelial dos fungos testados. Exceto para o tratamento com o *Trichoderma* comercial da espécie *Trichoderma harzianum* (T2) contra o fungo *S. rolfsii*.

Tabela 2 – AACCM obtidos pelo pareamento em placa de *Trichoderma* contra os fungos *Alternaria* spp.; *Botrytis* spp.; *Cylindrocladium* spp.; *Pestalotiopsis* spp.; e *Sclerotium rolfsii*.

Trat.	Área Abaixo da Curva do Crescimento Micelial (AACCM)				
	<i>Alternaria</i> spp.	<i>Botrytis</i> spp.	<i>Cylindrocladium</i> spp.	<i>Pestalotiopsis</i> spp.	<i>S. rolfsii</i>
T0	47,0	21,6	57,8	33,2	17,7
T1	24,4*	11,8*	31,2*	19,8*	13,5*
T2	19,4*	8,2*	30,9*	20,8*	16,4 ^{ns}
T3	21,8*	13,2*	29,0*	18,2*	12,7*
T4	20,1*	8,1*	21,2*	17,2*	13,0*
T5	16,8*	9,8*	15,3*	17,0*	11,1*

Médias seguidas por * diferem do tratamento testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). Médias seguidas por ^{ns} não diferem do tratamento testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$).

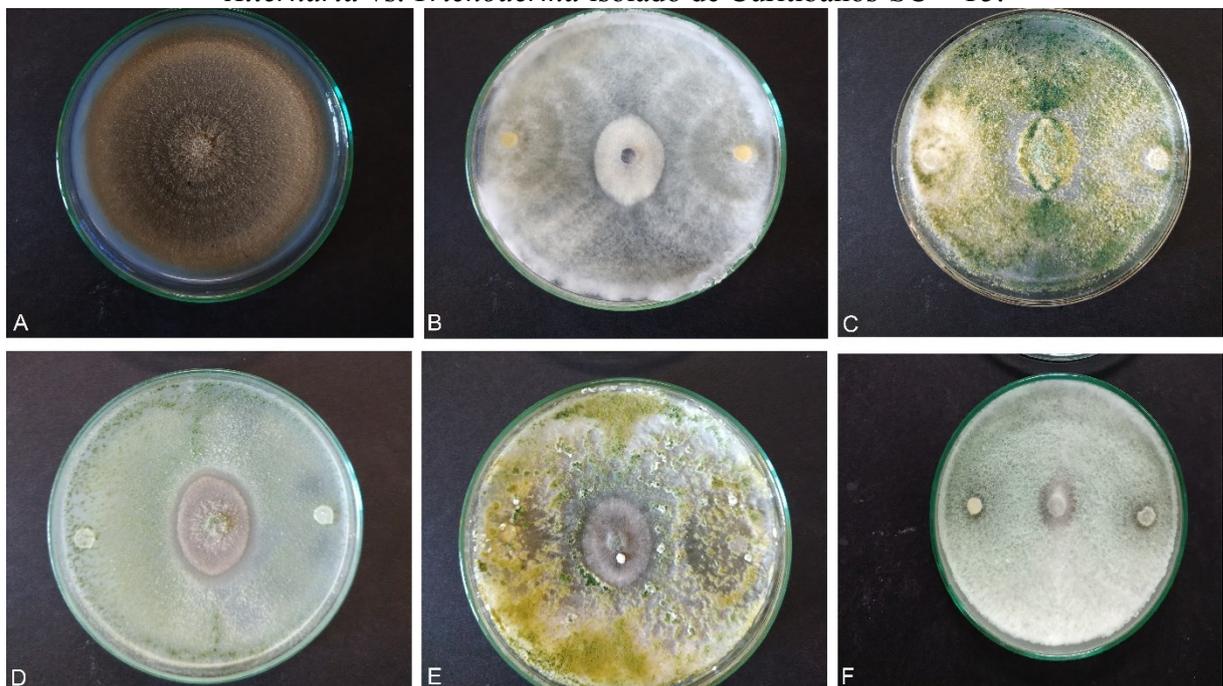
Já em relação aos dados obtidos para o cálculo do PIC, para o fungo *Alternaria* spp., os isolados de *Trichoderma* foram capazes de inibir o crescimento do patógeno em média de 72,14% (Tabela 3). Resultados semelhantes foram obtidos por Nozaki *et al.* (2018), em um estudo de pareamento *in vitro* realizado para a cultura do tomate. Os isolados utilizados foram coletados dos solos da região de Toledo – PR, os que apresentaram maiores porcentagens de inibição foram: *T. longibrachiatum*: 100%; *T. harzianum*: 68,33% e *T. virens*, com 68,06%. Reafirmando que isolados de *Trichoderma* avaliados neste trabalho são capazes de inibir o crescimento do patógeno (Figura 9).

Tabela 3 – Porcentagem de Inibição do crescimento micelial (PIC) obtidos pelo pareamento em placa de *Trichoderma* Testemunha -T0; *Trichoderma* isolado de Brunópolis-SC – T1; *Trichoderma* comercial – T2; *Trichoderma* isolado de Rio do Sul-SC- T3; *Trichoderma* isolado de São Paulo – SP – T4; *Trichoderma* isolado de Curitiba-SC – T5. Contra os fungos *Alternaria* spp.; *Botrytis* spp.; *Cylindrocladium* spp.; *Pestalotiopsis* spp.; e *Sclerotium rolfsii*.

Trat.	Porcentagem de Inibição do crescimento micelial (PIC)				
	<i>Alternaria</i> spp.	<i>Botrytis</i> spp.	<i>Cylindrocladium</i> spp.	<i>Pestalotiopsis</i> spp.	<i>S. rolfsii</i>
T0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
T1	66,3*	62,0*	68,8*	56,2*	0,0 ^{NS}
T2	73,9*	77,5*	68,0*	52,3*	0,0 ^{NS}
T3	70,0*	60,1*	70,4*	61,6*	0,0 ^{NS}
T4	72,7*	76,8*	79,1*	64,9*	0,0 ^{NS}
T5	77,8*	69,3*	87,0*	65,5*	60,4*

Médias seguidas por * diferem do tratamento testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). Médias seguidas por ^{NS} não diferem do tratamento testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Figura 9 – Pareamento do fungo *Alternaria* spp. contra isolados de *Trichoderma* spp. em meio BDA. (A) Testemunha -T0; (B) *Alternaria* vs. *Trichoderma* isolado de Brunópolis-SC – T1; (C) *Alternaria* vs. *Trichoderma* comercial – T2; (D) *Alternaria* vs. *Trichoderma* isolado de Rio do Sul-SC- T3; (E) *Alternaria* vs. *Trichoderma* isolado de São Paulo – SP – T4; (F) *Alternaria* vs. *Trichoderma* isolado de Curitiba-SC – T5.



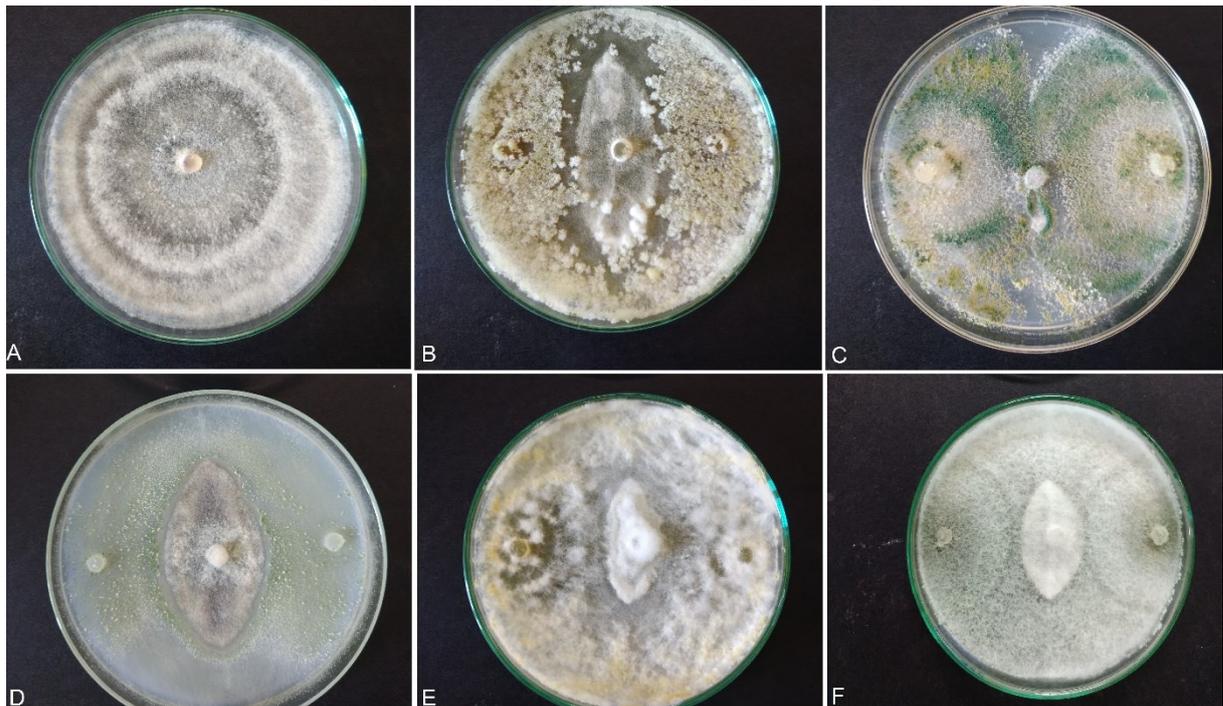
Fonte: O autor (2019).

Um estudo realizado por Júnior *et al.* (2013), com o patógeno *Botrytis cinerea*, onde o mesmo foi retirado diretamente das mudas de *Eucalyptus benthamii*, apresentaram como resultado do pareamento com *Trichoderma* sp. um porcentual de inibição de 16,8%.

Comparando com os resultados obtidos no presente experimento o tratamento T2 inibiu em 77,5% o desenvolvimento do fungo (Tabela 3, Figura 10).

Em um estudo sobre o efeito de *Trichoderma atroviride* na severidade do mofo cinzento em mudas de *Eucalyptus benthamii*, realizado por Júnior *et al.* (2016), foi possível observar que o *T. atroviride* promoveu a inibição de 83,5% do mofo cinzento, resultados que foram comparados com os obtidos por Molina Mercader *et al.* (2006), que ao avaliarem os microrganismos *Clonostachys* spp. e *Trichoderma* spp. contra *B. cinerea* em mudas de *Eucalyptus globulus*, comprovaram a diminuição de 85% da doença.

Figura 10 – Pareamento do fungo *Botrytis* spp. contra isolados de *Trichoderma* spp. em meio BDA. (A) Testemunha -T0; (B) *Botrytis* vs. *Trichoderma* isolado de Brunópolis-SC – T1; (C) *Botrytis* vs. *Trichoderma* comercial – T2; (D) *Botrytis* vs. *Trichoderma* isolado de Rio do Sul-SC- T3; (E) *Botrytis* vs. *Trichoderma* isolado de São Paulo – SP – T4; (F) *Botrytis* vs. *Trichoderma* isolado de Curitiba-SC – T5.

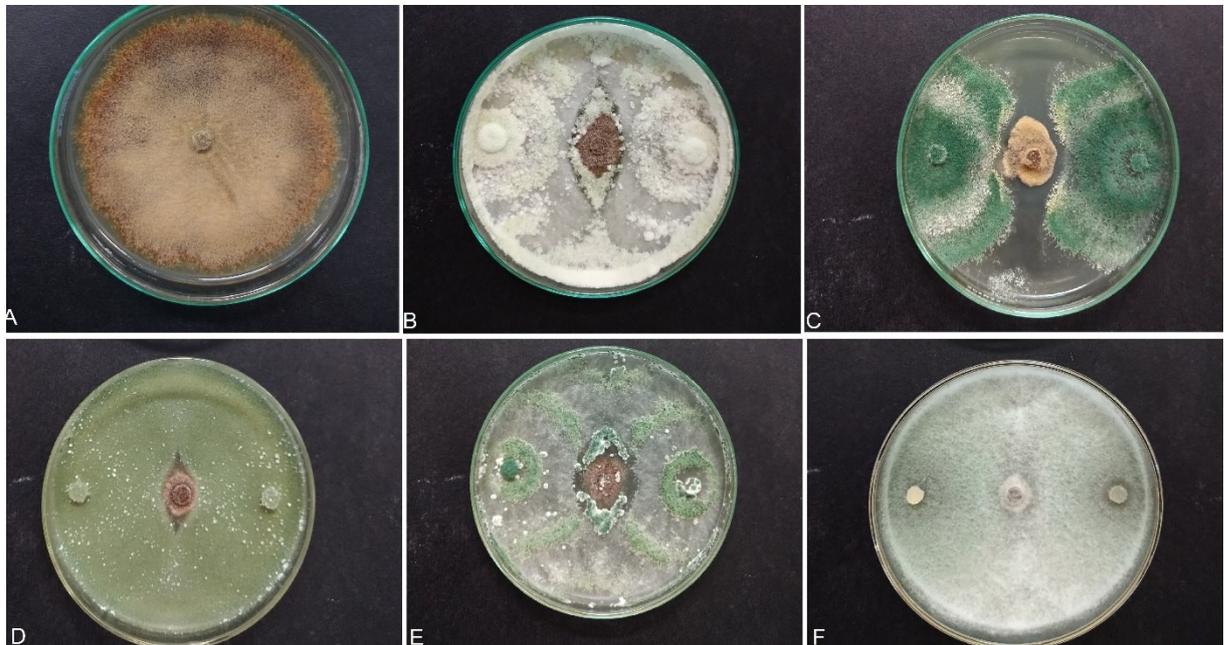


Fonte: o autor (2019).

Os resultados de inibição micelial obtidos em relação aos fungos do gênero *Trichoderma* e o patógeno *Cylindrocladium* spp. e *Trichoderma* vs. *Pestalotiopsis* spp. foram, respectivamente, em média 74,6 e 60,1% (Tabela 3 e Figuras 11 e 12). Em um estudo realizado por Maciel *et al.* (2012), em teste de confrontação direta, os fungos à base de *Trichoderma* spp. mostraram-se eficientes no controle do fungo *Cylindrocladium candelabrum* em *Eucalyptus saligna*, e destacaram que, com o uso de *Trichoderma* comercial Agrotich®, os resultados

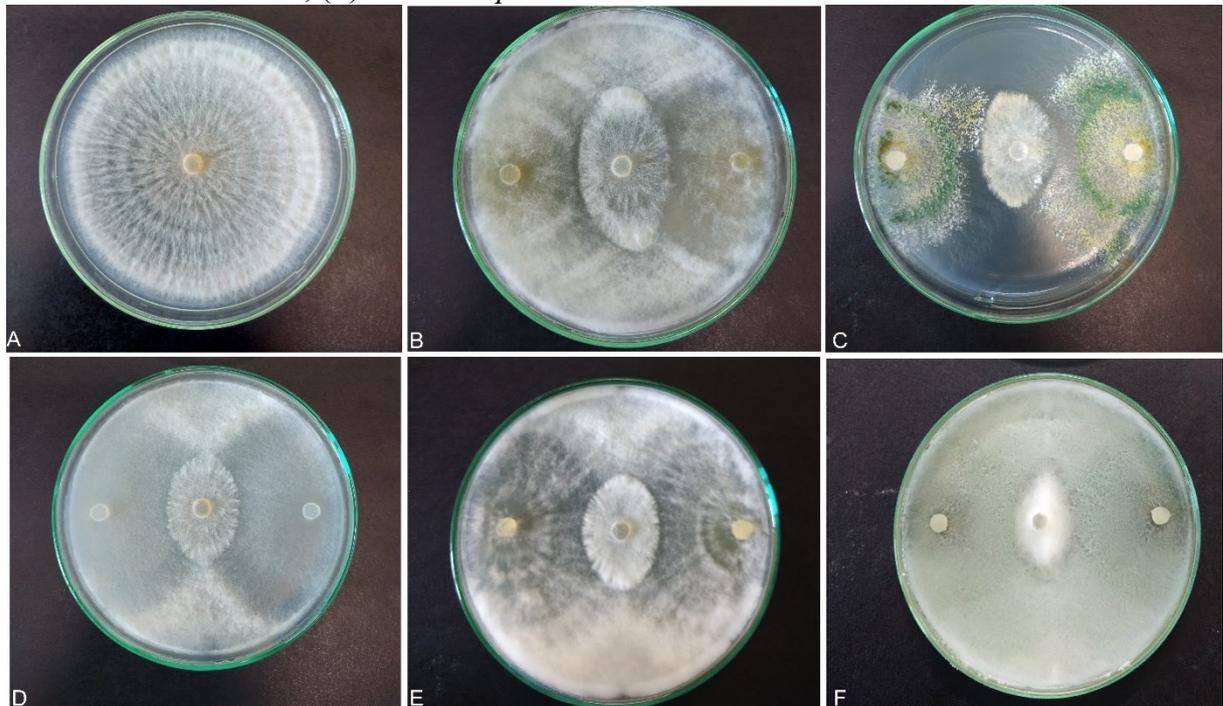
obtidos *in vivo* não foram promissores quanto os *in vitro*. Silva *et al.* (2013), ao testarem *Trichoderma* spp. em confronto com *Pestalotiopsis clavispora*, concluíram que dos 15 isolados utilizados no experimento, 13 deles obtiveram valores médios de até 1,50 (modo classificatório utilizado no estudo para quantificar o grau de inibição do patógeno), sendo este valor considerado no trabalho pelo autor como “muito eficiente”.

Figura 11 – Pareamento do fungo *Cylindrocladium* spp. contra isolados de *Trichoderma* spp. em meio BDA. (A) Testemunha -T0; (B) *Cylindrocladium* vs. *Trichoderma* isolado de Brunópolis-SC – T1; (C) *Cylindrocladium* vs. *Trichoderma* comercial – T2; (D) *Cylindrocladium* vs. *Trichoderma* isolado de Rio do Sul-SC- T3; (E) *Cylindrocladium* vs. *Trichoderma* isolado de São Paulo – SP – T4; (F) *Cylindrocladium* vs. *Trichoderma* isolado de Curitiba-SC – T5.



Fonte: o autor (2019).

Figura 12 – Pareamento do fungo *Pestalotiopsis* spp. contra isolados de *Trichoderma* spp. em meio BDA. (A) Testemunha -T0; (B) *Pestalotiopsis* vs. *Trichoderma* isolado de Brunópolis-SC – T1; (C) *Pestalotiopsis* vs. *Trichoderma* comercial – T2; (D) *Pestalotiopsis* vs. *Trichoderma* isolado de Rio do Sul-SC- T3; (E) *Pestalotiopsis* vs. *Trichoderma* isolado de São Paulo – SP – T4; (F) *Pestalotiopsis* vs. *Trichoderma* isolado de Curitiba-SC – T5.



Fonte: o autor (2019).

Os resultados obtidos do pareamento entre o *S. rolfsii* contra isolados de *Trichoderma* spp. constam na Tabela 3. Os tratamentos T1, T2, T3 e T4 não apresentaram resultados significativos de inibição do patógeno. Resultados semelhantes foram obtidos no estudo realizado por Auler *et al.* (2013), testando *T. harzianum* vs. *S. rolfsii* nas culturas de feijoeiro e soja, realizando experimento *in vitro* e *in vivo*, e concluíram que os resultados obtidos *in vivo* não foram satisfatórios, pois o antagonista não se mostrou ativo na inibição do patógeno. Ressaltam ainda que, os isolados de antagonista devem ser desenvolvidos e testados em ambiente semelhante ao qual serão aplicados para a obtenção de melhores resultados.

Já no pareamento entre o *S. rolfsii* com o T5 (isolado de Curitiba-SC) (Figura 13), os resultados foram significativos quanto a inibição do patógeno, o que pode levar a estudos futuros sobre o potencial do uso do *Trichoderma* obtidos de solos da região de Curitiba para o controle biológico deste e outros agentes fitopatogênicos.

Figura 13 – Pareamento do fungo *Sclerotium rolfsii* spp. contra isolados de *Trichoderma* spp. em meio BDA. (A) Testemunha -T0; (B) *S. rolfsii* vs. *Trichoderma* isolado de Brunópolis-SC – T1; (C) *S. rolfsii* vs. *Trichoderma* comercial – T2; (D) *S. rolfsii* vs. *Trichoderma* isolado de Rio do Sul-SC- T3; (E) *S. rolfsii* vs. *Trichoderma* isolado de São Paulo – SP – T4; (F) *S. rolfsii* vs. *Trichoderma* isolado de Curitiba-SC – T5.



Fonte: o autor (2019).

Os resultados encontrados no presente trabalho e outros estudos já realizados confirmam que os fungos do gênero *Trichoderma* tem elevada capacidade de inibição quando submetidos à competição com outro fungo, como no caso, os fitopatógenos. Entretanto, somente avaliações *in vitro* não são suficientes para determinar qual será a capacidade de inibição deste antagonista à campo.

5 CONCLUSÃO

A partir dos dados obtidos e avaliados, conclui-se que isolados do gênero *Trichoderma* spp. apresentam elevado potencial como inibidores de fitopatógenos. Entretanto, é preciso realizar trabalhos também à campo (*in vivo*) para melhores aplicações.

Todos os tratamentos apresentaram resultados considerados satisfatórios. Os resultados de PIC encontrados foram superiores a 50%, o que indica que todos os isolados de *Trichoderma* spp. apresentam potencial para o controle dos fungos fitopatogênicos avaliados.

O isolado de *Trichoderma* T5 (Curitibanos/SC) apresentou potencial na inibição do crescimento do patógeno *S. rolfsii*, o que pode ser atribuído ao fato de que o antagonista já está adaptado aos solos da região e aos patógenos que aqui se encontram, pois foram coletados dos solos de Curitibanos.

Com isso, os resultados encontrados neste trabalho instigam a sequência do estudo para futura utilização deste fungo à campo na região.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT. Disponível em:
http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 18 out. 2019.
- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: Editora UFV, 2 ed. 2009, 500 p.
- ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em Fitopatologia**. Viçosa: UFV. 2007. 382p.
- AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. Ouro Fino: Editora Agronômica Ceres, 2016. v. 2, 810 p.
- APARECIDO, C. C.; FURTADO, E. L.; FIGUEIREDO, M. B. Caracterização morfofisiológica de isolados do gênero *Cylindrocladium*. **Summa Phytopathol.** Botucatu, v. 34, n. 1, p. 38-47, ago. 2008.
- AUER, C. G.; SANTOS, A. F. Doenças em eucaliptos destinados à produção de energia na região Sul do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**. Colombo, v. 31, n. 68, p. 373-379, dez. 2011.
- AULER, A. C. V.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M. Antagonismo de *Trichoderma harzianum* a *Sclerotium rolfii* nas culturas do feijoeiro e soja. **Revista Agro@ambiente Online**, Boa Vista, v. 7, n. 3, p. 359-365, set./dez. 2013.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. 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.
- CARMO, A. L. M.; MAZARATTO, E. J.; ECKSTEIN, B.; SANTOS, A. F. Associação de fungos com sementes de espécies florestais nativas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 43, n. 3, p. 246-247, 2017.
- EDGINGTON, L. V.; KNEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 61, n. 1, p. 42-44, Ago, 1971. Disponível em: https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1971Articles/Phyto61n01_42.PDF. Acesso em: 18 out. 2019.
- ISAIAS, C. O.; MARTINS, I.; SILVA, J. B. T.; SILVA, J. P.; MELLO, S. C. M. Ação antagônica e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp. contra os patógenos *Sclerotium rolfii* e *Verticillium dahliae*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 40, n. 1, p. 34-41, fev. 2014.
- JÚNIOR, A. G.; SANTOS, A.F.; AUER, C.G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, Curitiba, v. 30, n. 1/2, dez. 2000.

- JÚNIOR, J. A. S.; AUER, C. G.; PIMENTEL, I. C.; SANTOS, A. F.; SCHULTZ, B. Seleção *in vitro* de fungos endofíticos para o controle biológico de *Botrytis cinerea* em *Eucalyptus benthamii*. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 43, n. 1, p. 145 - 152, jan./mar. 2013.
- JÚNIOR, J. A. S.; POITEVIN, C. G.; ROBL, D.; SANTOS, A. F.; PIMENTEL, I. C.; DALZOTO, P.R.; AUER, C.G. Redução da severidade do mofo cinzento em mudas de *Eucalyptus benthamii* tratadas com *Trichoderma atroviride*. **Summa Phytopathologica**, Curitiba, v. 42, n. 4, p. 363-365, ago. 2016.
- JUNGES, E.; MUNIZ, M. F.; MEZZOMO, R. BASTOS, B.; MACHADO, R. T. *Trichoderma* spp. na produção de mudas de Espécies Florestais. **Floresta Ambiente**, Seropédica, v. 23, n. 2, p. 237-244, jun. 2016.
- MACIEL, C. G.; LAZAROTTO, M.; MEZZOMO, R.; POLLETO, I.; MUNIZ, M. F. B.; LIPPERT, D. B. *Trichoderma* spp. no biocontrole de *Cylindrocladium candelabrum* em mudas de *Eucalyptus saligna*. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 36, n. 5, p. 825-832, jun. 2012.
- MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 35, 1, jun. 2012.
- MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; JÚNIOR, M. F. R. R. Tombamento de mudas de espécies florestais causado por *Sclerotium rolfsii* Saac. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 31, n. 4, p. 629-634, mar. 2007.
- MEDEIROS, F. H. V.; SILVA, J. C. P.; PASCHOLATI, S. F. Controle biológico de doenças em plantas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia**: 5 ed., v.1. princípios e conceitos. Ouro Fino, MG: Agronômica Ceres, 2018. p. 261-274.
- MERCADER, G. M.; FLORES, S. Z.; VARGAS, G. G.; STOWASSER, E. S. V. Selección de hongos antagonistas para el control biológico de *Botrytis cinerea* en viveros forestales en Chile. **Bosque**, Valdivia, v. 27, n. 2, p. 126-134, jul. 2006.
- MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W.; JÚNIOR, T. J. P. Controle biológico de doenças em plantas. In: ZAMBOLIM, L.; JÚNIOR, W.C.J.; RODRIGUES, F.A. **O essencial da fitopatologia**: controle de doenças de plantas. 22 ed., Viçosa, MG: UFV, DFP, 2014. p. 177-225.
- MORANDI, M.A.B.; JÚNIOR, T.J.P.; BETTIOL, W.; TEIXEIRA, H. Controle biológico de fungos fitopatogênicos. **Informe agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, n. 251, p. 73-82, jul./ago. 2009.
- MUNIZ, M.F.B.; POLETTO, I.; LIPPERT, D.B. **Doenças de espécies arbóreas no Sul do Brasil**: Manual de identificação. Jundiaí, Paco Editorial, 2015. p. 41-43;67-69.
- NOZAKI, M.H.; HENDGES, C.; ENSINA, G.H.; LUI, L.; MARTINS, C.V.B.; STANGARLIN, J.R. Controle *in vitro* de *Alternaria solani* por diferentes isolados de *Trichoderma* spp. **Revista Cultivando o Saber**, [S. l.], v. 11, n. 4, p. 338-345, out./dez., 2018.

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**, Lavras, v. 16, p. 42-47, fev. 1992.

SANTOS, A.F., JUNIOR, A.G.A. **Doenças do eucalipto no sul do Brasil: identificação e controle**. Paraná: EMBRAPA, jun., 2001. 20 p. (Série: Circular Técnica 45).

SILVA, A.B.; BRITO, J.M. Controle biológico de insetos-pragas e suas perspectivas para o futuro. **Revista AGROTEC**, Paraíba, v. 36, n. 1, p. 248-258, out. 2015.

SILVA, F.B.; SILVA, F.J.T.; FERNANDES, F.S.; LEAL, L.V.; POLETTO, I. Isolamento e seleção de *Trichoderma* spp. antagonistas à *Pestalotiopsis clavispora*, patógeno da noqueira-pecã. **Revista Brasileira de Agroecologia**, [S. l.], v. 8, n. 3, p 109-118, jul. 2013.

SOARES, I. D.; AUER, C. G.; SANTOS, A. F.; TAMBARUSSI, E. V.; REZENDE, E. H.; COLEHO, T. A. V.; DUIN, I. M. Fungos associados à mancha foliar em *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cabbage na região Sul do Brasil. **BIOFIX Scientific Journal**, Curitiba, v. 2, n. 2, p. 32-37, set. 2017.

VASCONCELOS, C. V.; SILVA, D. C.; CARVALHO, D. D. C. Ocorrência de *Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) Keissl. em tubérculos de batata, no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 2, p. 219-222, abr./jun. 2014.