

**FACULDADE DE ENSINO SUPERIOR DO CENTRO DO PARANÁ  
ENGENHARIA AGRONÔMICA**

**ERICK FERNANDO DE CASTRO**

**EFEITO DE DIFERENTES DOSES DE *TRICHODERMA ASPERELLUM* PARA  
CONTROLE DE *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM***

**PITANGA**

**2021**

**ERICK FERNANDO DE CASTRO**

**EFEITO DE DIFERENTES DOSES DE *TRICHODERMA ASPERELLUM* PARA  
CONTROLE DE *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM***

Trabalho De Curso apresentado ao Curso de Engenharia Agrônômica, Área das Ciências Agrárias da Faculdade UCP Faculdade de Ensino Superior do Centro do Paraná, como requisito à obtenção de grau de Bacharel em Engenharia Agrônômica.

Professora Orientadora: Andrcia Verlindo

**PITANGA-PARANÁ**

**2021**

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	5
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	6
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	8
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	15
5. AGRADECIMENTOS .....	15
6. REFERÊNCIAS .....	16

## EFEITO DE DIFERENTES DOSES DE *TRICHODERMA ASPERELLUM* PARA CONTROLE DE *SCLEROTINIA SCLEROTIURUM*

### EFFECT OF DIFFERENT DOSES OF *TRICHODERMA ASPERELLUM* TO CONTROL *SCLEROTINIA SCLEROTIURUM*

CASTRO, Erick Fernando<sup>1</sup>  
VERLINDO, Andricia<sup>2</sup>

#### RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação de diferentes doses de *Trichoderma asperellum*, como agente de controle biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* (mofo-branco), avaliando sua ação sobre os escleródios (estrutura de resistência do patógeno). Os escleródios foram coletados de áreas com histórico de perdas de produção por mofo-branco e analisadas em laboratório para avaliação de viabilidade, submetidas posteriormente aos tratamentos e análises visuais e estatística dos resultados. Os quais apresentaram diferença estatística apenas em relação a testemunha, não diferindo assim entre as diferentes doses do agente de controle biológico. Por outro lado, as análises visuais demonstraram diferenças entre os tratamentos, sendo elas em relação a formação de apotécios pelo fungo fitopatogênico e pela colonização dos escleródios pelo agente de controle biológico *T. asperellum*, demonstrando a melhor eficácia na redução da fonte de inóculo com aplicação da dose recomendada do produto comercial.

**Palavras-chave:** Manejo. Soja. Feijão. Controle biológico.

#### ABSTRACT

This study aimed to evaluate the action of different doses of *Trichoderma asperellum*, as a biological control agent for *Sclerotinia sclerotiorum* (white mold), evaluating its action on sclerotia (pathogen resistance structure). The sclerotia were collected from areas with a history of loss of production due to white mold and analyzed in the laboratory for viability assessment, later submitted to treatments and visual and statistical analysis of the results. Which showed statistical difference only in relation to the control, thus not differing between the different doses of the biological control agent. On the other hand, visual analyzes showed differences between treatments, namely in relation to the formation of apothecia by the phytopathogenic fungus and by the colonization of sclerotia by the biological control agent *T. asperellum*, demonstrating the best effectiveness in reducing the inoculum source with application of the recommended dose of the commercial product.

---

<sup>1</sup> Engenharia Agrônômica, 10º período, na Faculdade de Ensino Superior do Centro do Paraná- UCP.

<sup>2</sup> Doutora em Produção Vegetal, Professora do curso de Engenharia Agrônômica, na Faculdade de Ensino Superior do Centro do Paraná- UCP.

**Keywords:** Management. Soy. Bean. Biological control.

## 1. INTRODUÇÃO

Atualmente na agricultura brasileira, a soja é uma das culturas que mais se destaca no cenário nacional, sendo na atualidade segundo dados da CONAB (Levantamento de 05/2021) o maior produtor mundial do grão com aproximadamente 135,409 milhões de toneladas. Porém, para que se mantenha nesse cenário muitas dificuldades estão sendo encontradas, sendo uma das principais o aumento da incidência de doenças na cultura, favorecido principalmente pelo aumento da área cultivada e utilização de sistema de monocultura, que favorece a presença do patógeno na área, outro fator importante está relacionado com a má utilização de produtos químicos, que vem gerando resistência dos fungos aos agentes químicos (CRUCIOL; COSTA; 2017).

Entre as doenças que mais tem causado danos se destaca o mofo-branco, causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, o patógeno sobrevive no solo através de estruturas de resistência chamadas de escleródios e também pela infecção em plantas hospedeiras, as quais são registradas mais de 400 espécies, entre elas plantas de importância econômica como feijão, algodão, girassol e soja (GÖRGEN, 2009).

Muito se discute, sobre a dificuldade de tomadas de medidas de controle, visto que a instalação da doença ocorre já nos estádios reprodutivos da cultura, momento em que a estrutura da planta já está desenvolvida e com fechamento de rua superior a 90%, assim mesmo com fungicidas específicos para controle, se torna difícil atingir o alvo. Uma das estratégias que vem sendo utilizadas para redução da fonte de inóculo do mofo-branco, são os agentes de controle biológico, mais especificadamente a base de *Trichoderma* spp. (MEYER et al., 2019).

O gênero *Trichoderma* é um fungo natural de solo, utilizado como agente de biocontrole para controle de *S. sclerotiorum*, além de outros fitopatógenos. Pesquisas comprovam que diferentes espécies de *Trichoderma* spp. atuam como antagonista da *S. sclerotiorum*, promovendo redução da fonte de inóculo por meio do parasitismo dos escleródios, por meio da liberação de enzimas que degradam a parede celular dessa estrutura de resistência do patógeno (SILVA et al., 2015).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a ação de diferentes doses de *Trichoderma asperellum* isolado URM 5911, no controle do mofo-branco, sendo utilizado como parâmetros o crescimento micelial dos escleródios, comparados estatisticamente entre si, e também através de análises visuais

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos no município de Cândido de Abreu (PR) e também na Faculdade de Ensino Superior do Centro do Paraná (UCP), Campus de Pitanga (PR) no período de junho a outubro de 2021.

Foram realizadas coletas de solos em cinco áreas produtoras de soja e feijão no município de Cândido de Abreu/PR, estas apresentando histórico recorrente de perdas de produtividade por ataque de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), estas devidamente referenciadas (Tabela 1). Em cada área foram realizadas sete amostragens de solo, totalizando ao final trinta e cinco amostras, cada uma contendo aproximadamente 5 kg, com área de 0,0625 m<sup>2</sup> (25 cm x 25 cm) x 0,05 m de profundidade, as amostras foram coletadas ao acaso, com auxílio de um gabarito de madeira, lançado sobre a área de estudo.

**Tabela 1** - Pontos de coleta de amostras de solo para análise da presença de mofo branco no município de Candido de Abreu-PR.

Produtor	Coordenadas	Altitude (m)
Área 1	24°41'09"S 51°18'42"O	970
Área 2	24°40'50"S 51°18'42"O	1000
Área 3	24°39'22"S 51°13'24"O	740
Área 4	24°41'06"S 51°16'29"O	970
Área 5	24°40'31"S 51°16'49"O	960

Os materiais coletados foram previamente secos e peneirados por peneira de malha 6 MPL (malha por polegada linear), posteriormente a esse procedimento o material de cada peneira foram dispostos sobre uma bancada bem iluminada para catação manual dos escleródios com auxílio de uma pinça. Posteriormente as análises realizadas sobre a presença da fonte de inóculo de *S. sclerotiorum* nas amostras os

escleródios foram quantificados e separados em relação ao seu tamanho, sendo estes subdivididos em diâmetro maior que a peneira 6 MPL e diâmetro menor que a peneira 6 MPL, além da descrição da média total de escleródios por área (tabela 2).

**Tabela 2** - Quantificação do número de escleródios presentes em cada área de estudo no município de Cândido de Abreu, safra 2021/2022.

Produtor	Peneira 6 MPL	< Peneira 6 MPL	Média
Área 1	5,86	42,57	48,43
Área 2	0,43	4,14	4,57
Área 3	2,00	27,29	29,29
Área 4	26,00	412,86	438,86
Área 5	0,29	8,14	8,43

Após a mensuração essas estruturas foram encaminhadas para o Laboratório de Fitopatologia da Faculdade de Ensino Superior do Centro do Paraná (UCP) em Pitanga (PR), para análise de viabilidade da mesma.

Em laboratório as análises tiveram início no dia 21 de outubro de 2021, no qual foram preparados o meio de cultura o batata-dextrose-ágar (BDA). Para esse procedimento foram utilizados 30g de BDA acrescido de um litro de água destilada previamente aquecida, a solução foi autoclavadas por um período de 20 min e disposta em 20 placas de Petri previamente preparadas.

O delineamento experimental utilizado foi o delineamento inteiramente casualizado (DIC). Para avaliação da viabilidade dos escleródios e também do agente de biocontrole, foram preparados quatro tratamentos, cada um apresentando cinco repetições e quatro escleródios em cada parcela, dispostos a um centímetro da borda da placa e distanciados uniformemente entre si. Os tratamentos utilizados foram o primeiro com a inoculação apenas do escleródio de *S. sclerotiorum* e outros três tratamentos contendo essa estrutura de resistência submetida a inoculação pelo fungo agente de biocontrole *Trichoderma asperellum*, isolado URM 5911, sendo utilizado para avaliação a dose recomendada do produto comercial, uma subdose e uma superdose, respectivamente 100 g ha<sup>-1</sup>, 50 g ha<sup>-1</sup> e 200 g ha<sup>-1</sup>.

Posteriormente no dia 22 de outubro de 2021, foram feitas as inoculações dos materiais, em laboratório os escleródios foram submetidos a assepsia em álcool 70% por um minuto, e também a uma solução água destilada e esterilizada por mais um minuto para hidratação, em seguida os escleródios foram transferidos para placa de

Petri previamente preparada contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) onde receberam a aplicação do *Trichoderma* com auxílio de um borrifador simulando uma aplicação de campo com volume de calda conhecido, posteriormente acondicionados em estufa incubadora, a 25 °C, no escuro por um período de dezesseis dias.

As avaliações dos resultados foram feitas através de análises visuais, constatando a germinação dos escleródios, sendo elas miceliogênica com a formação de hifas (Gráfico 1) ou através da germinação carpogênica (Gráfico 2), dando origem aos apotécios, além disso também foram avaliados o crescimento micelial em horas ( $\text{mm.h}^{-1}$ ), utilizando a fórmula adaptada de Lilly e Barnett (1951), a qual com auxílio de um paquímetro digital foram realizadas medições em dois sentidos sobre o escleródio, levando sempre em consideração o mesmo sentido das medições previamente marcadas no fundo de cada placa. Para identificação de cada escleródio dentro de cada placa as medições foram tomadas sempre da marcação feita na placa, seguindo sempre no sentido horário.

As avaliações foram realizadas em um período de dezesseis dias, totalizando oito coletas de dados.

Aplicadas na fórmula:

$$\text{Taxa de crescimento} = \frac{(C2 - C1)}{(T2 - T1)}$$

Onde: C1 corresponde a penúltima medição e C2 a última medição, sendo assim, a diferença entre cada avaliação. T1 corresponde a penúltima medição e T2 a última medição, sendo assim, a diferença entre cada avaliação. Resultando assim no crescimento micelial em milímetros hora ( $\text{mm.h}^{-1}$ ).

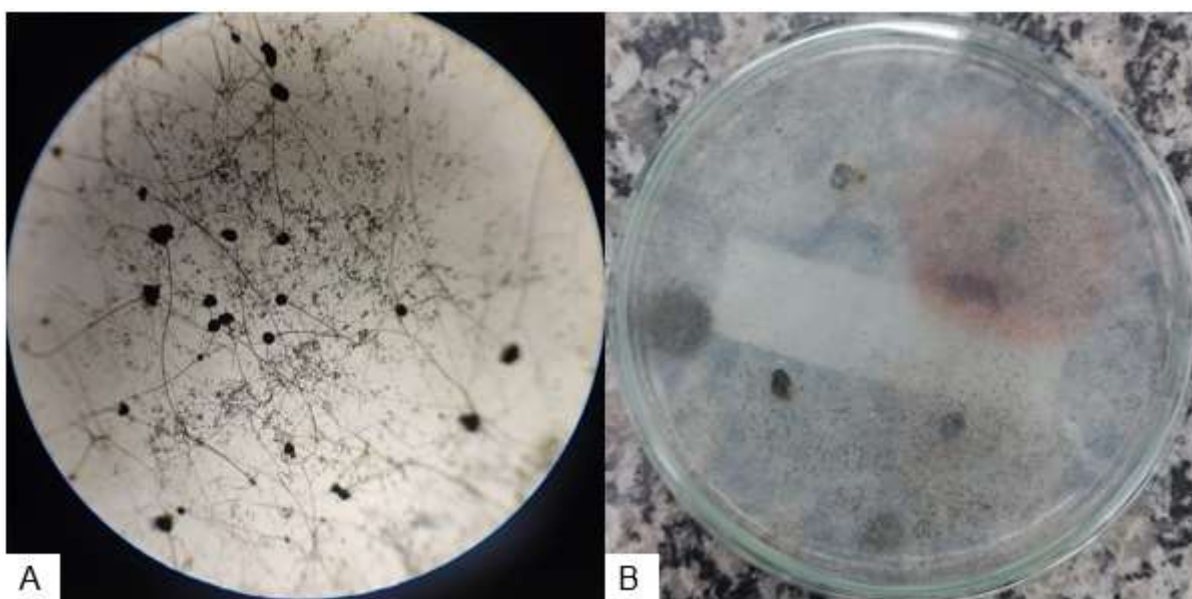
Os resultados foram submetidos à análise de variância e quando significativas as diferenças entre as médias, essas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas com auxílio do software estatístico SISVAR 5.8 (FERREIRA, 2014).

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**



A partir das variáveis analisadas visualmente se destaca a diferença visual entre cada tratamento, sendo constatado no tratamento contendo apenas escleródios de *S. sclerotiorum* um grande desenvolvimento do fungo fitopatogênico tanto da forma carpogênica, quanto miceliogênica, sendo possível visualizar a formação dos micélios, e até mesmo a formação de apotécios e oósporos, estrutura de disseminação dos esporos do fungo (Imagem 1).

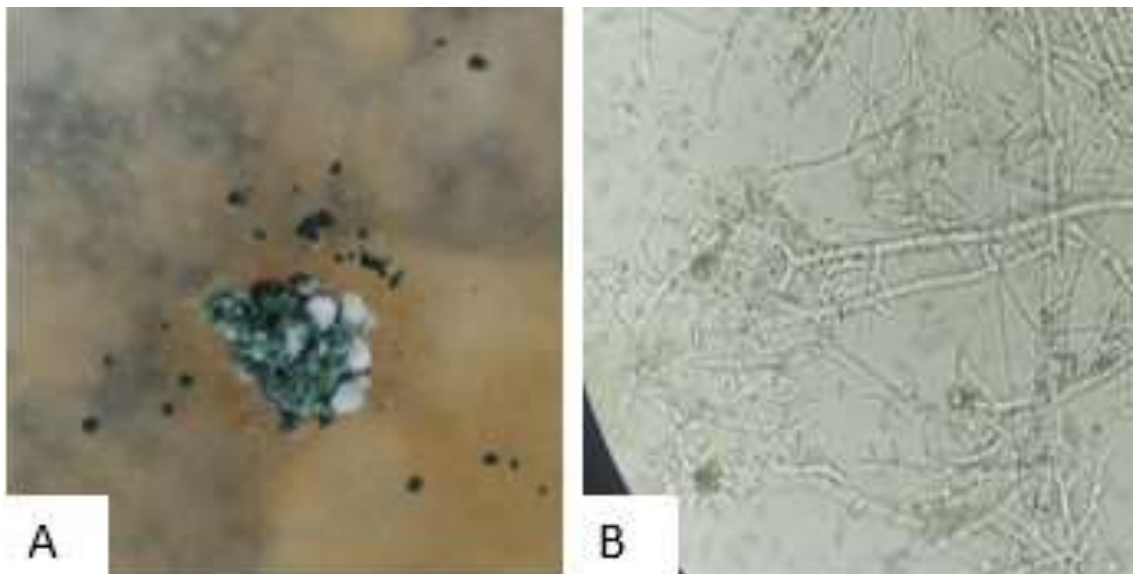
**Imagem 1:** Microscopia da hifas e oósporos de *Sclerotinia sclerotiorum* (A), Placa de Petri contendo escleródios de *S. sclerotiorum* (B).



Fonte: CASTRO,2021

Já nos tratamentos que foram utilizados o agente de biocontrole, as avaliações em relação ao tratamento com dose recomendada do produto comercial apresentaram baixa formação micelial, não sendo constatado formação de apotécios e colonização total por *Trichoderma* em 25% dos escleródios (Imagem 2), colonização parcial em 60% dos escleródios e 15% não apresentando formação do fungo de controle biológico.

**Imagem 2:** Colonização total do escleródio por *T. asperellum* (A) Microscopia das hifas de *T. asperellum* (B).



Fonte: CASTRO,2021

Em relação ao tratamento com metade da dose recomendada do produto comercial, apresentaram baixa formação de micélios, porém alguns apresentando hifas mais desenvolvidas e com formação apotécios e oósporos (imagem 3) em 20% das amostras, quanto a colonização por *Trichoderma*, sua colonização total dos escleródios foi observada em 15% das amostras, colonização parcial em 40% da amostra e o restante 45% não apresentando formação do fungo *T. asperellum*.

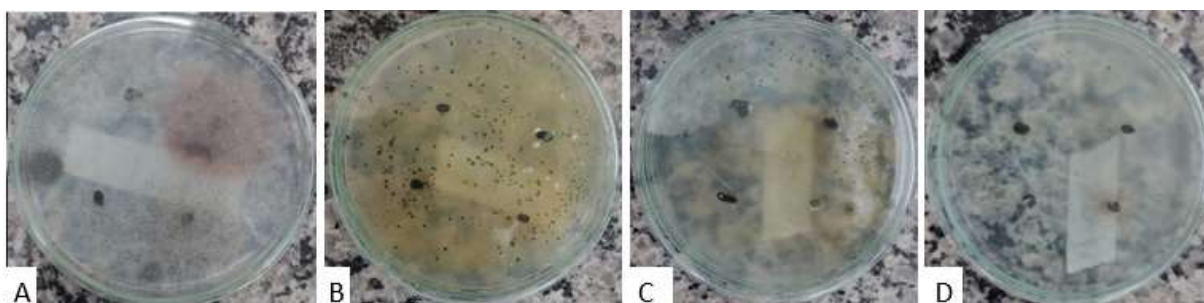
**Imagem 3:** Germinação do escleródio em laboratório (A) Constatação da germinação do escleródio a nível de campo (B).



Fonte: CASTRO,2021

Por fim, os tratamentos que receberam uma superdose de *T. asperellum*, também apresentaram baixa formação micelial, porém apresentando maior taxa de desenvolvimento de apotécios, correspondendo a 40% das amostras quanto ao desenvolvimento do *Trichoderma*, este foi total em 10% das amostras, parcial em 40% das amostras e com 50% das amostras sem a presença do fungo antagonista.

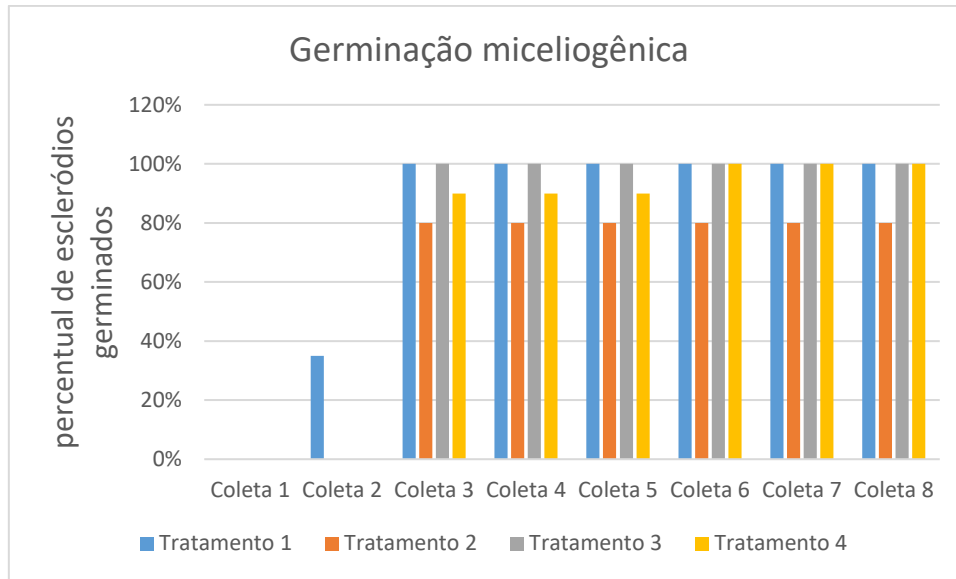
**Imagem 4:** Placa de Petri contendo escleródios de *S. sclerotiorum* (A), Placa de Petri contendo escleródios de *S. sclerotiorum* submetidos ao tratamento com 100g ha<sup>-1</sup> (B), Placa de Petri contendo escleródios de *S. sclerotiorum* submetidos ao tratamento com 50g ha<sup>-1</sup> (C), Placa de Petri contendo escleródios de *S. sclerotiorum* submetidos ao tratamento com 200g ha<sup>-1</sup> (D).



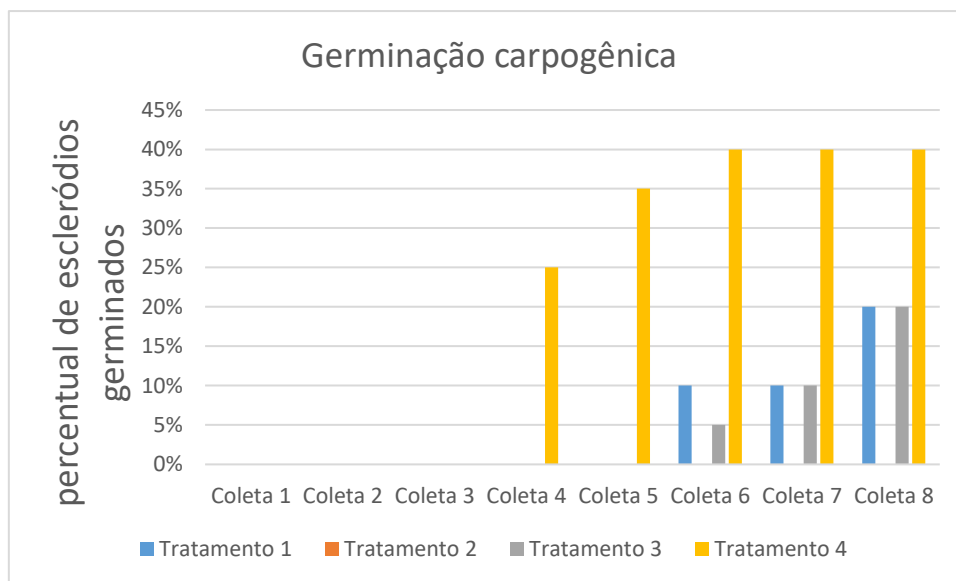
Fonte: CASTRO,2021

Em síntese, as análises visuais apresentaram diferença entre si, representando assim a viabilidade dos escleródios coletados e a ação das diferentes doses do produto aplicado, em tese com a dosagem recomendada proporcionando melhor cobertura em relação a subdose e a ação de uma superpopulação de *Trichoderma* apresentando menos cobertura.

**Gráfico 1.** Percentual de germinação miceliogênica de *S. sclerotiorum* durante cada coleta realizada. Cândido de Abreu - PR, safra 2021/2022.



**Gráfico 2.** Percentual de germinação carpogênica de *S. sclerotiorum* durante cada período de coleta. Cândido de Abreu - PR, safra 2021/2022.

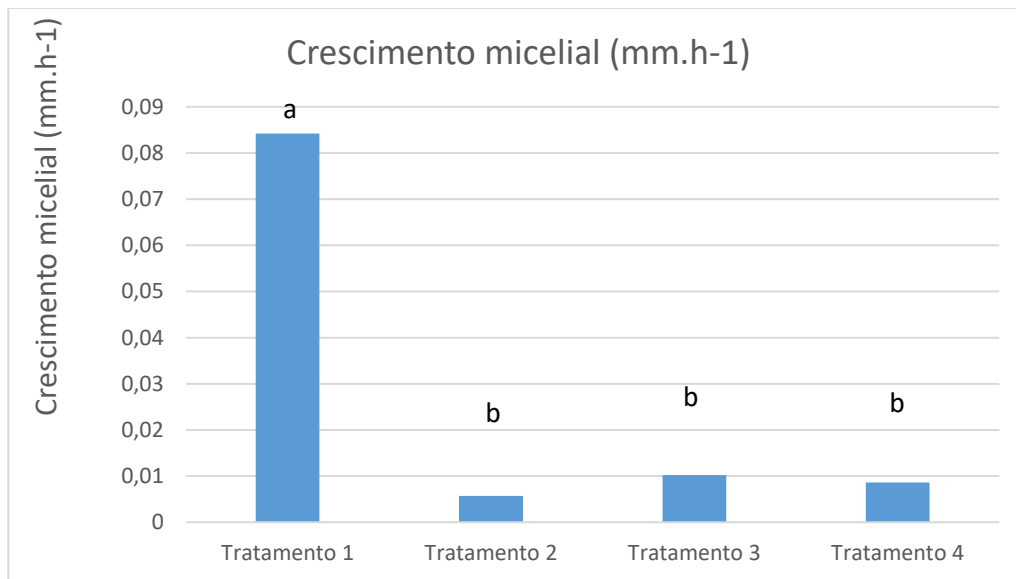


Por outro lado, quanto as medições feitas no decorrer do estudo, levando em consideração a formula adaptada de Lilly e Barnett (1951) que avalia o crescimento micelial, os dados levantados demonstram que não houve diferença estatística entre os tratamentos com a aplicação de *Trichoderma*, apresentando diferença apenas em relação ao tratamento com ausência do fungo antagonista (Gráfico 3).

Neste contexto, pode se constatar que diferentes doses de *T. asperellum* reduzem estatisticamente a germinação do patógeno, promovendo redução da formação de micélios e também a formação de novas fontes de inóculo. O que foi constatado também por SILVA et al. (2015) em um de seus trabalhos, comprovando

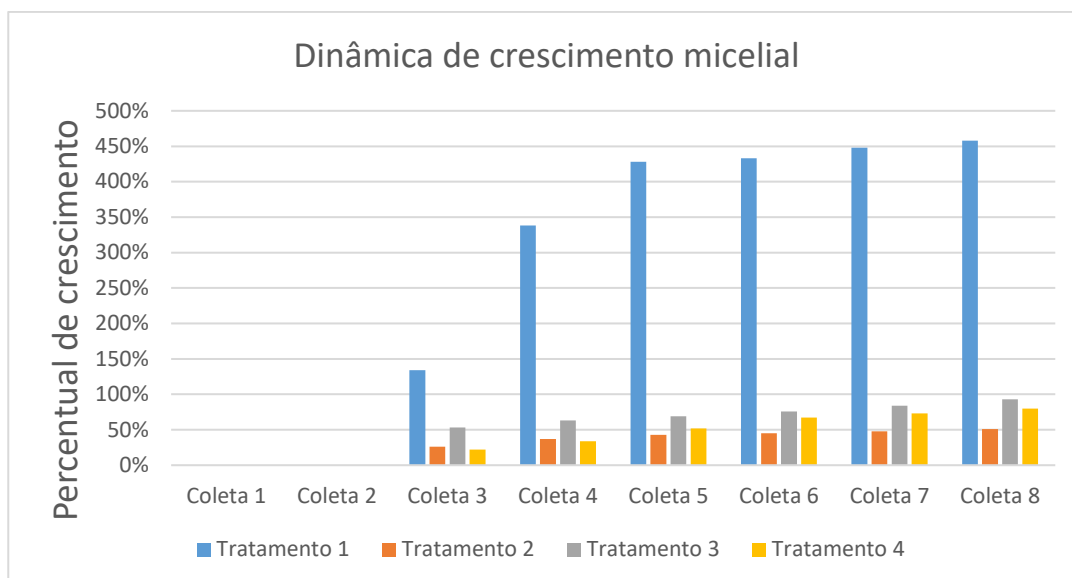
assim a eficiência desse agente de biocontrole e também a confiabilidade dos resultados.

**Gráfico 3.** Análise estatísticas entre as diferentes doses de *T. asperellum* para controle de *S. sclerotiorum*. Cândido de Abreu - PR, safra 2021/2022.



\*Taxa de crescimento micelial (mm.h-1) de *Sclerotinia sclerotiorum*. Barras com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Cândido de Abreu - PR, safra 2021/2022.

**Gráfico 4.** Percentual de crescimento micelial do fungo *S. sclerotiorum* durante o período de estudo. Considerando tratamento 1 apenas os escleródios do fitopatógeno e tratamentos 2,3 e 4 as avaliações contendo o agente de biocontrole, nas doses recomendada, subdose e superdose, respectivamente. Cândido de abreu-PR, Safra 2021/2022.



O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (lib.) Bary é uma doença de importância mundial, afetando diversas culturas de importância comercial, entre elas a soja (*Glycine max*), causando perdas significativas de produtividade. O patógeno é um fungo de solo que sobrevive no solo através da infecção de plantas hospedeiras, e também através de estruturas de resistência denominadas de escleródios os quais podem permanecer viáveis no solo por um período de até 12 anos (MEYER et al., 2019, GABARDO 2020).

A redução dessa fonte de inóculo é atualmente um dos principais fatores a serem avaliados para que se tenha um controle mais efetivo do mofo-branco, buscando nesse sentido diminuir a formação de apotécios e dispersão de ascósporos para formação de novos escleródios (GÖRGEN et al., 2010).

Segundo Silva et.al (2017) os fungos do gênero *Trichoderma*, são eficientes agentes de controle biológico, tendo ação antagonista a fitopatógenos, entre eles o mofo-branco, atuando por meio do parasitismo dos escleródios e também por sua ação de antibiose e/ou competição. O parasitismo é uma relação de antagonismo entre dois organismos, em que ocorre a degradação das estruturas de um organismo para nutrição de outro, neste caso os escleródios de *S. sclerotiorum* são reduzidos pela liberação de enzimas líticas por *T. asperellum*.

O gênero *Trichoderma* spp. além de promover o parasitismo das estruturas de resistência do mofo-branco, também atua na produção de metabolitos tóxicos voláteis, que atuam em condições de laboratório na inibição da germinação dos fitopatógenos (GABARDO, 2020).

Segundo Silva et.al (2015) diferentes espécies de *Trichoderma* são eficientes na colonização e redução do crescimento micelial de *S. sclerotiorum*. Confirmando os resultados obtidos nesse experimento.

#### **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Em relação as áreas de estudo foram observadas altas densidades de escleródios de *S. sclerotiorum*, visto que a presença de apenas um escleródio viável a cada cinco metros quadrado já é o suficiente para causar uma epidemia severa da doença.

Por outro enfoque, quanto aos tratamentos com *Trichoderma asperellum* se pode constatar que todos os três tratamentos não diferiram estatisticamente entre si, apresentando comprovação da eficiência do agente de biocontrole mesmo em baixas dosagens e até mesmo em doses mais elevadas.

Por fim, em relação as análises visuais, os tratamentos contendo o agente de biocontrole, em todas as observações apresentaram redução do desenvolvimento do fungo, quando comparados ao tratamento apenas com o fungo fitopatógeno, porém apresentando melhor colonização por *Trichoderma* o tratamento contendo a dose recomendada, seguido pela subdose e com menor desenvolvimento no tratamento contendo uma superdose do agente de controle biológico.

#### **5. AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, pela vida, pela fé e por guiar meus caminhos a todo momento;

A minha família, que sempre me apoiou em minhas decisões, e transformaram meu sonho no sonho deles;

A todos os familiares e amigos que sempre estiveram comigo e acreditaram no meu potencial;

A todos os professores que compartilharam seu conhecimento, sempre nos demonstrando o sentido certo para seguir;

A coordenação do curso, pela competência e eficácia nos serviços prestados quanto foram solicitados.

## 6. REFERÊNCIAS

CRUCIOL, G. C. D; COSTA, M. L. N. Influência de metodologias de inoculação de *Macrophomina phaseolina* no desempenho de cultivares de soja. **Summa Phytopathol**, Botucatu, v. 44, n. 1, p. 32-37, 2017.

DANIELSON, G. A.; NELSON, B. D. Effect of Sclerotinia Stem Rot on Yield of Soybean Inoculated at Different Growth Stages. **Plant Disease**, North Dakota State University, Fargo 58105, v. 88, n. 3, p. 1, mar. /2004.

EMBRAPA. **Soja em números (safra 2020/21)**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>. Acesso em: 2 set. 2021.

EMBRAPA.BR. **METODOLOGIA DE AMOSTRAGEM, SEPARAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ESCLERÓDIOS DE *Sclerotinia sclerotiorum* A PARTIR DE SOLO NATURALMENTE INFESTADO**. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/660533/1/pl2009.219.pdf>. Acesso em: 5 ago. 2021.

ETHUR, L. Z; CEMBRANEL, C. Z; SILVA, A. C. F. D. SELEÇÃO DE *Trichoderma* spp. VISANDO AO CONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum*, in vitro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 5, p. 885-887, /2001.

GABARDO, G. et al. *Trichoderma asperellum* *Bacillus subtilis* como antagonistas no crescimento de fungos fitopatogênicos in vitro. **Braz. J. of Develop.**, Curitiba, v. 6, n. 8, p. 55870-55885, ago./2020.

GÖRGEN, C. A. et al. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesq. agropec. bras...**, Brasília, v. 44, n. 12, p. 1583-1590, nov./2009.

GÖRGEN, C. A. et al. Redução do inóculo inicial de *Sclerotinia sclerotiorum* em soja cultivada após uso do sistema Santa Fé. **Pesq. agropec. bras...**, Brasília, v. 45, n. 10, p. 1102-1108, out./2010

LOUZADA, G. A. D. S. et al. Potencial antagônico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes agroecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biota Neotrop**, Santo Antônio de Goiás, v. 9, n. 3, p. 1, jul./2009.

MEYER, M. C; CAMPOS, H. D; JUNIOR, M. L. **Trichoderma USO NA AGRICULTURA**: Avaliação à campo de *Trichoderma* em mofo-branco. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2019. p. 339-346.

RIBAS, Priscila Pauly; MATSUMURA<sup>3</sup>, A. T. D. S; SAND, S. T. V. D. Caracterização de isolados de *Trichoderma* e seu potencial para o controle biológico de patógenos do feijoeiro in vitro. **Pesq. Agrop.**, Gaúcha, v. 20, n. 1, p. 94-103, /2014.



SILVA, F. F. D. et al. Emergência e análise ultraestrutural de plântulas de soja inoculadas com *Sclerotinia sclerotiorum* sob efeito da aplicação de *Trichoderma harzianum*. **Summa Phytopathol**, Botucatu, v. 43, n. 1, p. 41-45, /2017.

SILVA, G. B. P. D. et al. IDENTIFICAÇÃO E UTILIZAÇÃO DE *Trichoderma* spp.: ARMAZENADOS E NATIVOS NO BIOCONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum*1. **caatinga**, Mossoró, v. 28, n. 4, p. 33-42, dez./2015