

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

VANESSA RONCOVSKY

POTENCIAL ANTAGÔNICO DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum* PARA  
CONTROLE DE *Monilinia fructicola*

CURITIBA

2024

VANESSA RONCOVSKY

POTENCIAL ANTAGÔNICO DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum* PARA  
CONTROLE DE *Monilinia fructicola*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de graduação em Agronomia, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Engenheira Agrônoma.

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Louise Larissa May De Mio.

Coorientador: Msc. André Luiz Graf Junior.

CURITIBA

2024

TERMO DE APROVAÇÃO

VANESSA RONCOVSKY

POTENCIAL ANTAGÔNICO DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum*  
PARA CONTROLE DE *Monilinia fructicola*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Graduação em Agronomia, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Engenheira Agrônoma.



Prof(a). Dr(a). Louise Larissa May De Mio

Orientador(a) – Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade  
Universidade Federal do Paraná



Msc. André Luiz Graf Junior

Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade  
Universidade Federal do Paraná



Prof(a). Dr(a). Renata Faier Calegario

Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade  
Universidade Federal do Paraná

Curitiba, 12 de dezembro de 2024.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por minha vida, família e amigos.

Aos meus pais, Roberto e Inês, e ao meu irmão, André, pelo amor incondicional, apoio e compreensão em todos os momentos. Vocês são minha base, meu porto seguro e minha inspiração diária.

À minha orientadora, profa. Dra. Louise Larissa May De Mio, pelo suporte, orientação, dedicação e incentivo não apenas na realização deste trabalho, mas ao longo de toda a minha trajetória na fitopatologia. Não existem palavras capazes de expressar minha profunda gratidão.

Ao doutorando e coorientador, André Luiz Graf Júnior, responsável por grande parte de todo conhecimento que adquiri ao longo dos anos na Iniciação Científica. Cada aprendizado, cada conversa e cada incentivo foram fundamentais para minha caminhada, muito obrigada por tudo.

À profa. Dra. Renata Faier Calegario por aceitar compor a banca, por disponibilizar seu tempo para a análise deste trabalho. Também agradeço por todos os conhecimentos compartilhados nas disciplinas de Fundamentos de Fitopatologia e Metodologia Científica em Fitossanidade, foram de grande utilidade.

A todos da equipe LEMID, por todo conhecimento compartilhado, pela companhia e pelos bons momentos vivenciados, vocês ocupam um espaço único e querido em meu coração.

Aos meus amigos e colegas de curso, em especial Clarissa, Débora, Nicolly e Vinícius, pelo companheirismo e por todos os momentos compartilhados. A amizade e o apoio de vocês tornaram a jornada acadêmica mais leve.

Ao prof. Dr. Jorge Luiz Moretti de Souza, por ter sido meu primeiro orientador na universidade, por ter me mostrado o quão fascinante é o mundo da pesquisa e por sempre acreditar no meu potencial. O senhor sempre ocupará um lugar especial na minha trajetória.

Ao prof. Dr. Luiz Alberto Kozlowski, pela generosidade em compartilhar seu conhecimento e por esclarecer, com paciência e precisão, minhas dúvidas sobre os mais diversos temas. Sua dedicação e apoio foram fundamentais para o meu crescimento acadêmico e pessoal.

A todos os professores do curso de agronomia da Universidade Federal do Paraná que me acompanharam ao longo da graduação e que, com esmero, se

dedicaram a arte de ensinar, deixando em mim não apenas o conhecimento acadêmico, mas também o amor pelo aprendizado.

À Universidade Federal do Paraná pelo ensino de qualidade e excelência.

Agradeço ao Laboratório de Epidemiologia para Manejo Integrado de Doenças de Plantas por fornecer os recursos necessários e o ambiente adequado para o desenvolvimento deste trabalho. Mais do que um ambiente de pesquisa, foi um espaço de aprendizado e realização.

A todos da equipe do setor de Fitopatologia da Fundação ABC, por todo o apoio durante o período de estágio, especialmente por compreenderem a importância deste momento acadêmico e por me concederem o tempo necessário para a redação deste TCC. Sou imensamente grata por todo o aprendizado proporcionado.

Também agradeço a todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para esta conquista.

Por fim, a cada um de vocês deixo não apenas minha eterna gratidão, mas também o reconhecimento de que, sem vocês, esta jornada não teria sido a mesma.

Obrigada, de coração!

*“E aqueles que foram vistos dançando foram julgados insanos por aqueles  
que não podiam ouvir a música.”*

(FRIEDRICH NIETZSCHE)

## RESUMO

A podridão parda, causada por *Monilinia fructicola*, representa um desafio econômico significativo para a fruticultura, agravado pela resistência a fungicidas. Fungos endofíticos com potencial antagonístico se mostram promissores em vários patossistemas e têm sido utilizados como alternativa eficiente para reduzir o uso de fungicidas químicos. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antagonístico de isolados de *Trichoderma* spp. endofíticos prospectados de folhas e fruto de uva e flores de pêsego comparados com espécies obtidas de solo e com *Trichothecium roseum* como padrão biológico de antagonismo no controle de dois fenótipos de *M. fructicola*, sensível e resistente a tiofanato-metílico, tebuconazol e azoxistrobina. Foram realizados testes *in vitro* e em frutos de pêsego mumificados para avaliar os mecanismos de ação dos isolados antagonísticos. Os ensaios *in vitro*, conduzidos em DIC com 14 tratamentos (controle, padrão biológico UFPR-F4 e 12 antagonistas) e dois fenótipos de *M. fructicola*, incluíram as metodologias de cultura pareada (CP), compostos difusíveis (CD), compostos termestáveis (CT) e compostos voláteis (CV). A análise estatística utilizou o teste Scott-Knott (5%). O ensaio com frutos mumificados também em DIC, avaliou oito tratamentos (controle, padrão químico e seis antagonistas) com quatro repetições. A incidência foi determinada pela presença de lesões características de podridão parda ou de outros fungos. Todos os experimentos foram realizados em duplicata. No segundo ensaio de CP, para o isolado sensível, 10 antagonistas apresentaram redução do crescimento micelial superior a 50%. Em relação aos CD, no primeiro ensaio, nenhum tratamento foi capaz de reduzir o crescimento micelial de *M. fructicola*; já no segundo ensaio, sete antagonistas reduziram o crescimento do isolado sensível. Para CT, nos dois ensaios, *T. roseum* apresentou o melhor resultado de redução do crescimento micelial, variando de 67 a 79%. Para CV, no primeiro ensaio, três antagonistas reduziram o crescimento do isolado sensível e seis controlaram isolado resistente, com redução variando de 25 a 46%; no segundo ensaio não houve diferença estatística entre os tratamentos, para os dois isolados. No ensaio com frutos mumificados houve incidência de *M. fructicola* apenas no controle para o primeiro ensaio, para o segundo não surgiu lesão típica de podridão parda. Nos demais tratamentos verificou-se a ocorrência de fungos como *Aspergillus* sp., *Mucor* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. e *Trichoderma* sp., sendo *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. os fungos de maior incidência. Nos dois ensaios os isolados de *Trichoderma* testados colonizaram os tecidos dos frutos mumificados e também apresentaram atividade antagonística em relação a *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. Conclui-se que os antagonistas testados tem potencial antagonístico contra *M. fructicola* e atuam por diferentes mecanismos de ação. Existe uma necessidade de desenvolver estudos subsequentes para avaliar a viabilidade de formulações integrando antagonistas e validar o uso da tecnologia desenvolvida no controle da podridão parda em condições de campo e na redução de inóculo primário proveniente de múmias.

**Palavras-chave:** Podridão parda; antagonismo; fungos endofíticos; mecanismos de ação; biocontrole.

## ABSTRACT

Brown rot, caused by *Monilinia fructicola*, poses a significant economic challenge to fruit production, exacerbated by fungicide resistance. Endophytic fungi with antagonistic potential have shown promise in various pathosystems and are being explored as efficient alternatives to reduce the use of chemical fungicides. Thus, the objective of this study was to evaluate the antagonistic potential of endophytic isolates of *Trichoderma* spp. obtained from grape leaves, grape fruit, and peach flowers, compared to species isolated from soil and to *Trichothecium roseum* as a biological antagonism standard in controlling two phenotypes of *M. fructicola*: sensitive and resistant to thiophanate-methyl, tebuconazole, and azoxystrobin. In vitro tests and experiments on mummified peach fruits were conducted to evaluate the mechanisms of action of the antagonistic isolates. The in vitro assays, performed in a completely randomized design (CRD) with 14 treatments (control, biological standard UFPR-F4, and 12 antagonists) and two phenotypes of *M. fructicola*, included methodologies such as paired culture (PC), diffusible compounds (DC), thermostable compounds (TC), and volatile compounds (VC). Statistical analysis employed the Scott-Knott test (5%). The mummified fruit experiment, also in a CRD, evaluated eight treatments (control, chemical standard, and six antagonists) with four replicates. Incidence was determined by the presence of characteristic brown rot lesions or other fungi. All experiments were conducted in duplicate. In the second PC assay, for the sensitive isolate, 10 antagonists showed a reduction in mycelial growth exceeding 50%. Regarding DC, in the first assay, no treatment reduced the mycelial growth of *M. fructicola*; however, in the second assay, seven antagonists reduced the growth of the sensitive isolate. For TC, in both assays, *T. roseum* showed the best results in reducing mycelial growth, ranging from 67% to 79%. For VC, in the first assay, three antagonists reduced the growth of the sensitive isolate, and six controlled the resistant isolate, with reductions ranging from 25% to 46%; in the second assay, no statistical differences were observed between treatments for either phenotype. In the mummified fruit assay, *M. fructicola* incidence occurred only in the control for the first assay, while no brown rot lesions were observed in the second. In other treatments, fungi such as *Aspergillus* sp., *Mucor* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., and *Trichoderma* sp. were identified, with *Penicillium* sp. and *Rhizopus* sp. being the most frequent. In both assays, the tested *Trichoderma* isolates colonized the tissues of mummified fruits and also demonstrated antagonistic activity against *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., and *Rhizopus* sp. It is concluded that the tested antagonists possess antagonistic potential against *M. fructicola* and act through different mechanisms of action. Further studies are necessary to evaluate the feasibility of formulations integrating these antagonists and to validate the use of this technology for controlling brown rot under field conditions and for reducing primary inoculum from mummies.

**Keywords:** Brown rot; antagonism; endophytic fungi; mechanisms of action; biocontrol.

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – COLÔNIAS DOS ISOLADOS ANTAGÔNICOS APÓS 7 DIAS DE CRESCIMENTO.....29
- FIGURA 2 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM CULTURA PAREADA COM ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum* (SEGUNDO ENSAIO). ....36
- FIGURA 3 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM RELAÇÃO À PRODUÇÃO DE COMPOSTOS DIFUSÍVEIS POR ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum* (SEGUNDO ENSAIO).....39
- FIGURA 4 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM RELAÇÃO À PRODUÇÃO DE COMPOSTOS TERMOESTÁVEIS POR ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum* (SEGUNDO ENSAIO).....41
- FIGURA 5 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM RELAÇÃO À PRODUÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS POR ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum* (SEGUNDO ENSAIO).....44
- FIGURA 6 – INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL (%) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS POR DIFERENTES MECANISMOS DE AÇÃO COM ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum*.....45
- FIGURA 7 – MÚMIAS DE PÊSSEGO TRATADAS COM FUNGICIDA DELAN® E DIFERENTES ANTAGONISTAS FÚNGICOS (ENSAIO 2).....47
- FIGURA 8 – INCIDÊNCIA DE DIFERENTES FUNGOS PROVENIENTES DE MÚMIAS DE PÊSSEGO TRATADOS COM FUNGICIDA DELAN® E DIFERENTES ANTAGONISTAS FÚNGICOS, APÓS 3 DIAS DE CRESCIMENTO EM PÊSSEGO EM CONSERVA (ENSAIO 1).....48
- FIGURA 9 – INCIDÊNCIA DE DIFERENTES FUNGOS PROVENIENTES DE MÚMIAS DE PÊSSEGO TRATADOS COM FUNGICIDA DELAN® E DIFERENTES ANTAGONISTAS FÚNGICOS, APÓS 3 DIAS DE CRESCIMENTO EM PÊSSEGO EM CONSERVA (ENSAIO 2).....49
- FIGURA 10 – INCIDÊNCIA DE DIFERENTES FUNGOS PROVENIENTES DE MÚMIAS DE PÊSSEGO TRATADOS COM FUNGICIDA DELAN® E

DIFERENTES ANTAGONISTAS FÚNGICOS, APÓS 6 DIAS DE  
CRESCIMENTO EM PÊSSEGO EM CONSERVA (ENSAIO 2).....50

FIGURA 11 – DIFERENTES FUNGOS PROVENIENTES DE MÚMIAS DE PÊSSEGO,  
TRATADAS COM FUNGICIDA DELAN® E DIFERENTES  
ANTAGONISTAS FÚNGICOS, CRESCIDOS EM SEGMENTOS DE  
FRUTOS DE PÊSSEGO EM CONSERVA (ENSAIO 2).....51

## LISTA DE GRÁFICOS

- GRÁFICO 1 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM CULTURA PAREADA COM ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum*. .....35
- GRÁFICO 2 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM RELAÇÃO À PRODUÇÃO DE COMPOSTOS DIFUSÍVEIS POR ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum*. .....38
- GRÁFICO 3 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM RELAÇÃO À PRODUÇÃO DE COMPOSTOS TERMOESTÁVEIS POR ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum*.....40
- GRÁFICO 4 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM RELAÇÃO À PRODUÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS POR ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum*.....43

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – PROCEDÊNCIA DOS ISOLADOS ENDOFÍTICOS.....	28
TABELA 2 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE <i>Monilinia fructicola</i> SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM CULTURA PAREADA COM ISOLADOS DE <i>Trichoderma</i> spp. E <i>Trichothecium roseum</i> . ....	35
TABELA 3 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE <i>Monilinia fructicola</i> SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM RELAÇÃO À PRODUÇÃO DE COMPOSTOS DIFUSÍVEIS POR ISOLADOS DE <i>Trichoderma</i> spp. E <i>Trichothecium roseum</i> .....	37
TABELA 4 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE <i>Monilinia fructicola</i> SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM RELAÇÃO À PRODUÇÃO DE COMPOSTOS TERMOESTÁVEIS POR ISOLADOS DE <i>Trichoderma</i> spp. E <i>Trichothecium roseum</i> .....	40
TABELA 5 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE <i>Monilinia fructicola</i> SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM RELAÇÃO À PRODUÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS POR ISOLADOS DE <i>Trichoderma</i> spp. E <i>Trichothecium roseum</i> .....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

+	- adição
BDA	- batata dextrose ágar
BD	- batata dextrose
BOD	- câmara germinadora
cm	- centímetros
CD	- compostos difusíveis
CT	- compostos termoestáveis
CV	- compostos voláteis
CP	- cultura pareada
DIC	- delineamento inteiramente casualizado
Ø	- diâmetro
esporos/mL	- esporos/mililitros
g/L	- gramas/litro
°	- graus
°C	- graus Celsius
ICM	- inibição do crescimento micelial
DMI	- inibidores da desmetilação de esterol (Grupo 3)
Qol	- inibidores da quinona externa (Grupo 11)
LEMID	- laboratório de epidemiologia para manejo integrado de doenças de plantas
®	- marca registrada
MBC	- metil benzimidazol carbamato (Grupo 1)
µL	- microlitro
mL	- mililitro
mm	- milímetro
PR	- Paraná
'	- minutos
%	- porcentagem
RS	- Rio Grande do Sul
rpm	- rotações por minuto
"	- segundos
SC	- suspensão concentrada
x	- multiplicação

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>18</b>
1.1 JUSTIFICATIVA .....	19
1.2 OBJETIVOS .....	19
1.2.1 Objetivo geral .....	19
1.2.2 Objetivos específicos.....	19
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>20</b>
2.1 O GÊNERO <i>Monilinia</i> .....	20
2.2 CONTROLE QUÍMICO .....	21
2.3 CONTROLE BIOLÓGICO .....	21
2.3.1 Endofíticos antagonicos .....	22
2.3.2 Mecanismos de ação dos antagonistas.....	23
2.3.3 A importância do gênero <i>Trichoderma</i> .....	25
2.3.4 <i>Trichothecium roseum</i> .....	26
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>28</b>
3.1 LOCAL E ORIGEM DOS ISOLADOS.....	28
3.2 PRODUÇÃO DOS ISOLADOS ANTAGÔNICOS PARA ENSAIOS <i>in vitro</i> E PARA ENSAIO EM FRUTOS MUMIFICADOS DE PÊSSEGOS.....	29
3.3 AVALIAÇÃO <i>in vitro</i> POR CULTURA PAREADA.....	30
3.4 AVALIAÇÃO <i>in vitro</i> DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE COMPOSTOS DIFUSÍVEIS PRODUZIDOS POR ISOLADOS FÚNGICOS ANTAGÔNICOS .....	30
3.5 AVALIAÇÃO <i>in vitro</i> DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE COMPOSTOS TERMOESTÁVEIS PRODUZIDOS POR ISOLADOS FÚNGICOS ANTAGÔNICOS	31
3.6 AVALIAÇÃO <i>in vitro</i> DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE COMPOSTOS VOLÁTEIS PRODUZIDOS POR ISOLADOS FÚNGICOS ANTAGÔNICOS.....	31
3.7 EFEITO DOS ISOLADOS <i>Trichoderma</i> spp. E <i>Trichothecium roseum</i> NA REDUÇÃO DO INÓCULO DE <i>M. fructicola</i> EM FRUTOS DE PÊSSEGO MUMIFICADOS.....	32
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	33
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>34</b>
4.1 ENSAIOS <i>in vitro</i> .....	34

4.2 EFEITO DOS ISOLADOS <i>Trichoderma</i> spp. E <i>Trichothecium roseum</i> NA REDUÇÃO DO INÓCULO DE <i>M. fructicola</i> EM FRUTOS DE PÊSSEGO MUMIFICADOS.....	46
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>52</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>56</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>57</b>

## 1 INTRODUÇÃO

*Monilinia fructicola*, agente causal da podridão parda em rosáceas de carroço, é uma das principais responsáveis por perdas significativas em diversas culturas frutíferas de importância agrícola no Brasil. Essa doença, além de reduzir a produtividade, também afeta a qualidade dos produtos agrícolas, comprometendo a rentabilidade dos agricultores (Agrios, 2005).

O controle com fungicidas na maioria das vezes tem eficácia no controle dos fitopatógenos, entretanto, apresenta riscos para o ambiente se mal aplicados e podem, caso utilizado sem manejo com outras opções, selecionar patógenos resistentes (Villarreal-Delgado *et al.*, 2018; Chen; Liu; Schnabel, 2013; Sharma *et al.*, 2009).

A busca por alternativas ao controle químico, especialmente devido à resistência desenvolvida por diversos fitopatógenos, tem impulsionado o interesse no uso do controle biológico, visto que este apresenta uma opção ambientalmente mais sustentável (De Silva *et al.*, 2019). Assim, o controle biológico com uso de microrganismos endofíticos vem ganhando destaque no cenário nacional (Garcia *et al.*, 2024).

Fungos endofíticos, que vivem de forma assintomática dentro dos tecidos vegetais, têm demonstrado significativo potencial no biocontrole de doenças de plantas (Bolívar-Anillo *et al.*, 2021; Rajani *et al.*, 2021; Chen *et al.*, 2020; De Silva *et al.*, 2019; Sbravatti Júnior *et al.*, 2013). Tais fungos podem atuar através de diferentes mecanismos, como produção de compostos antimicrobianos, competição por espaço e nutrientes, ou indução de resistência sistêmica nas plantas hospedeiras (Bezerra *et al.*, 2019; Medeiros; Silva; Pascholati, 2018).

Dentro desse contexto, a utilização do controle biológico com isolados antagonísticos endofíticos pode ser uma alternativa para o manejo de *M. fructicola* em diversas culturas em sistemas orgânicos. Além disso, biológicos podem agregar na integração com fungicidas sitio-específicos, reduzindo o risco de desenvolvimento de resistência dos patógenos a tais fungicidas.

## 1.1 JUSTIFICATIVA

A utilização de microrganismos antagonísticos prospectados de órgãos sadios de plantas (endofíticos) ou mesmo do solo pode aumentar a variedade e o espectro de ação de microrganismos utilizados no controle biológico. No geral, o controle biológico é aceito pelo mercado consumidor como uma opção ambientalmente correta para o controle de doenças. Assim, produtos desenvolvidos nesta linha podem ser alternativas para minimizar o uso do controle químico. Agregado a isso, diversificar mecanismos de ação e métodos de controle contribui para reduzir o risco de desenvolvimento de resistência dos patógenos a fungicidas.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 *Objetivo geral*

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o potencial antagonístico de isolados de *Trichoderma* spp. endofíticos prospectados de folhas e fruto de uva e flores pêssago comparado com espécies obtidas de solo e com *Trichothecium roseum* como padrão biológico de antagonismo no controle de dois fenótipos de *Monilinia fructicola*, sensível e resistente a tiofanato-metílico, tebuconazol e azoxistrobina.

### 1.2.2 *Objetivos específicos*

Compreender os diferentes mecanismos de ação dos isolados antagonísticos por meio de testes de avaliação de atividade antagonística *in vitro* como teste de cultura pareada, produção de compostos difusíveis, produção de compostos termoestáveis e produção de compostos voláteis.

Avaliar a capacidade de redução de inóculo de *M. fructicola* em frutos mumificados de pêssago interferindo, como consequência, na sobrevivência do inóculo entre ciclos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 O GÊNERO *Monilinia*

O gênero *Monilinia* é composto por um grupo de fungos da classe Ascomycetes, sendo conhecidos por serem causadores de podridão em frutas de caroço, como pêssigo (*Prunus persica*), ameixa (*Prunus domestica*), cereja (*Prunus serrulata*) e outras rosáceas, como maçã (*Malus domestica*), pera (*Pyrus communis*), damasco (*Prunus armeniaca*) e nectarina (*Prunus persica* var. *nucipersica*) (Byrde; Willetts, 1977).

A podridão parda causada por *Monilinia fructicola* (Wint.) é a principal doença que afeta a cultura do pessegueiro, tanto no Brasil quanto em regiões produtoras ao redor do mundo (May-De Mio *et al.*, 2004). Na região produtora do Paraná causa prejuízos significativos, sendo considerada o principal problema para produção integrada de frutas de caroço no Estado (Moreira *et al.*, 2002).

O fitopatógeno ataca ramos, flores e, principalmente, frutos, com a infecção iniciando na primavera, infectando os órgãos florais. As perdas na produção resultam da infecção das flores, podendo avançar até o pedúnculo e penetrar no ramo, formando cancrios que podem anelar o ramo causando murcha e morte da parte terminal e o apodrecimento dos frutos nas fases de colheita e pós-colheita (May De Mio *et al.*, 2008).

Os sintomas típicos da infecção por *Monilinia fructicola* nos frutos incluem lesões pequenas e pardacentas, com aspecto encharcado que evoluem para manchas marrons. Essas manchas podem ficar cobertas por esporos acinzentados, acarretando em desidratação e mumificação dos frutos, os quais podem permanecer na planta ou cair sobre o solo. O patógeno consegue sobreviver durante toda entressafra, disseminando conídios do fungo no ciclo seguinte por respingos de água, insetos e/ou vento. As condições ótimas para seu desenvolvimento incluem umidade relativa superior a 85% e temperatura em torno de 25°C (May De Mio *et al.*, 2014; Agrios, 2005; Bleicher, 1997).

O manejo efetivo da infecção por *Monilinia fructicola* pode incluir práticas culturais, como limpeza e poda adequadas no inverno, controle de insetos e remoção de ramos doentes e frutos mumificados (Bleicher, 1997), porém o controle químico com a aplicação de fungicidas apropriados é o método mais utilizado para o controle

do patógeno, com pulverizações que se estendem da floração até a pré-colheita dos frutos (Moreira; May De Mio, 2009).

## 2.2 CONTROLE QUÍMICO

O uso de fungicidas é uma das principais estratégias no manejo de *Monilinia* sp. Diversas classes de fungicidas têm sido amplamente estudadas e aplicadas no controle deste patógeno.

Para o controle de *M. fructicola* são necessárias várias pulverizações com fungicidas, intensificadas na floração e na pré-colheita, normalmente feitas em sistema de calendário fixo (May De Mio *et al.*, 2008). Fungicidas sítio específicos, como os metil benzimidazol carbamatos (MBCs), direcionados à  $\beta$ -tubulina, e inibidores da desmetilação de esterol (DMIs), direcionados à 14 $\alpha$ -desmetilase, têm sido utilizados no tratamento de doenças induzidas por *M. fructicola* desde as décadas de 1970 e 1980, respectivamente. Mais recentemente, os inibidores da quinona externa (Qols) e os inibidores da succinato desidrogenase (SDHIs) foram introduzidos para controlar a podridão parda (Chen; Liu; Schnabel, 2013).

O uso contínuo e intenso de fungicidas pode levar a perda de sensibilidade e, conseqüentemente, ao desenvolvimento de resistência em várias populações de *Monilinia* sp., representando um desafio para o manejo químico desse patógeno (Fernández-Ortuño *et al.*, 2014; May De Mio; Luo; Michailides, 2011). Assim, estratégias integradas de manejo, incluindo alternância de grupos químicos e associação com métodos culturais e biológicos, são recomendadas para prolongar a eficácia dos fungicidas (De Melo *et al.*, 2024; May De Mio *et al.*, 2008).

## 2.3 CONTROLE BIOLÓGICO

O termo controle biológico foi empregado pela primeira vez em 1919, pelo entomologista Harry Scott Smith, para designar o uso de inimigos naturais para o controle de insetos-praga (Amorim; Orlandelli; Pamphile, 2019). Hoje, a utilização desse termo está ampliada para toda e qualquer forma de controle por métodos naturais que empreguem organismos vivos. Segundo Agrios (2005), o controle biológico é a redução do inóculo ou das atividades determinantes da doença causadas por um patógeno, realizada por ou através de um ou mais organismos que não o

homem, ou ainda a destruição parcial ou total de patógenos por outros organismos frequentemente encontrados na natureza. Além disso, o controle biológico pode atuar como uma ferramenta de manejo integrado importante para a preservação ambiental e segurança alimentar (Gutiérrez-Ramírez *et al.*, 2013).

A adoção do controle biológico tem sido amplamente discutida devido aos problemas ambientais causados pelo uso irregular de agrotóxicos, abrindo oportunidades para pesquisas envolvendo o uso de métodos alternativos de controle de doenças, entre eles, o uso de organismos endofíticos com potencial antagônico (Garcia *et al.*, 2024; Medrado *et al.*, 2022; Latz *et al.*, 2018; Sbravatti Júnior *et al.*, 2013).

Em fitopatologia o termo antagonismo é empregado para designar a ação de um microrganismo antagonista sobre o crescimento e o metabolismo do agente patogênico criando condições desfavoráveis para o desenvolvimento deste (Allwood; Ellis; Goodacre, 2008). A relação antagônica pode ocorrer por diferentes mecanismos como, por exemplo, competição, parasitismo e/ou antibiose, bem como resistência induzida, visto que o biocontrolador também pode induzir mecanismos de defesa na planta hospedeira durante a infecção e a colonização do patógeno (Latz *et al.*, 2018; Barkai-Golan, 2001; Bettio; Ghini, 1995).

### 2.3.1 *Endofíticos antagônicos*

Nas últimas décadas cientistas passaram a perceber que plantas podem servir como reservatório de um número muito grande de organismos conhecidos como endofíticos (Bacon; White, 2000). Ocupando principalmente espaços intra ou intercelulares, estes organismos podem estar presentes em várias partes da planta hospedeira, como sementes, raízes, caule, folhas, flores e frutos. Em sua maioria, são principalmente fungos e bactérias que habitam o interior de tecidos vegetais durante todo ou parte do seu ciclo de vida, sem causar-lhes danos visíveis, de forma assintomática (Rana *et al.*, 2019; Hardoim *et al.*, 2015; Azevedo *et al.*, 2000; Petrini, 1991). Os microrganismos endofíticos podem proteger seus hospedeiros contra doenças, reduzindo os níveis de infecção e inibindo o crescimento de patógenos (Bacon; White, 2016). Além de atuar diretamente sobre o patógeno, também podem estimular o crescimento da planta hospedeira por meio de diversos mecanismos,

como fixação biológica de nitrogênio, solubilização de minerais e produção de fito hormônios (Cipriano *et al.*, 2021; Van Kan *et al.*, 2014).

Existem estudos apontando a existência de relações mutualísticas entre os microrganismos e as plantas, como Wulandari *et al.* (2022) que isolaram 11 fungos e nove bactérias endofíticas de quatro tecidos de rami (*Boehmeria nivea*), incluindo raízes, caules, folhas e flores, com potencial antagonico por meio de parasitismo, competição e antibiose; e Martins *et al.* (2021) que relataram a presença de fungos endofíticos presentes em flores de oliveira (*Olea europaea* L.) capazes de atuar na redução da incidência de antracnose nos pomares de oliva. Porém, também existem trabalhos evidenciando que esses microrganismos podem viver de forma latente nos tecidos das flores e posteriormente tornarem-se patógenos (Manawasinghe *et al.*, 2016; Sakalidis *et al.*, 2011; Photita *et al.*, 2004). Apesar de existirem estudos, essas relações de mutualismo entre as plantas e os microrganismos ainda são mal compreendidas, com isso há a necessidade de que novos estudos sejam realizados para compreender a relação entre os microrganismos endofíticos, seu modo de ação e sua capacidade antagonica. No entanto, endofíticos representam um recurso de ampla diversidade microbiológica ainda pouco explorada, com o potencial de fornecer uma fonte de cepas promissoras para serem utilizadas no biocontrole.

### 2.3.2 Mecanismos de ação dos antagonistas

Os fungos produzem um grande número de metabólitos secundários e, atualmente, as fitotoxinas produzidas por esses microrganismos estão sendo estudadas em larga escala como fonte de metabólitos biologicamente ativos para descoberta de novos mecanismos de ação.

Ao se oporem a outros fungos, os fungos endofíticos tendem a gerar diversos efeitos contra os patógenos (Latz *et al.*, 2018). Os mecanismos previstos na interação entre o microrganismo endofítico, planta hospedeira e patógeno incluem inibição direta do patógeno por meio de competição, antibiose ou micoparasitismo, ou ainda inibição indireta por indução de resistência. Testes *in vitro* permitem que mecanismos de ação como parasitismo e antibiose sejam constatadas (Le *et al.*, 2022).

Na competição, durante o processo de colonização, o endofítico cresce dentro do apoplasto absorvendo nutrientes ou outros recursos da planta e, assim, compete por espaço e por esses recursos com os patógenos (Benítez *et al.*, 2004). Chen *et al.*

(2020) demonstraram que a competição de *Lactobacillus plantarum* CM-3 por espaço e nutrientes pode ser responsável pela capacidade de antagonizar o crescimento de *Botrytis cinerea* em morangos. Salvadori *et al.* (2024) verificaram o potencial de um produto à base de *Trichoderma harzianum* em associação com *Bacillus amyloliquefaciens* sobre patógenos de solo (*Sclerotinia sclerotiorum*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium tucumaniae* e *Phomopsis longicolla*) e constataram que o produto exerce potencial de biocontrole sobre os fitopatógenos testados, reduzindo o crescimento micelial por meio dos mecanismos de ação de micoparasitismo das hifas dos patógenos e competição por espaço e nutrientes.

Na antibiose o microrganismo endofítico sintetiza proteínas antimicrobianas e metabólitos capazes de inibir ou restringir o crescimento de organismos fitopatogênicos, a translocação desses compostos pode fornecer uma proteção sistêmica da planta (Morales-Cedeño *et al.*, 2021; Latz *et al.*, 2018). Wu *et al.* (2019) relataram que iturinas bacterianas mediam o biocontrole realizado por *Bacillus* sp. contra fungos fitopatogênicos que acometem frutos de pera em pós-colheita. Gabardo *et al.* (2020) testaram o potencial antagonístico de *Bacillus subtilis* e *Trichoderma asperellum* no controle de *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani* e *Colletotrichum dematium* var. *truncata* *in vitro*. *T. asperellum* mostrou potencial para antagonizar *S. rolfsii*, *R. solani* e *C. dematium* var. *truncata* pelo método de produção de metabólitos tóxicos havendo formação de halo de inibição para *R. solani*.

O micoparasitismo de patógenos pelo endofítico pode ser direto, por meio de enrolamento e/ou penetração de hifas, ou indireto, sem contato físico, por produção de enzimas como quitinase, proteases, glucanases e lipases (Chet, 1992). Em ambas as situações o endofítico obtém nutrientes do patógeno pela produção de enzimas líticas e toxinas. Rajani *et al.* (2021) demonstraram o micoparasitismo por enrolamento de hifas de quatro espécies de *Trichoderma* sp. endofíticos de folhas e caules de *Leucas aspera* (Lamiaceae), *Pterocarpus santalinus* (Fabaceae) e *Juniperus lutchuensis* (Cupressaceae) sobre o micélio de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*.

Na indução de resistência o endofítico (agente indutor) secreta diferentes compostos como efetores, metabólitos, enzimas líticas e componentes da parede celular (quitina e  $\beta$ -glucanas) durante o processo de colonização. Esses compostos desencadeiam a formação de um sinal no hospedeiro iniciando a expressão

diferencial de genes, síntese de proteínas e alterações metabólicas específicas, fazendo com que este responda de maneira resistente ao subsequente ataque do patógeno. Essas mudanças no metabolismo da planta alteram a adequação da planta como hospedeira refletindo em um nível reduzido de doença. As respostas de defesa podem incluir o fortalecimento de barreiras estruturais que impedem a penetração de patógenos e/ou a produção de metabólitos antimicrobianos e proteínas que inibem o crescimento dos patógenos (Latz *et al.*, 2018). No trabalho desenvolvido por Sarzi *et al.* (2024), espécies de *Trichoderma* reduziram a severidade da podridão cinzenta do caule (*Macrophomina phaseolina*) na cultura do feijão, por meio da indução de resistência e pela melhoria no enfrentamento de espécies reativas de oxigênio causadas pelo ataque do patógeno, evidenciado pelo aumento na atividade das enzimas superóxido dismutase e guaiacol peroxidase.

### 2.3.3 A importância do gênero *Trichoderma*

O gênero *Trichoderma* é um grupo heterogêneo de fungos filamentosos que tem sido estudado há décadas devido a sua ampla distribuição na natureza e seu potencial como agente de controle biológico. Os membros deste gênero são capazes de colonizar raízes e tecidos vegetais, competir com outros microrganismos por espaço e nutrientes, produzir uma grande variedade de metabólitos secundários como peptídios antifúngicos, ácidos orgânicos, enzimas que degradam a parede celular de patógenos e enzimas hidrolíticas, ou seja, enzimas que catalisam a quebra de moléculas através de uma reação química conhecida como hidrólise, onde a água é usada para romper ligações químicas, além de também induzirem respostas de defesa nas plantas e atuarem como promotores de crescimento (Isaias *et al.*, 2014; Hermosa, 2013; Benítez *et al.*, 2004). Além disso, eles têm a capacidade de crescer em diferentes tipos de substratos e condições ambientais adversas, o que os torna importantes para aplicações biotecnológicas (Silva *et al.*, 2017).

Dentre as espécies descritas até o momento, algumas delas são utilizadas comercialmente como biocontroladores, entre essas espécies destacam-se *T. harzianum*, *T. viride* e *T. atroviride*, que são amplamente utilizados em programas de manejo integrado de doenças (Machado *et al.*, 2012).

As espécies *T. viride*, *T. harzianum*, *T. stromaticum* e *T. virens* controlaram o fungo *Rhizopus stolonifer*, agente causal da podridão floral do maracujazeiro, em

condições de laboratório e campo por meio do micoparasitismo (Bomfim *et al.*, 2010). Amorim, Orlandelli e Pamphile (2019) relatam a utilização de fungos endofíticos do gênero *Trichoderma* para o controle de patógenos do cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.). Já Sbravatti Júnior *et al.* (2013) demonstraram o controle de *B. cinerea* em *Eucalyptus benthamii* com a utilização de espécies de *Trichoderma* endofíticos isolados de discos foliares.

Estudos têm investigado outras possíveis aplicações para o *Trichoderma*, como produção de enzimas industriais (Gasparotto *et al.*, 2015), biorremediação de solos contaminados (Pessôa, 2021; Thapa *et al.*, 2020; Colla *et al.*, 2008) e até mesmo o uso como agente de biocontrole de insetos (Poveda, 2021).

No Brasil, atualmente, estão registradas 26 cepas de *Trichoderma* spp. para controle de *Sclerotinia sclerotiorum* (Mofo branco), *Fusarium* spp. (Fusariose), *Macrophomina phaseolina* (Podridão cinzenta do caule), *Phytophthora sojae* (Podridão radicular), *Rhizoctonia solani* (Tombamento), *Colletotrichum lindemuthianum* (Antracnose), *Ceratocystis paradoxa* (Podridão-abacaxi), *Thielaviopsis paradoxa* (Podridão negra), *Moniliophthora perniciosa* (Vassoura de bruxa), *Stenocarpella maydis* (Podridão branca das espigas) em culturas com ocorrência de tais doenças (Agrofit, 2024). De modo geral, essas cepas têm demonstrado potencial antagônico principalmente contra patógenos radiculares, assim, obter isolados endofíticos por meio da prospecção em diferentes partes das plantas como flores, frutos e folhas pode contribuir para aumentar a variedade e o espectro de ação desses microrganismos utilizados no controle biológico.

#### 2.3.4 *Trichothecium roseum*

Alguns isolados de *Trichothecium roseum* podem apresentar atividade antagônica contra *M. fructicola* (Negri; May De Mio; Wordell Filho, 2010; Moreira *et al.*, 2008). Esse potencial antagônico está relacionado à produção de metabólitos secundários e à capacidade de competir por recursos e espaço, o que torna *T. roseum* uma espécie promissora para o controle biológico de alguns patógenos (Zhang *et al.*, 2010).

A atividade antagônica vem sendo testada desde 1997 para o controle da podridão parda do pessegueiro em sistemas integrados de produção. Este isolado foi testado em estudos laboratoriais e no controle de doenças pós-colheita (Moreira *et al.*,

2002) e em avaliações de campo (Negri *et al.*, 2011; Moreira *et al.*, 2008) com resultados promissores para uso em sistemas orgânicos de produção, reduzindo a podridão parda na colheita e pós colheita e também a incidência de inóculo em flores.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Epidemiologia para Manejo Integrado de Doenças de Plantas (LEMID), localizado no Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (SCA-UFPR).

#### 3.1 LOCAL E ORIGEM DOS ISOLADOS

Para a realização dos testes de atividade antagônica foram utilizados dois fenótipos de *Monilinia fructicola*, sensível (S190) e resistente (S55) a tiofanato-metilico (MBC), tebuconazol (DMI) e azoxistrobina (QoI) identificados e armazenados no LEMID. Os isolados antagônicos utilizados são espécies de *Trichoderma* provenientes de solo (I 53, I 54, I 55, I 56) já identificados como *T. asperelloides*, *T. afroharzianum* e *T. zelobreve*; e isolados endofíticos obtidos de folhas, flores e frutos (Pp.PR22.44, Pp.PR22.45, VI.PR23.48, VI.PR23.49, Vv.PR23.50, VI.PR23.51, VI.PR23.52 e VI.PR23.57) ainda não identificados molecularmente (TABELA 1 e FIGURA 1).

TABELA 1 – PROCEDÊNCIA DOS ISOLADOS ENDOFÍTICOS.

Isolados	Código de Armazenamento	Hospedeiro	Procedência	Origem	Ano de obtenção
<b>Isolado padrão biológico</b>					
UFPR-F4	UFPR – F4	Pêssego	-	-	2007
<b>Isolados endofíticos</b>					
I 44	Pp.PR22.44	Pêssego	Flor	Paraná	2022
I 45	Pp.PR22.45	Pêssego	Flor	Paraná	2022
I 48	VI.PR23.48	Uva	Folha	Paraná	2023
I 49	VI.PR23.49	Uva	Folha	Paraná	2023
I 50	Vv.PR23.50	Uva	Folha	Paraná	2023
I 51	VI.PR23.51	Uva	Folha	Paraná	2023
I 52	VI.PR23.52	Uva	Fruto	Paraná	2023
I 57	VI.PR23.57	Uva	Folha	Paraná	2023
<b>Isolados de solo já identificados</b>					
I 53	Cs.SP21.14	Laranja	Solo	São Paulo	2021
I 54	Zm.PR21.25	Milho	Solo	Paraná	2021
I 55	NF.BA20.5	Floresta Nativa	Solo	Bahia	2020
I 56	NF.BA20.9	Floresta Nativa	Solo	Bahia	2020

FONTE: A autora (2024).

### 3.2 PRODUÇÃO DOS ISOLADOS ANTAGÔNICOS PARA ENSAIOS *in vitro* E PARA ENSAIO EM FRUTOS MUMIFICADOS DE PÊSSEGOS

Para os ensaios *in vitro* (itens 3.3, 3.4, 3.5 e 3.6), culturas fúngicas dos antagonistas (TABELA 1 e FIGURA 1) e de *M. fructicola* foram cultivadas em placas de Petri (Ø 60mm) contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA: 39 g/L) em câmara germinadora SolidSteel (BOD) a 25°C ± 2 com fotoperíodo de 12 horas durante 7 dias.

Para o item 3.7, os antagonistas foram cultivados separadamente em 150g de arroz parboilizado esterilizado. O arroz foi acondicionado em sacos de polietileno de 3 litros, umedecido com 70mL de água destilada e autoclavado por 20 minutos a 120°C. Após esfriar até a temperatura ambiente, cada saco de arroz foi inoculado com 5 discos (Ø 5mm) da colônia fúngica do isolado antagonista cultivado em meio BDA. Os sacos inoculados foram incubados por 7 dias em BOD SolidSteel a 25°C ± 2 com fotoperíodo de 12 horas e homogeneizados a cada 2 dias para garantir a colonização total do arroz. O arroz colonizado foi lavado com solução de Tween 80 a 0,1% e as suspensões obtidas foram calibradas para  $1,01 \times 10^7$  (UFPR-F4);  $1,32 \times 10^8$  (I 45);  $2 \times 10^8$  (I 51);  $2,28 \times 10^8$  (I 52); e  $2,76 \times 10^8$  (I 55) esporos/mL.

FIGURA 1 – COLÔNIAS DOS ISOLADOS ANTAGÔNICOS APÓS 7 DIAS DE CRESCIMENTO.



FONTE: A autora (2024).

### 3.3 AVALIAÇÃO *in vitro* POR CULTURA PAREADA

A atividade de inibição do crescimento micelial foi realizada pelo método de cultura pareada. O ensaio foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), composto por 14 tratamentos, dois fenótipos de *M. fructicola* e quatro repetições. Os tratamentos foram: controle (sem presença de antagonista); padrão biológico UFPR-F4 (*Trichothecium roseum*), já identificado como antagonista (Negri; May De Mio; Wordell Filho, 2010) e 12 tratamentos contendo os isolados antagonísticos de solo, folhas, flores e fruto (TABELA 1).

As culturas fúngicas foram crescidas conforme item 3.2, um disco de micélio ( $\varnothing$  5mm) de *M. fructicola* foi repicado em uma extremidade da placa de Petri contendo meio de cultivo BDA e na extremidade oposta foi repicado um disco ( $\varnothing$  5mm) do fungo biocontrolador (Adaptado de Royse; Ries, 1978). O controle constituiu-se de placas contendo apenas *M. fructicola*, sem a presença de antagonistas. As placas foram identificadas, vedadas e incubadas em BOD SolidSteel com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ . O crescimento dos patógenos foi avaliado após 3 dias.

### 3.4 AVALIAÇÃO *in vitro* DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE COMPOSTOS DIFUSÍVEIS PRODUZIDOS POR ISOLADOS FÚNGICOS ANTAGÔNICOS

Para avaliar a capacidade dos isolados antagonísticos de produzirem compostos difusíveis com atividade inibitória contra *M. fructicola* foi realizado o ensaio antifúngico em papel celofane. O ensaio foi conduzido em DIC conforme descrito no item 3.3.

A superfície das placas de Petri ( $\varnothing$  50mm) contendo meio de cultivo BDA foi revestida com um disco de papel celofane estéril. Discos de micélio ( $\varnothing$  5mm) dos isolados antagonísticos cultivados conforme item 3.2 foram colocados no centro de cada placa com a folha de celofane, contendo BDA, e incubados em BOD SolidSteel por 48 horas a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2$  e fotoperíodo de 12 horas. Em seguida, os papeis juntamente com os micélios dos isolados antagonísticos foram removidos e discos de *M. fructicola* ( $\varnothing$  5mm) foram repicados no centro das mesmas placas. Como controle, placas de BDA onde os isolados antagonísticos não foram cultivados anteriormente foram preparadas nas mesmas condições acima. As placas foram identificadas, vedadas e incubadas em BOD SolidSteel com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ . O crescimento do patógeno foi avaliado após 3 dias (Adaptado de Mayo *et al.*, 2015).

### 3.5 AVALIAÇÃO *in vitro* DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE COMPOSTOS TERMOESTÁVEIS PRODUZIDOS POR ISOLADOS FÚNGICOS ANTAGÔNICOS

O ensaio realizado para avaliar o efeito inibitório de compostos termoestáveis foi conduzido em DIC conforme descrito no item 3.3. Cinco discos ( $\varnothing$  5mm) extraídos das margens de colônias dos isolados antagônicos, cultivados conforme item 3.2, foram transferidos para frascos Erlenmeyer (250mL) contendo 100mL de meio de cultivo Batata-Dextrose (BD: 27 g/L) e permaneceram por 6 dias em câmara de crescimento tipo Conviron CMP6050 sob agitação de 120rpm em agitador Ethik, sem a presença de luz e com temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ . Após 6 dias, as colônias foram filtradas com gaze estéril e autoclavadas a  $120^{\circ}\text{C}$  por 20 minutos (Guimarães *et al.*, 2016). Posteriormente, 1/4 do filtrado de cada isolado foi adicionado a 3/4 de BDA, foram homogeneizados e vertidos em placas de Petri. O controle constituiu-se na adição de 1/4 de BD estéril (sem a presença de antagonista) a 3/4 de BDA. Após a solidificação, um disco de micélio ( $\varnothing$  5mm) de *M. fructicola* foi depositado no centro da placa de Petri (Agrawal *et al.*, 1977). As placas foram identificadas, vedadas e incubadas em BOD SolidSteel com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ . O crescimento do patógeno foi avaliado após 3 dias.

### 3.6 AVALIAÇÃO *in vitro* DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE COMPOSTOS VOLÁTEIS PRODUZIDOS POR ISOLADOS FÚNGICOS ANTAGÔNICOS

Para avaliar a capacidade dos isolados antagônicos de produzirem compostos voláteis com atividade inibitória contra *M. fructicola* foi realizado o ensaio antifúngico utilizando placas de Petri bipartidas. O ensaio foi conduzido em DIC conforme descrito no item 3.3.

Um disco de micélio ( $\varnothing$  5mm) extraído das margens das colônias dos isolados antagônicos, cultivados conforme item 3.2, foi transferido para o centro de um dos compartimentos de uma placa de Petri bipartida ( $\varnothing$  90mm), contendo meio de cultivo BDA. No outro compartimento da placa, foi adicionado um disco de micélio ( $\varnothing$  5mm) extraído das margens das colônias de *M. fructicola* (Adaptado de Le *et al.*, 2022). O controle constituiu-se de placas contendo apenas *M. fructicola*, sem a presença de

antagonistas. As placas foram identificadas, vedadas e incubadas em BOD SolidSteel com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ . O crescimento do patógeno foi avaliado após 3 dias.

### 3.7 EFEITO DOS ISOLADOS *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum* NA REDUÇÃO DO INÓCULO DE *M. fructicola* EM FRUTOS DE PÊSSEGO MUMIFICADOS

O ensaio foi conduzido em DIC, composto por 8 tratamentos e 4 repetições. Cada repetição composta por 2 múmias. Os tratamentos foram: 1) controle (múmias sem tratamento); 2) padrão químico (Delan®); 3) *T. roseum* termoestável; e suspensões dos isolados antagônicos 4) *T. roseum*; 5) I 45; 6) I 51; 7) I 52; e 8) I 55. As suspensões referem-se a isolados de *Trichoderma* spp. prospectados de flor de pêssigo (I 45); folha de uva (I 51); baga de uva (I 52) e do solo (I 55). O ensaio foi realizado em duplicata e as múmias foram coletadas do solo. Para o primeiro ensaio, os frutos de pêssigo mumificados foram coletados em maio/2024 em um pomar de pêssigo localizado no município da Araucária – PR ( $25^{\circ}33'4,29''\text{S}$ ;  $49^{\circ}28'37,18''\text{O}$ ), para o segundo ensaio, os frutos mumificados foram coletados em junho/2023 em Canguçu – RS ( $31,541383^{\circ}\text{S}$ ;  $52,680876^{\circ}\text{O}$ ), Morro Redondo – RS ( $31,576555^{\circ}\text{S}$ ;  $52,660997^{\circ}\text{O}$ ) e Pelotas – RS ( $31,525555^{\circ}\text{S}$ ;  $52,435645^{\circ}\text{O}$ ) e ficaram armazenados em ambiente refrigerado no LEMID até a data da condução do ensaio (setembro/2024).

As múmias foram tratadas borrifando os tratamentos por toda sua superfície até o ponto de escorrimento. Após o tratamento, 2 múmias foram dispostas em caixas tipo Gerbox de poliestireno, de dimensões 11 x 11 x 3,5cm, contendo um papel filtro umedecido. No primeiro ensaio as caixas com as múmias foram acondicionadas em ambiente controlado a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2$  por 7 dias para estabelecimento dos antagonistas, após esse período, foram colocadas em temperatura ambiente por aproximadamente 45 dias. No segundo ensaio as caixas com as múmias foram acondicionadas em ambiente controlado a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2$  por 14 dias.

Após o período de armazenamento da múmia tratada, simulando o período em campo antes da floração, foi realizada a avaliação para verificar o efeito da colonização dos antagonistas sob os tecidos mais internos da múmia. Para isso retirou-se um segmento de aproximadamente 3mm de cada múmia com auxílio de

uma pinça esterilizada e este foi depositado sob a superfície de um pêssigo em conserva disposto em um recipiente plástico de 50mL. Para cada múmia foram utilizados 2 pedaços de pêssigo da marca Schramm®. Os recipientes com o pêssigo e com os segmentos de múmias foram acondicionados em potes de plástico (Plaszom 02; Ø 14cm), estes foram incubados em câmara germinadora SolidSteel (BOD) a 25°C ± 2 com fotoperíodo de 12 horas (Adaptado de Mengatto, 2024). Para o primeiro ensaio, a avaliação foi realizada no terceiro dia avaliando-se a incidência pela presença ou ausência de lesão típica de podridão parda e/ou lesões típicas de outros fungos. Para o segundo ensaio foram realizadas duas avaliações, uma no terceiro dia e uma no sexto dia.

### 3.8 ANALISE ESTATÍSTICA

Todos os ensaios foram realizados em duplicata. A avaliação foi realizada após 3 dias da instalação dos experimentos obtendo-se 3 medidas diametralmente opostas para o item 3.3 e 2 medidas diametralmente opostas para os itens 3.4, 3.5 e 3.6 com auxílio de um paquímetro digital Vonder® (Adaptado de Royse; Ries, 1978). Para a análise estatística dos dados, adotou-se um arranjo fatorial 14 x 2 (14 tratamentos compostos por diferentes antagonistas x 2 fenótipos de *M. fructicola* (sensível e resistente aos fungicidas)). Os dados foram submetidos a ANOVA 5%, quando apresentado diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Para análise dos dados utilizou-se o programa estatístico RStudio® (R Core Team, 2022).

## 4 RESULTADOS

### 4.1 ENSAIOS *in vitro*

Todos os isolados testados em cultivo pareado e para ambos os experimentos reduziram crescimento micelial de *M. fructicola* (TABELA 2 e GRÁFICO 1). No primeiro ensaio não houve interação significativa entre o fenótipo de *M. fructicola* com resistência e sensibilidade. No segundo ensaio houve interação entre o fenótipo de *M. fructicola* sensível e resistente aos fungicidas (TABELA 2). Os antagonistas I 48, I 49, I 52, I 53 e I 54 reduziram o crescimento micelial do isolado sensível quando comparado ao resistente; os demais tratamentos não apresentaram diferença estatística entre os isolados com sensibilidade e resistência aos fungicidas (TABELA 2, GRÁFICO 1 e FIGURA 2).

No primeiro ensaio, com exceção do padrão biológico (UFPR-F4) e do antagonista I 44, todos os demais tratamentos foram capazes de reduzir o crescimento micelial de *M. fructicola*, com diâmetro variando 5,4 a 7,2mm, apresentando inibição do crescimento micelial (ICM) superior a 50% (TABELA 2, GRÁFICO 1 e FIGURA 6). No segundo ensaio, para o isolado sensível, 3 antagonistas (I 48, I 49 e I 56) reduziram do crescimento micelial, com diâmetros de 5,3; 5,7 e 6,4mm, respectivamente, indicando que houve ICM de 66, 63 e 59% (FIGURA 6); para o isolado resistente, 7 antagonistas (I 44, I 45, I 49, I 50, I 51, I 57 e I 56) reduziram o crescimento micelial, com diâmetro variando de 6,8 a 8,4mm e ICM entre 45 e 56% (TABELA 2, GRÁFICO 1, FIGURA 2 e FIGURA 6).

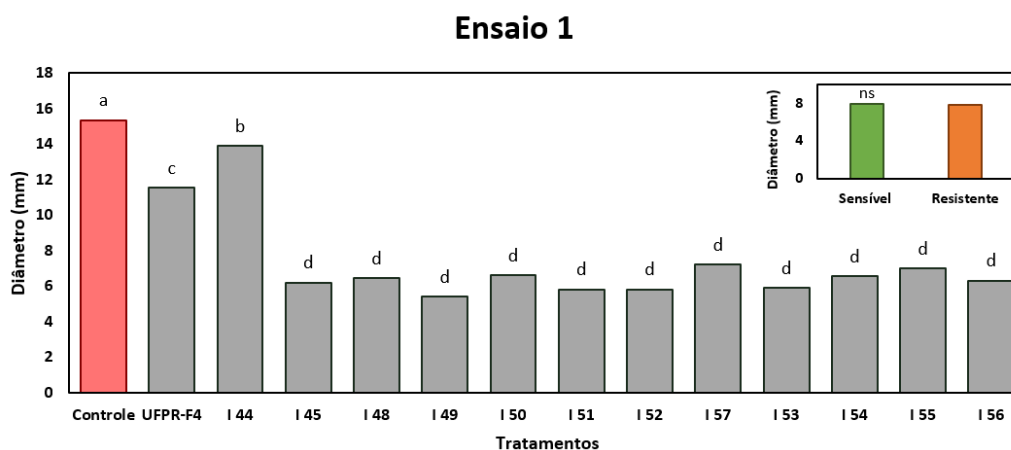
TABELA 2 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM CULTURA PAREADA COM ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum*.

Tratamentos	Isolados - Ensaio 1			Isolados - Ensaio 2			
	S	R	média	S	R	média	
PB <sup>1</sup>	Controle	15,6	15,1	15,4 a	15,6 aA	15,3 aA	15,5
	UFPR-F4	12,2	10,9	11,6 c	13,2 bA	13,1 bA	13,2
Isolados endofíticos	I 44	14,5	13,3	13,9 b	7,3 cA	7,9 dA	7,6
	I 45	6,5	5,9	6,2 d	6,9 cA	7,5 dA	7,2
	I 48	5,9	7	6,5 d	5,3 dB	8,7 cA	7
	I 49	5,8	5	5,4 d	5,7 dB	7,8 dA	6,8
	I 50	6,8	6,4	6,6 d	8,5 cA	7,3 dA	7,9
	I 51	6,5	5,1	5,8 d	7 cA	8 dA	7,5
	I 52	5,5	6,1	5,8 d	7,2 cB	9,1 cA	8,2
	I 57	6,9	7,5	7,2 d	8,4 cA	8,4 dA	8,4
Isolados de solo	I 53	6,2	5,6	5,9 d	7,2 cB	10,6 cA	8,9
	I 54	6,6	6,5	6,6 d	6,8 cB	10 cA	8,4
	I 55	6,1	7,9	7 d	7,5 cA	8,7 cA	8,1
	I 56	6,1	6,5	6,3 d	6,4 dA	6,8 dA	6,6
<b>média</b>	7,9	7,8 <sup>ns2</sup>		8,1	9,2		

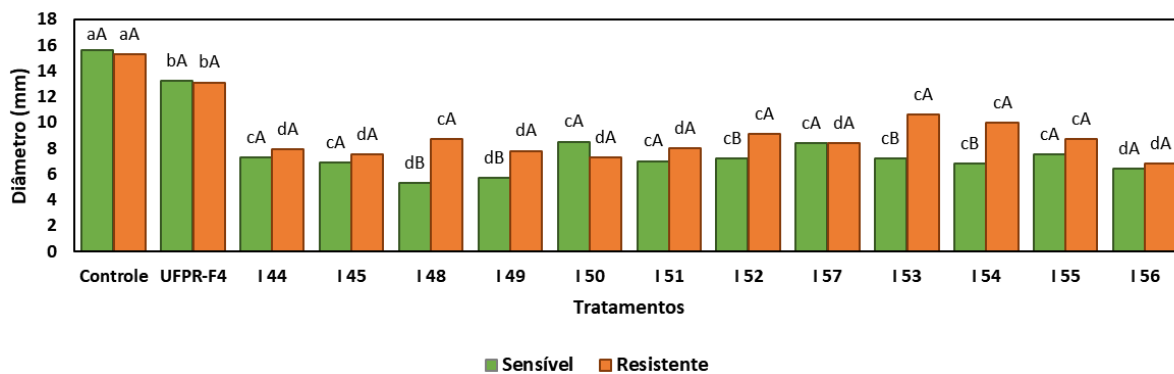
FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: Médias com letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferiram entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). <sup>1</sup>PB: Padrão Biológico; <sup>2</sup>ns: não significativo.

GRÁFICO 1 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM CULTURA PAREADA COM ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum*.



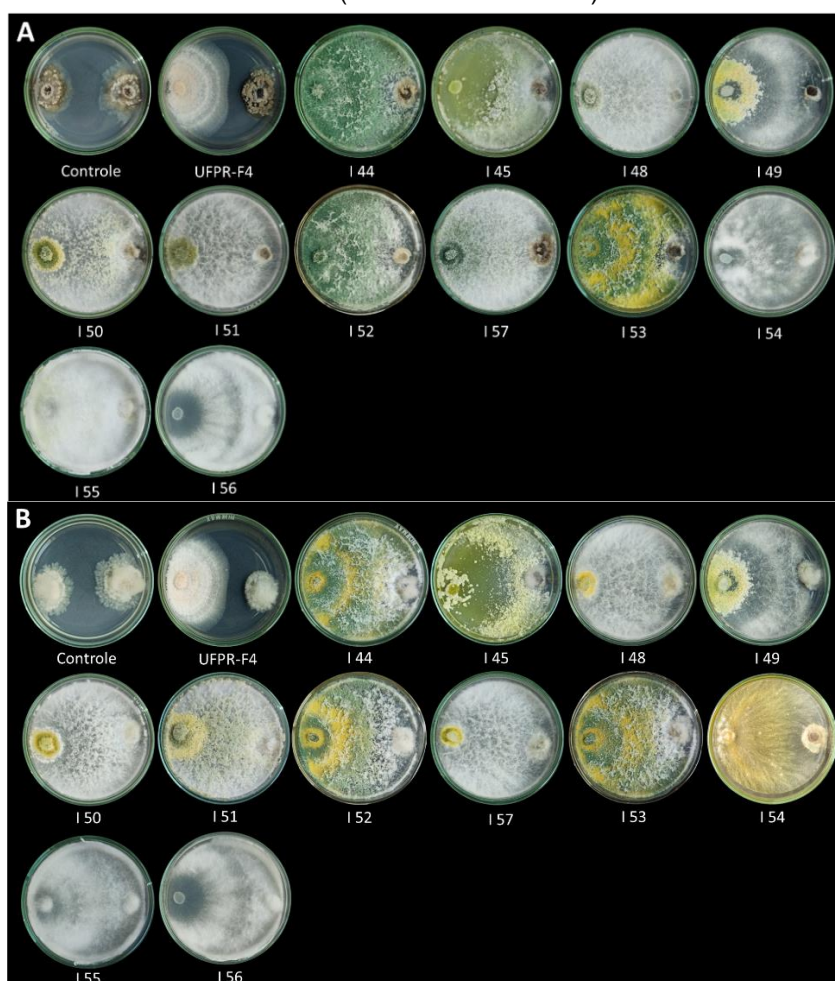
## Ensaio 2



FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: Médias com letras iguais não diferiram entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). ns: não significativo.

FIGURA 2 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM CULTURA PAREADA COM ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum* (SEGUNDO ENSAIO).



FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: (A) *Monilinia fructicola* sensível a tiofanato-metílico, tebuconazol e azoxistrobina; (B) *Monilinia fructicola* resistente a tiofanato-metílico, tebuconazol e azoxistrobina.

No primeiro ensaio em relação a produção de compostos difusíveis não houve interação significativa entre os fenótipos de *M. fructicola* com resistência e sensibilidade e não houve diferença estatística entre o crescimento micelial do isolado sensível e do isolado resistente (TABELA 3 e GRÁFICO 2). No segundo ensaio houve interação entre os fenótipos de *M. fructicola* sensível e resistente aos fungicidas e os antagonistas I 44, I 48, I 49, I 50, I 51, I 57, I 53, I 54, I 55 e I 56 reduziram o crescimento micelial do isolado sensível quando comparado ao resistente (TABELA 3, GRÁFICO 2 e FIGURA 3).

Quanto aos tratamentos, no primeiro ensaio, estatisticamente nenhum antagonista foi capaz de reduzir o crescimento micelial de *M. fructicola* (TABELA 3 e GRÁFICO 2). No segundo ensaio, para o isolado sensível, 7 tratamentos (I 48, I 49, I 50, I 53, I 54, I 55 e I 56) reduziram o crescimento micelial, com diâmetro entre 13,1 e 17,2mm, o controle apresentou crescimento micelial de 20,1mm; para o isolado resistente não houve diferença estatística entre os antagonistas e o controle (TABELA 3, GRÁFICO 2 e FIGURA 3).

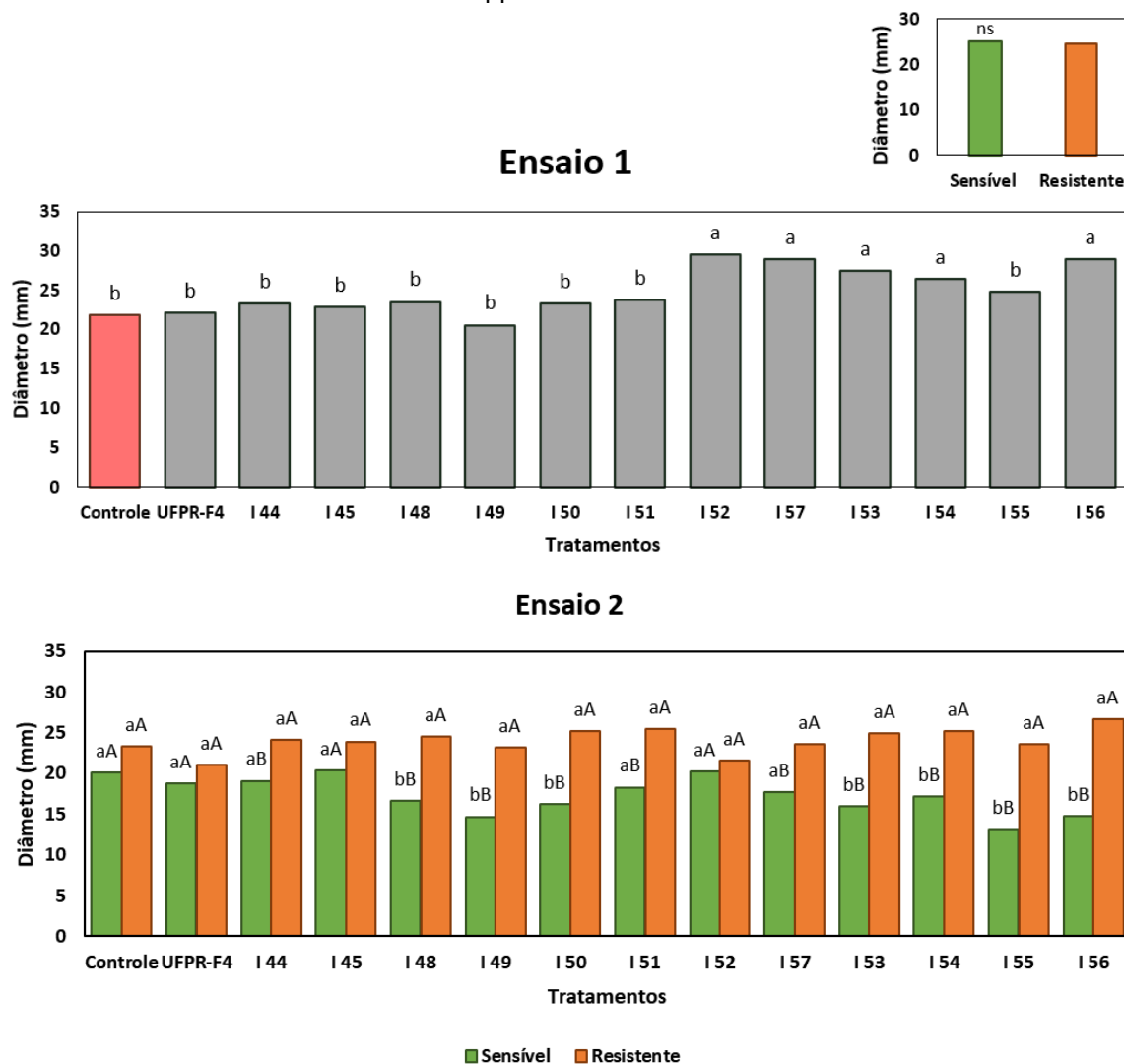
TABELA 3 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM RELAÇÃO À PRODUÇÃO DE COMPOSTOS DIFUSÍVEIS POR ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum*.

Tratamentos	Isolados - Ensaio 1			Isolados - Ensaio 2			
	S	R	média	S	R	média	
PB <sup>1</sup>	Controle	22,8	20,8	21,8 b	20,1 aA	23,3 aA	21,7
	UFPR-F4	22	22,4	22,2 b	18,8 aA	21 aA	19,9
Isolados endofíticos	I 44	25,9	20,7	23,3 b	19,1 aB	24,1 aA	21,6
	I 45	22	23,7	22,9 b	20,4 aA	23,9 aA	22,2
	I 48	24,2	22,9	23,6 b	16,6 bB	24,5 aA	20,6
	I 49	18,7	22,5	20,6 b	14,7 bB	23,2 aA	19
	I 50	23,8	22,9	23,4 b	16,2 bB	25,2 aA	20,7
	I 51	23,7	23,8	23,8 b	18,3 aB	25,4 aA	21,9
	I 52	29,5	29,5	29,5 a	20,2 aA	21,6 aA	20,9
Isolados de solo	I 57	29,9	27,9	28,9 a	17,7 aB	23,6 aA	20,7
	I 53	28,1	26,8	27,5 a	16 bB	24,9 aA	20,5
	I 54	27,6	25,2	26,4 a	17,2 bB	25,2 aA	21,2
	I 55	26,6	23	24,8 b	13,1 bB	23,6 aA	18,4
	I 56	27,1	30,8	29 a	14,8 bB	26,7 aA	20,8
	<b>média</b>	25,1	24,5 <sup>ns2</sup>		17,4	24	

FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: Médias com letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferiram entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). <sup>1</sup>PB: Padrão Biológico; <sup>2</sup>ns: não significativo.

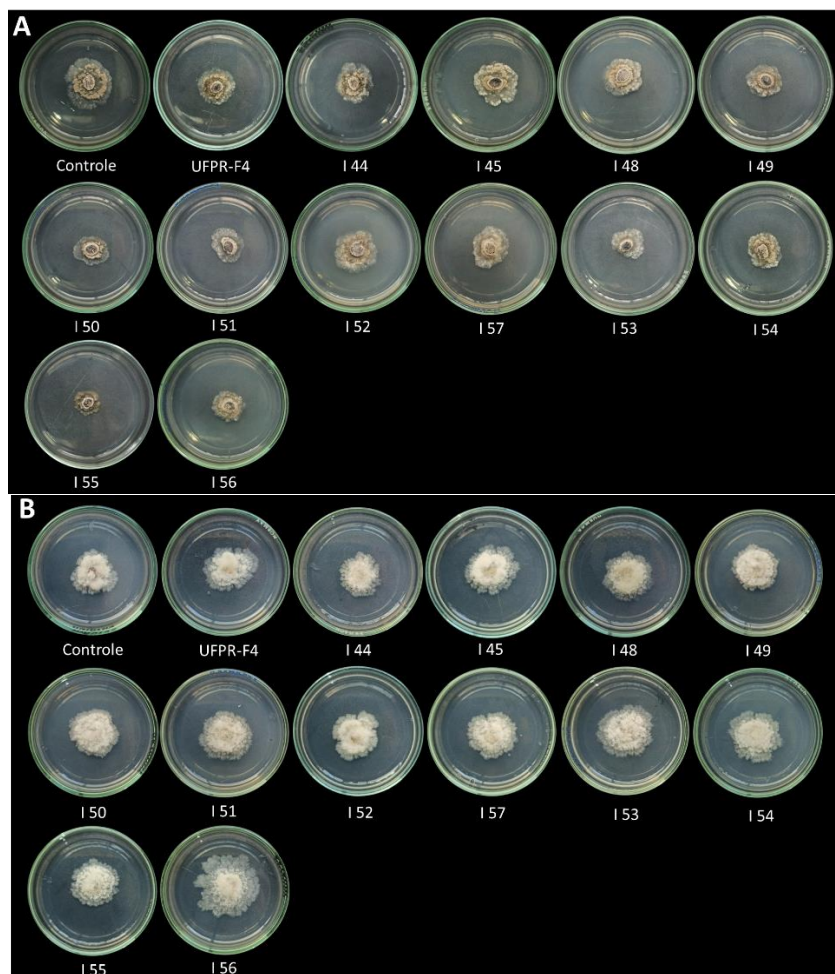
GRÁFICO 2 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM RELAÇÃO À PRODUÇÃO DE COMPOSTOS DIFUSÍVEIS POR ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum*.



FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: Médias com letras iguais não diferiram entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). ns: não significativo.

FIGURA 3 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM RELAÇÃO À PRODUÇÃO DE COMPOSTOS DIFUSÍVEIS POR ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum* (SEGUNDO ENSAIO).



FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: (A) *Monilinia fructicola* sensível a tiofanato-metílico, tebuconazol e azoxistrobina; (B) *Monilinia fructicola* resistente a tiofanato-metílico, tebuconazol e azoxistrobina.

No primeiro ensaio não houve interação significativa na produção de compostos termoestáveis entre os fenótipos de *M. fructicola* com resistência e sensibilidade; o isolado sensível apresentou maior crescimento micelial em relação ao isolado resistente (TABELA 4 e GRÁFICO 3). No segundo ensaio houve interação entre os fenótipos de *M. fructicola* sensível e resistente ao fungicida, o controle e os antagonistas I 44, I 52 e I 54 apresentaram menor crescimento micelial para o isolado sensível quando comparado ao resistente, já o isolado I 49 reduziu o crescimento do isolado resistente (TABELA 4, GRÁFICO 3 e FIGURA 4).

Em relação aos tratamentos, nos dois ensaios o padrão biológico (UFPR-F4) apresentou o melhor resultado de redução do crescimento micelial, com ICM variando de 67 a 79% e alguns tratamentos diferiram da testemunha, porém com pouco efeito

quando comparado ao padrão biológico UFPR-F4 (TABELA 4, GRÁFICO 3, FIGURA 4 e FIGURA 6).

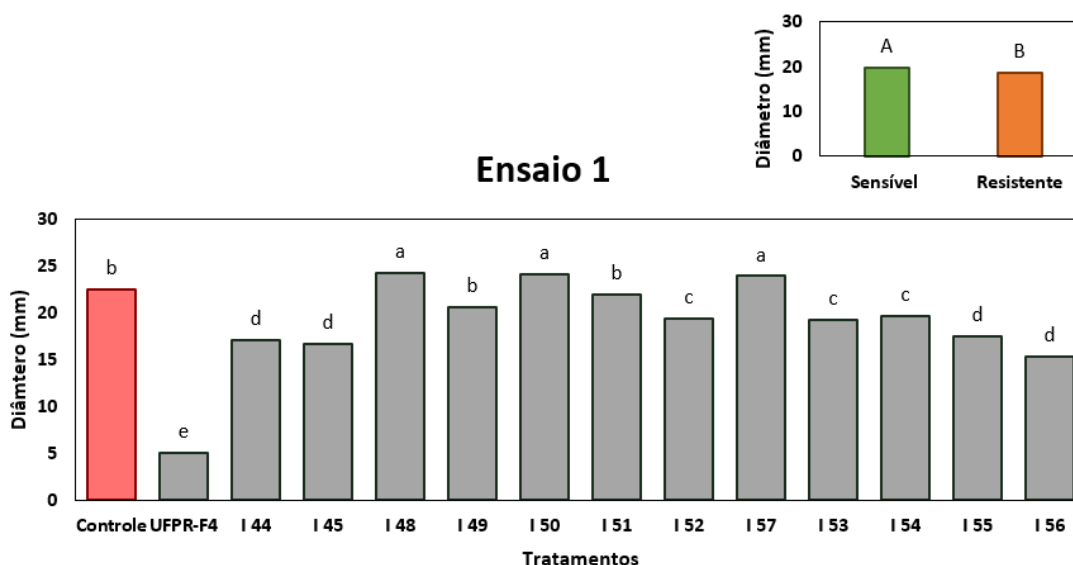
TABELA 4 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM RELAÇÃO À PRODUÇÃO DE COMPOSTOS TERMOESTÁVEIS POR ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum*.

Tratamentos	Isolados - Ensaio 1			Isolados - Ensaio 2			
	S	R	média	S	R	média	
PB <sup>1</sup>	Controle	23,1	21,9	22,5 b	15,2 cB	23,9 aA	19,6
	UFPR-F4	5	5	5 e	5 dA	5 cA	5
Isolados endofíticos	I 44	17,6	16,45	17 d	16 cB	20,9 aA	18,5
	I 45	17,21	16,06	16,6 d	16 cA	19,3 aA	17,7
	I 48	24,9	23,7	24,3 a	22,3 bA	20,1 aA	21,2
	I 49	21,2	20,1	20,7 b	25,7 aA	21,3 aB	23,5
	I 50	24,7	23,5	24,1 a	22,6 bA	21,6 aA	22,1
	I 51	22,6	21,4	22 b	20,8 bA	19,8 aA	20,3
	I 52	19,9	18,8	19,4 c	18 cB	22,4 aA	20,2
	I 57	24,5	23,3	23,9 a	21 bA	20,2 aA	20,6
Isolados de solo	I 53	19,8	18,7	19,3 c	16,9 cA	17,9 bA	17,4
	I 54	20,2	19	19,6 c	17,2 cB	21,5 aA	19,4
	I 55	18	16,9	17,5 d	16,6 cA	17 bA	16,8
	I 56	15,9	14,8	15,4 d	15,5 cA	15,7 bA	15,6
	<b>média</b>	<b>19,6A</b>	<b>18,5B</b>		<b>17,8</b>	<b>19</b>	

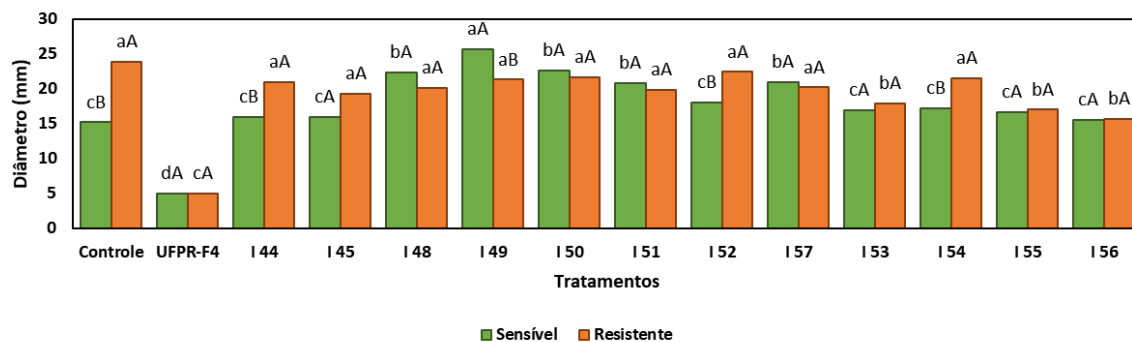
FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: Médias com letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferiram entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). <sup>1</sup>PB: Padrão Biológico.

GRÁFICO 3 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM RELAÇÃO À PRODUÇÃO DE COMPOSTOS TERMOESTÁVEIS POR ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum*.



## Ensaio 2



FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: Médias com letras iguais não diferiram entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

FIGURA 4 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM RELAÇÃO À PRODUÇÃO DE COMPOSTOS TERMOESTÁVEIS POR ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum* (SEGUNDO ENSAIO).



FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: (A) *Monilinia fructicola* sensível a tiofanato-metílico, tebuconazol e azoxistrobina; (B) *Monilinia fructicola* resistente a tiofanato-metílico, tebuconazol e azoxistrobina.

Houve interação entre os fenótipos de *M. fructicola* sensível e resistente ao fungicida nos dois ensaios realizados em relação a produção de compostos voláteis (TABELA 5 e GRÁFICO 4). No primeiro ensaio, o controle e os antagonistas I 45, I 49, I 57 e I 55 apresentaram menor crescimento micelial para o isolado resistente; já os antagonistas I 51 e I 54 reduziram o crescimento micelial do isolado sensível (TABELA 5 e GRÁFICO 4). No segundo ensaio, para 9 antagonistas (I 44, I 48, I 51, I 52, I 57, I 53, I 54, I 55 e I 56) e também no tratamento controle o isolado sensível apresentou maior crescimento quando comparado ao resistente (TABELA 5, GRÁFICO 4 e FIGURA 5).

Quanto aos tratamentos, no primeiro ensaio, os isolados I 48, I 51 e I 54 reduziram o crescimento micelial do isolado sensível; para o isolado resistente, 6 antagonistas (I 44, I 45, I 48, I 49, I 57 e I 55) apresentaram os melhores resultados de redução do crescimento micelial, com diâmetros variando de 11,2 a 15,5mm, o controle apresentou diâmetro de 20,7mm (TABELA 5 e GRÁFICO 4). No segundo ensaio, tanto para o isolado sensível quanto para o isolado resistente, não houve diferença estatística entre os tratamentos (TABELA 5, GRÁFICO 4 e FIGURA 5).

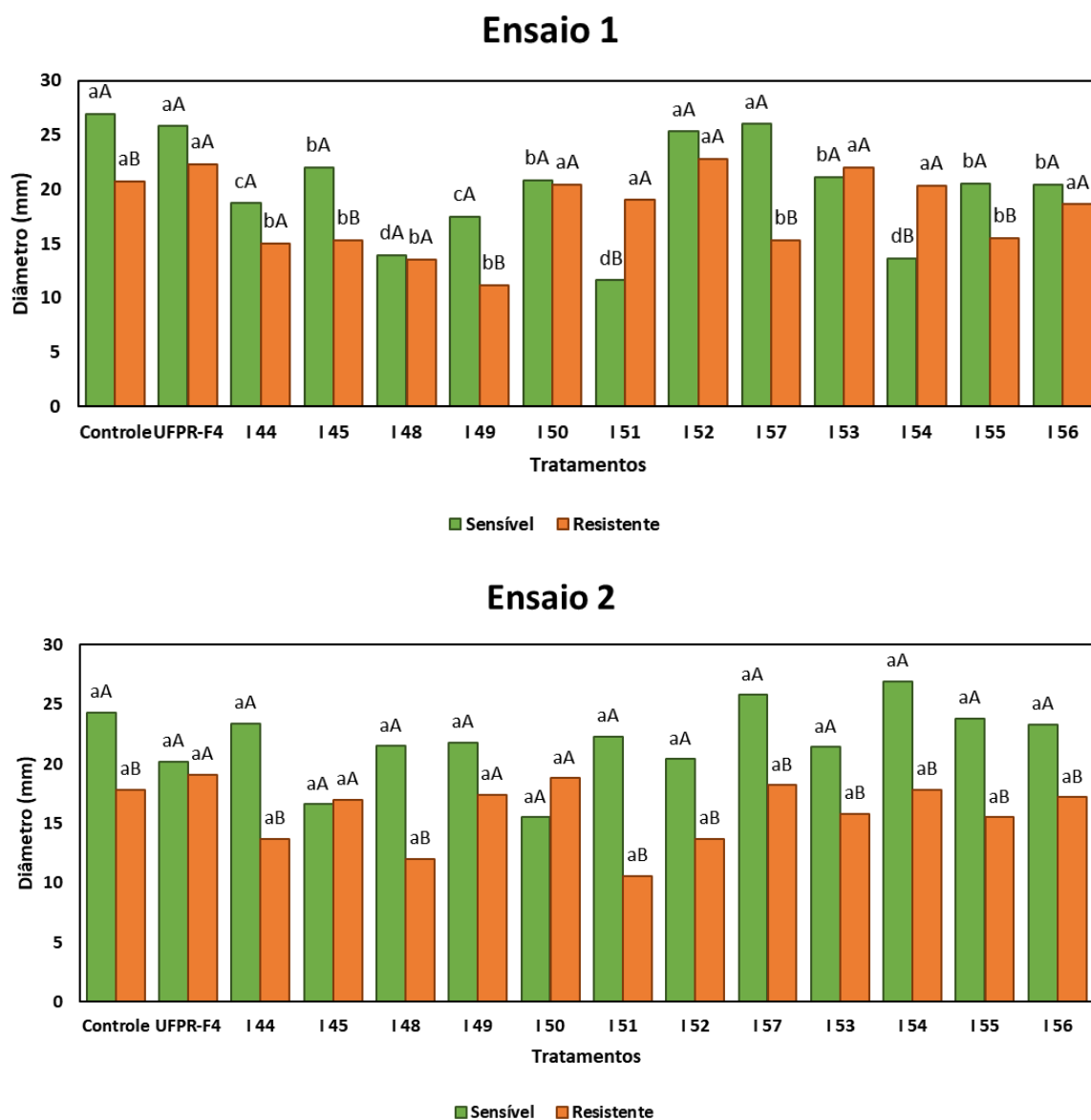
TABELA 5 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM RELAÇÃO À PRODUÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS POR ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum*.

Tratamentos	Isolados - Ensaio 1			Isolados - Ensaio 2			
	S	R	média	S	R	média	
PB <sup>1</sup>	Controle	26,9 aA	20,7 aB	23,8	24,3 aA	17,8 aB	21,1
	UFPR-F4	25,8 aA	22,3 aA	24,1	20,2 aA	19,1 aA	19,7
Isolados endofíticos	I 44	18,7 cA	15 bA	16,9	23,4 aA	13,7 aB	18,6
	I 45	22 bA	15,3 bB	18,7	16,6 aA	17 aA	16,8
	I 48	13,9 dA	13,5 bA	13,7	21,5 aA	12 aB	16,8
	I 49	17,5 cA	11,2 bB	14,4	21,8 aA	17,4 aA	19,6
	I 50	20,8 bA	20,4 aA	20,6	15,5 aA	18,8 aA	17,2
	I 51	11,6 dB	19 aA	15,3	22,3 aA	10,6 aB	16,5
	I 52	25,3 aA	22,8 aA	24,1	20,4 aA	13,7 aB	17,1
	I 57	26 aA	15,3 bB	20,7	25,8 aA	18,2 aB	22
	I 53	21,1 bA	22 aA	21,6	21,4 aA	15,8 aB	18,6
Isolados de solo	I 54	13,6 dB	20,3 aA	17	26,9 aA	17,8 aB	22,4
	I 55	20,5 bA	15,5 bB	18	23,8 aA	15,5 aB	19,7
	I 56	20,4 bA	18,6 aA	19,5	23,3 aA	17,2 aB	20,3
	<b>média</b>	20,3	18		21,9	16	

FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: Médias com letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferiram entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). <sup>1</sup>PB: Padrão Biológico.

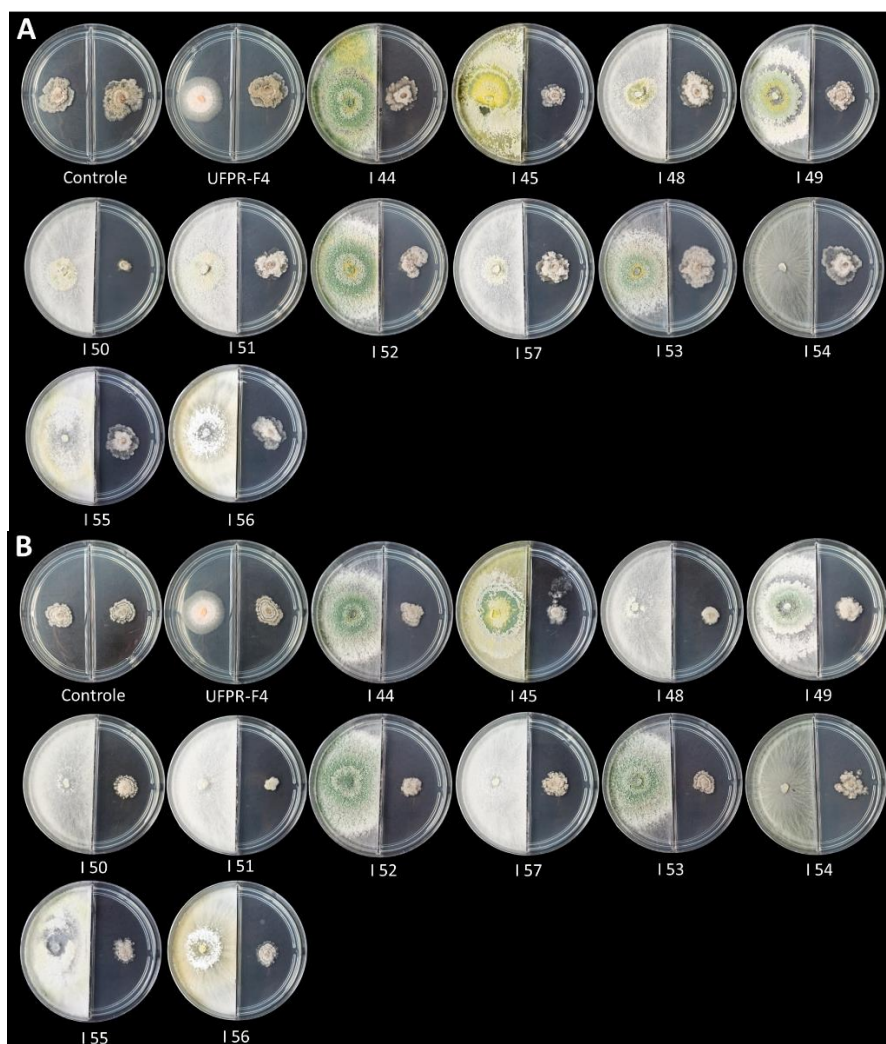
GRÁFICO 4 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM RELAÇÃO À PRODUÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS POR ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum*.



FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: Médias com letras iguais não diferiram entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

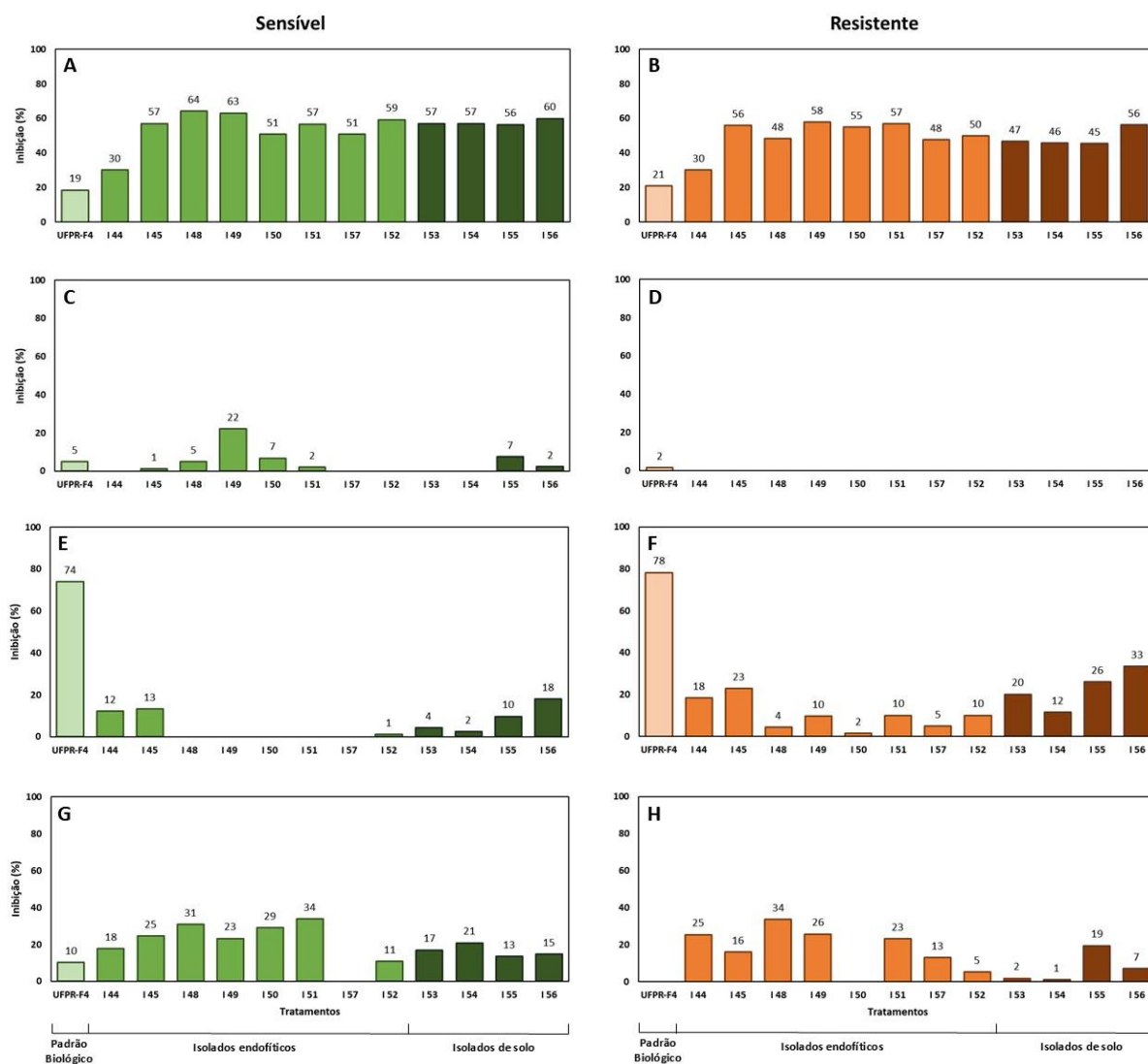
FIGURA 5 – CRESCIMENTO MICELIAL (mm) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS EM RELAÇÃO À PRODUÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS POR ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum* (SEGUNDO ENSAIO).



FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: (A) *Monilinia fructicola* sensível a tiofanato-metílico, tebuconazol e azoxistrobina; (B) *Monilinia fructicola* resistente a tiofanato-metílico, tebuconazol e azoxistrobina.

FIGURA 6 – INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL (%) DE *Monilinia fructicola* SENSÍVEL E RESISTENTE A FUNGICIDAS POR DIFERENTES MECANISMOS DE AÇÃO COM ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum*.



FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: Os resultados referem-se a média entre o Ensaio 1 e o Ensaio 2. (A e B) Ensaio de cultura pareada; (C e D) Ensaio de compostos difusíveis; (E e F) Ensaio de compostos termoestáveis; (G e H) Ensaio de compostos voláteis.

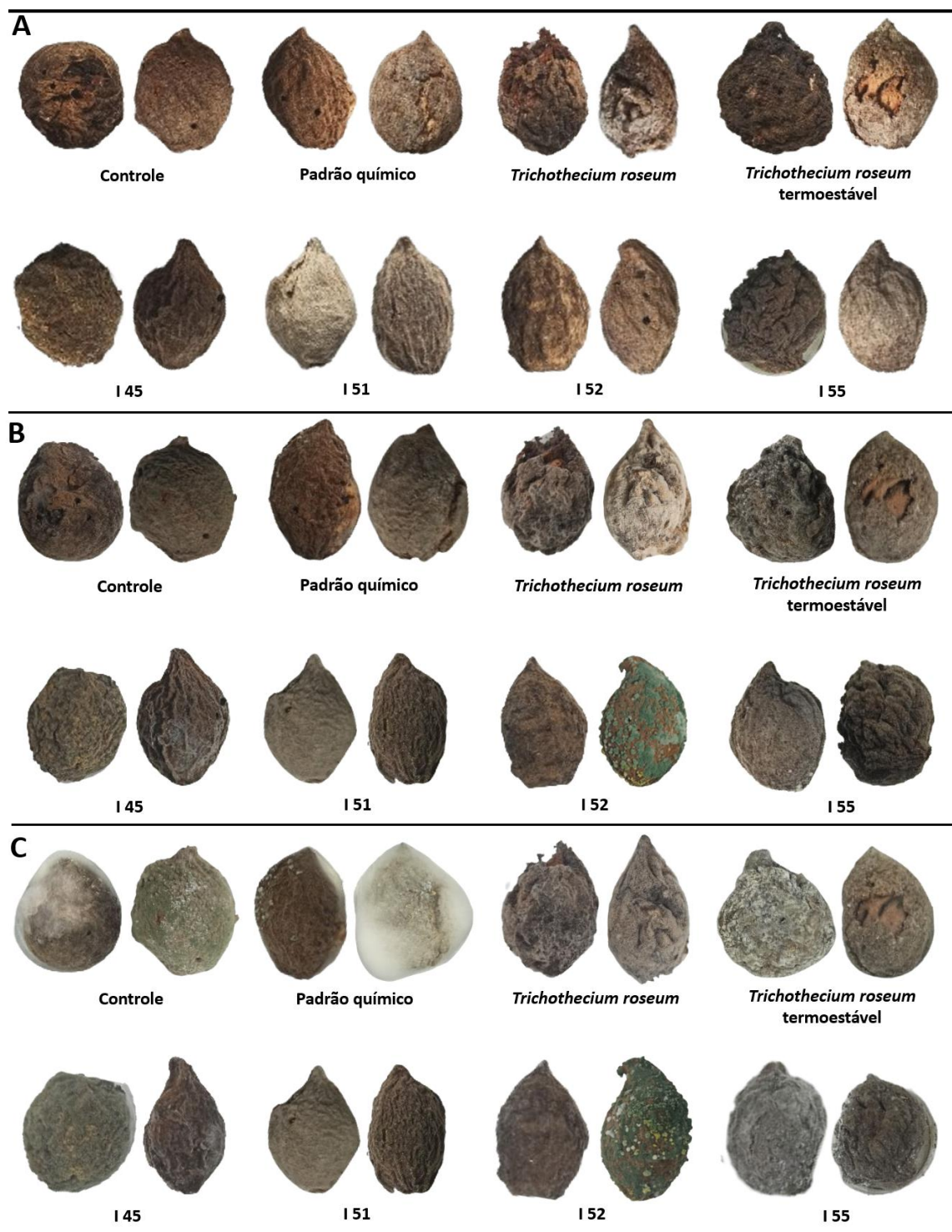
#### 4.2 EFEITO DOS ISOLADOS *Trichoderma* spp. E *Trichothecium roseum* NA REDUÇÃO DO INÓCULO DE *M. fructicola* EM FRUTOS DE PÊSSEGO MUMIFICADOS

Nas múmias tratadas com diferentes biológicos e com fungicida Delan® houve o crescimento de diferentes fungos na superfície, sendo evidente o crescimento de *Trichothecium roseum* e de *Trichoderma* sp. em seus respectivos tratamentos (FIGURA 7).

A incidência de *Monilinia fructicola* em pêssago em conserva no primeiro ensaio foi confirmada apenas no controle; nos demais tratamentos, verificou-se a ocorrência de fungos como *Aspergillus* sp., *Mucor* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. e *Trichoderma* sp., sendo *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. os fungos de maior incidência. A incidência de *Rhizopus* sp. foi maior no controle (81,25%) (FIGURA 8).

No segundo ensaio foram realizadas duas avaliações, no terceiro e no sexto dia após a repicagem dos fragmentos das múmias para os pêssagos em conserva; em ambas as avaliações não surgiu lesão típica de podridão parda, os fungos de maior incidência também foram *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. (FIGURA 9 e FIGURA 11). No sexto dia observa-se uma incidência maior de *Trichoderma* sp. (FIGURA 10 e FIGURA 11).

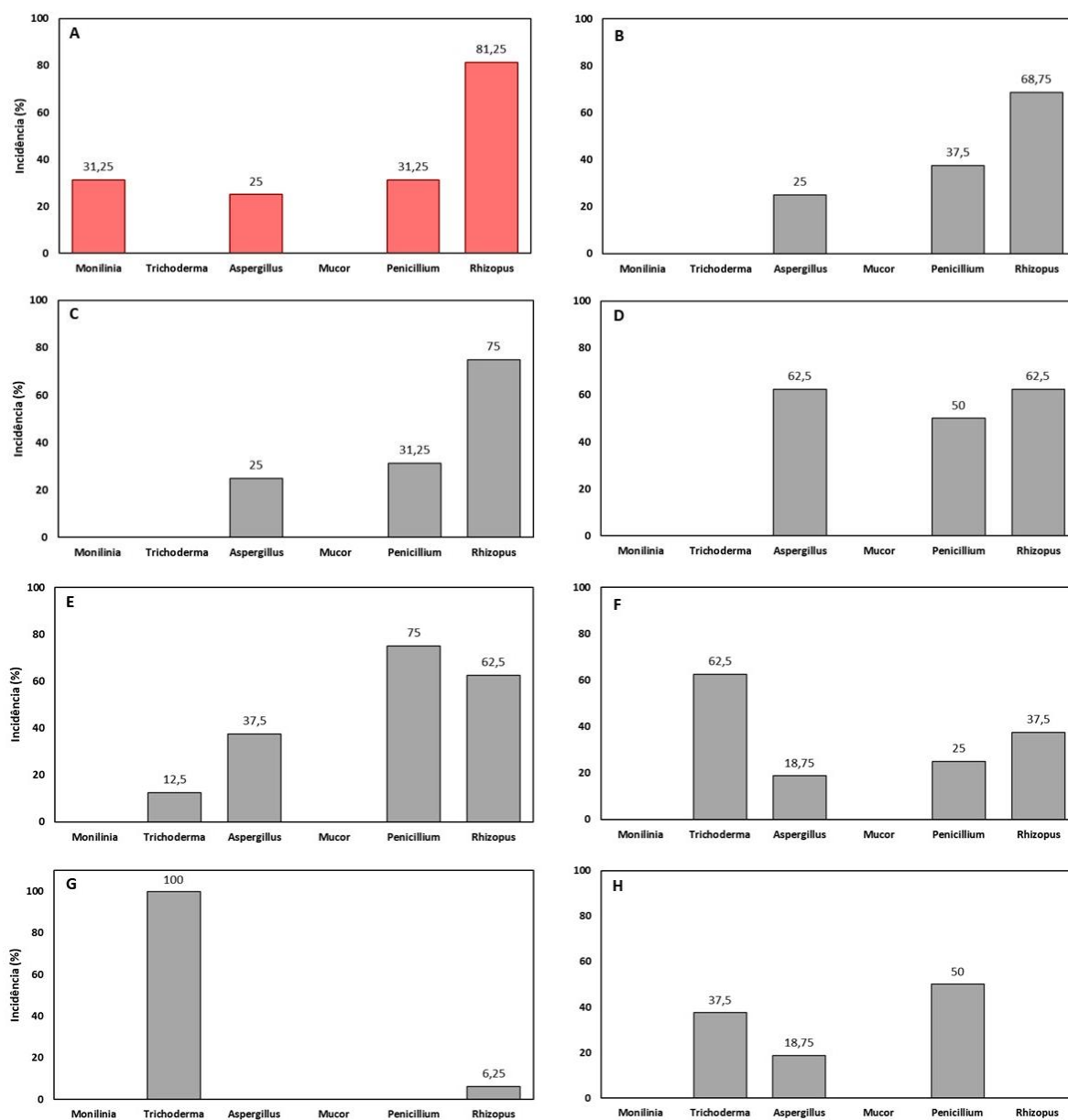
FIGURA 7 – MÚMIAS DE PÊSSEGO TRATADAS COM FUNGICIDA DELAN® E DIFERENTES ANTAGONISTAS FÚNGICOS (ENSAIO 2).



FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: (A) Múmias no dia do tratamento; (B) Múmias 7 dias após o tratamento; (C) Múmias 14 dias após o tratamento.

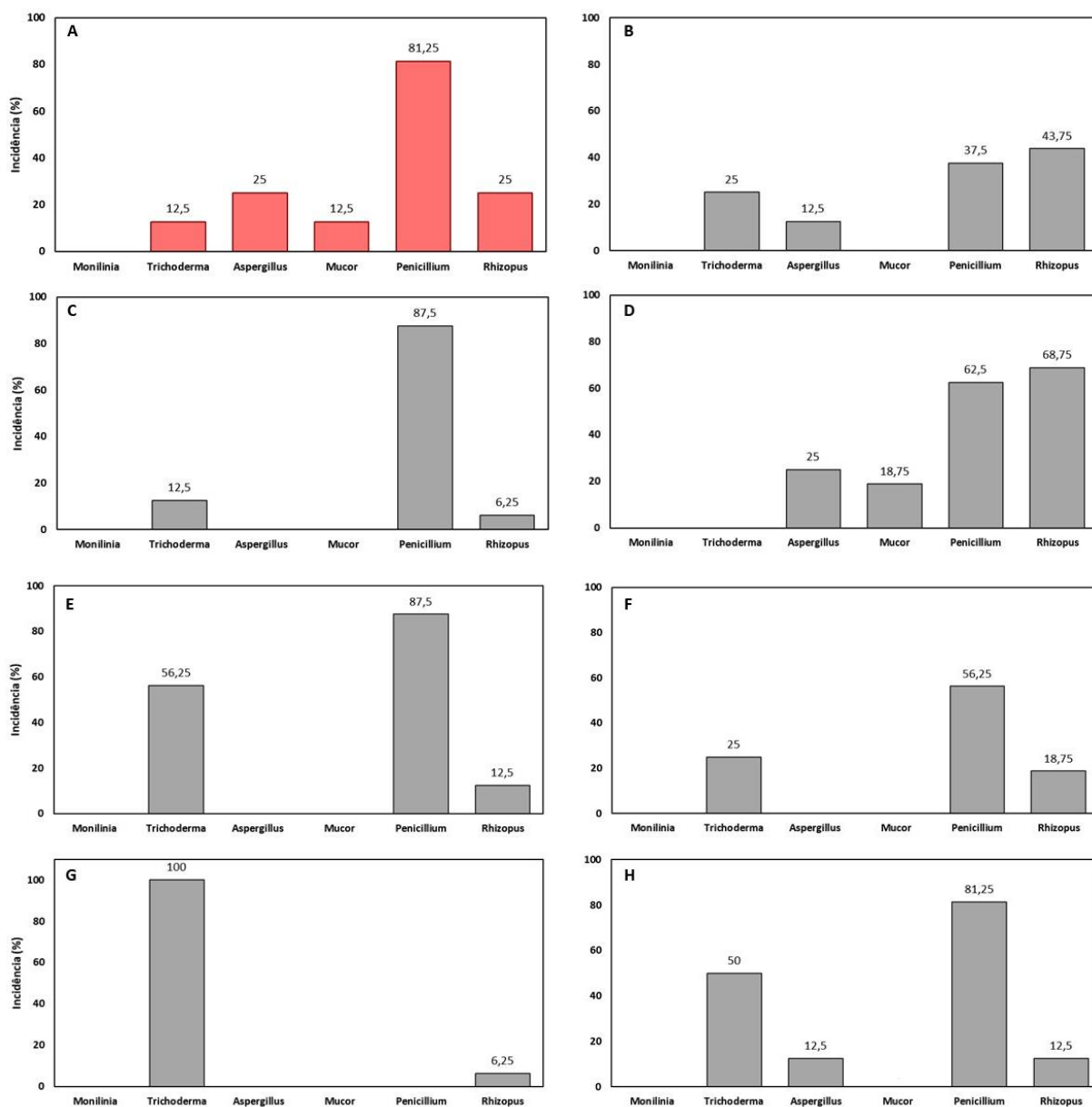
FIGURA 8 – INCIDÊNCIA DE DIFERENTES FUNGOS PROVENIENTES DE MÚMIAS DE PÊSSEGO TRATADOS COM FUNGICIDA DELAN® E DIFERENTES ANTAGONISTAS FÚNGICOS, APÓS 3 DIAS DE CRESCIMENTO EM PÊSSEGO EM CONSERVA (ENSAIO 1).



FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: (A) Controle (múmias sem tratamento); (B) Padrão químico (Delan®); (C) Suspensão de *Trichothecium roseum*; (D) *Trichothecium roseum* termoestável; (E) I 45 (suspensão de *Trichoderma* sp.); (F) I 51 (suspensão de *Trichoderma* sp.); (G) I 52 (suspensão de *Trichoderma* sp.); (H) I 55 (suspensão de *Trichoderma* sp.).

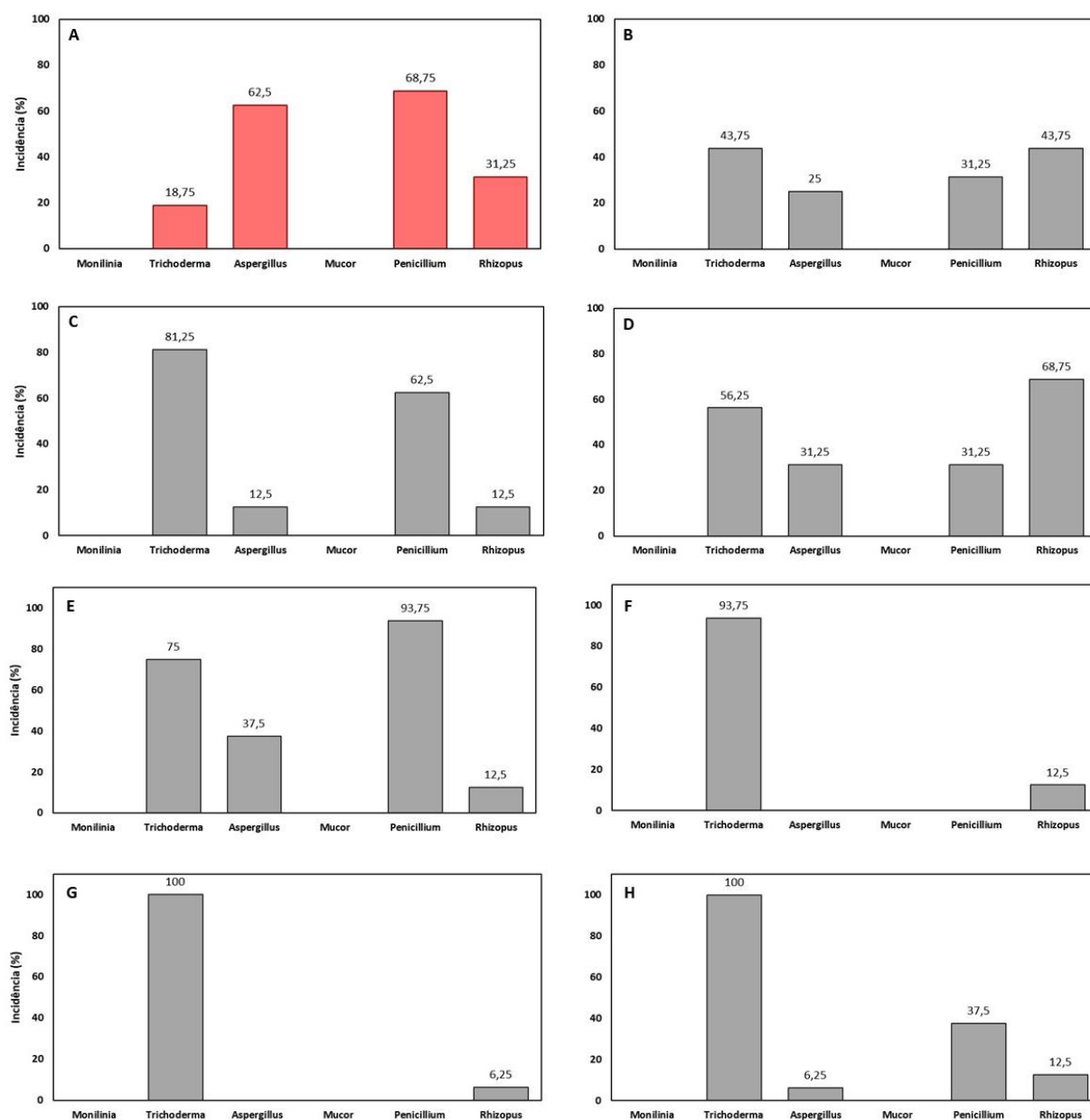
FIGURA 9 – INCIDÊNCIA DE DIFERENTES FUNGOS PROVENIENTES DE MÚMIAS DE PÊSSEGO TRATADOS COM FUNGICIDA DELAN® E DIFERENTES ANTAGONISTAS FÚNGICOS, APÓS 3 DIAS DE CRESCIMENTO EM PÊSSEGO EM CONSERVA (ENSAIO 2).



FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: (A) Controle (múmias sem tratamento); (B) Padrão químico (Delan®); (C) Suspensão de *Trichothecium roseum*; (D) *Trichothecium roseum* termoestável; (E) I 45 (suspensão de *Trichoderma* sp.); (F) I 51 (suspensão de *Trichoderma* sp.); (G) I 52 (suspensão de *Trichoderma* sp.); (H) I 55 (suspensão de *Trichoderma* sp.).

FIGURA 10 – INCIDÊNCIA DE DIFERENTES FUNGOS PROVENIENTES DE MÚMIAS DE PÊSSEGO TRATADOS COM FUNGICIDA DELAN® E DIFERENTES ANTAGONISTAS FÚNGICOS, APÓS 6 DIAS DE CRESCIMENTO EM PÊSSEGO EM CONSERVA (ENSAIO 2).



FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: (A) Controle (múmias sem tratamento); (B) Padrão químico (Delan®); (C) Suspensão de *Trichothecium roseum*; (D) *Trichothecium roseum* termoestável; (E) I 45 (suspensão de *Trichoderma* sp.); (F) I 51 (suspensão de *Trichoderma* sp.); (G) I 52 (suspensão de *Trichoderma* sp.); (H) I 55 (suspensão de *Trichoderma* sp.).

FIGURA 11 – DIFERENTES FUNGOS PROVENIENTES DE MÚMIAS DE PÊSSEGO, TRATADAS COM FUNGICIDA DELAN® E DIFERENTES ANTAGONISTAS FÚNGICOS, CRESCIDOS EM SEGMENTOS DE FRUTOS DE PÊSSEGO EM CONSERVA (ENSAIO 2).



FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: (A) Fungos após 3 dias de crescimento em pêsego em conserva; (B) Fungos após 6 dias de crescimento em pêsego em conserva.

## 5 DISCUSSÃO

Estudos com controle biológico veem sendo discutidos em diversas áreas da agricultura. No presente trabalho, o *Trichothecium roseum*, os isolados de *Trichoderma* spp. endofíticos e os isolados de *Trichoderma* spp. de solo demonstraram potencialidade para o controle de *Monilinia fructicola*. Os isolados testados apresentaram diferentes mecanismos de ação e variações entre o efeito de controle comparando isolado sensível e resistente a fungicidas.

Isolados antagonísticos endofíticos têm apresentado grande potencial de biocontrole, principalmente os pertencentes ao gênero *Trichoderma* (Rajani *et al.*, 2021; Amorim; Orlandelli; Pamphile, 2019; De Silva *et al.*, 2019; Sbravatti Júnior *et al.*, 2013). Card *et al.* (2009) demonstraram a eficiência de *Trichoderma atroviride*, endofítico de folhas de morangueiro, no controle de *B. cinerea*; os mecanismos de ação de *T. atroviride* foram descritos como uma combinação de competição por açúcares, produção de compostos não voláteis e possível micoparasitismo. Wulandari *et al.* (2022) isolaram 11 fungos e 9 bactérias endofíticas de quatro tecidos de rami (*Boehmeria nivea*), incluindo raízes, caules, folhas e flores, com potencial antagonístico por meio de parasitismo, competição e antibiose. Martins *et al.* (2021) relataram a presença de fungos endofíticos presentes em flores de oliveira (*Olea europaea* L.) capazes de atuar na redução da incidência de antracnose nos pomares de oliva.

O efeito no crescimento micelial *in vitro* de antagonistas contra patógenos em geral pode estar relacionada com a competição por nutrientes (Chen *et al.*, 2020) ou com a produção de metabólitos antifúngicos e/ou compostos termoestáveis (Bezerra *et al.*, 2019; Lima *et al.*, 2014; Kupper; Gimenes-Fernandes; Goes, 2003). Sendo assim, a competição e a antibiose são os prováveis mecanismos de ação por meio do qual os antagonistas utilizados nesse trabalho atuam. Além disso, a produção de enzimas degradadoras de parede celular como como b-1,3-glucanase, N acetilglucominidases, lipases, proteases e quitinase por *Trichoderma* sp. são capazes de degradar micélios fúngicos estando relacionadas ao biocontrole realizado por microrganismos antagonísticos (Cheong; Cheow; Ting, 2017; Chet, 1992).

Os resultados *in vitro* também demonstraram que, de modo geral, diferenças foram observadas no controle contrastando o patógeno com resistência e com sensibilidade e tais diferenças variaram entre os antagonistas sem um padrão definido. Segundo Lorito *et al.* (2010), a capacidade de *Trichoderma* spp. produzir

metabólitos secundários e o seu efeito fungicida pode variar entre espécies, entre isolados da mesma espécie, entre suas fontes de isolamento e em função dos compostos antifúngicos secretados. Além disso, em alguns ensaios *in vitro*, os patógenos apresentam maior crescimento micelial na presença dos fungos antagonistas quando comparado ao controle. Uma possibilidade levantada é que, no momento de interação entre os antagonistas endofíticos e o isolado patogênico, a ação de compostos secretadas pelo antagonista pode ter efetuado um efeito sinérgico decorrente da produção de substâncias estimuladoras sobre o fungo patogênico, potencializando seu crescimento (Azevedo, 1998). Gabardo *et al.* (2020) testaram o potencial antagônico de *Bacillus subtilis* e *Trichoderma asperellum* no controle de *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani* e *Colletotrichum dematium* var. *truncata* *in vitro* por meio do pareamento de colônias e da produção de compostos difusíveis. *B. subtilis* e *T. asperellum* controlaram os fitopatógenos, entretanto, da mesma forma como ocorreu neste trabalho, o nível de controle variou, dependendo do isolado e de sua adaptação às condições bióticas e abióticas específicas, dentro e entre espécies.

Em relação a produção de CT, o *Trichothecium roseum* apresentou os melhores resultados de redução do crescimento micelial, evidenciando a produção de composto termoestável. Estudos como de Jayaprakashvel *et al.* (2010) relataram efeitos de metabólitos secundários termoestáveis de *T. roseum* no controle de *Rhizoctonia solani* em arroz. Os autores observaram que os metabólitos MML003 de *T. roseum* eram relativamente estáveis ao calor, de modo que podiam reter sua atividade antifúngica mesmo após a autoclavagem. Bezerra *et al.* (2019) realizaram teste de compostos termoestáveis com espécies endofíticas de *Trichoderma* provenientes de bromélias de restingas para controle de fusariose (*Fusarium gluttiforme*) em frutos de abacaxi, no teste de termoestabilidade os metabólitos de *Trichoderma* spp. mantiveram-se ativos mesmo após autoclavagem e inibiram o crescimento micelial do patógeno, indicando o potencial desses metabólitos antifúngicos, nas condições experimentais utilizadas.

Frutos mumificados de pêssigo atuam como uma das principais fontes de inóculo primário no campo, contribuindo para o ciclo de infecção de patógenos como *Monilinia fructicola*. As múmias, ao permanecerem nos pomares, liberam esporos que podem iniciar novas infecções, especialmente em condições climáticas favoráveis (Agrios, 2005; Bleicher, 1997).

O uso de controladores biológicos no manejo das múmias oferece uma alternativa sustentável e eficaz, reduzindo a utilização de fungicidas químicos e minimizando os impactos ambientais. Além disso, os agentes biológicos podem colonizar os tecidos das múmias, competindo com o patógeno ou produzindo compostos antimicrobianos que inibem seu desenvolvimento. Essa abordagem não só diminui a pressão do inóculo primário, como também ajuda a reduzir a evolução da resistência dos patógenos aos fungicidas, promovendo um manejo integrado mais sustentável e eficiente.

Nos dois ensaios realizados com frutos mumificados de pêsego houve uma alta incidência de fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus*. Tal ocorrência pode ser explicada pela presença desses fungos nos tecidos das múmias, que, ao entrarem em contato com o pêsego em conserva, encontraram um ambiente favorável para seu rápido desenvolvimento. Resultados similares foram observados por Hong, Michailides e Holtz (2000) ao realizarem a análise da micoflora de múmias de pêsego coletadas de árvores e do solo na Califórnia durante o inverno de 1995-96 e de 1996-97. No estudo, foram coletadas múmias com pouco ou nenhum contaminante visível em suas superfícies, a micoflora foi determinada plaqueando tecidos internos em placas de Petri contendo meio BDA. 20 gêneros, representando 29 espécies de fungos, foram isolados dos tecidos internos, havendo a predominância de *Penicillium* sp. (23,7%), *Mucor* sp. (19,6%), *Cladosporium* sp. (17,3%) e *Rhizopus* sp. (11,1%) em 1995-96 e *Penicillium* sp. (32,7%), leveduras não filamentosas (14,6%), *Monilinia* sp. (13,5%), *Aspergillus* sp. (8,8%) e *Rhizopus* sp. (8%) em 1996-97.

A viabilidade da *M. fructicola* nas múmias utilizadas no segundo ensaio também pode ter sido afetada pelo período prolongado no qual ficaram armazenadas em ambiente refrigerado no LEMID (aproximadamente 15 meses). A alta incidência de *Rhizopus* spp. nos dois ensaios pode ser explicada pela ocorrência comum desse fungo no solo (Hong; Michailides; Holtz, 2000), visto que as múmias utilizadas nos dois ensaios foram coletadas no chão dos pomares. O *T. roseum* e o *Trichoderma* sp. (I 52) apresentaram capacidade de colonizar o tecido das múmias, porém, não houve incidência de *T. roseum* nos pêsegos em conserva, uma hipótese levantada é que seu crescimento pode ter sido suprimido pelo crescimento mais rápido dos demais fungos. Houve aumento da incidência dos *Trichoderma* sp. e diminuição de

*Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp., indicando a capacidade antagônica dos isolados de *Trichoderma* sp. em relação a tais fungos.

Recomenda-se que novos estudos sejam realizados com múmias recém coletadas do campo para avaliar o efeito dos isolados de *Trichoderma* spp. e *T. roseum* na redução do inóculo de *M. fructicola*. Além disso, o efeito dos melhores isolados antagônicos deve ser testado para controle em campo da queima floral e da podridão parda do pessegueiro na colheita e na pós colheita. Estudos complementares com efeito dos isolados ou dos ativos produzidos devem ser conduzidos para verificar interferência na germinação de conídios e na formação do tubo germinativo.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O *Trichothecium roseum*, os *Trichoderma* spp. endofíticos e os *Trichoderma* spp. de solo apresentaram potencial antagônico contra *Monilinia fructicola* e os antagonistas apresentaram ação antagônica por diferentes mecanismos de ação. O *T. roseum* apresentou excelente potencial de controle em relação a produção de compostos termoestáveis e os antagonistas I 48 e I 49 apresentaram resultados para os testes de cultura pareada, compostos difusíveis e compostos voláteis, indicando que estes antagonistas apresentam potencial antagônico por diferentes mecanismos de ação.

Os *Trichoderma* spp. apresentaram capacidade de colonizar o tecido dos frutos mumificados, bem como expressaram atividade antagônica em relação a *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp., porém recomenda-se que novos estudos sejam realizados com múmias recém coletadas do campo para avaliar o efeito dos isolados de *Trichoderma* spp. e *T. roseum* na redução do inóculo de *M. fructicola*, visto que não houve incidência de lesão típica de podridão parda nos ensaios realizados neste estudo.

De modo geral, existe uma necessidade de desenvolver estudos subsequentes para avaliar a viabilidade de formulações a base dos antagonistas para o controle de doenças, bem como avaliar a eficiência sob condições de campo. Além disso, destaca-se a importância de realizar a identificação molecular de *Trichoderma* spp. e a caracterização do composto secretado por *T. roseum*, em especial os termestáveis.

## REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, S. C.; KHARE, M. N.; AGRAWAL P. S. Biological control of *Sclerotium rolfsii* causing collar rot of lentil. **Indian Phytopathology**, v. 30, n.2, p.176-179, 1977. Disponível em: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19781348381>. Acesso em: 14 fev. 2023.
- AGRIOS, G. N. Plant pathology. 5.ed. **Elsevier: Academic Press**, 2005.
- AGROFIT. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (2024)**, 2024. Disponível em: [https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 04 nov. 2024.
- ALLWOOD, J. W.; ELLIS, D. I.; GOODACRE, R. Metabolomic technologies and their application to the study of plants and plant–host interactions. **Physiologia plantarum**, v.132, n.2, p.117-135, 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.01001.x>
- AMORIM, A. O.; ORLANDELLI, R. C.; PAMPHILE, J. A. Controle de patógenos do cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.) por fungos endofíticos dos gêneros *Trichoderma* e *Clonostachys*. **Uningá Review**, v. 34, n. 1, p. 1-10, 2019. Disponível em: <https://revista.uninga.br/uningareviews/article/view/3139>. Acesso em: 06 out. 2024.
- AZEVEDO, J. L. Microrganismos endofíticos. **Ecologia microbiana**, p. 117-137, 1998.
- AZEVEDO, J. L.; MACCHERONI Jr., W.; PEREIRA, J. O.; ARAÚJO, W. L. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **EJB: Eletronic Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 40-65, 2000. Disponível em: [https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-34582000000100004&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-34582000000100004&script=sci_arttext). Acesso em: 24 out. 2024.
- BACON, C. W.; WHITE, J. F. Microbial Endophytes. New York: **Marcel Dekker Inc.**, 2000.
- BACON, C. W.; WHITE, J. F. Functions, Mechanisms and Regulation of Endophytic and Epiphytic Microbial Communities of Plants. **Symbiosis**, v. 68, n. 1, p. 87-98, 2016. <https://doi.org/10.1007/s13199-015-0350-2>
- BARKAI-GOLAN, R. Postharvest diseases of fruit and vegetables: development and control. Amsterdã: **Elsevier**, p.418, 2001.
- BENÍTEZ, T. *et al.* Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International microbiology**, v. 7, n. 4, p. 249-260, 2004. Disponível em: <https://scielo.isciii.es/pdf/im/v7n4/Benitez.pdf>. Acesso em: 03 mar. 2023.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Controle biológico. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (eds.). Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 3. ed. São Paulo: **Agronômica Ceres**, v. 1, p. 717-727, 1995.

BEZERRA, G. de A. *et al.* Identificação e seleção de espécies de *Trichoderma* spp. endofíticos de bromélias de restingas como agentes de biocontrole da fusariose em frutos de abacaxi. **Summa Phytopathologica**, v. 45, p. 172-178, 2019. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/189165>

BLEICHER, J. Doenças de rosáceas de caroço (pessegueiro, ameixeira, nêspera, etc). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Ceres, v.2, p.621-627, 1997.

BOLÍVAR-ANILLO, H. J. *et al.* Endophytic bacteria *Bacillus subtilis*, isolated from *Zea mays*, as potential biocontrol agent against *Botrytis cinerea*. **Biology**, v. 10, n. 6, p. 492, 2021. <https://doi.org/10.3390/biology10060492>

BOMFIM, M. P. *et al.* O. Avaliação antagônica in vitro e in vivo de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 1, p. 61-67, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-54052010000100011>

BYRDE, R. J. W.; WILLETTS, H. J. The brown rot fungi of fruit: their biology and control. **Elsevier**, p. 9-11. 1977.

CARD, S. D. *et al.* Targeted selection of antagonistic microorganisms for control of *Botrytis cinerea* of strawberry in New Zealand. **Australasian Plant Pathology**, v. 38, p. 183-192, 2009. <https://doi.org/10.1071/AP08097>

CHEN, C. *et al.* A novel endophytic strain of *Lactobacillus plantarum* CM-3 with antagonistic activity against *Botrytis cinerea* on strawberry fruit. **Biological Control**, v. 148, p. 104306, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104306>

CHEN, F.; LIU, X.; SCHNABEL, G. Field Strains of *Monilinia fructicola* Resistant to Both MBC and DMI Fungicides Isolated from Stone Fruit Orchards in the Eastern United States. **Plant Disease**, v. 97, n.8, p. 1063-1068, 2013. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-12-1177-RE>

CHEONG, S. L.; CHEOW, Y. L.; TING, A. S. Y. Characterizing antagonistic activities and host compatibility (via simple endophyte-calli test) of endophytes as biocontrol agents of *Ganoderma boninense*. **Biological control**, v. 105, p. 86-92, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.12.002>

CHET, I. Microbiol control of plant diseases. In: Mitchell, R. (Ed.). **Environmental microbiology**. New York: John Wiley & Sons, Inc., p. 335-354, 1992.

CIPRIANO, M. A. P. *et al.* Plant-growth endophytic bacteria improve nutrient use efficiency and modulate foliar N-metabolites in sugarcane seedling. **Microorganisms**, v. 9, n. 3, p. 479, 2021. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030479>

COLLA, L. M. *et al.* Isolamento e seleção de fungos para biorremediação a partir de solo contaminado com herbicidas triazínicos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, p. 809-813, 2008. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542008000300016>

DE MELO, B. A. *et al.* Implantação e análise da conformidade à produção integrada de morango em Alfredo Vasconcelos–MG. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 17, n. 2, p. e11229-e11229, 2024.

DE SILVA, N. I. *et al.* Use of endophytes as biocontrol agents. **Fungal Biology Reviews**, v. 33, n. 2, p. 133-148, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2018.10.001>

FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D. *et al.* Fungicide resistance profiles in *Botrytis cinerea* from strawberry fields of seven Southern U.S. States. **Plant Disease**, v. 98, n. 6, p. 825–833, 2014. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-13-0970-RE>

GABARDO, G. *et al.* *Trichoderma asperellum* e *Bacillus subtilis* como antagonistas no crescimento de fungos fitopatogênicos *in vitro*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 55870-55885, 2020. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n8-123>

GARCIA, A. P. G. *et al.* Microrganismos endofíticos como agentes de biocontrole: Uma alternativa para o sistema de produção agrícola sustentável. **REVISTA ARACÊ**, v. 6, n. 3, p. 4275-4288, 2024. <https://doi.org/10.56238/arev6n3-001>

GASPAROTTO, J. M. *et al.* Produção de enzimas celulolíticas de *Trichoderma reesei* por fermentação em estado sólido e sua aplicação na hidrólise enzimática de biomassa. In: **XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Florianópolis: Blucher Chemical Engineering Proceedings**. 2015. Disponível em: <https://pdf.blucher.com.br/chemicalengineeringproceedings/cobeq2014/1744-17777-169682.pdf>. Acesso em: 06 out. 2024.

GUIMARÃES, G. R.; FERREIRA, D. S.; GALVÃO, C. S.; MELLO, S. C. M.; CARVALHO, D. D. C. Ação de metabólitos voláteis e não voláteis de *Trichoderma harzianum* sobre o crescimento de *Cladosporium herbarum*. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v.21, n.1, p.7-11, 2016. <https://doi.org/10.12661/pap.2016.002>

GUTIÉRREZ-RAMÍREZ, A. *et al.* Control biológico como herramienta sustentable en el manejo de plagas y su uso en el estado de Nayarit, México. **Revista BioCiencias**, v. 2, n. 3, p. 102-112, 2013. <http://dspace.uan.mx:8080/jspui/handle/123456789/747>

HARDOIM, P. R. *et al.* The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 79, n. 3, p. 293-320, 2015. <https://doi.org/10.1128/mnbr.00050-14>

HERMOSA, R. *et al.* The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. **International journal of molecular sciences**, v. 14, p. 10607-10625, 2013.

HONG, C. X.; MICHAILIDES, T. J.; HOLTZ, B. A. Mycoflora of stone fruit mummies in California orchards. **Plant Disease**, v. 84, n. 4, p. 417-422, 2000. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.4.417>

ISAIAS, C. O. *et al.* Ação antagônica e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp. contra os patógenos *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae*. **Summa**

**Phytopathologica**, v. 40, p. 34-41, 2014. <https://doi.org/10.1590/S0100-54052014000100005>

JAYAPRAKASHVEL, M. *et al.* Control of sheath blight disease in rice by thermostable secondary metabolites of *Trichothecium roseum* MML003. **European journal of plant pathology**, v. 126, p. 229-239, 2010. <https://doi.org/10.1007/s10658-009-9535-y>

KUPPER, K. C.; GIMENES-FERNANDES, N.; GOES, A. de. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia brasileira**, v. 28, p. 251-257, 2003. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582003000300005>

LATZ, M. A. C.; JENSEN, B.; COLLINGE, D. B.; JØRGENSEN, H. J. L. Endophytic fungi as biocontrol agents: elucidating mechanisms in disease suppression. **Plant Ecology and Diversity**, v.11, n.5-6, p.555-567, 2018. <https://doi.org/10.1080/17550874.2018.1534146>

LE, K. D. *et al.* Streptomyces sp. AN090126 as a biocontrol agent against bacterial and fungal plant diseases. **Microorganisms**, v. 10, n. 4, p. 791, 2022. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040791>

LIMA, O. de D. R. *et al.* AÇÃO ANTIFÚNGICA *in vitro* DE ISOLADOS DE *Bacillus* ssp. SOBRE *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 4, p. 57-64, 2014. Disponível em: [https://periodicos.ufersa.edu.br/caatinga/article/view/2960/pdf\\_171](https://periodicos.ufersa.edu.br/caatinga/article/view/2960/pdf_171). Acesso em: 02 nov. 2024.

LORITO, M. *et al.* Translational research on *Trichoderma*: from omics to the field. **Annual review of phytopathology**, v. 48, p. 395-417, 2010. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-phyto-073009-114314>. Acesso em: 14 nov. 2024.

MACHADO, D. F. M. *et al.* *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012. Disponível em: <https://scielo.pt/pdf/rca/v35n1/v35n1a26.pdf>. Acesso em: 06 out. 2024.

MANAWASINGHE, I. S. *et al.* Mycosphere Essays 14: Assessing the aggressiveness of plant pathogenic Botryosphaeriaceae. **Mycosphere**, v. 7, n. 7, p. 883-892, 2016. Disponível em: [https://mycosphere.org/pdf/Mycosphere\\_7\\_7\\_3.pdf](https://mycosphere.org/pdf/Mycosphere_7_7_3.pdf). Acesso em: 27 mar. 2023.

MARTINS, F. *et al.* Endophytic fungal community structure in olive orchards with high and low incidence of olive anthracnose. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 689, 2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79962-z>

MAY DE MIO, L. L.; GARRIDO, L. R.; UENO, B. Doenças de fruteiras de caroço. In L. B. MONTEIRO; L. L. MAY DE MIO; B. M. SERRAT; A. C. V. MOTTA; F. L. CUQUEL (Eds.), **Fruteiras de caroço: uma visão ecológica** Curitiba: UFPR, p. 169–222, 2004.

MAY DE MIO, L. L.; GARRIDO, L. R.; UENO, B.; FARJADO, T. V. M. Doenças da cultura do pessegueiro e métodos de controle. p.355-366. In: RASEIRA, M. C. B.; PEREIRA, J. F. M.; CARVALHO, F. L. C. **Pessegueiro**, 1º Edição. Embrapa, Brasília, DF, p. 780, 2014. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1011203>. Acesso em: 02 abr. 2023.

MAY DE MIO, L. L.; LUO, Y.; MICHAILIDES, T. J. Sensitivity of *Monilinia fructicola* from Brazil to tebuconazole, azoxystrobin, and thiophanate-methyl and implications for disease management. **Plant disease**, v. 95, n. 7, p. 821-827, 2011. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-10-0511>

MAY DE MIO, L. L.; MOREIRA, L. M.; MONTEIRO, L. B.; JUSTINIANO JÚNIOR, P. R. Infecção de *Monilinia fructicola* no período da floração e incidência de podridão-parda em frutos de pessegueiro em dois sistemas de produção. **Tropical Plant Pathology**, v.33, p.173-180, 2008. <https://doi.org/10.1590/S1982-56762008000300008>

MAYO, S. *et al.* Influence of *Rhizoctonia solani* and *Trichoderma* spp. in growth of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and in the induction of plant defense-related genes. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 685, 2015. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00685>

MEDEIROS, F. H. V.; SILVA, J. C. P.; PASCHOLATI, S. F. Controle Biológico de Doenças de Plantas. In: AMORIM, L. *et al.* (Ed.). Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 5.ed. Minas Gerais: **Agrônômica Ceres**, v.1, p. 261-272, 2018.

MEDRADO, P. H. da S. *et al.* T. Efficiency of different strains of *Trichoderma* on the control of *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii* and *Sclerotium cepivorum*. **Acta Scientiarum**. Biological Sciences, v. 44, p. e60072, 2022.

MENGATTO, M. de F. **Inativação fotodinâmica promovida por porfirinas catiônicas no controle da podridão parda do pessegueiro como alternativa para tratamento químico de inverno**. Orientadora: Louise Larissa May De Mio. 2024. 42 f. TCC (Graduação) – Curso de Agronomia, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2024.

MORALES-CEDEÑO, L. R. *et al.* Plant growth-promoting bacterial endophytes as biocontrol agents of pre-and post-harvest diseases: Fundamentals, methods of application and future perspectives. **Microbiological Research**, v. 242, p. 126612, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126612>

MOREIRA, L. M. *et al.* Controle em pós-colheita de *Monilinia fructicola* em pêssegos. **Fitopatologia brasileira**, v. 27, p. 395-398, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582002000400010>

MOREIRA, L. M. *et al.* Fungos antagonistas e efeito de produtos químicos no controle da podridão parda em pomar de pessegueiro. **Summa Phytopathologica**, v. 34, p. 272-276, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0100-54052008000300016>

MOREIRA, L. M.; MAY-DE MIO, L. L. Controle da podridão-parda do pessegueiro com fungicidas e fosfitos avaliados em pré e pós-colheita. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 405-411, 2009. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542009000200007>

NEGRI, G.; MAY DE MIO, L. L.; WORDELL FILHO, J. A. Produção e armazenamento de *Trichothecium roseum* para uso como biopesticida. **Scientia Agraria**, v. 11, n. 3, p. 247–254, 2010. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/995/99515056009.pdf>. Acesso em: 27 mar. 2023.

NEGRI, G. *et al.* Manejo da queima das flores e da podridão-parda do pessegueiro cultivado em sistema orgânico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 415-423, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011000500054>

PESSÔA, G. M. *et al.* Uso de isolado de *Trichoderma* como biorremediador. **Anais do enic**, 2021.

PETRINI, O. Fungal endophyte of tree leaves. In: ANDREWS, J.; HIRANO, S. S. (Eds.). **Microbial ecology of leaves**. New York: Springer Verlag, p. 179-197, 1991. Disponível em: [https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-1-4612-3168-4\\_9?pdf=chapter%20toc](https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-1-4612-3168-4_9?pdf=chapter%20toc). Acesso em: 27 mar. 2023.

PHOTITA, W. *et al.* Are some endophytes of *Musa acuminata* latent pathogens?. **Fungal diversity**, p.131-140, 2004.

POVEDA, J. *Trichoderma* as biocontrol agent against pests: New uses for a mycoparasite. **Biological Control**, v. 159, p. 104634, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104634>

RANA, K. L. *et al.* Endophytic fungi: biodiversity, ecological significance, and potential industrial applications. **Recent advancement in white biotechnology through fungi: volume 1: diversity and enzymes perspectives**, p. 1-62, 2019. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-10480-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-10480-1_1)

RAJANI, P. *et al.* Inhibition of plant pathogenic fungi by endophytic *Trichoderma* spp. through mycoparasitism and volatile organic compounds. **Microbiological Research**, v. 242, p. 126595, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126595>

ROYSE, D. J.; RIES, S. M. The influence of fungi isolated from peach twigs on the pathogenicity of *Cytospora cincta*. **Phytopathology**, v. 68, n. 4, p. 603-607, 1978. Disponível em: [https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1978Articles/Phyto68n04\\_603.pdf](https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1978Articles/Phyto68n04_603.pdf). Acesso em: 18 dez. 2022.

SAKALIDIS, M. L.; HARDY, G. E.; BURGESS, T. I. Class III endophytes, clandestine movement amongst hosts and habitats and their potential for disease; a focus on *Neofusicoccum australe*. **Australasian Plant Pathology**, v. 40, n. 5, p. 510-521, 2011. <https://doi.org/10.1007/s13313-011-0077-3>

SALVADORI, C. N. *et al.* Eficiência de *Trichoderma harzianum* e *Bacillus amyloliquefaciens* no controle biológico de fitopatógenos de solo. **Cadernos de Agroecologia**, v. 19, n. 1, 2024.

SARZI, J. S. *et al.* Biocontrole de *Macrophomina phaseolina* e Indução de Resistência em Feijoeiro com Uso de *Trichoderma* spp. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 28, n. 3, p. 304-310, 2024. <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2024v28n3p304-310>

SBRAVATTI JÚNIOR, J. A. *et al.* Seleção *in vitro* de fungos endofíticos para o controle biológico de *Botrytis cinera* em *Eucalyptus benthamii*. Curitiba: **FLORESTA**, v. 43, n. 1, p. 145-152, 2013. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/958997/1/CelsoARFSelecao.pdf>. Acesso em: 27 mar. 2024.

SHARMA, R.; SINGH, D.; SING, R. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: a review. **Biological Control**, v. 50, p. 205-221, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.05.001>

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 Phytopathologica**, v. 43, n.1, p. 41-45, 2017. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/2212>

THAPA, S. *et al.* Impact of *Trichoderma* sp. in agriculture: A mini-review. **Journal of Biology and Today's World**, v. 9, n. 7, p. 1-5, 2020. Disponível em: <https://www.iomcworld.org/articles/impact-of-emtrichoderma-spem-in-agriculture-a-minireview-53635.html>. Acesso em: 10 nov. 2024.

VAN KAN, J. A. L.; SHAW, M. W.; GRANT-DOWNTON, R. T. *Botrytis* species: relentless necrotrophic thugs or endophytes gone rogue?. **Molecular Plant Pathology**, v. 15, n. 9, p. 957-961, 2014. <https://doi.org/10.1111/mpp.12148>

VILLARREAL-DELGADO, M. F. *et al.* The genus *Bacillus* as a biological control agent and its implications in the agricultural biosecurity. *Mex. J. Phytopathol*, v. 36, p. 95-130, 2018. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5>

WU, L. *et al.* Bacterial iturins mediate biocontrol activity of *Bacillus* sp. against postharvest pear fruit-rotting fungi. **Journal of Phytopathology**, v. 167, n. 9, p. 501-509, 2019. <https://doi.org/10.1111/jph.12837>

WULANDARI, A. P. *et al.* Endophytic microbiome of *Boehmeria nivea* and their antagonism against latent fungal pathogens in plants. **BMC microbiology**, v. 22, n. 1, p. 1-16, 2022. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02737-1>

ZHANG, X. *et al.* Endophytic fungus *Trichothecium roseum* LZ93 antagonizing pathogenic fungi *in vitro* and its secondary metabolites. **The Journal of Microbiology**, v. 48, p. 784-790, 2010. <https://doi.org/10.1007/s12275-010-0173-z>