

Potencial de isolados de *Trichoderma* spp. nativos em controlar o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* e como promotor de crescimento na cultura da soja

Potential of natives *Trichoderma* spp isolates to control the fungus *Sclerotinia sclerotiorum* and as a growth promoter in soybean

DOI:10.34117/bjdv7n3-673

Recebimento dos originais: 08/02/2021

Aceitação para publicação: 25/03/2021

Leonardo Machado de Conto

Bacharel em Agronomia

Instituição: Universidade Católica Dom Bosco

Endereço completo: Av. Tamandaré, 6000 - Jardim Seminário, Campo Grande - MS, 79117-900

E-mail: leodconto@gmail.com

Francilina Araújo Costa

Doutora em Microbiologia Agrícola pela Universidade Federal de Viçosa

Instituição: Universidade Católica Dom Bosco

Endereço: Laboratório de Microbiologia, BioSSaúde, Av. Tamandaré, 6000 - Jardim Seminário, Campo Grande - MS, 79117-900

E-mail: fcosta@ucdb.br

Ana Carolina da Costa

Mestre em Biologia Geral pela Universidade Federal da Grande Dourados

Instituição: Universidade Católica Dom Bosco

Endereço: Laboratório de Microbiologia, BioSSaúde, Av. Tamandaré, 6000 - Jardim Seminário, Campo Grande - MS, 79117-900

E-mail: ana.biotec.ufgd@gmail.com

Cirano José Ulhoa

Ph.D em Genética e Bioquímica de Microorganismos pela Nottingham University

Instituição: Universidade Federal de Goiás

Endereço: Laboratório de Enzimologia, Instituto de Ciências Biológicas, Av. Esperança, s/n - Chácaras de Recreio Samambaia, Goiânia - Goiás, 74090-900

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de isolados de *Trichoderma* spp nativos do estado de MS no controle do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* e avaliar também o seu potencial como promotor de crescimento na cultura da soja. Quatorze isolados de *Trichoderma* foram utilizados em testes de pareamento e metabólitos voláteis, sendo 13 nativos de Mato Grosso do Sul e 1 comercial. Os testes de pareamento e metabólitos voláteis foram realizados em meio de cultura ágar batata dextrose (BDA). As placas foram mantidas em estufa com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25°C. Após 7 dias foram avaliados os confrontos e o metabólitos voláteis somente foram avaliados após a placa de testemunha ser totalmente tomada pelo patógeno. No teste em casa de vegetação foram utilizados 4 tratamentos, sendo 2 isolados nativos de MS, um produto comercial e uma

testemunha. O teste foi composto por vasos contendo 2 kg solo de barranco, sendo mantidos em casa de vegetação. Após 40 dias foram realizadas as avaliações, sendo elas, altura da planta (cm), massa fresca da parte aérea e raízes (g), massa seca da parte aérea e raízes (g). No teste de pareamento o isolado B201 se destacou com 77,8% de ocupação da placa de Petri e, no teste de metabólitos voláteis também se destacou, com 29,1% de inibição de crescimento do patógeno. No teste em casa de vegetação não houve resposta da inoculação dos isolados de *Trichoderma* nos parâmetros avaliados na fase inicial de crescimento de plantas de soja.

Palavras-chave: Controle biológico, antagonismo, doenças fúngicas.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the potential of *Trichoderma* native isolates from the state of MS in the control of the fungus *Sclerotinia sclerotiorum* and also to evaluate its potential as a growth promoter in soybean culture. Fourteen isolates of *Trichoderma* were used in pairing tests and volatile metabolites, 13 of which were native to Mato Grosso do Sul and 1 commercial. The pairing tests and volatile metabolites were performed in a potato dextrose agar (BDA) culture medium. The plates were kept in an oven with a photoperiod of 12 hours and a temperature of 25°C. After 7 days, the confrontations were evaluated and the volatile metabolites were only evaluated after the control plate was completely taken by the pathogen. In the greenhouse test, 4 treatments were used, 2 of which were native MS isolates, a commercial product and a control. The test consisted of pots containing 2 kg of ravine soil, which were kept in a greenhouse. After 40 days, evaluations were carried out, namely, plant height (cm), fresh weight of the aerial part and roots (g), dry mass of the aerial part and roots (g). In the pairing test, isolate B201 stood out with 77.8% occupancy of the Petri dish and, in the metabolite volatile test, it also stood out, with 29.1% growth inhibition of the pathogen. In the greenhouse test there was no response from the inoculation of *Trichoderma* isolates to parameters evaluated in the initial growth stage of soybean plants.

Keywords: Biological control, antagonism, fungal diseases.

1 INTRODUÇÃO

A soja é a principal cultura do agronegócio brasileiro, com 35 milhões de hectares plantados e produção aproximada de 116 milhões de toneladas de grãos colhidos na safra de 2017/2018. O país é o segundo maior produtor e maior exportador mundial com índices de aproximadamente 60 milhões de toneladas (CONAB, 2018).

Estima-se que 15% a 20% das perdas de produção na lavoura sejam oriundas de ataque de patógenos causadores de doenças em plantas (Henning *et al.*, 2009). O método mais utilizado para controle das doenças de plantas é a aplicação de fungicidas. Em 2016, a agricultura brasileira gastou o equivalente a 9,56 bilhões de dólares com defensivos agrícolas, como herbicidas, fungicidas e inseticidas, totalizando 887,9 mil toneladas de produto comercial, onde os estados do Mato Grosso, São Paulo, Paraná, Goiás e Rio

Grande do Sul compreenderam 71% do montante de vendas no território nacional (SINDIVEG, 2017).

Dentre as doenças que mais ocorrem na soja está o mofo-branco, causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, que em condições ambientais favoráveis acarreta grandes perdas nas lavouras (Furlan *et al.*, 2015). A fase mais vulnerável na cultura da soja à infecção compreende da floração plena (R2) ao início da formação dos grãos (R5) (Danielson *et al.*, 2004). Em tempo seco, a doença tem seu progresso retardado ou paralisado, mas é retomado em condições de alta umidade (Harikrishnan & Del Rio, 2006). Não existem cultivares de soja resistentes a *S. sclerotiorum*, e o controle químico pode ser inviável em razão dos custos e das dificuldades de se obter uma cobertura total da planta durante a pulverização (Gorgenet *et al.*, 2009).

Sclerotinia sclerotiorum é um patógeno de importância mundial, ocorre tanto em regiões temperadas quanto subtropicais e tropicais, além de ser um fungo polífago, que infecta 408 espécies e 278 gêneros de plantas hospedeiras (Bolton *et al.*, 2006). Epidemias causadas pelo patógeno, na cultura da soja, têm sido responsáveis pela diminuição da produção em vários países, com perdas que chegam a 100%, em condições favoráveis (Saharan & Mehta, 2007; Silva *et al.*, 2008). O patógeno se associa as sementes como micélio dormente ou na forma de escleródios e reduz drasticamente o potencial germinativo, o vigor e a emergência (Hennenberg *et al.*, 2012).

O fungo é de difícil erradicação após introduzido na área de cultivo. Assim, o tratamento das sementes constitui-se uma das medidas mais importantes e econômicas para se evitar que a doença seja introduzida em novos locais e a sua disseminação em lavouras (Gomes *et al.*, 2008; Furlan, 2015). Em 2012 cerca de 25% da área cultivada no Brasil foi infestada com a doença (Henning, 2012).

O controle biológico tem sido utilizado como uma alternativa sustentável, por meio da aplicação de microrganismos antagonistas a patógenos habitantes do solo (Melo, 2009; Pomella *et al.*, 2009; Saharan, 2008). O controle biológico é definido como a ação de organismos que mantêm a população de outros organismos considerados pragas ou doenças, em um nível mais baixo do que ocorreria em sua ausência (Batista Filho, 2006).

O uso de antagonista no controle de fitopatógenos tem sido bastante estudado nas últimas décadas, por vários motivos, entre eles, os problemas ambientais e de saúde humana decorrente do uso indiscriminado de agrotóxicos e a resistência de patógenos aos fungicidas comumente utilizados (Chagaset *al.* 2013, Bonett *et al.* 2013 Fipke *et al.* 2015).

Entre esses antagonistas destacam-se o fungo do gênero *Trichoderma* que é de grande importância econômica para a agricultura.

O *Trichoderma*, além de apresentar intensa atividade antagônica perante fungos fitopatogênicos, possui capacidade como promotor de crescimento e indutor de resistência de plantas a doenças (Isaias *et al.*, 2014; Chagas *et al.* 2013; Hoffman *et al.* 2015; Bonnett *et al.* 2013; Chagas *et al.* 2016; Azevedo *et al.*, 2020).

Fungos do gênero *Trichoderma* podem atuar como bioestimulantes do crescimento vegetal, pois, promovem uma interação com as raízes, favorecendo maior desenvolvimento, devido à secreção de fitormônios, permitindo uma melhor assimilação de água e nutrientes (Lucon, 2009; Pereira, 2012; Akladous; Abbas, 2012).

A ação de *Trichoderma* como estimulador do crescimento é complexa e realizada por interações com fatores bioquímicos e produção de diversas enzimas e compostos benéficos para as plantas (Baugh & Escobar, 2007).

O potencial de *Trichoderma* como agente de controle biológico, é conhecido há mais de seis décadas, e muitos isolados são simbiontes de plantas e podem atuar no controle de fungos causadores de doenças em plantas (Brotman *et al.*, 2010). Segundo Marques *et al.* (2016), de 49 isolados de *Trichoderma* que foram testados em teste de cultura pareada contra *Sclerotinia sclerotiorum*, todos exibiram algum antagonismo, com um máximo de 77% de inibição micelial e inibição completa da produção de escleródios. Igualmente, de 120 isolados de *Trichoderma* que foram testados *in vitro*, 22 inibiram em 100% a germinação de escleródios (Haddadet *et al.*, 2017).

A relação parasitária sobre fungos fitopatogênicos pode envolver eventos tais como localização, reconhecimento, contato direto, formação de estruturas em forma de gancho com função de apressórios, penetração, enovelamento e desenvolvimento de hifas paralelas, observados geralmente por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Abdullah *et al.* 2008; Melo, 2009; Zhang *et al.* 2016).

Desta forma, este trabalho avaliou o potencial de isolados de *Trichoderma spp.* nativos do estado de Mato Grosso do Sul no controle do fungo fitopatogênico *Sclerotinia sclerotiorum* causador de mofo-branco na cultura da soja e seu potencial como promotor de crescimento na cultura da soja.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO DOS ISOLADOS DE *TRICHODERMA*

Foram utilizados 14 isolados, sendo 13 pertencentes a coleção do laboratório de Microbiologia da Universidade Católica Dom Bosco (UCDB) e 1 isolado comercial. Dentre os mais de 60 isolados disponíveis na coleção, os 13 selecionados foram devido a resultados obtidos em experimentos realizados anteriormente. Os isolados são de diferentes regiões do Estado, como: Amambaí, Aral Moreira, Bandeirantes, Ponta Porã e Sidrolândia.

2.2 OBTENÇÃO DO PATÓGENO *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM*

O isolado de *S. sclerotiorum* foi cedido pela Universidade Federal de Goiás (UFG). Os isolados de *Trichoderma* e o isolado *S. sclerotiorum* foram armazenados em BOD a 25°C e fotoperíodo de 12 horas e armazenados nestas condições. A cada 30 dias foram repicados para sua manutenção.

2.3 TESTE DE PAREAMENTO

O antagonismo dos isolados de *Trichoderma* contra *S. sclerotiorum* foi avaliado pelo método de culturas pareadas, conforme descrito por Mello *et al.* (2007). Discos de ágar (10 mm de diâmetro) contendo micélio de *S. sclerotiorum* e dos treze isolados de *Trichoderma* foram retirados de colônias com três dias de cultivo e depositados, em extremidades opostas a 1 cm da borda das placas de Petri contendo meio BDA solidificado. Ambos os fungos foram inoculados no mesmo momento, isso devido sua velocidade de crescimento ser a mesma. As placas foram armazenadas a temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Após sete dias de cultivo foi avaliado o crescimento micelial dos fungos, conforme escala proposta por Bellet *al.* (1982), modificada (Tabela 2).

Tabela 1. Escala de notas para o Teste de pareamento.

Nota	Característica
1	<i>Trichoderma</i> ocupando 100% de toda superfície do meio.
2	<i>Trichoderma</i> ocupando 75% da superfície do meio.
3	<i>Trichoderma</i> ocupando 50% da superfície do meio.
4	<i>Trichoderma</i> ocupando 25% da superfície do meio.
5	Ausência de crescimento de <i>Trichoderma</i> , patógeno ocupando toda a superfície do meio.

Considerou-se o isolado de *Trichoderma* como antagônico ou eficiente quando sua nota é menor ou igual a 3, conforme Louzada *et al.* (2009). Para este teste foi utilizado delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições por tratamento.

2.4 TESTE DE AVALIAÇÃO DO EFEITO DE METABÓLITOS VOLÁTEIS

O método baseado em Bharat *et al.* (1980), consistiu em posicionar fundos de placas de Petri umas sobre as outras, após ter vertido 20 mL de meio BDA solidificado em cada uma delas. Na extremidade inferior da placa, colocou-se os quatorze isolados de *Trichoderma*, individualmente, e na superior, *S. sclerotiorum*, ambos na forma de disco de ágar (10 mm de diâmetro) contendo micélio. Lateralmente, os fundos foram vedados com filme PVC, em seguida, as placas foram incubadas em temperatura de 25°C com fotoperíodo de 12 horas, utilizando o crescimento do controle como referência para saber o momento da coleta de dados.

Placas utilizadas como controle contendo apenas *S. sclerotiorum* levaram aproximadamente 4 dias para preenchimento total pelo micélio do fungo. Desta forma, após 4 dias, foi realizada a avaliação do efeito de metabólitos voláteis inibindo o crescimento do patógeno nas placas contendo o patógeno e *Trichoderma*. Para a medição do diâmetro da colônia do patógeno utilizou-se um paquímetro para obter o resultado. O diâmetro total da placa onde os testes foram realizados foi de 9 cm. Quanto menor o diâmetro da colônia do patógeno maior a inibição realizada pelo *Trichoderma*. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições por tratamento mais um controle.

2.5 AVALIAÇÃO DO *TRICHODERMA* COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO NA CULTURA DA SOJA EM CASA DE VEGETAÇÃO

Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação climatizada (temperatura entre 20-35°C e umidade relativa mantida em 75%). Para tanto, inóculo do *Trichoderma* foi produzido em frasco Erlenmeyer (250mL de capacidade), contendo 30 g de arroz parboilizado, previamente umedecido com água destilada (60% p v⁻¹) e autoclavado. Como inóculo, foram utilizados discos (10mm de diâmetro) de micélio-ágar (3 discos por frasco) retirados da zona de crescimento de colônias com seis dias em BDA. Os frascos foram mantidos em BOD a 25°C e fotoperíodo de 12 horas, durante seis dias. Em seguida, vasos com 2kg de capacidade contendo solo previamente autoclavado e adubado com 5g da fórmula 5-25-15 (N-P-K) por vaso, foram simultaneamente inoculados com 3 isolados,

sendo dois nativos de Mato Grosso do Sul (B201 e S404) e o *Trichoderma harzianum* comercial, além de uma testemunha. De cada isolado, utilizaram-se 10g de arroz colonizado por vaso, ou seja $7,6 \times 10^7$ conídios de *Trichoderma* para cada 2kg de solo. Os inóculos foram uniformemente incorporados ao solo, com exceção da testemunha. A semeadura procedeu-se com 5 sementes por vaso e após 7 dias foi feito o desbaste, deixando apenas uma planta por vaso. Quarenta dias após a semeadura, procederam-se as avaliações, onde as plantas foram cuidadosamente removidas para medição da altura da planta (cm), massa fresca da parte aérea e raízes (g) e massa seca da parte aérea e raízes(g). Os dados foram submetidos a transformação de $\sqrt{x} + 1$. O experimento foi conduzido com 10 repetições por tratamento, sendo quatro tratamentos no total.

2.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste de Scott-Knott (1974), a 5% de probabilidade, empregando-se o programa estatístico Sisvar®.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 TESTE DE PAREAMENTO

De acordo com os resultados obtidos dos testes de pareamento apresentados na Tabela 1, dos 14 isolados avaliados, 11 tiveram potencial antagonico sobre o fungo *S. sclerotiorum*, inibindo o seu crescimento, tendo uma nota inferior a 3 segundo escala de Bell et al. (1982) e 3 não tiveram potencial antagonico, obtendo nota superior a 3.

Houve diferença de resposta entre os isolados de *Trichoderma* no antagonismo com o *S. sclerotiorum* (Tabela 2). Os isolados AB102, PP203 e COM não apresentaram potencial antagonico em comparação aos demais isolados testados com notas entre 3,00 e 3,55 (Tabela 2). Os demais isolados apresentaram potencial antagonico, com notas entre 2,10 e 2,88, ocupando assim entre 50% e 75% do total da placa de Petri. Os isolados B201, S404, AB303, S103 e AM103 apresentaram melhores resultados, destacando o B201, sendo o que possuiu menor nota, ocupando 77,8% da área total da placa de Petri (Figura 1C e Tabela 2). Quando comparados os resultados obtidos com o isolado COM, pode-se observar com clareza a melhor eficiência dos isolados nativos, uma vez que o comercial não foi eficiente devido sua nota superior a 3. O crescimento rápido de ambos os fungos, *Trichoderma* e *S. sclerotiorum* pode indicar que estes isolados podem ser altamente competitivos por espaço e nutrientes em meio BDA (Ágar Batata Dextrose).

Os resultados obtidos nesse trabalho foram superiores aos encontrados por Silva *et al.* (2014), onde a redução do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* apresentou diferença significativa para alguns isolados de *Trichoderma*, tendo redução de 73% em seu melhor isolado.

Tabela 2. Potencial antagonístico de *Trichoderma* contra *S. sclerotiorum* segundo escala de Bell *et al.* (1982) ao 7º dia de cultivo.

Isolado	<i>S. sclerotiorum</i>
B 201	2,10a
S 404	2,19a
AB 303	2,20a
S 103	2,21a
AM 103	2,25a
AB 105	2,56b
PP 102	2,59b
AB 203	2,67c
AM 204	2,76c
S 203	2,86d
AB 101	2,88d
PP 203	3,00e
AB 102	3,07e
COM	3,55f
CV (%)	4,96

Médias na coluna seguida de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 1. Antagonismo de isolados de *Trichoderma* contra *S. sclerotiorum* através do teste de culturas pareadas ao 7º dia de cultivo. Isolado AB101 (A), isolado AB102 (B) e isolado B201 (C).



Segundo Marques *et al.* (2016), de 49 isolados de *Trichoderma* que foram testados em teste de cultura pareada contra *S. sclerotiorum*, todos exibiram algum antagonismo, com um máximo de 77% de inibição micelial e inibição completa da produção de escleródios. Igualmente relatado por Haddad *et al.* (2017), de 120 isolados de *Trichoderma*

que foram testados *in vitro*, 22 inibiram em 100% a germinação de escleródios. De uma coleção de 230 isolados de *Trichoderma* oriundos dos estados de Rio Grande do Sul, Minas Gerais, São Paulo, Bahia, Goiás e Tocantins, em teste de pareamento contra *Sclerotinia sclerotiorum* apenas 10% dos isolados apresentaram potencial antagônico (Louzada *et al.*, 2009).

Uma explicação para o melhor resultado obtido pelo isolado B201 pode ser por algumas características do *Trichoderma*, como o micoparasitismo, a constituição de enzimas degradadoras de parede de outros fungos, também são importantes produtores de antibióticos e parasitas de fungos fitopatogênicos (Kumaret *et al.*, 2012). No processo de micoparasitismo, as hifas de *Trichoderma* crescem em direção às hifas do fungo hospedeiro, induzidas por oligômeros resultantes da ação de quitinases produzidas constitutivamente por *Trichoderma* na parede celular do próprio hospedeiro (Benítez *et al.*, 2004). Carboidratos de parede celular da célula antagonista reconhecem então a lecitina do fungo hospedeiro, ligando-se ao mesmo. As hifas de *Trichoderma* se enrolam nas hifas do patógeno e formam estruturas denominadas apressórios, dando início à penetração na parede celular do hospedeiro via enzimas líticas, consideradas fundamentais no processo de micoparasitismo (Benítez *et al.*, 2004; Ozbay & Newman, 2004).

O menor potencial antagonista apresentado pelos isolados PP203, AB102 e COM pode ser resultado de uma maior competição pelos nutrientes do meio, segundo Chagas *et al.* 2016, o rápido crescimento dos isolados de *Trichoderma* pode indicar que estes isolados podem ser altamente competitivos por espaço e nutrientes em meio BDA. Ou também uma menor produção de protease e cisteína, enzimas produzidas pelas espécies de *Trichoderma* que inativam a capacidade enzimática do fitopatógeno (Bonfim *et al.*, 2010).

3.2 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE METABÓLITOS VOLÁTEIS

Nem todos os isolados foram capazes de inibir o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*, sendo que dos 14 isolados avaliados apenas 7 tiveram resultados positivos, devido ao não crescimento do patógeno sobre toda a superfície da placa de Petri, variando de 29,1% até 6,66% de inibição.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 3, os isolados apresentaram respostas diferentes em relação à inibição do crescimento do patógeno. O isolado de *Trichoderma* que apresentou maior potencial antagônico foi o B201, diferindo-se de todos os outros. Por outro lado, os isolados AB203, AB303, AM204, AB101, S203, COM e PP102 não apresentaram potencial antagônico.

Tabela 3. Crescimento micelial de colônias (cm) de *S. sclerotiorum* submetidas a efeito de metabólitos voláteis produzidos in vitro por isolados de *Trichoderma* nativos de Mato Grosso do Sul.

Isolado	<i>S. sclerotiorum</i>
B 201	6,38 ^a
AB 102	6,96 ^b
PP 203	7,32 ^c
S 404	7,56 ^c
AM 103	7,98 ^d
AB 105	8,00 ^d
S 103	8,40 ^e
AB 203	8,90 ^f
AB 303	8,92 ^f
AM 204	8,96 ^f
AB 101	9,00 ^f
S 203	9,00 ^f
COM	9,00 ^f
PP102	9,00 ^f
CV (%)	3,53

Médias na coluna seguida de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

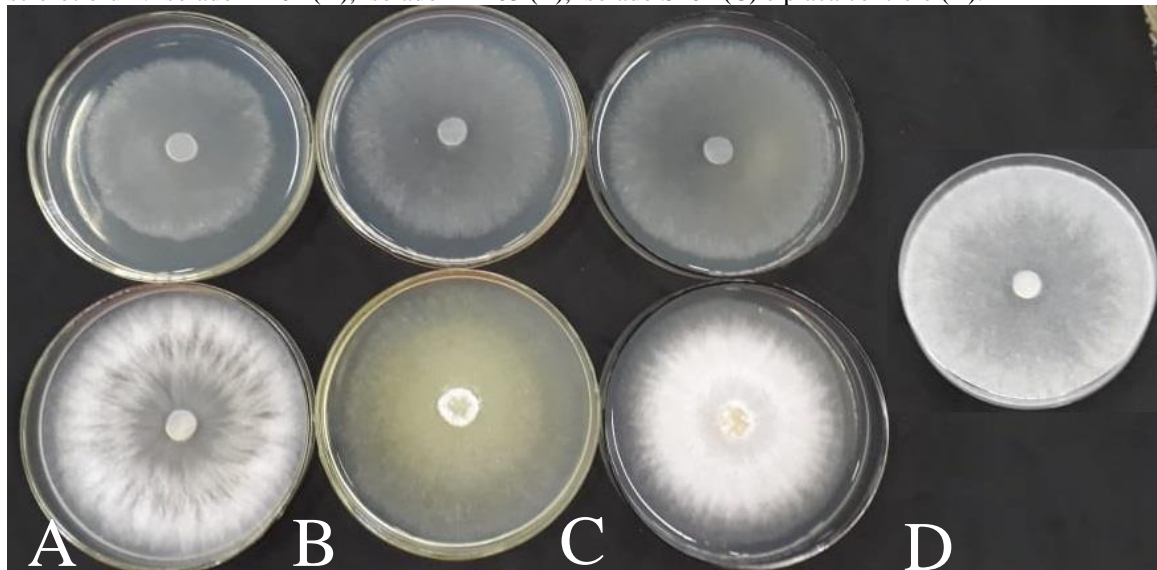
O isolado de *Trichoderma* B201 inibiu aproximadamente 29,1% do crescimento micelial do patógeno (Tabela 3 e Figura 2A). Essa inibição aparentemente é baixa, porém, quando comparado ao *Trichoderma harzianum* contido no produto comercial, observou-se com clareza a sua melhor eficiência, visto que no comercial não apresentou inibição (Tabela 3).

Como mostrado nas tabelas 2 e 3, o isolado B201 foi o que obteve melhor resultado em ambos os testes.

Em trabalhos semelhantes ao desenvolvimento neste estudo, Ethur (2005) testou 73 isolados de *Trichoderma*, sendo que apenas oito (11 %) não apresentaram qualquer inibição no crescimento micelial do fitopatógeno. Os demais isolados (89%) apresentaram variabilidade evidente no controle de inibição micelial de *S. sclerotiorum*. Smith et al. (2013) obteve resultados entre 22 isolados de *Trichoderma* spp. observaram taxa de inibição de escleródios de 75 a 80%.

Uma possível explicação para as diferenças estatísticas encontradas entre os isolados de *Trichoderma* no teste de metabólitos voláteis reside no fato de que os mecanismos de ação, tais como produção de metabólitos voláteis tóxicos, podem variar entre isolados de mesma espécie entre gêneros (Carvalho *et al.*, 2014).

Figura 2. Efeito de metabólitos voláteis de isolados de *Trichoderma* nativos de Mato Grosso do Sul contra *S. sclerotiorum*. Isolado B 201 (A), isolado PP 203 (B), isolado S404 (C) e placa controle (D).



Apesar dos resultados obtidos pelos isolados avaliados não apresentarem valores altos de inibição por metabólitos voláteis, é interessante a realização de estudos envolvendo utilização de diversas temperaturas, pois de acordo com os resultados obtidos por Auler *et al.* (2013) o antagonismo de *Trichoderma* diminui com o aumento da temperatura.

3.3 AVALIAÇÃO DO *TRICHODERMA* COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO NA CULTURA DA SOJA EM CASA DE VEGETAÇÃO

De acordo com a Tabela 4, referentes aos dados obtidos em casa de vegetação com a cultura da soja, altura (cm), massa fresca da parte aérea e raízes (g) e massa seca da parte aérea e raízes (g), não houve resposta em nenhum dos tratamentos.

Os isolados S404 e B201, o isolado comercial COM e a testemunha não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos (Figura 3).

Tabela 4. Efeito de isolados de *Trichoderma* sobre altura (cm), massa fresca da parte aérea (MFPA) e raízes (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA) e raízes (MSR) de plantas de soja em casa de vegetação aos 40 dias de cultivo.

Isolado	Altura (cm)	MFPA (g)	MFR (g)	MSPA (g)	MSR (g)
B201	5,938a	2,251a	1,475a	1,419a	1,111a
Testemunha	6,573a	2,400a	1,598a	1,473a	1,133a
S404	6,646a	2,412a	1,542a	1,499a	1,129a
COM	5,450a	2,106a	1,342a	1,341a	1,073a
C.V. (%)	23,25	23,84	20,5	14,15	5,47

Médias na coluna seguida de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Os dados apresentados neste trabalho se diferem dos obtidos por Resende *et al.* 2004, onde plantas de milho tratadas com *Trichoderma* diferiram-se do tratamento controle com diferença de mais de 50%. Junges et al. 2007, trabalhando com formulado líquido de *Trichoderma* obteve resultado negativo na germinação de sementes de arroz. Chagas *et al.* (2016) obteve efeito positivo na inoculação de *Trichoderma* para o desenvolvimento de feijão caupi, onde avaliou 45 dias após o plantio a altura da planta (cm), matéria seca da parte aérea e raízes (g), tendo como melhor resultado um isolado de *Trichoderma asperelloides*, apresentando 38cm de altura de planta e 4,5g de massa seca da parte aérea.

Figura 3. Efeito de *Trichoderma* como promotor de crescimento em plantas de soja em casa de vegetação aos 40 dias de cultivo. Isolado B201 (A), testemunha (B), isolado S404 (C) e isolado comercial (D).



A combinação de *T. harzianum* e a bactéria *Pseudomonas* aumentou significativamente a germinação de sementes de tomate (Srivastava *et al.*, 2010). Assim, os mecanismos de ação dos diferentes microrganismos antagonistas podem não ser excludentes, mas atuarem sinergicamente no controle de patógenos e na promoção do crescimento.

Segundo Brotman *et al.* (2010), espécies de *Trichoderma* spp. podem promover aumentos de até 300% no crescimento de plantas. Akrami *et al.* (2011) diz que vários

fatores podem interferir na eficiência dos agentes benéficos, entre eles os abióticos, principalmente a temperatura e a umidade, que são consideradas cruciais para garantir o bom desempenho dos isolados de *Trichoderma* spp.

Uma explicação para não haver resposta no teste em casa de vegetação pode ser a forma com que os isolados tiveram contato com as sementes, devido as partículas de arroz serem grandes, podem ter ficado distantes das sementes e assim, dificultaram o contato. Pode-se ter como solução utilizar outra forma de inoculação, como por exemplo o tratamento das sementes com líquido contendo o isolado, ou então, ao invés de inocular o arroz diretamente no solo, antes fazer a trituração do mesmo, deixando-o em partículas menores, o que facilitaria a dispersão no solo e o contato com as sementes.

De acordo com os resultados, o isolado B201 pode conferir probabilidade de sucesso em um programa futuro de controle biológico do *S. sclerotiorum*. Sua porcentagem de crescimento sobre a superfície da placa de Petri no teste de pareamento foi de 77,8%, sendo considerado o melhor potencial antagonico dentre todos os isolados, superando o isolado comercial, que não foi considerado antagonico. No teste de avaliação de metabólitos voláteis novamente o isolado B201 foi considerado o melhor dentre os isolados, com 29,1% de inibição do crescimento do patógeno, superando o isolado comercial, que não apresentou porcentagem alguma de inibição.

Diante do exposto conclui-se que, dos 14 isolados utilizados nos testes, 11 apresentaram potencial antagonico sobre o patógeno no teste de confronto, 7 no teste de metabólitos voláteis, destacando o isolado B201 como o melhor em ambos. No teste em casa de vegetação não houve resposta da inoculação dos isolados de *Trichoderma* nos parâmetros avaliados na fase inicial de crescimento de plantas de soja.

REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, MT; ALI, NY; SULEMAN, P. Controle biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary com *Trichoderma harzianum* e *Bacillus amyloliquefaciens*. Proteção de Culturas, v.27, p.1354-1359, 2008.
- AKLADIOUS A. S, ABBAS S M. Application of *Trichoderma harziunum* T22 as a biofertilizer supporting maize growth. African Journal of Biotechnology, v.11, p. 8672-8683, 2012.
- AKRAMI, M., GOLZARY, H. & AHMADZADEH, M. Evaluation of different combinations of *Trichoderma* species for controlling *Fusarium* rot of lentil. African Journal of Biotechnology, v.10, p.2653-2658, 2011.
- AULER, A. C. V.; CARVALHO, D.D.C.; MELLO, S.C.M. Antagonismo de *Trichoderma harzianum* a *Sclerotium rolfsii* nas culturas do feijoeiro e soja. 2013. Revista Agro@mbiente On-line, v. 7, p. 359-365, 2013.
- AZEVEDO, D.M.Q.; ROCHA, F.S.; FERNANDES. M.F.G.; COSTA, C.A.; MUNIZ, M.F.S.; BARROSO, P.D.; AMARAL, F.L.; BAROSA, D.M.C.R. Antagonistic effect of *Trichoderma* isolates and its metabolites against *Fusarium solani* and *F. oxysporum* in chickpea. Brazilian Journal of Development, v. 6, n. 6, p. 36344-36361, 2020.
- BATISTA FILHO, A. Controle Biológico: Alternativa para uma agricultura sustentável. In: Controle biológicos de insetos e ácaros. Boletim Técnico Instituto Biológico, São Paulo, n. 15, p. 1-3, julho 2006.
- BAUGH, C. L., ESCOBAR, B. The genus *Bacillus* and genus *Trichoderma* for agricultural bio-augmentation. Rice Farm Magazine, 1, 4, p. 1-4, 2007.
- BELL D. K., WELLS H. D., MARKHAM C. R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathology. 72:379-382, 1982.
- BENÍTEZ, T; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M.C. CODÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International microbiology, v. 7, n. 4, p. 249-260, 2004.
- BHARAT, R., SINGH, V.N., SINGH, D.B. *Trichoderma viride* as a mycoparasite of *Aspergillus* spp. Plant and Soil. 57,131-135, 1980.
- BOLTON, M.D., THOMMA, B.P.H.J., NELSON, B.D. *Sclerotinia sclerotiorum*: Biology and Molecular traits of a cosmopolitan pathogen. Molecular Plant Pathology, v.11, p.1-16, 2006.
- BONETT, L.P., HURMANN, E.M.S., POZZA JÚNIOR, M.C., ROSA, T.B.; SOARES, J.L. Biocontrole *in vitro* de *Colletotrichum musae* por isolados de *Trichoderma* spp. Uniciências, 7(1): 5-10, 2013.
- BOMFIM, M.P.; JOSÉ, A.R.S.; REBOUÇAS, T.N.H.; ALMEIDA, S.S.; SOUZA, I.V.B.S.; DIAS, N.O. Avaliação antagônica *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. Summa Phytopathologica, 36, 1, p.61-67, 2010.

- BROTMAN, Y., GUPTA, K.J., VITERBO, A. *Trichoderma*. Current Biology, v.20, p.390-391, 2010.
- CARVALHO, D. D. C. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli by *Trichoderma harzianum* and its use for common bean seed treatment. Tropical Plant Pathology, 39, 384-391, 2014.
- CHAGAS, L.F.B., CHAGAS JUNIOR, A.F., CASTRO, H.G., ARRUDA, E.L., SANTOS, G.R.; MILLER, L. O. *Trichoderma* spp. isolated from soils from the southern state of Tocantins for the control of *Sclerotinia sclerotiorum in vitro*. Global Journal of Science Frontier Research, 13: 20-26, 2013.
- CHAGAS, L. F. B. Bioprospecção de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum cliviae* e *C. truncatum*. Revista Brasileira de Biociências, v. 14, n. 4, p. 238-242, 2016.
- CHAGAS, L. F. B., CASTRO, H. G., COLONIA, B. S. O., CARVALHO FILHO, M. R., MILLER, L. O., CHAGAS JUNIOR, A. F. Efficiency of *Trichoderma* spp. as a growth promoter of cowpea (*Vigna unguiculata*) and analysis of phosphate solubilization and indole acetic acid synthesis. Brazilian Journal of Botany, 38, 4, 1- 11, 2016.
- Companhia Nacional de Abastecimento. Acomp. Safra bras. Grãos, v. 4 Safra 2018/19 - Sétimo levantamento, Brasília, p. 1-160 abril 2019.
- DANIELSON, G.A.; NELSON, B.D.; HELMS, T.C. Effect of *Sclerotinia stemroton* yield of soybean inoculated at different growth stages. Plant Disease, v.88, p.297-300, 2004.
- ETHUR, L. Z., BLUME, E., MUNIZ, M., DA SILVA, A. C. F., STEFANELO, D. R. ; ROCHA, E. K. Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* em pepineiro cultivado em estufa. Fitopatologia Brasileira, 30(2): 127-133, 2005.
- FIPKE, G.M., PAZINI, J. de B.; ETHUR, L.Z. Antagonismo de isolados de *Trichoderma* spp. ao *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes temperaturas. Magistra, v. 27, n.1, p. 23-32, 2015.
- FURLAN, S.H. Mofo-branco. In: LEMES, E.; CASTRO, L.; ASSIS, R. Doenças da Soja: Melhoramento Genético e Técnicas e Manejo. Campinas: Millenium, 2015. 53-72p
- GOMES, D.P.; CAMPOS LEITE, R.M.V.B.; MORAES, M.F.H.; KRONKA, A.Z. Sanidade de sementes de girassol provenientes de três municípios do Estado do Maranhão. Revista Caatinga, 21, p.55-63, 2008.
- GORGEN, A.C., SILVEIRA NETO, A.N., CARNEIRO, L.C., RAGAGNIN, V., LOBO JÚNIOR, M. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 44, A12, p.1583-1590, 2009.
- HADDAD, P. E., LEITE, L. G., LUCON, C. M. M., HARAKAVA, R. Seleção de estirpes de *Trichoderma* spp. para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em soja. Pesquisa agropecuária brasileira. [online]. v.52, n.12, p.1140-1148, 2017.

HARIKRISHNAN, R.; DEL RÍO, L.E. Influence of temperature, relative humidity, ascospore concentration, and length of drying of colonized dry bean flowers on white mold development. *Plant Disease*, v.90, p.946-950, 2006.

HENNENBERG, L., GRABICOSKI, E.M.G., JACCOUD-FILHO, D.S., PANOBIANCO, M. Incidência de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja e sensibilidade dos testes de detecção. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, DF, v.47, n.6, p.763-768, 2012.

HENNING A. A. Manejo de doenças da soja (*Glycinemax* L. Merrill). 2009. Informativo ABRATES. v. 19, n. 3.

HENNING, A.A. Visão histórica, progressos e perspectivas no manejo e controle do mofo-branco. In: ENCONTRO INTERNACIONAL DE MOFO BRANCO, 2012, Ponta Grossa. Anais... Globalizando o problema, fundamentando soluções. Ponta Grossa: UEPG, 2012. p.16-17.

HOFFMANN, C.A., CHAGAS, L.F. B., SILVA, D.P., CHAGAS JUNIOR, A.F. & SCHEIDT, G.N. Potencial de antagonismo de isolados de *Trichoderma* spp. contra o isolado de *Fusarium* sp., *in vitro*. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 10, n. 1, p. 236-242,2015.

ISAIAS, C. O., MARTINS, I., SILVA, J. B. T., SILVA, J. P., MELLO, S. C. M. Ação antagonica e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp.contra os patógenos *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae*. *Summa Phytopathologica*, v. 40, n. 1, p. 34-41, 2014.

JUNGES, E., MILANESI, P. M., DURIGON, M.R., BRAND, S. C., MANZONI, C. G., BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B. Germinação e vigor de sementes de arroz semeadas em substrato tratado com o bioprotetor *Trichoderma* spp. Em formulação líquida ou pó. *Revista Brasileira de Agroecologia*, v. 1, n. 1, 2007.

KUMAR, K., AMARESAN, N., BHAGAT, S.& MADHURI, K. Isolation and characterization of *Trichoderma* spp. for antagonistic activity against root rot and foliar pathogens. *Indian Journal of Microbiology*, India-IN, 52, 2, p. 137- 144, 2012.

LOUZADA, G.A.S., CARVALHO, D.D.C., MELLO, S.C.M., LOBO JÚNIOR, M., MARTINS, I.;BRAÚNA, L.M. Antagonist potential of *Trichoderma* spp. from distinct agricultural ecosystems against *Sclerotinia sclerotiorum* and *Fusarium solani*. *Biota Neotropica*9, 2009.

LUCON, C. M. M. Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma* spp (em linha). Infobibos, Informações Tecnológicas. (Acesso em 2010.05.31). Disponível em: Acesso: 04maio 2019.

MELLO, S. C. M., ÁVILA, Z. R.; BRAÚNA, L. M., PÁDUA, R. R.& GOMES, D. Cepas de *Trichoderma* spp.para el control biológico de *Sclerotium rolfsi* Sacc. 2007. *Fitosanidad*, Havana, v.11, p.1-11.

MELO, S.C.M. Recursos genéticos de microrganismos. In: Albuquerque, A.C.S.; Silva,A.G. *Agricultura Tropical: quatro décadas de inovações tecnológicas, institucional e políticas*. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, v.2, p.679-700, 2009.

OZBAY, N.; NEWMAN, S. E. Biological control with *Trichoderma spp.* with emphasis on *T. harzianum*. Pakistan Journal of Biological Sciences, v. 7, n.4, p. 478- 484, 2004.
PEREIRA, G. V. N. Promoção do crescimento de mudas de maracujazeiro inoculadas com *Trichoderma spp.* Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Vitória da Conquista, Bahia, 2012.

POMELLA, A.W.V.; RIBEIRO, R.T.S. Controle Biológico com *Trichoderma* em Grandes Culturas – Uma visão empresarial. In: Bettioli, W.; Morandi, M.A.B. Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 239-244.

SAHARAN, G. S.; MEHTA, N. *Sclerotinia* diseases of crop plants: biology, ecology and disease management. Springer Science, 2008. 550p.

SAHARAN, G.S.&MEHTA, N. Economic importance. In: SAHARAN, G.S.; MEHTA, N. *Sclerotinia* diseases of crop plants: biology, ecology and disease management. Hisar: Springer, 2007. p.41-45.

SILVA, G. B. P., HECLKER, L. I., SANTOS, R. F., DURIGON, M. R. & BLUME, E. Identificação e utilização de *Trichoderma spp.* Armazenados e nativos no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum*. Revista Caatinga. 28, 4, 33-42, 2014.

SILVA, G.C., GOMES, D.P., KRONKA, A.Z.& MORAES, M.H. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris L.*) provenientes do Estado de Goiás. Semina: Ciências Agrárias, v.29, p.29-34, 2008.

SINDIVEG. Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal. Estatísticas do Setor, 2017.

SRIVASTAVA, R., KHALID, A., SINGH, U.S. & SHARMA, A.K. Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungus, fluorescent *Pseudomonas* and *Trichoderma harzianum* formulation against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* for the management of tomato wilt. v. 53, n.1, p. 24-31. 2010.

VALENCIA, H.J., SÁNCHEZ, D., VERA, N., VALERO, M. & CEPEDA. 2007. Solubilizando microorganismos de fosfatos e bactérias fixadoras de nitrogênio em páramos e região tropical aquecida (Colômbia) pp. 169-183. In: Sánchez, J. (ed.). Potencial biotecnológico de microorganismos em ecossistemas naturais e agroecossistemas. Universidade Nacional da Colômbia, Bogotá.

ZHANG, F., GE, H., ZHANG, F., GUO, N., WANG, Y., CHEN, L., JI, X.& LI, C. Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* isolate T-aloe against *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. Plant Physiology and Biochemistry, v. 100, p. 64-74, 2016.