

Controle biológico de *Sclerotium rolfsii* com isolados de *Trichoderma* spp. nativos de Aquidauana-MS

Brenda Fernandes da Costa¹
Neder Henrique Martinez Blanco
Felipe André Sganzerla Graichen

RESUMO

O fungo *Sclerotium rolfsii*, como os demais patógenos radiculares, tem opções limitadas para um manejo eficaz. A utilização de fungos antagonistas pode ser uma alternativa viável de controle biológico e o uso de espécies nativas pode auxiliar na colonização dos antagonistas. Assim, o objetivo desse trabalho foi obter isolados nativos de *Trichoderma* spp. com ação antagonística ao fungo *Sclerotium rolfsii*. Utilizou-se o método de isca adaptado, para obtenção de *Trichoderma*. Os isolados foram caracterizados quanto ao crescimento em diferentes temperaturas e avaliou-se o antagonismo ao fitopatógeno através do confronto direto, presença de metabólitos voláteis e não voláteis. Obtiveram-se isolados nativos pelo método aplicado, esses apresentam crescimento iguais e superiores ao patógeno nas diferentes temperaturas. Houve inibição de 70% do crescimento do fungo *Sclerotium rolfsii* pelo isolado T214.2, já o *Trichodermil* e os isolados T215.2 e T217.5 inibiram aproximadamente 50% no confronto direto *in vitro*. Na produção de metabólitos tóxicos ao patógeno, os isolados de *Trichoderma* inibiram em porcentagem menores o crescimento. Os resultados demonstram que é possível obter isolados nativos de *Trichoderma* no município de Aquidauana-MS com potencial de biocontrole ao fungo *Sclerotium rolfsii*.

Palavras-chave: Antagonismo, Metabólitos voláteis, Podridão de escleródio.

BIOLOGICAL CONTROL OF *sclerotium rolfsii* WITH ISOLATES OF *trichoderma* spp. NATIVE OF AQUIDAUANA-MS

ABSTRACT

The fungus *Sclerotium rolfsii*, similarly to other soilborne pathogens, has limited options for an effective management. The use of antagonistic fungi can be a viable alternative for biological control and the use of native species of those fungi can help in the colonization of antagonists. Thus, the objective of this work was to obtain native isolates of *Trichoderma* spp. with antagonistic action against *Sclerotium rolfsii*. The adapted bait method was used to obtain *Trichoderma*. The isolates were characterized for growth at different temperatures and the antagonism to the pathogen was evaluated through direct confrontation, presence of volatile and non-volatile metabolites. Native isolates were obtained by the method applied, showing growth equal to and superior to the pathogen at different temperatures. We observed a reduction of 70% on the growth of *Sclerotium rolfsii* caused by isolate T214.2, whereas *Trichodermil* and isolates T215.2 and T217.5 inhibited approximately 50% in dual culture. Regarding the production of metabolites toxic to the pathogen, isolates of *Trichoderma* inhibited growth to a lesser extent. The results demonstrate that it is possible to obtain native isolates of *Trichoderma* in the municipality of Aquidauana-MS with potential for biocontrol against the fungus *Sclerotium rolfsii*.

Keywords: Antagonism, Volatile metabolites, Southern blight.

¹ Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, brendafer842@gmail.com

Introdução

O fungo *Sclerotium rolfii* Sacc é o agente etiológico da podridão do esclerócio. Por ser habitante do solo, produzir escleródios e infecta mais de 500 espécies vegetais, é considerado de difícil controle (PUNJA, 1985). No estado do Mato Grosso do Sul há relatos desse patógeno em áreas com atividades agrícolas infectando culturas como feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) (BLANCO; BARBOSA; GRAICHEN, 2021; ROESE; LAMAS, 2022).

O processo infeccioso deste patógeno inicia com liberação de ácido oxálico pelas hifas do fungo que, em contato com as raízes, reage com o cálcio da parede celular da planta, reduzindo o pH e facilitando a penetração das hifas (PUNJA, 1985). Os principais sintomas relatados são podridão radicular, necrose do colo, murcha e tombamento de plantas (MARCUIZZO; SCHMOELLER, 2014), sendo comum no sítio de infecção a presença de escleródios globulares, com dimensões variando de 0,5 a 3 mm de diâmetro, de coloração branca ao castanha (PUNJA, 1985). Os escleródios podem permanecer inativos no solo por longos períodos, garantindo a sobrevivência do patógeno a condições adversas (MACHADO; BRITO; MELO, 2018; PUNJA, 1985). Identificar precocemente essa doença torna-se desafiador, uma vez que os sintomas reflexos podem ser confundidos com déficit hídrico ou deficiência nutricional (SILVA *et al.*, 2014).

Devido a ampla diversidade de hospedeiros do fungo *Sclerotium rolfii*, práticas como rotação de cultura torna-se inviável. Poucas as espécies demonstram resistência a esse patógeno, e aquelas que a possuem podem se tornar suscetíveis em função da variabilidade genética presente nos isolados de *S. rolfii* (FARIA; BUENO; PAPA, 2009; SILVA *et al.*, 2014). Embora haja sensibilidade desse patógeno a alguns princípios ativos de fungicida, para alcançá-lo eficazmente no solo seria necessário aumentar a quantidade dos produtos aplicados (MOREIRA; CÔELHO; GRAICHEN, 2022). Porém, o aumento do uso de fungicida pode prejudicar a qualidade dos alimentos e contaminar a flora do solo (AMERIO *et al.*, 2020). Neste contexto, uma abordagem promissora para controlar fitopatógenos radiculares é o uso de inimigos naturais ou antagonistas, o que tem impulsionado o aumento das pesquisas com agentes de controle biológico (AMERIO *et al.*, 2020; MEDEIROS; SILVA; PASCHOLATI, 2018).

Entre os agentes de biocontrole, destacam-se alguns fungos do gênero *Trichoderma*, que têm demonstrado sua eficiência como antagonista principalmente de patógenos radiculares, como *Sclerotium rolfii* (BLANCO; BARBOSA; GRAICHEN, 2021; MONTALVÃO *et al.*, 2023) e *Macrophomina phaseolina* (OLIVEIRA *et al.*, 2021). Os principais mecanismos utilizados por esses agentes de biocontrole são: competição por nutrientes e espaço, parasitismo, hiperparasitismo, antibiose e indução de resistência. Além disso, também atuam como promotores de crescimento nas plantas (MONTE; BETTIOL; HERMOSA, 2019; SILVA *et al.*, 2015).

Atualmente são registradas 68 marcas comerciais de fungicida microbiológico com cepas do gênero *Trichoderma* spp. (AGROFIT, 2024). Porém, esses isolados têm origem em ambientes diferentes dos locais de aplicação. Obter isolados nativos, adaptados às condições edafoclimáticas locais, pode potencializar a eficiência desses antagonistas. A ampla distribuição do fungo *Trichoderma* em diferentes tipos de solo torna possível a obtenção de isolados nativos (BARBOSA *et al.*, 2021). Algumas pesquisas têm demonstrado êxito em obter isolados a partir de amostras de solo locais, com eficácia no controle de fitopatógenos como *Sclerotium rolfii* (ADHIKARI *et al.*, 2022) *Colletotrichum musae* (BARBOSA *et al.*, 2021), e *Sclerotinia sclerotiorum* (SILVA *et al.*, 2015). Dessa forma, objetiva-se obter isolados nativos de *Trichoderma* no município de Aquidauana-MS, caracterizá-lo quanto a velocidade de

crescimento e avaliar o seu potencial como agente de biocontrole através da ação antagônica contra o fungo *Sclerotium rolfsii*.

Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Fitossanidade da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Aquidauana - UEMS/UUA (20°27'19"S, 55°40'20"W, 176 m de altitude). A condução foi *in vitro*, separada em três etapas, sendo essas a obtenção dos isolados, avaliação do crescimento em diferentes temperaturas e o comportamento antagônico entre os fungos *Trichoderma* e *Sclerotium rolfsii*.

Obtenção de isolado do fungo *Sclerotium rolfsii*

O isolado do fungo *Sclerotium rolfsii* utilizado faz parte da coleção de patógenos do laboratório de Fitossanidade da UEMS-UUA. Isolados a partir das raízes de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), seus escleródios estão armazenados em microtubos à temperatura de 4°C.

Obtenção dos isolados nativos de *Trichoderma* spp.

Os isolados de *Trichoderma* spp. foram obtidos a partir de 12 amostras de solo coletadas nos municípios de Bela Vista-MS e Aquidauana-MS. Retiraram-se amostras na camada de 10 cm e armazenou-se em sacos plásticos identificados, após coleta foram levadas ao laboratório para serem usadas nos dias subsequentes. Foi utilizado método de iscas com escleródios do fungo *Sclerotium rolfsii* (adaptado de ETHUR *et al.*, 2014), que consistia em inserir iscas do patógeno em vasos de plásticos com capacidade de 2L, preenchidos com solo amostrados. Em cada vaso, foram colocadas duas bolsas de voal contendo 25 escleródios, em seguida, os vasos foram envolvidos com papel pardo, permanecendo sem incidência de luz em temperatura ambiente, sempre umedecendo o solo com água destilada estéril.

No décimo quinto e no trigésimo dias, as iscas foram retiradas do solo e levadas para câmara de fluxo laminar, onde os escleródios foram imersos durante 30 segundos em álcool 70%, e 30 segundos em hipoclorito de sódio 0,5%, em seguida foram lavados três vezes em água destilada esterilizada, e secos sobre papel toalha esterilizado. Após esse processo foram transferidos cinco escleródios por placa de Petri contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar + sulfato de estreptomicina 300 µg/ml), e incubados em BOD a temperatura de 25±2°C com fotoperíodo de 12 horas.

Os isolados que parasitaram os escleródios foram selecionados morfológicamente e mantidos em cultivo monospórico, que foi obtido adicionando-se 5 ml de água destilada autoclavada sobre placas contendo isolados de *Trichoderma* incubadas durante 10 dias, dos quais foi retirada uma alíquota de 0,1 mL, que foram diluídos em série até obtenção da concentração 10⁻⁴ esporos. mL⁻¹. Dessa solução, 200 µL foram inoculadas em cada placa contendo meio ágar-água (3%) e em seguida incubadas em BOD a 25±2°C com fotoperíodo de 12 horas. Após a germinação, as hifas foram observadas ao microscópio para retirada de suas pontas e transferidas para placas contendo meio BDA (batata-dextrose-ágar + sulfato de estreptomicina 300 µg/ml), em seguida incubadas na BOD a 25±2°C com fotoperíodo de 12 horas (HILJE-RODRÍGUEZ; MOLINA-BRAVO, 2020).

Os isolados monospóricos obtidos receberam códigos seguindo o seguinte critério: primeira letra do Gênero + dois últimos número ano de obtenção + número do isolado + ponto+ número do monósporo, ficando com o seguinte código: T211.1. Os isolados foram armazenados utilizando método Castellani (GONÇALVES; ALFENAS; MAFIA, 2016). Além dos isolados nativos de *Trichoderma*, foi usado o produto comercial Trichodermil®, que possui o fungo *Trichoderma harzianum* (cepa ESALQ-1306) na suspensão de 2,0 x 10⁹ conídios viáveis.mL⁻¹.

Influência da temperatura no crescimento micelial

Para avaliar o efeito de diferentes temperaturas sobre o crescimento micelial dos isolados utilizados no trabalho, foram retirados discos de 5 mm de diâmetro do meio BDA (batata-dextrose-ágar + sulfato de estreptomicina 300 µg/ml), contendo micélio dos agentes de biocontrole e do patógeno, colocando-os individualmente a 10 mm da borda da placa contendo meio BDA. As placas foram incubadas em BODs as temperaturas de 25°C, 28°C e 30°C com fotoperíodo de 12 horas. Para mensurar a velocidade de crescimento (equação 1), foram medidas diariamente o raio das hifas com auxílio de um paquímetro até atingirem a borda da placa (SILVA *et al.*, 2015).

$$Vm(\text{mm. h}^{-1}) = \frac{(Rf - Ri)}{(Tf)} \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde Vm: velocidade crescimento micelial; R_f: raio micelial final; T_f: tempo final; T_i: tempo inicial.

O delineamento experimental foi o Inteiramente Casualizado (DIC) em esquema fatorial 3 x 6, com 5 repetições. Os tratamentos foram compostos pela combinação de três temperaturas (25°, 28° e 30°C) e seis isolados fúngicos (*Sclerotium rolfsii*, Trichodermil® e isolados T212.1, T214.2, T215.2, T217.5). Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade utilizando o software RStudio.

Ação antagonica *in vitro* dos isolados de *Trichoderma* spp. sobre o fungo *Sclerotium rolfsii*

Para avaliar a ação antagonica dos isolados de *Trichoderma* spp. ao fungo *Sclerotium rolfsii* foram utilizados os métodos do confronto direto, conforme descrito por Mello *et al.*, (2007), ações dos metabólitos voláteis e metabólitos não voláteis.

Para realização do confronto direto, foram depositados discos de micélio (5 mm de diâmetro) do patógeno e do antagonista em lados opostos de uma mesma placa de Petri contendo BDA, posicionando-os a 1 cm da borda da placa. Em seguida, as colônias foram incubadas à temperatura de 25±2°C e fotoperíodo de 12 horas de luz. Placas contendo *S. rolfsii* sem antibiose foram incubadas nas mesmas condições. As colônias foram incubadas até que as placas sem antibiose tivessem ocupado toda a superfície do meio de cultura.

A ação de metabólitos não-voláteis foi verificada com o método do celofane, depositando-se um disco de 10 cm de diâmetro de celofane esterilizado, sobre a superfície da placa com meio de cultura BDA. No centro do celofane foi colocado um disco de micélio de um dos isolados de *Trichoderma* para crescimento e produção de metabólitos, sendo incubados por três dias a 25°C±2 e fotoperíodo de 12 horas. O processo foi feito para todos os isolados testados. Posteriormente, o papel celofane com a colônia de *Trichoderma* foi removido e descartado, sendo realizada a assepsia da tampa da placa de Petri com papel autoclavado. Em seguida, um disco de micélio do fungo *Sclerotium rolfsii* foi colocado no centro de cada placa para incubação a 25°C±2 e fotoperíodo de 12 horas. Placas contendo *S. rolfsii* sem antibiose foram incubadas nas mesmas condições. A incubação ocorreu até que as colônias sem biocontrole ocupassem toda a superfície do meio de cultura, conforme descrito na metodologia de Blanco *et al.* (2021).

Para verificar a ação de metabólitos voláteis, foram dispostos individualmente no centro de placas de Petri com BDA fragmentos de micélio do patógeno e antagonista, em seguida foram incubados durante 24 horas à 25°C±2 e fotoperíodo de 12 horas. Após período de incubação, as bases das placas contendo o fungo *Trichoderma* e *Sclerotium rolfsii* foram unidas utilizando-se filme de PVC, deixando o patógeno na placa superior. A incubação seguiu

até que às colônias do patógeno sem o antagonista ocupasse 100% da área do meio de cultura (Eq. 2) (BLANCO; BARBOSA; GRAICHEN, 2021).

As avaliações do confronto direto foram realizadas no quinto dia, mensurando o raio das colônias, já as avaliações dos metabólitos voláteis e não voláteis foram no terceiro dia, mensurado o diâmetro das colônias, para ambas foi calculada a porcentagem de inibição causada pelo antagonista através da equação 2.

$$\text{Inibição (\%)} = \left(\frac{DM_{SB} - DM_{CB}}{DM_{SB}} \right) * 100$$

onde DM_{CB} : Diâmetro do patógeno com biocontrole e DM_{SB} = Diâmetro patógeno incubado sem o biocontrole, conforme descrito na metodologia Blanco *et al.* (2021).

Nas avaliações da ação antagonônica do patógeno foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos, sendo composto por 4 isolados nativos de *Trichoderma* + Trichodermil® + controle (sem biocontrole), cada tratamento com cinco repetições. As avaliações da ação antagonônica foram conduzidas duas vezes em épocas distintas. Os dados de cada experimento foram submetidos separadamente a análise de variância, em seguida realizou-se a análise conjunta para generalização dos resultados dos experimentos, as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Todas as análises foram executadas com auxílio do software RStudio.

Resultados e discussão

Foram obtidos quatro isolados provenientes dos solos amostrados. O isolado T217 foi obtido no município de Bela Vista – MS em áreas com a cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill], os isolados T212 e T214 nas margens do Rio Aquidauana e o isolado T215 no morro do Paxixi, ambos localizados no município de Aquidauana–MS. Os escleródios parasitados no método de isca foram aqueles retirados aos 30 dias após deposição no solo. Diferente dos métodos que obtêm isolados de possíveis microrganismos antagonônicos a fitopatógenos através da suspensão do solo, o método de isca permite selecionar os isolados com maior capacidade de micoparasitismo, devido sua capacidade de parasitar os escleródios.

Houve efeito significativo ($Pr < 0,05$) da temperatura sobre a velocidade de crescimento micelial (mm.h^{-1}), tanto entre isolados na mesma temperatura quanto de um mesmo isolado sob diferentes temperaturas (Figura 1). Com o aumento da temperatura, o fungo *Sclerotium rolfsii* tem sua velocidade de crescimento aumentada de 0,70 para 0,88 mm.h^{-1} . Nas temperaturas de 25 e 28 °C, todos os isolados nativos apresentaram crescimento igual ou superior ao do patógeno. O isolado T215.2 foi o único com crescimento igual ou superior à fungo *Sclerotium rolfsii* em todas as temperaturas testadas, os demais isolados tiveram crescimento menor do que o patógeno aos 30 °C. Observou-se que as diferentes temperaturas têm efeito sobre o crescimento dos isolados testados. É comum que *Trichoderma* responda às variações de temperatura, tendo diferentes taxas de crescimento e de antagonismo sob diferentes condições (ANDRÉS *et al.*, 2022). No entanto, ainda que haja respostas diferentes dos isolados a uma mesma temperatura, não há evidências o suficiente para determinar que sejam diferentes espécies, uma vez que no gênero *Trichoderma* é possível observar variações de comportamento entre espécies e até mesmo entre isolados de uma mesma espécie (CARRO-HUERGA *et al.*, 2021). É importante ressaltar que a adaptação às condições climáticas do local de cultivo se mostra como um fator determinante na expressão do biocontrole.

Silva *et al.* (2015) avaliando o crescimento micelial do *Trichoderma* relatam variação de 0,48 a 1,05 mm.h^{-1} , resultado semelhante aos apresentados nesse estudo. A avaliação da

velocidade de crescimento dos isolados é essencial para garantir seu potencial como agente de biocontrole, visto que o rápido crescimento micelial garante a colonização do solo deixando o patógeno sem espaço e sem nutriente.

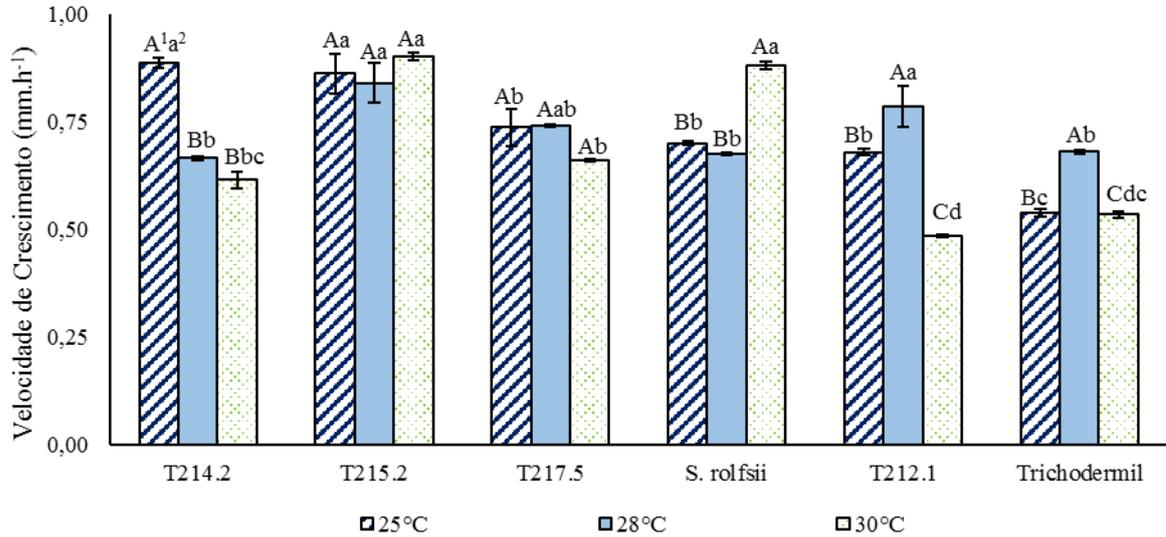


Figura 1. Velocidade de crescimento micelial dos agentes de biocontrole e do fungo *Sclerotium rolfii* em diferentes temperaturas. ¹Letras maiúsculas indicam diferenças entre um mesmo isolado sob diferentes temperaturas. ²Letras minúsculas indicam diferenças entre os isolados sob mesma temperatura. As médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Todos os isolados inibiram o crescimento do fungo *Sclerotium rolfii*, quando analisado o confronto direto. O isolado nativo T214.2 destaca-se pela maior porcentagem de inibição, os demais isolados apresentam comportamentos similares no experimento 1 e 2 com algumas variações na porcentagem de inibição (Figura 2).

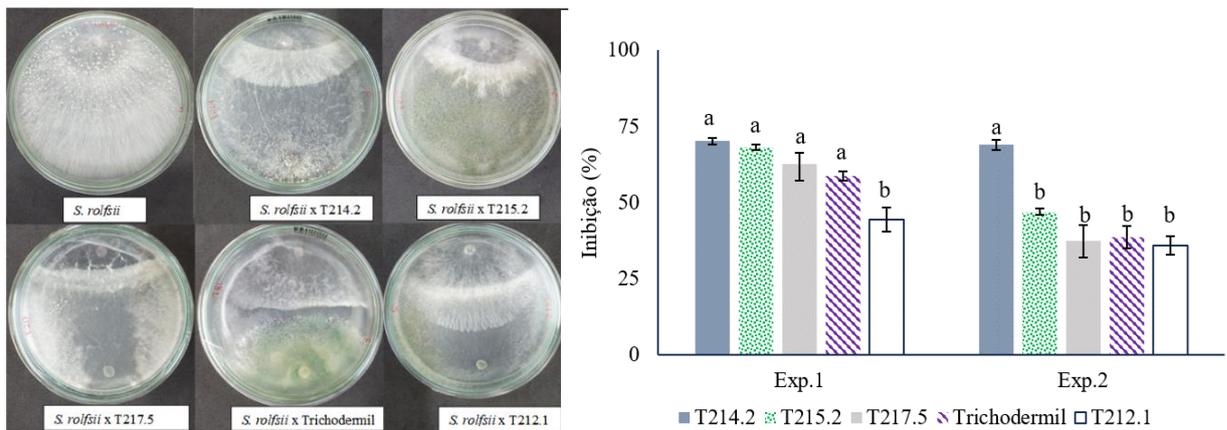


Figura 2. Porcentagem de inibição do fungo *Sclerotium rolfii* obtida no confronto direto com isolados nativos de *Trichoderma* e Trichodermil. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

No teste de metabólitos voláteis, observou-se que os isolados de *Trichoderma* spp. tiveram pouco efeito inibitório sobre o patógeno. O mesmo efeito foi observado para o produto comercial (Figura 3). Os resultados foram consistentes entre os dois ensaios conduzidos, mas indicam que os metabólitos produzidos por estes fungos têm pouco efeito sobre o crescimento do patógeno. Não é possível determinar se o efeito observado está relacionado à concentração ou à composição dos metabólitos, mas os resultados são coerentes com a forma de coleta dos isolados, que possivelmente selecionou indivíduos com mecanismos antagônicos associados ao parasitismo das hifas do patógeno e não pela antibiose direta.

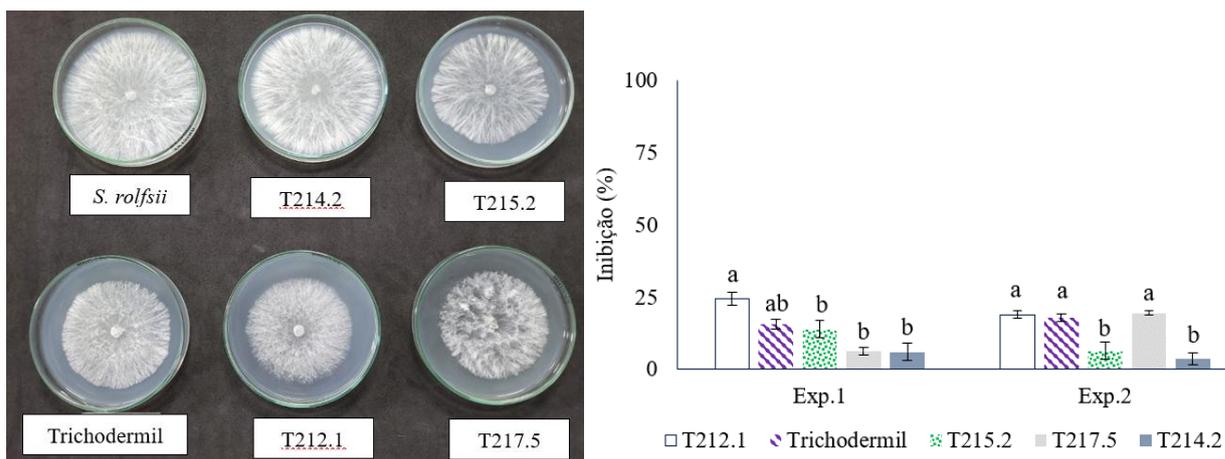


Figura 3. Porcentagem de inibição do fungo *Sclerotium rolfsii* quanto a ação de metabólitos voláteis de *Trichoderma*. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Não houve diferença significativa entre os agentes de biocontrole na porcentagem de inibição do crescimento do fungo *Sclerotium rolfsii* quando analisada a ação de metabólitos não voláteis, sendo essa inibição próxima de zero (Figura 4).

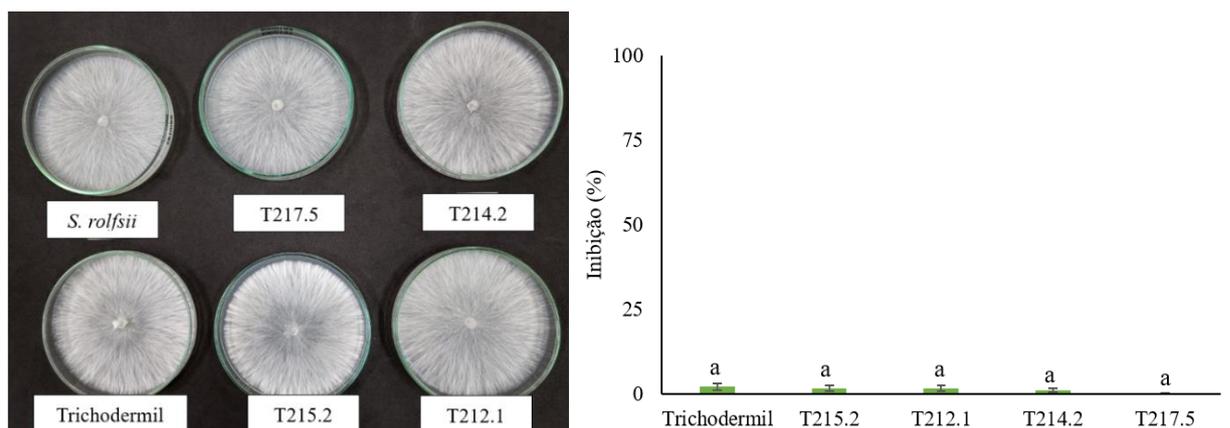


Figura 4. Porcentagem de inibição do fungo *Sclerotium rolfsii* com isolados nativos de *Trichoderma* e Trichodermil quanto a ação de metabólitos não voláteis. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Cada isolado de *Trichoderma* tem comportamento diferente entre as avaliações, ou seja, nem sempre o agente de biocontrole que se destaca no confronto direto terá mesmo destaque na produção de metabólitos voláteis e não voláteis. Observamos que no confronto direto, o

isolado T212.1 apresentou a menor taxa de inibição (40%) entre os agentes de biocontrole, no entanto, na produção de metabólitos voláteis a inibição (20%) foi superior aos demais.

Já os isolados T214.2 e T215.2, inibiram cerca de 70% do crescimento do fungo *Sclerotium rolfii* no confronto direto, porém apresentaram aproximadamente 4% de inibição na produção de metabólitos secundários voláteis e não voláteis. Isaias *et al.* (2014) relatam comportamento semelhante com o isolado CEN691 que recebeu nota 1 da escala de Bell (1982) na cultura pareada, e na produção de metabólitos não voláteis o crescimento do fungo *S. rolfii* não foi afetada.

Os mecanismos de ação relacionados a inibição do fungo *Sclerotium rolfii* podem estar associados principalmente a competição por espaço e nutrientes, e micoparasitismo. O confronto direto proporciona o crescimento do fungo *Trichoderma* em direção ao patógeno em resposta a alguns atrativos químicos produzidos, esses agentes de biocontrole liberam enzimas que podem degradar a parede celular do patógeno, podendo ainda realizar o hiperparasitismo (SILVA *et al.*, 2022).

Resultados obtidos nesse estudo são similares aos encontrados por Amaral *et al.* (2018), no qual é relatada inibição de 38 a 70% do crescimento micelial do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* através do confronto direto. Adhikari *et al.* (2022) obtiveram isolados de *Trichoderma* que inibiram de 15 a 95% o crescimento do fungo *Sclerotium rolfii*. Quanto a produção de metabólitos voláteis, Montalvão *et al.* (2023) relatam a inibição do crescimento do fungo *Sclerotium rolfii*, porém os mesmos isolados não inibiram o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*.

A eficiência do agente de biocontrole dependerá do isolado obtido e do patógeno estudado, assim podemos levantar duas hipóteses para produção de metabólitos secundários, ou os agentes de biocontrole utilizados produzem baixa quantidade desses metabólitos, ou o fitopatógeno estudado não é sensível. Portanto, é recomendado a realização de estudos adicionais com outros patógenos para determinar se a resposta será diferente daquela observada para o fungo *Sclerotium rolfii*.

Considerações finais

É possível obter isolados nativos de *Trichoderma* em Aquidauana-MS com rápido crescimento como o isolado T215.2 e T214.2, e com ação antagonista capaz de inibir 70% do crescimento do fungo *Sclerotium rolfii*.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pela bolsa concedida ao primeiro autor.

Referências bibliográficas

ADHIKARI, P.; SHRESTHA, S. M.; MANANDHAR, H. K.; MARAHATTA, S. Effect of *Trichoderma* isolates on *Sclerotium rolfii* Sacc. **Journal of Agriculture and Forestry University**, New York, v. 5, n. 1, p. 299–310, 2022.

AGROFIT. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (2024)**, 2024. Disponível em: https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 11 jan. 2024.

AMARAL, A. C. T. do; COSTA, A. F. da; TIAGO, P. V.; OLIVEIRA, N. T. Biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum* por espécies de *Trichoderma* provenientes de sistemas agroflorestais. **Anais Academia Pernambucana de Ciência Agrônoma**, Recife - PE, v. 15, n. 2, p. 145–152, 2018.

Costa, Brenda Fernandes da; Blanco, Neder Henrique Martinez; Graichen, Felipe André Sganzerla. **Controle biológico de *Sclerotium rolfii* com isolados de *Trichoderma* spp. nativos de Aquidauana-MS**. Revista Pantaneira, V. 23, UFMS, Aquidauana-MS, 2024.

AMERIO, N. S.; CASTRILLO, M. L.; BICH, G. A.; ZAPATA, P. D.; VILLALBA, L. L. *Trichoderma* en la Argentina: estado del arte. **Ecología Austral**, Buenos Aires, v. 30, n. 1, p. 113–124, 2020. DOI: <https://doi.org/10.25260/EA.20.30.1.0.945>

ANDRÉS, P. A.; ALEJANDRA, P. M.; BENEDICTO, M. C.; NAHUEL, R. I.; CLARA, B. M. A Comparative study of different strains of *Trichoderma* under different conditions of temperature and pH for the control of *Rhizoctonia solani*. **Agricultural Sciences**, v. 13, n. 06, p. 702–714, 2022. DOI: <https://doi.org/10.4236/as.2022.136046>

BARBOSA, G. G.; COSTA, F. A.; COSTA, A. C. da; ULHOA, C. J. Avaliação do potencial de isolados de *Trichoderma* spp. nativos do estado de Mato Grosso do Sul contra o fungo *Colletotrichum musae*. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba - PR, v. 7, n. 3, p. 29484–29502, 2021. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n3-592>

BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAN, C. R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal pathogens. **Phytopathology**, Saint Paul - MN, v. 72, n. 4, p. 379–382, 1982.

BLANCO, N. H. M.; BARBOSA, D. F. R.; GRAICHEN, F. A. S. Antagonistic microorganisms and nitrogen fertilization in control of tomato southern blight. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo- SP, v. 88, p. 1–9, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/1808-1657000502019>

CARRO-HUERGA, G.; MAYO-PRIETO, S.; RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, Á.; ÁLVAREZ-GARCÍA, S.; GUTIÉRREZ, S.; CASQUERO, P. A. The Influence of Temperature on the Growth, Sporulation, Colonization, and Survival of *Trichoderma* spp. in Grapevine Pruning Wounds. **Agronomy**, v. 11, n. 9, p. 1771, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy11091771>

ETHUR, L. Z.; COPATTI, A. S.; FIPKE, G. M.; CALVANO, C. C. A.; PAZINI, J. de B. Micobiota parasitária de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* isolada de solos da fronteira oeste do Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo - SP, v. 81, n. 1, p. 62–67, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1808-16572014000100011>

FARIA, F. A.; BUENO, C. J.; PAPA, M. D. F. S. Atividade fungitóxica de *Momordica charantia* L. no controle de *Sclerotium rolfii* Sacc. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá - PR, v. 31, n. 3, 2009. DOI: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v31i3.364>

GONÇALVES, R. C.; ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. Armazenamento de microrganismos em cultura com ênfase em fungos fitopatogênicos. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. (org.). **Métodos em Fitopatologia**. 2. ed. Viçosa - MG: Editora UFV, 2016.

HILJE-RODRÍGUEZ, I.; MOLINA-BRAVO, R. Inoculation and co-inoculation of two monosporic fungi onto surface-sterile blackberry fruits for quantification experiments. **MethodsX**, v. 7, n. 1, p. 1–4, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mex.2020.101092>

ISAIAS, C. O.; MARTINS, I.; SILVA, J. B. T. da; SILVA, J. P. da; MELLO, S. C. M. de. Ação antagônica e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp. contra os patógenos *Sclerotium rolfii* e *Verticillium dahliae*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu - SP, v. 40, n. 1, p. 34–41, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052014000100005>

MACHADO, A. R.; BRITO, A. C. de Q.; MELO, J. F. Podridões fúngicas de raízes tuberosas no Nordeste brasileiro: etiologia e manejo. In: LOPES, U. P.; MICHEREFF, S. J. (org.). **Desafios do Manejo de Doenças Radiculares Causadas por Fungos**. Recife - PE: EDUFRPE, 2018.

MARCUZZO, L. L.; SCHMOELLER, J. Sobrevivência e viabilidade de escleródios de *Sclerotium cepivorum* no solo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu - SP, v. 43, n. 2, p. 161–163, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/167306>

MEDEIROS, F. H. V. de; SILVA, J. C. P. da; PASCHOLATI, S. F. Controle biológico de doenças de plantas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (org.). **Manual de Fitopatologia**. 5. ed. Ouro Fino - MG: Agronômica Ceres, 2018.

MELLO, S. C. M.; ÁVILA, Z. R.; BRAÚNA, L. M.; PÁDUA, R. R.; GOMES, D. Cepas de *Trichoderma* para el control biológico de *Sclerotium rolfii* Sacc. **Fitosanidad**, La Habana, v. 11, n. 1, p. 3–9, 2007.

MONTALVÃO, S. C. L.; MARQUES, E.; MARTINS, I.; DA SILVA, J. P.; DE MELLO, S. C. M. Suppression of the phytopathogens *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotium rolfii* by *Trichoderma* spp. **Biologia**, Bratislava, v. 78, n. 10, p. 2941–2952, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11756-023-01457-9>

Costa, Brenda Fernandes da; Blanco, Neder Henrique Martinez; Graichen, Felipe André Sganzerla. **Controle biológico de *Sclerotium rolfsii* com isolados de *Trichoderma* spp. nativos de Aquidauana-MS**. Revista Pantaneira, V. 23, UFMS, Aquidauana-MS, 2024.

MONTE, E.; BETTIOL, W.; HERMOSA, R. *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da (org.). **Trichoderma uso na agricultura**. Brasília - DF: Embrapa Soja, 2019. p. 181–199.

MOREIRA, C.; CÔELHO, R. da S.; GRAICHEN, F. A. S. Sensibilidade *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* a fungicidas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu - SP, v. 48, n. 4, p. 163–164, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/243830>

OLIVEIRA, L. G. de; KETTNER, M. G.; LIMA, M. L. de S.; ARAÚJO, E. R.; SILVA, A. R. da; COSTA, A. F. da. Potencial de biocontrole de *Trichoderma* spp. contra *Macrophomina phaseolina* do Feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, Recife - PE, v. 26, n. 2, p. 1–5, 2021. DOI: <https://doi.org/10.12661/pap.2021.003>

PUNJA, Z. K. The Biology, Ecology, and Control of *Sclerotium Rolfsii*. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 23, n. 1, p. 97–127, 1985. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.py.23.090185.000525>

ROESE, D. A.; LAMAS, F. M. Nova cultura, nova doença Murcha-de-esclerócio em grão-de-bico em Mato Grosso do Sul. **EMBRAPA**, Dourados - MS, p. 1–8, 2022. (Comunicado técnico 270).

SILVA, G. B. P. DA; HECKLER, L. I.; SANTOS, R. F. DOS; DURIGON, M. R.; BLUME, E. Identificação e utilização de *Trichoderma* spp. armazenados e nativos no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Revista Caatinga**, Mossoró - RN, v. 28, n. 4, p. 33–42, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-21252015v28n404rc>

SILVA, L. R. da; ZACARONI, A. B.; MUNIZ, P. H. P. C.; BOTELHO, A. S.; MELLO, S. C. M. de. *Trichoderma*: suas interações e uma abordagem metodológica aplicada ao estudo de compostos orgânicos voláteis para o mofo-branco e promoção de crescimento de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Brasília - DF, v. 28, n. 1, p. 163–183, 2022. DOI: <https://doi.org/10.31976/0104-038321v280007>

SILVA, J. A.; OLIVEIRA, M. G.; SOUZA, L. T.; ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G. A.; MICHEREFF, S. J. Reação de genótipos de feijão-fava a *Sclerotium rolfsii*. **Horticultura Brasileira**, Brasília - DF, v. 32, n. 1, p. 98–101, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362014000100016>