

Ação antagônica de *Trichoderma* spp. no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*

Antagonistic action of Trichoderma spp. mycelial growth of Colletotrichum gloeosporioides

Gabriele Taís **LOHMANN**^{1,2}; Jessica Emilia **RABUSKE**¹; Lucas Gracioli **SAVIAN**¹; Thaise da Silva **TONETTO**¹ & Marlove Fatima Brião **MUNIZ**¹

RESUMO

Cassia fistula L., conhecida popularmente como chuva-de-ouro, é uma planta com características ornamentais e, por isso, muito empregada na arborização urbana, entretanto apresenta manchas foliares causadas por *Colletotrichum gloeosporioides* que podem comprometer o desenvolvimento da planta. Apesar da severidade da doença e dos danos causados, não há relatos de medidas de controle a serem aplicadas. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial efeito antagonista *in vitro* de *Trichoderma* spp. sobre *C. gloeosporioides* isolado de manchas foliares em chuva-de-ouro. Um isolado de *C. gloeosporioides* e quatro espécies de *Trichoderma* spp. foram utilizados. A capacidade antagônica de *Trichoderma* spp. foi avaliada por testes de confronto direto e de produção de metabólitos voláteis. Os isolados de *Trichoderma* spp., oriundos de formulações comerciais, foram eficientes no controle *in vitro* de *C. gloeosporioides*, por diferentes métodos de avaliação, e possuem potencial para pesquisas como agentes de controle biológico da antracnose em *C. fistula in vivo*. Em ambas as metodologias, o isolado de *T. harzianum* destacou-se no controle do crescimento do fitopatógeno.

Palavras-chave: antibiose; confronto direto; metabólitos voláteis.

ABSTRACT

Cassia fistula L., popularly known as golden-shower, is a plant with ornamental characteristics and, therefore, widely used in urban afforestation. However, it has leaf spots caused by *Colletotrichum gloeosporioides* that can compromise the plant's development. Despite the severity of the disease and the damage caused, there are no reports of control measures to be used. Therefore, the aim of this work was to evaluate the potential *in vitro* antagonistic effect of *Trichoderma* spp. on *C. gloeosporioides* isolated from leaf spots in golden-shower. An isolate of *C. gloeosporioides* and four species of *Trichoderma* spp. were used. The antagonistic capacity of *Trichoderma* spp. was evaluated through direct confrontation and volatile metabolite production tests. *Trichoderma* spp. isolates from commercial formulations were efficient in the *in vitro* control of *C. gloeosporioides*, by different evaluation methods, and these have potential for research as biological control agents for anthracnose in *C. fistula in vivo*. In both methodologies, the *T. harzianum* isolate stood out in controlling the growth of the phytopathogen.

Keywords: antibiosis; direct confrontation; volatile metabolites.

Recebido em: 22 mar. 2021

Aceito em: 13 set. 2021

¹ Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Defesa Fitossanitária. Av. Roraima, n.º 1.000, Cidade Universitária, Bairro Camobi – CEP 97105-900, Santa Maria (RS), Brasil.

² Autor para correspondência: gabi260598@hotmail.com.

INTRODUÇÃO

A espécie *Cassia fistula* L., da família Fabaceae, popularmente conhecida como chuva-de-ouro, é uma arvoreta exótica muito empregada na arborização urbana e para fins ornamentais (MOURA, 2010), no entanto na arborização urbana de municípios do estado do Rio Grande do Sul tem-se observado que essa espécie é muito suscetível a doenças, principalmente manchas foliares como a antracnose, causada por fitopatógenos do gênero *Colletotrichum*, com destaque para *C. gloeosporioides* (RABUSKE *et al.*, 2018).

Para Damm *et al.* (2012), o gênero *Colletotrichum*, responsável por doenças conhecidas como antracnoses, é considerado um dos mais importantes grupos de fungos fitopatogênicos do mundo. Segundo os mencionados autores, em climas com temperaturas amenas a altas e elevada pluviosidade, tais patógenos atuam com maior severidade e, assim, sem um manejo adequado, podem causar grandes prejuízos à sanidade e à sobrevivência do hospedeiro.

Atualmente há aumento da exigência pela redução do uso de agrotóxicos, no caso, fungicidas químicos, e conseqüentemente existe uma maior demanda por pesquisas relacionadas ao controle biológico. Entre os agentes de controle biológico, destacam-se os fungos do gênero *Trichoderma*, que apresentam rápido crescimento e não são patogênicos nem para as plantas nem para o homem (ALMEIDA, 2020). Entre os mecanismos utilizados por *Trichoderma* spp. no controle de fungos fitopatogênicos estão: parasitismo, produção de metabólitos secundários, competição e micoparasitismo de estruturas dos patógenos (MEDEIROS *et al.*, 2018).

Tanto por meio do parasitismo quanto da antibiose, o agente biológico atua de forma direta, pois, enquanto no parasitismo o agente biológico entra em contato com as estruturas do patógeno, na antibiose ocorre a produção de moléculas que atuam no crescimento ou na fisiologia do patógeno (AMORIM *et al.*, 2018). Assim, é fundamental a realização de estudos para atestar o potencial antagonico desses microrganismos, partindo de testes *in vitro* para a avaliação da capacidade de biocontrole de *Trichoderma*.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial efeito antagonista *in vitro* de *Trichoderma* spp. sobre *C. gloeosporioides* isolado de manchas foliares na planta chuva-de-ouro.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Fitopatologia Elocy Minussi, do Centro de Ciências Rurais (CCR), da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Os dados dos isolados dos agentes antagonistas empregados e de *C. gloeosporioides* quanto à procedência destes e informações a respeito do registro do produto estão na tabela 1. O material de *C. gloeosporioides* utilizado foi isolado de folhas de *Cassia fistula* sintomáticas, de árvores localizadas no município de Arroio do Tigre (RS).

Tabela 1 – Espécie, código do Sisgen, Código GenBank (TEF - 1 α)/registro do produto e origem dos isolados.

Espécie	Código Sisgen	Código GenBank (TEF - 1 α)/registro do produto	Origem
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	A6F940E	MN319462	1
<i>Trichoderma virens</i>	A28E445	MK450344	1
<i>Trichoderma asperellum</i>	-	8611	2
<i>Trichoderma harzianum</i>	-	27618	3
<i>Trichoderma</i> spp.	-	21434	4
<i>C. gloeosporioides</i>	A1C9D4D	MG065857	5

¹ Laboratório de Fitopatologia Elocy Minussi (29°41'0,21" S, 51°28'0,01" W); ² Formulação comercial (Quality®); ³ Formulação comercial (Trichodermil®); ⁴ Formulação comercial (Biotrich®); ⁵ Arroio do Tigre, RS (29°20'09" S, 53°05'24" W)

Para testar o efeito antagonista de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, empregaram-se as metodologias de confronto direto e de metabólitos voláteis. Os tratamentos foram constituídos pelas testemunhas (T1 até T6) e pelas combinações de *Trichoderma* spp. x *C. gloeosporioides* (T7 até T11): T1 – *T. asperellum*; T2 – *T. koningiopsis*; T3 – *T. harzianum*; T4 – *T. virens*; T5 – *T. spp.*; T6 – *C. gloeosporioides*; T7 – *C. gloeosporioides* x *T. spp.*; T8 – *C. gloeosporioides* x *T. asperellum*; T9 – *C. gloeosporioides* x *T. harzianum*; T10 – *C. gloeosporioides* x *T. virens.*; T11 – *C. gloeosporioides* x *T. koningiopsis*.

Inicialmente os isolados de *C. gloeosporioides* e *Trichoderma* spp. foram repicados para placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) e incubados em câmara de crescimento a $25\pm 2^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas, por sete dias, para obtenção dos discos contendo micélio para o desenvolvimento das metodologias descritas a seguir.

Teste de confronto direto: um cilindro de meio de cultura BDA de 6 mm de diâmetro, com micélio do fitopatógeno, e um cilindro de meio de cultura BDA de 6 mm de diâmetro, com micélio do antagonista, foram transferidos para posições opostas próximas à borda de placas de Petri (90 mm), contendo meio de cultura BDA. As placas foram vedadas lateralmente com plástico filme e transferidas para a câmara de crescimento sob temperatura de $25\pm 2^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas, por 10 dias. A avaliação do crescimento micelial foi realizada diariamente, até o sexto dia de crescimento, por meio da medição do diâmetro (mm) da colônia com o auxílio de paquímetro digital. Além disso, ao décimo dia após a instalação do experimento de confronto direto, atribuíram-se notas baseadas em escala (BELL *et al.*, 1982, adaptado por MONTALVÃO, 2012), a qual estabelece o grau de antagonismo por meio da divisão em cinco classes de notas para a diferenciação de níveis de antagonismo: 1 - *Trichoderma* sobressaiu-se e colonizou toda a superfície do meio de cultura; 2 - *Trichoderma* sobressaiu-se e colonizou pelo menos $\frac{2}{3}$ da superfície do meio de cultura; 3 - *Trichoderma* e patógeno colonizaram mais de $\frac{1}{3}$ e menos de $\frac{2}{3}$ da superfície do meio de cultura; 4 - Não houve sobreposição do *Trichoderma* e o patógeno colonizou ao menos $\frac{2}{3}$ da superfície do meio; 5 - patógeno sobressaiu-se e colonizou toda a superfície do meio (figura 1).

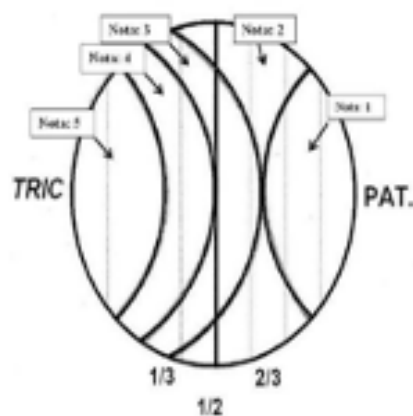


Figura 1 – Escala de Bell *et al.* (1982), adaptado por Montalvão (2012).

Teste de metabólitos voláteis: para verificar a inibição do crescimento do patógeno por compostos voláteis produzidos pelos antagonistas, empregou-se a metodologia de placas sobrepostas (BOMFIM *et al.*, 2010), na qual discos de 6 mm de diâmetro, contendo micélio do fitopatógeno e do antagonista, foram transferidos separadamente para meio BDA e dispostos no centro de placas de Petri de 90 mm de diâmetro. As placas foram sobrepostas e unidas lateralmente com plástico filme e, então, transferidas para a câmara de crescimento sob temperatura de $25\pm 2^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas. A avaliação do crescimento micelial foi realizada diariamente, até o sexto dia de crescimento, pela medição do diâmetro (mm) da colônia com o auxílio de paquímetro digital.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, totalizando 11 tratamentos, com cinco repetições, sendo cada uma constituída por uma placa de Petri. Para os dados de crescimento micelial diário, testaram-se os modelos linear, quadrático e cúbico, sendo selecionado um modelo para explicar os resultados. Após, no programa Microsoft Office Excel®, foram construídos gráficos para demonstrar as curvas de crescimento micelial. Fez-se análise de variância para o crescimento micelial do sexto dia e, quando o valor de F foi significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro. As análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando se avaliou o crescimento micelial da colônia de *Colletotrichum gloeosporioides*, no teste de confronto direto, observou-se que, até o terceiro dia de avaliação, não houve influência de *Trichoderma* no crescimento do fitopatógeno, o que se notou por meio das médias para os diferentes tratamentos, as quais possuem valores próximos (figura 2). A partir do quarto dia, o grau de inclinação da curva, nos tratamentos com *Trichoderma*, foi reduzido, indicando que o agente antagonista passou a interferir negativamente no crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, o que foi mensurado até a avaliação posterior. No quinto e no sexto dia, houve a estagnação total do crescimento micelial do patógeno no confronto direto com os tratamentos de *Trichoderma*.

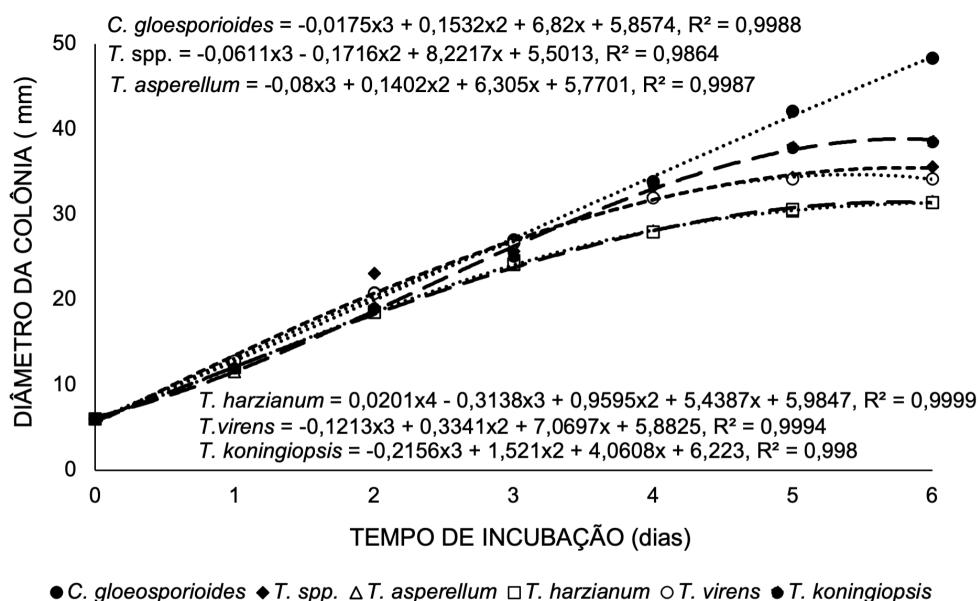
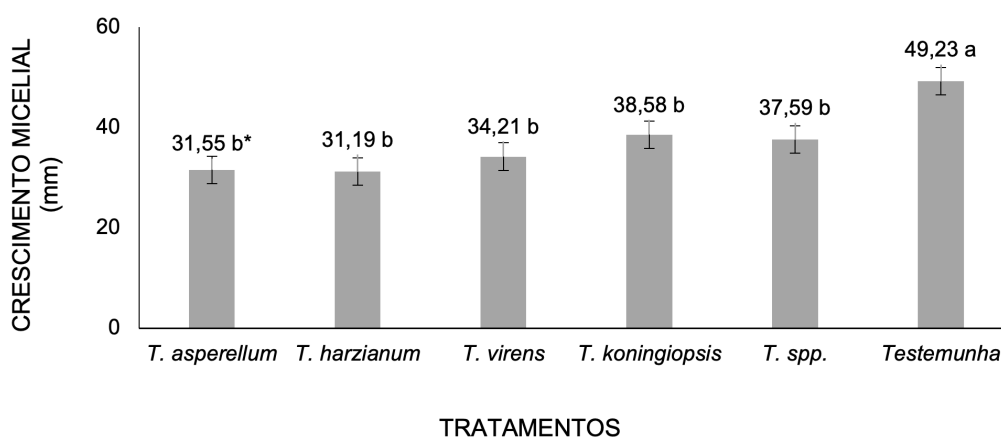


Figura 2 – Crescimento micelial das colônias de *Colletotrichum gloeosporioides*, crescidas em confronto direto com diferentes isolados de *Trichoderma* spp. Fonte: Primária.

Até o terceiro dia de avaliação, as estruturas fúngicas do patógeno e do antagonista ainda estavam relativamente distantes na placa de Petri, sendo o mecanismo de controle, a antibiose, atuante até o momento e de forma reduzida, por conta do pouco tempo que o antagonista havia tido para produzir e liberar metabólitos. Contudo, a partir do quarto dia, há maior competição entre patógeno e antagonista, e boa parte do meio de cultivo foi colonizado por estruturas de *Trichoderma*, o qual apresenta crescimento mais rápido e disputa a área com o patógeno. Dessa forma, além de um menor espaço para o crescimento micelial, *C. gloeosporioides* ainda foi submetido a uma maior quantidade de compostos liberados por *Trichoderma*.

Além disso, no quarto dia foi possível observar que as hifas do patógeno e do antagonista estavam se tocando, o que facilita a ocorrência do micoparasitismo e aumenta a ação de possíveis metabólitos e enzimas liberadas pelos isolados de *Trichoderma*. Assim, verifica-se a influência de *Trichoderma* no crescimento micelial a partir do quarto dia, e isso provavelmente se deve à combinação de mais de um mecanismo de ação, por parte desse agente de biocontrole. Desse modo, as ações antagonistas realizadas pelos isolados de *Trichoderma* sob o desenvolvimento de *C. gloeosporioides* devem ter sido: competição, por espaço, luz, água e nutrientes; hiperparasitismo, com enovelamento de hifas; e antibiose, com a liberação de metabólitos secundários (MACHADO & SILVA, 2013; FIPKE *et al.*, 2015).

Ao final da avaliação de confronto direto, no sexto dia, foi possível constatar que o tratamento contendo apenas *C. gloeosporioides* se diferenciou dos demais, com crescimento micelial de 49,23 mm (figura 3).

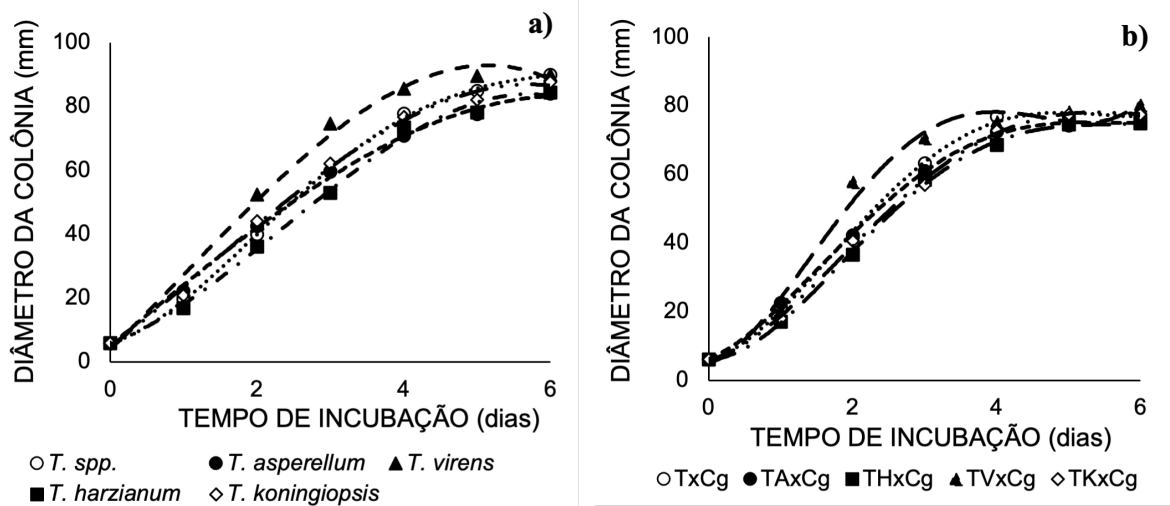


*Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Figura 3 – Crescimento micelial das colônias de *Colletotrichum gloeosporioides* (mm) em confronto direto com diferentes espécies de *Trichoderma* spp. Fonte: Primária.

Não houve diferença estatística entre as médias de crescimento das colônias de *C. gloeosporioides* submetidas aos diferentes isolados de *Trichoderma*, sendo o crescimento médio destas de 34,62 mm. Desse modo, as colônias de *C. gloeosporioides* em confronto direto com os isolados de *Trichoderma* apresentaram, em média, um crescimento micelial 16,23% menor que o tratamento testemunha. Apesar de não ter sido significativa a diferença entre a ação dos diferentes isolados de *Trichoderma*, no crescimento de *C. gloeosporioides*, pelo confronto direto, *T. harzianum* foi o tratamento que apresentou melhor resultado, com média de crescimento micelial de 31,19 mm, o que representa uma redução de 20,04% em relação à testemunha de *C. gloeosporioides*.

Enquanto nas testemunhas *Trichoderma* ocupou toda a área da placa de Petri (90 mm de diâmetro), no confronto direto com *C. gloeosporioides* a ocupação foi menor, mas sem diferir significativamente das testemunhas (figura 4).



$T. spp. = 0,1249x^4 - 2,0291x^3 + 8,9918x^2 + 6,0744x + 6,0999$, $R^2 = 0,9995$; $T. asperellum = -0,1619x^3 - 0,0691x^2 + 19,254x + 5,1594$, $R^2 = 0,9978$; $T. virens = -0,4586x^3 + 1,36x^2 + 22,429x + 3,9901$, $R^2 = 0,9917$; $T. harzianum = -0,5611x^3 + 3,995x^2 + 9,2163x + 5,4551$, $R^2 = 0,9958$; $T. koningiopsis = -0,3419x^3 + 1,3784x^2 + 17,647x + 4,8833$, $R^2 = 0,9964$; Tx Cg = $0,2342x^4 - 3,3341x^3 + 12,808x^2 + 4,3769x + 6,2438$, $R^2 = 0,9989$; TA xCg = $0,1746x^4 - 2,4668x^3 + 8,958x^2 + 8,8145x + 6,192$, $R^2 = 0,9994$; TH xCg = $0,2153x^4 - 3,1551x^3 + 12,988x^2 + 0,6355x + 6,0615$, $R^2 = 0,9992$; TV xCg = $0,5885x^4 - 7,2975x^3 + 24,757x^2 - 0,7168x + 5,3783$, $R^2 = 0,9948$; TK xCg = $0,1422x^4 - 2,2689x^3 + 9,5873x^2 + 5,3792x + 5,8547$, $R^2 = 0,9988$.

Figura 4 – a) Crescimento micelial das colônias de *Trichoderma* spp.; b) Crescimento micelial das colônias de *Trichoderma* spp. em confronto direto com *Colletotrichum gloeosporioides*. Fonte: Primária.

De La Cruz-Quiroz *et al.* (2018), também avaliando *in vitro* a capacidade antagonista de isolados de *T. harzianum* e *T. asperellum* sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, constataram redução de 22,1 e 22,5% no crescimento micelial do patógeno, respectivamente. Satapathy & Beura (2020), estudando o biocontrole *in vitro* de estirpes de *Trichoderma* spp. sobre *C. gloeosporioides* obtidos de caju (*Anacardium occidentale*), encontraram percentuais de inibição do crescimento micelial que variaram de 74,5 a 84,9%, sendo de 77,4% para *T. harzianum*. Majaw & Kayang (2018), também testando o biocontrole *in vitro* de *C. gloeosporioides* isolado de folhas de gengibre (*Zingiber officinale*) com diferentes espécies fúngicas, entre elas *T. harzianum* e *T. koningiopsis*, verificaram elevados valores de inibição, correspondendo a 61,5 e 58,6%, respectivamente.

No presente estudo, aos 10 dias, a ação antagonista de *Trichoderma* sobre *C. gloeosporioides* recebeu nota 1, sendo possível observar que *Trichoderma* colonizou toda a superfície do meio de cultura, inclusive o patógeno, o que foi evidenciado por meio do registro fotográfico dos tratamentos (figura 5). Além de colonizar o meio, constatou-se que os isolados de *Trichoderma* produziram esporos sobre as colônias do patógeno, revelando o potencial antagonista ao *C. gloeosporioides*, por meio da sobreposição das colônias dos isolados ou pela formação de um halo de inibição, que reduziram o crescimento micelial do patógeno.

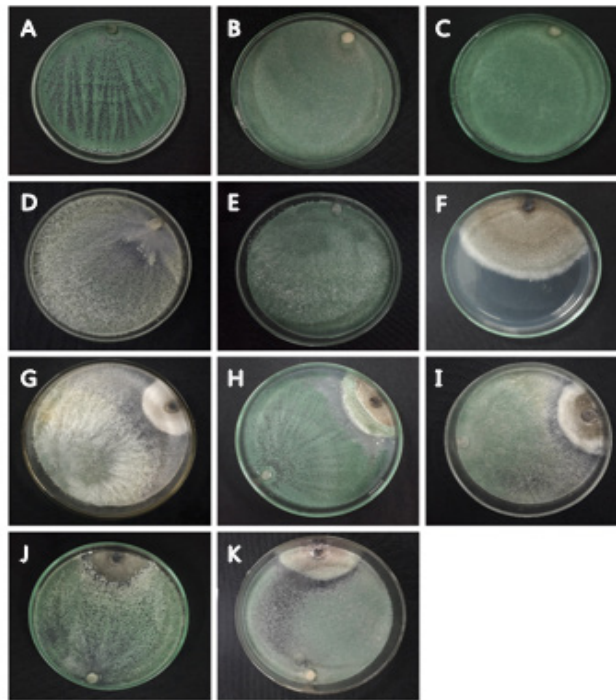


Figura 5 – Crescimento micelial das testemunhas **A** - *Trichoderma asperellum*; **B** - *T. koningiopsis*; **C** - *T. harzianum*; **D** - *T. virens*; **E** - *T. spp.*; **F** - *Colletotrichum gloeosporioides*; e das combinações **G** - *C. gloeosporioides* x *T. spp.*; **H** - *C. gloeosporioides* x *T. asperellum*; **I** - *C. gloeosporioides* x *T. harzianum*; **J** - *C. gloeosporioides* x *T. virens*.; **K** - *C. gloeosporioides* x *T. koningiopsis*. Fonte: primária.

Quando se avaliou a ação antagônica de *Trichoderma* pelo teste de metabólitos voláteis, verificou-se que todos os isolados produziram moléculas que inibiram o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* (figura 6). A inibição tornou-se mais evidente a partir do terceiro dia de avaliação; no quarto dia, os compostos voláteis paralisaram totalmente o crescimento micelial do patógeno.

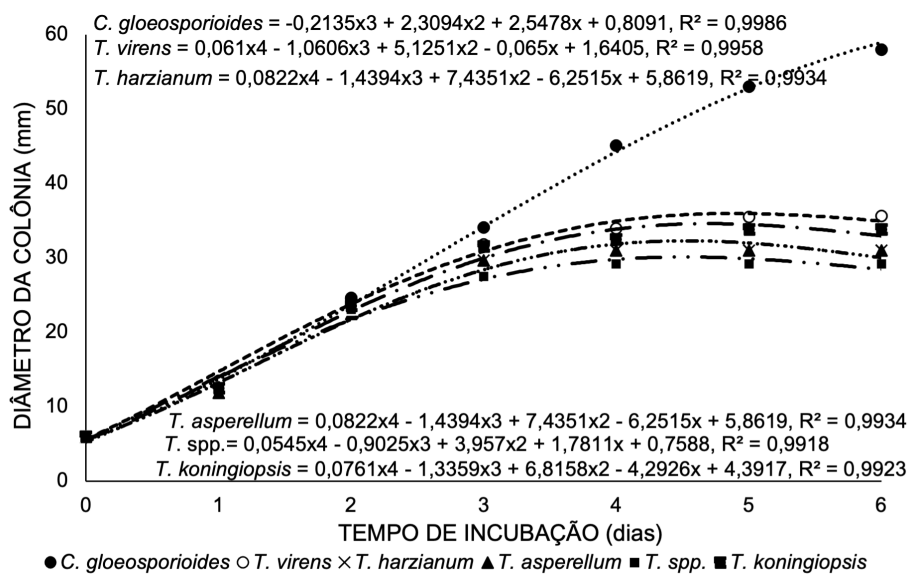
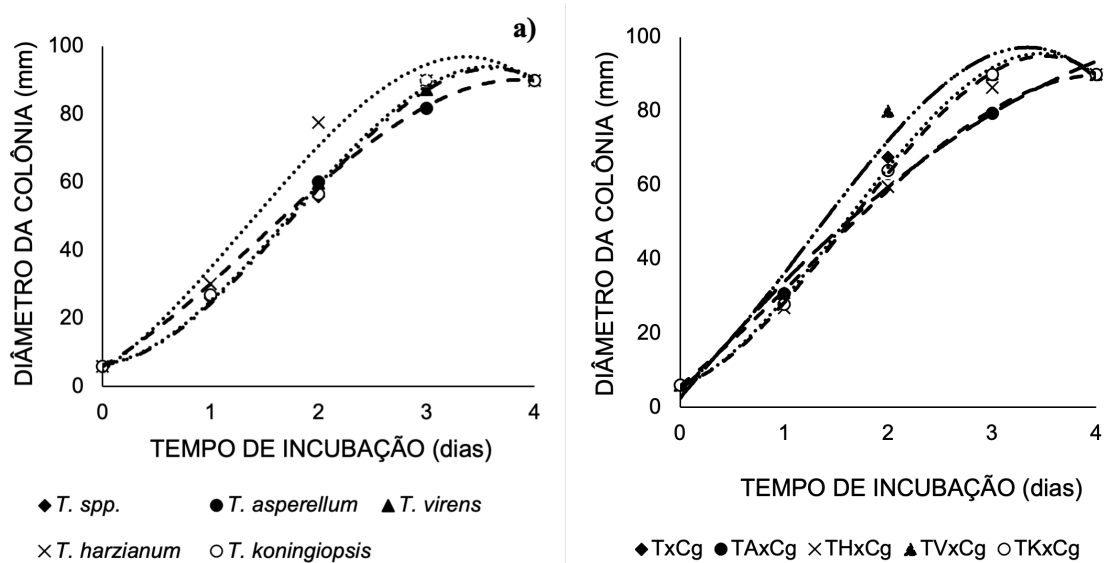


Figura 6 – Crescimento micelial das colônias de *Colletotrichum gloeosporioides*, crescidas sob efeito de metabólitos voláteis de diferentes isolados de *Trichoderma* spp. Fonte: Primária.

No teste de metabólitos voláteis, o mecanismo com o qual *Trichoderma* está atuando no controle do patógeno é unicamente a antibiose, que pode ser definida como a produção de moléculas que possuem ação direta sobre o crescimento ou o desenvolvimento do patógeno (MEDEIROS *et al.*, 2018). A antibiose é um mecanismo especialmente interessante, pois por meio dela o antagonista pode controlar a ação do patógeno, mesmo não estando em contato direto com ele. Resultados semelhantes aos do presente trabalho foram encontrados na pesquisa de Mesquita *et al.* (2017), na qual diferentes isolados de *Trichoderma* apresentaram nível de ação estatisticamente similar na inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*, por meio da produção de metabólitos secundários voláteis.

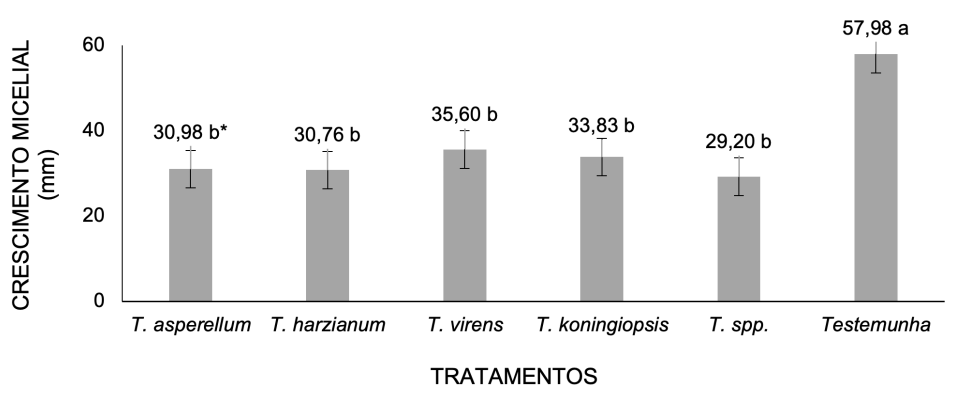
Diferentemente do teste de confronto direto, no teste de metabólitos voláteis pode-se perceber que o crescimento micelial de *Trichoderma* se manteve semelhante nos tratamentos controle que apresentavam somente os isolados de *Trichoderma* e nos tratamentos com a presença do patógeno (figura 7). Ou seja, o patógeno não produziu nenhum composto que interferisse no crescimento micelial de *Trichoderma*.



$T. spp. = -3,4553x^3 + 18,287x^2 + 3,1373x + 6,4054, R^2 = 0,9979$; $T. asperellum = -1,6857x^3 + 7,287x^2 + 18,823x + 5,84, R^2 = 0,9996$; $T. virens = -2,96x^3 + 11,795x^2 + 21,179x + 4,8452, R^2 = 0,9842$; $T. harzianum = -2,9312x^3 + 14,532x^2 + 9,7714x + 6,0828, R^2 = 0,9999$; $T. koningiopsis = -3,515x^3 + 18,377x^2 + 3,7309x + 6,4634, R^2 = 0,9973$; $TxCG = -2,856x^3 + 10,788x^2 + 23,544x + 4,6775, R^2 = 0,9795$; $TAxCG = -1,1338x^3 + 4,0801x^2 + 22,821x + 5,7879, R^2 = 0,9993$; $THxCG = -2,8773x^2 + 34,26x + 2,489, R^2 = 0,9774$; $TVxCG = -2,856x^3 + 10,788x^2 + 23,544x + 4,6775, R^2 = 0,9795$; $TKxCG = -3,367x^3 + 16,363x^2 + 9,4206x + 5,8763, R^2 = 0,9998$.

Figura 7 – a) Crescimento micelial das colônias de *Trichoderma* spp.; b) Crescimento micelial das colônias de *Trichoderma* spp. crescidas em contato com metabólitos voláteis de *Colletotrichum gloeosporioides*. Fonte: primária.

Ao término da avaliação da ação dos metabólitos voláteis, no sexto dia, foi possível verificar que o tratamento contendo apenas *C. gloeosporioides* se diferenciou significativamente dos demais, com crescimento micelial de 57,98 mm (figura 8).



*Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Figura 8 – Crescimento micelial das colônias de *Colletotrichum gloeosporioides* (mm), crescidas em contato com metabólitos voláteis de diferentes espécies de *Trichoderma* spp. Fonte: Primária.

Não houve diferença significativa entre as médias de crescimento das colônias de *C. gloeosporioides* submetidas aos diferentes isolados de *Trichoderma*, na metodologia de placas sobrepostas, sendo o crescimento médio destas de 32,07 mm. Desse modo, as colônias de *C. gloeosporioides* apresentaram, em média, um crescimento micelial de 28,79% menor que o tratamento testemunha. No teste de metabólitos voláteis, os isolados de *T. spp.* e *T. harzianum* foram os tratamentos que apresentaram os melhores resultados, com média de crescimento micelial de 29,20 e 30,76 mm, respectivamente.

Os metabólitos voláteis produzidos pelos isolados de *Trichoderma* são substâncias com ação tóxica, que possuem a capacidade de reduzir ou paralisar o crescimento e a esporulação do patógeno (BOMFIM *et al.*, 2010). Tal efeito também foi relatado por Chagas Junior *et al.* (2016), ao avaliar o potencial antagônico de *Trichoderma* spp. quanto à porcentagem de inibição do crescimento de *C. cliviae* e *C. truncatum*, em que observaram redução de 75% e 90% no crescimento micelial dos patógenos, respectivamente. Fantinel *et al.* (2018) também obtiveram redução de 44,2% das colônias de *C. siamense* em função da ação inibitória dos metabólitos produzidos por *Trichoderma*.

A ação antagônica de *Trichoderma* sobre *C. gloeosporioides* pela metodologia dos metabólitos voláteis pode ser vista no registro fotográfico dos tratamentos com as interações (figura 9).

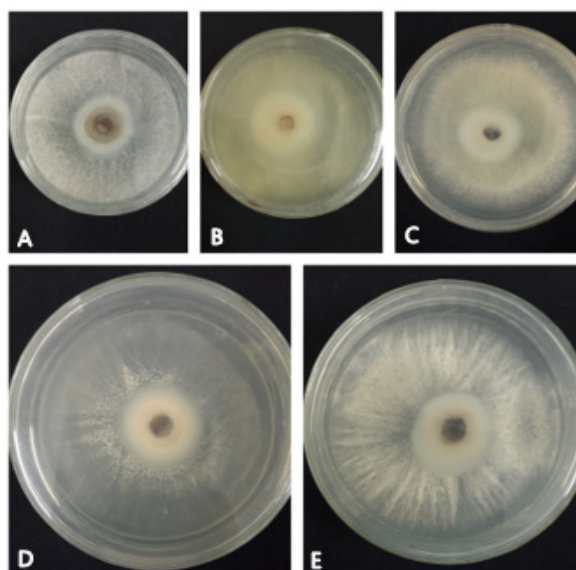


Figura 9 – Crescimento micelial de **A** - *C. gloeosporioides* x *Trichoderma virens*; **B** - *C. gloeosporioides* x *T. koningiopsis*; **C** - *C. gloeosporioides* x *T. harzianum*; **D** - *C. gloeosporioides* x *T. asperellum*; **E** - *C. gloeosporioides* x *T. spp.* Fonte: Primária.

CONCLUSÃO

Os isolados de *Trichoderma* oriundos de formulações comerciais foram eficientes no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, por diferentes métodos de avaliação, e possuem potencial para pesquisas como agentes de controle biológico da antracnose em *Cassia fistula in vivo*. Em ambas as metodologias o isolado de *T. harzianum* se destacou no controle do crescimento do fitopatógeno.

REFERÊNCIAS

- Almeida, S. F. de. Avaliação de linhagens de *Trichoderma* na promoção de crescimento de raízes de tomateiro e no controle de *Meloidogyne enterolobii* [Dissertação de Mestrado]. Brasília: Universidade de Brasília; 2020.
- Amorim, L., Rezende, J. A. M. & Bergamin Filho, A. Manual de fitopatologia – princípios e conceitos. São Paulo: Agronômica Ceres; 2018. 573 p.
- Bell, D. K., Wells, H. D. & Markhan, C. R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal pathogens. *Phytopathology*. 1982; 72: 379-382.
- Bomfim, M. P., São José, A. R., Rebouças, T. N. H., Almeida, S. S., Vilas Boas Souza, I. & Dias, N. O. Avaliação antagônica *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. *Summa Phytopathologica*. 2010; 36(1): 61-67.
doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-54052010000100011>
- Chagas Junior, A. F., Godoy, V. H. S., Miller, L. O. & Carvalho Filho, M. R. Bioprospecção de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum cliviae* e *Colletotrichum truncatum*. *Revista Brasileira de Biociências*. 2016; 14(4): 238-242.
- Damm, U., Cannon, P. F., Woudenberg, J. H. C., Johnston, P. R., Weir, B. S., Tan, Y. P. & Crous, P. W. The *Colletotrichum boninense* species complex. *Studies in Mycology*. 2012; 73: 1-36.
doi: <http://dx.doi.org/10.3114/sim0002>
- De la Cruz-Quiroz, R., Roussos, S., Rodriguez-Herrera, R., Hernandez-Castillo, D. & Aguilar, C. N. Growth inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Phytophthora capsici* by native Mexican *Trichoderma* strains. *Karbala International Journal of Modern Science*. 2018; 4(2): 237-243.
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.kijoms.2018.03.002>
- Fantinel, V. S., Muniz, M. F. B., Poletto, T., Dutra, A. F., Krahn, J. T., Favaretto, R. F. & Sarzi, J. S. Biocontrole *in vitro* de *Colletotrichum siamense* utilizando *Trichoderma* spp. e *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. *Ciência Agrícola*. 2018; 16(3): 43-50.
doi: <http://dx.doi.org/10.28998/rca.v16i3.4818>
- Ferreira, D. F. Sisvar: um guia dos seus procedimentos de comparações múltiplas Bootstrap. *Ciência e Agrotecnologia*. 2014; 38(2): 109-112.
doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>
- Fipke, G. M., Pazini, G. B. & Ethur, L. Z. Antagonismo de isolados de *Trichoderma* spp. ao *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes temperaturas. *Magistra*. 2015; 27(1): 23-32.
- Machado, D. F. M. & Silva, A. C. F. *Trichoderma* no controle *in vitro* de fungos presentes em diásporos de *Gochnatia polymorpha*. *Revista de Ciências Agrárias*. 2013; 36: 7-9.
doi: <https://doi.org/10.19084/rca.16296>
- Majaw, S. P. & Kayang, H. *In vitro* efficacy of selected fungal isolates against *Colletotrichum gloeosporioides*, the causal agent of leaf spot disease of *Zingiber officinale* Rosc. *International Journal of Advanced Scientific Research and Management*. 2018; 3(11): 178-187.

Medeiros, F. H. V., Silva, J. C. P. & Pascholati, S. F. Controle biológico de doenças de plantas. In: Amorim, L., Rezende, A. M. & Bergamin Filho, A. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 5. ed. São Paulo: Agronômica Ceres; 2018. 573 p.

Mesquita, D. C. M., Ferreira, F. A., Martins, I., Mello, S. C. M. & Carvalho, D. D. C. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. a *Sclerotinia sclerotiorum* do feijão comum. Agropecuária Científica no Semiárido. 2017; 13(1): 1-4.
doi: <http://dx.doi.org/10.30969/acsa.v13il.710>

Montalvão, S. C. L. Potencial de *Trichoderma* spp. no biocontrole de doenças do tomateiro [Dissertação de Mestrado]. Brasília: Universidade de Brasília; 2012.

Moura, I. R. Arborização urbana: estudo das praças do bairro Centro de Teresina [Dissertação de Mestrado]. Rio Claro: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; 2010.

Rabuske, J. E., Muniz, M. F. B., Poletto, T., Walker, C., Brune, E., Krahn, J. R. T. & Harakava, R. First report of *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose spot on *Cassia fistula* in Brazil. Plant Disease. 2018; 102(6): 1172.
doi: <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-10-17-1592-PDN>

Satapathy, R. R. & Beura, S. K. Management of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) causing cashew anthracnose through bio-control agents. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2020; 9(1): 2225-2227.
doi: <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2018.709.439>