



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROECOLOGIA
MESTRADO ACADEMICO EM ASSOCIAÇÃO COM EMBRAPA E IFRR

DISSERTAÇÃO

Bioprospecção de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. e sua ação promotora de crescimento em mudas de muricizeiro (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich)

Hananda Hellen da Silva Gomes

Boa Vista, RR

Março de 2021



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE RORAIMA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROECOLOGIA
MESTRADO ACADEMICO EM ASSOCIAÇÃO COM EMBRAPA E IFRR

Bioprospecção de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. e sua ação promotora de crescimento em mudas de muricizeiro (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich)

Hananda Hellen da Silva Gomes

Sob a Orientação da pesquisadora

Dra Hyanameyka Evangelista de Lima Primo

e Co-orientação do pesquisador

Dr. Daniel Augusto Schurt

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Agroecologia**. Área de concentração em Agroecologia.

Boa Vista, RR

Março de 2021

Copyright © 2021 Hananda Hellen da Silva Gomes

Todos os direitos reservados. Está autorizada a reprodução total ou parcial deste trabalho, desde que seja informada a **fonte**.

Universidade Estadual de Roraima – UERR
Coordenação do Sistema de Bibliotecas
Multiteca Central
Rua Sete de Setembro, 231 Bloco – F Bairro Canarinho
CEP: 69.306-530 Boa Vista - RR
Telefone: (95) 2121.0946
E-mail: biblioteca@uerr.edu.br

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

G633b Gomes, Hananda Hellen da Silva.
Bioprospecção de *Trichoderma spp.* sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum spp.* e sua ação promotora de crescimento em mudas de muricizeiro (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich). / Hananda Hellen da Silva Gomes. – Boa Vista (RR) : UERR, 2021.
54 f. : il. Color. 30 cm.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agroecologia da Universidade Estadual de Roraima em associação com EMBRAPA e IFRR para obtenção do título de Mestre em Agroecologia, sob a orientação da Profa. Dra. Hyanameyka Evangelista de Lima Primo.

1. Bioprospecção 2. Culturas de Frutas 3. Crescimento Vegetal 4. Inoculação I. Lima Primo, Hyanameyka Evangelista de (orient.) II. Schurt, Daniel Augusto (co-orient.) III. Universidade Estadual de Roraima – UERR IV. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – IFRR V. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA VI. Título

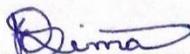
UERR.Dis.Mes.Agr.2021

CDD – 631.5233

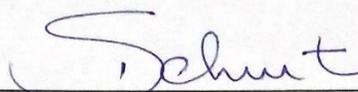
Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária
Letícia Pacheco Silva – CRB 11/1135 – RR

HANANDA HELLEN DA SILVA GOMES

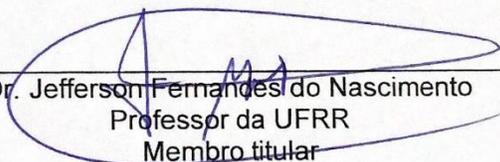
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 31/03/2021



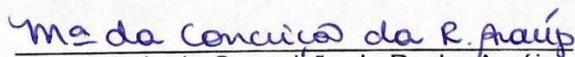
Dra. Hyanameyka Evangelista de Lima Primo
Pesquisadora da Embrapa Roraima
Orientadora



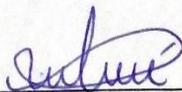
Dr. Daniel Augusto Schurt
Pesquisador da Embrapa Roraima
coorientador



Dr. Jefferson Fernandes do Nascimento
Professor da UFRR
Membro titular



Dra. Maria da Conceição da Rocha Araújo
Pesquisadora/ Bolsista PNP/CA/POSAGRO
Membro titular



Dra. Rosianne Nara Thomé Barbosa
SEAPA/RR
Membro titular

DEDICATÓRIA

Minha Mamãe Rosilene da Silva Gomes,
Meu Papai Antonio Ernande Rodrigues Gomes,
Minha Irmã Emilaine da Silva Gomes,
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, que ao longo do mestrado, me proporcionou saúde e força para concluir mais essa etapa em meio a tantas dificuldades;

As principais pessoas da minha vida, meu pai Antonio Ernande Rodrigues Gomes, minha mãe Rosilene da Silva Gomes e minha irmã Emilaine da Silva Gomes por toda ajuda e incentivo;

Ao programa de Pós-graduação em Agroecologia, em especial a Universidade Estadual de Roraima e a Embrapa Roraima;

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo;

Minha Orientadora Doutora Hyanameyka Evangelista Lima Primo por toda ajuda, aprendizado e por sempre acreditar no meu potencial;

Aos estagiários Vinícius Rezende Carrijo e Mateus Rezende Carrijo que não mediram esforços para me ajudar e caminharam sempre comigo nessa jornada;

A minhas amigas Renata Pio Gonçalves, Taise Pereira da Silva e Bruna Facundes Vieira por sempre estarem prontas para me ajudar nas avaliações;

Ao técnico do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Roraima Giovanni Ribeiro Souza por toda ajuda;

Aos membros da banca examinadora, por terem aceitado o convite.

A todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento dessa dissertação.

Muito Obrigada!!

RESUMO GERAL

GOMES, Hananda Hellen da Silva. **Bioprospecção de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. e sua ação promotora de crescimento em mudas de muricizeiro (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich).** 2021. 54 p. Dissertação (Mestrado em Agroecologia). Universidade Estadual de Roraima, Boa Vista, RR, 20121.

O murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich) é uma planta nativa da Amazônia que em sido muito cultivado por pequenos produtores. Algumas espécies de *Trichoderma* tem sido utilizada no controle biológico de fitopatógenos e na promoção de crescimento vegetal sem causar danos ao meio ambiente. Com isso, o objetivo do trabalho foi selecionar isolados de *Trichoderma* spp. adaptados às condições de Roraima, com o intuito de promover o crescimento de mudas de muricizeiro, visando diminuir o tempo de casa de vegetação. Foram testados isolados de *Trichoderma* spp. contra os isolados de *Colletotrichum* spp. que foram diagnosticados em plantas de murici e realizado bioensaios *in vitro*. Após selecionar os isolados, foi avaliado a capacidade de solubilização de fosfato, quantificação da produção de AIA e a eficiência *in vivo* dos isolados de *Trichoderma* spp. como promotores de crescimento. Foi selecionado três isolados que os melhores valores no bioensaio. Porém, nenhum dos três, apresentaram solubilização de fosfato e sintetização de AIA. E quando avaliado a eficiência *in vivo* dos isolados de *Trichoderma* spp. como promotores de crescimento, não houve diferença significativa para nenhuma das variáveis analisadas. Conclui-se que os *Trichoderma* spp. selecionados nos bioensaios, não solubilizaram fosfato e nem produziram auxinas não sendo eficientes na promoção de crescimento das mudas, mesmo estando em condições recomendadas.

Palavras-chave: Antagonismo, *in vitro*, *in vivo*.

GENERAL ABSTRACT

GOMES, Hananda Hellen da Silva. Bioprospecting of *Trichoderma* spp. on the mycelial growth of *Colletotrichum* spp. and its growth-promoting action on muricizeiro (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich) seedlings. 2021. 54 p. Dissertation (Master in Agroecology). Universidade Estadual de Roraima, Boa Vista, RR, 20121.

Murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich) is a native Amazonian plant that has been cultivated extensively by small producers. Some *Trichoderma* species have been used to biologically control phytopathogens and to promote plant growth without harming the environment. Thus, the objective of the work was selected to choose *Trichoderma* spp. adapted to the conditions of Roraima, in order to promote the growth of muricize seedlings, reduce the time in the greenhouse. *Trichoderma* spp. against *Colletotrichum* spp. which have been diagnosed in murici plants and *in vitro* bioassays are performed. After selecting the following, the phosphate solubilization capacity, quantification of AIA production and live efficiency of *Trichoderma* spp. as growth promoters. Three were selected to choose the best values in the bioassay. However, none of the three, phosphate solubilization and AIA synthesis. And when evaluating an *in vivo* efficiency of *Trichoderma* spp. as growth promoters, there was no significant difference for any of the variables analyzed. It is concluded that *Trichoderma* spp. selected in the bioassays, did not solubilize phosphate or produce auxins, not being efficient in promoting seedling growth, even obtained under recommended conditions.

Keywords: Antagonism, *in vitro*, *in vivo*.

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização química e granulométrica do solo utilizado como substrato	26
Tabela 2 - Caracterização química e granulométrica do solo utilizado como substrato areia lavada misturada com pó de serragem curtida	28
Tabela 3 – Teste in vitro de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. calculados a partir da escala de Beel et al., (1982), modificada;	31
Tabela 4 - Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. e <i>Colletotrichum</i> spp., calculados a partir de cultivos em BDA	32
Tabela 5 - Potencial de antibiose (%PAT) e potencial antagônico (%PA) de 25 isolados de <i>Trichoderma</i> spp contra três isolados de <i>Colletotrichum</i> spp	34
Tabela 6. Resposta das mudas de murici transplantadas em substrato inoculado por <i>Trichoderma</i> spp. selecionados (T15, T36 e T67), Mix dos isolados e a testemunha durante 150 dias em casa de vegetação	37
Tabela 7. Massa seca total das plantas, relação entre altura e diâmetro do coleto (RAD), relação entre a matéria seca da parte aérea e de raízes (RPAR) e índice de qualidade de Dickson (IQD) de mudas de murici	38
Tabela 8. Resposta das mudas de murici com sementes inoculadas com <i>Trichoderma</i> spp. selecionados (T15, T36 e T67), Mix dos isolados e a testemunha semeadas em mistura de areia e pó de serragem durante 120 dias	39
Tabela 9. Relação entre altura e diâmetro do coleto (RAD), relação entre a matéria seca da parte aérea e de raízes (RPAR) e índice de qualidade de Dickson (IQD) de mudas de murici	40
Tabela 10. Resposta das mudas de murici cultivadas em substrato por 120 dias em casa de vegetação, com sementes inoculadas pelos <i>Trichoderma</i> spp. selecionados (T15, T36 e T67), Mix dos isolados e a testemunha	41
Tabela 11. Massa seca total e relação entre altura e diâmetro do coleto (RAD), relação entre a matéria seca da parte aérea e de raízes (RPAR) e índice de qualidade de Dickson (IQD) de mudas de murici	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Halo de inibição formado pelo <i>Trichoderma</i> spp. em confronto com o <i>Colletotrichum</i> spp.....	30
Figura 2. Teste de solubilização de Fosfato	36
Figura 3. Sintetizar ácido indol acético (AIA)	37

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	Aspectos gerais e produção de mudas de muricizeiro	14
2.2	Principais doenças do muricizeiro	16
2.3	<i>Trichoderma</i> spp	17
3.	METODOLOGIA	20
3.1	Coleta de Material vegetal com sintomas de doença e diagnose	20
3.2	Seleção <i>in vitro</i> de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. antagônicos a isolados de <i>Colletotrichum</i> spp. fungo causador da antracnose em muricizeiro	21
3.3	Capacidades de solubilização de fosfato e quantificação da produção de AIA por <i>Trichoderma</i> spp	23
3.4	Eficiência <i>in vivo</i> de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. como promotores de crescimento de mudas de muricizeiro	25
3.4.1	Adição de suspensão de conídios de <i>Trichoderma</i> spp. no transplântio de mudas de murici com 30 dias após germinação em substrato contendo uma mistura de solo, areia lavada e pó de serragem	26
3.4.2	Inoculação de pirênios de murici com conídios de <i>Trichoderma</i> spp. em substrato contendo areia e pó de serragem.....	27
3.4.3	Inoculação de pirênios de murici com conídios de <i>Trichoderma</i> spp. em substrato contendo uma mistura de solo, areia lavada e pó de serragem	28
3.4.4	Coleta de dados e análise estatística	29
4.	RESULTADOS E DISCUSÃO	30
4.1	Diagnose de doenças nas plantas de murici	30
4.2	Seleção <i>in vitro</i> de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. antagônicos a isolados de <i>Colletotrichum</i> spp. fungo causador da antracnose em muricizeiro	30
4.3	Capacidades de solubilização de fosfato e quantificação da produção de AIA por <i>Trichoderma</i> spp	36
4.4	Eficiência <i>in vivo</i> dos isolados de <i>Trichoderma</i> spp. como promotores de crescimento de mudas de muricizeiro	37

4.4.1	Adição de suspensão de conídios de <i>Trichoderma</i> spp. no transplântio de mudas de murici com 30 dias após germinação	37
4.4.2	Inoculação de pirênios de murici com conídios de <i>Trichoderma</i> spp. em substrato contendo areia lavada e pó de serragem	39
4.4.3	Inoculação de pirênios de murici com conídios de <i>Trichoderma</i> spp. em substrato contendo uma mistura de solo, areia lavada e pó de serragem	41
5.	CONCLUSÃO	44
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

1. INTRODUÇÃO

O murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich) é uma planta nativa da Amazônia que apresenta porte arbóreo, frutos com diferentes cores e locais de ocorrência, resultando em diferentes denominações atribuídas à espécie. Tem sido muito cultivado por pequenos produtores, possuindo alta distribuição geográfica pelo Brasil, principalmente nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste (ALENCAR SOBRINHO et al. 2016).

A expansão de cultivos comerciais de muricizeiro, proporciona condições favoráveis ao acometimento de doenças endêmicas, ou seja, doenças que ocorrem em baixas intensidades em áreas nativas, mas com potencial para causar prejuízos aos pequenos agricultores que cultivam murici e utilizam sua produção como fonte de renda. Isto é particularmente importante por se tratar de uma cultura em fase de domesticação, como é o caso do muricizeiro em Roraima.

Embora ainda exista poucas informações referente a ocorrência de doenças na cultura do muricizeiro e seus danos em relação a planta, há alguns relatos de fungos que atacam a cultura, tais como *Myrothecium roridum* causando mancha areolada em folhas (POLTRONIERI et al., 2012), *Calonectria* sp. (Anamorfo: *Cylindrocladium* sp.) associado a queima foliar (CARDOSO et al., 2014) e *Lasiodiplodia* spp. que apresenta sintomas como seca-descendente, cancro em ramos, caules e raízes, lesões em estacas, folhas, frutos e sementes, além de incitar a morte das plantas (SOBRINHO et al., 2017).

O controle biológico de doenças tem se tornado uma alternativa importante para o atendimento da crescente demanda da sociedade por produtos e alimentos livres de resíduos deixados pelas aplicações de agrotóxicos. As principais razões pelo crescimento da sua utilização estão ligadas a sustentabilidade do sistema, visto que o controle biológico tem como premissa o uso de um organismo vivo para o controle de outro organismo danoso às culturas agrícolas, dessa forma, gerando menor impacto ao meio ambiente. A utilização de produtos à base de biológicos ganha grande importância no manejo dessas doenças como ferramenta efetiva. Nesse contexto, os agentes de biocontrole têm se mostrado uma alternativa viável, de baixo custo e com poucas implicações para a saúde humana. Têm, ainda, a possibilidade de ter efeito sobre outras

doenças durante o ciclo da cultura e por agir com mais de um modo de ação (DINIZ, 2016).

Algumas espécies de *Trichoderma* tem sido utilizada no controle biológico de fitopatógenos e na promoção de crescimento vegetal, apresentando grande versatilidade de ação, como parasitismo, antibiose e competição, além de atuarem como indutores de resistência das plantas contra doenças, sem causar danos ao meio ambiente. Vale ressaltar que a utilização de *Trichoderma* spp. em condições controladas, como é o caso do ambiente de casa de vegetação, também poderá promover a supressão de fitopatógenos fúngicos, uma vez que os fatores adversos inerentes às condições de campo, como radiação solar incidente, elevada amplitude térmica e dessecação, são minimizados ou até mesmo neutralizados (COOK; BAKER, 1983).

Com base nos princípios agroecológicos, é necessário buscar formas de manejo que visem potencializar o equilíbrio ecológico de plantios e reduzir insumos de síntese química, tendo a interação entre plantas e microrganismos como alternativa sustentável (ALVES et al., 2013; MACHADO et al., 2015), e os microrganismos de interesse agrícola, como *Trichoderma* spp., os quais se tornam importantes aliados nessa mudança de paradigma, pois, de acordo com Chagas et al. (2013), a utilização inadequada e, muitas vezes, excessiva, de insumos sintéticos e agrotóxicos, causam enormes riscos ambientais, e a produção de inoculantes com microrganismos que otimizem a absorção de nutrientes promovendo um maior crescimento das plantas, é uma alternativa para diminuir esses riscos, além de garantir uma melhoria na qualidade de vida dos produtores, por não estarem expostos a produtos agroquímicos e um aumento na qualidade nutricional dos alimentos, gerando benefícios aos consumidores.

Tendo como finalidade o uso de fungos no crescimento inicial das plantas, o objetivo do trabalho foi selecionar isolados de *Trichoderma* spp. adaptados às condições de Roraima, de forma a disponibilizar uma alternativa de manejo para doença que afeta o muricizeiro, bem como na promoção de crescimento de mudas de muricizeiro, visando diminuir o tempo de casa de vegetação, o que diminuirá os custos de produção para o produtor.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais e produção de mudas de muricizeiro

O muricizeiro [*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich] é uma espécie florestal frutífera de porte arbustivo pertencente da família Malpighiaceae, nativa da Amazônia brasileira e comum no bioma Cerrado. Apresenta ampla distribuição geográfica no território brasileiro, ocorrendo com maior frequência e abundância nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste (FLORA BRASIL, 2016), especialmente na região Norte onde é encontrado de forma mais densas e com diversificadas populações naturais em áreas campestres e de vegetação secundária (NASCIMENTO; CARVALHO, 2016). O gênero *Byrsonima*, é um dos maiores da família Malpighiaceae, tendo 150 espécies com distribuição marcadamente neotropical (GUILHON-SIMPLICIO; PEREIRA, 2011).

Entre as espécies de fruteiras nativas do Brasil, o muricizeiro se destaca por ser consumido de forma *in natura* e por ser uma espécie explorada de forma extrativista por pequenas comunidades, tanto para consumo próprio e como para a sua comercialização em forma de refresco, sorvete, doce, entre outras comportas, sendo um importante recurso alimentar e de geração de renda para populações rurais de baixa renda (PEREIRA; FREITAS, 2002; CARVALHO et al., 2006).

Ainda não se tem muitos estudos sobre a espécie, principalmente quando se trata das características agrônômicas da planta, sabe-se que possui galhos frágeis, troncos tortuosos, folhas de diferentes formatos, flores e frutos de diferentes colorações, é uma planta de pequeno porte que cresce aproximadamente de três a seis metros de altura (GUIMARÃES; SILVA, 2008; MONTEIRO et al., 2015). É uma espécie considerada alogama e auto compatível (SIHAG, 1995), ainda que Pereira e Freitas (2002) observaram baixo vigamento de frutos, em flores submetidas a autopolinização, sendo o principal agente polinizador, as abelhas (REGO; ALBUQUERQUE, 2006).

Os frutos do murici são arredondados, ligeiramente achatados, com uma fina pele amarela brilhante, além de possuir polpa suculenta, carnuda, oleosa e amarelada, com

aroma forte, contendo uma pequena semente em seu interior (HAMACEK; MARTINO; PINHEIRO-SANTANA, 2014).

Por se tratar de espécie frutífera nativa os estudos sobre a produção de mudas são essenciais quando se pretende o estabelecimento da espécie a nível comercial (GOMES, 1983). O plantio de muricizeiro é feito via sementes, com germinação ocorrendo entre 30 e 60 dias após sementeira e são bem desenvolvidos em solos areno-argiloso, com boa drenagem, necessitando de clima úmido e quente com ventilação constante para uma boa produção. (GOMES, 1983). Sua produção tem início em dezembro/janeiro, estendendo-se até abril/maio do ano seguinte, com produção de aproximadamente 12 kg de frutos por planta (FERREIRA, 2005).

Para que se possa obter sementes de alta qualidade, é necessário observar vários aspectos durante a realização dos processos a que essas sementes são submetidas, antes de sua utilização no plantio (MARCOS FILHO et al., 1987). Um dos aspectos mais importantes é o grau de umidade das sementes, já que o conhecimento dessa característica permite a escolha dos procedimentos mais adequados para a colheita, secagem, beneficiamento e armazenamento, o que possibilita a preservação da qualidade física, fisiológica e sanitária (MARCOS FILHO et al., 1987).

Porém, a propagação por meio de sementes do gênero *Byrsonima* esbarra em alguns problemas, como a baixa taxa de germinação, acentuada a desuniformidade e emergência lenta das plântulas (CARVALHO; NASCIMENTO, 2008; MORAIS JÚNIOR et al., 2015). Isso decorre, principalmente, por conta da presença de um endocarpo esclerificado, que envolve o embrião e que atua como barreira mecânica, denominada de pirênio (MORAIS JÚNIOR et al., 2015).

Os pirênios são utilizados como unidades de propagação, pois a remoção das sementes do interior do endocarpo é difícil, podendo gerar comprometimento do poder germinativo devido a danos mecânicos causados pela operação de extração (CARVALHO; NASCIMENTO, 2008). Assim são necessários tratamentos pré-germinativos, tais como: escarificação dos tegumentos, retiradas dos envoltórios da semente, alternância de temperatura, imersão em água quente, uso de hormônios, dentre outros. A temperatura, além de determinante na indução da germinação, tem sido

associada à superação da dormência de sementes de muitas espécies florestais (MURAKAMI et al., 2011).

As plantas oriundas de sementes, desde que manejadas adequadamente, começam a produzir os primeiros frutos 10 a 12 meses após o plantio no local definitivo e em alguns casos, produtividades de 2 até 3 kg nessa primeira safra (CARVALHO et al., 2006). Para a produção de mudas em escala comercial a propagação assexuada, tem como finalidade, assegurar a reprodução integral de genótipos que apresentam características desejáveis, tais como: elevada produtividade, frutos de maior tamanho e maior rendimento percentual de polpa (CARVALHO; MÜLLER, 2005; NASCIMENTO; CARVALHO, 2016).

2.2 Principais doenças do muricizeiro

Embora ainda exista poucas informações referente a ocorrência de doenças na cultura do muricizeiro e seus danos em relação a planta, há relatos dos fungos *Colletotrichum* spp. causando antracnose, *Myrothecium roridum* causando mancha areolada em folhas (POLTRONIERI et al., 2012), *Calonectria* sp. (Anamorfo: *Cylindrocladium* sp.) associado a queima foliar (CARDOSO et al., 2014) e *Lasiodiplodia* spp. que apresenta sintomas como seca-descendente, cancro em ramos, caules e raízes, lesões em estacas, folhas, frutos e sementes, além de incitar a morte das plantas (SOBRINHO et al., 2017).

Devido à importância mundial de *Colletotrichum* como um gênero fitopatogênico, o diagnóstico preciso é essencial para melhorar a biossegurança e as estratégias de gerenciamento de doenças (HYDE et al., 2009; CANNON et al., 2012). *Colletotrichum* é um gênero de fungo cosmopolita composto por mais de 189 espécies distribuídas em regiões tropicais e temperadas em todo o mundo, causam doenças devastadoras, como antracnose e podridão de frutas em uma ampla gama de hospedeiros de plantas (JAYAWARDENA et al., 2016; WEIR et al., 2012; DEAN et al., 2012).

Colletotrichum spp. foram incluídos entre os 10 fungos fitopatogênicos mais importantes do mundo, com base em sua importância científica e econômica (DEAN et al.,

2012). As espécies de *Colletotrichum* podem infectar mais de 30 gêneros de plantas (DAMM et al., 2012; FARR et al., 2019)., causando antracnose e decomposição pós-colheita em uma ampla variedade de frutas tropicais, subtropicais e temperadas, gramíneas, hortaliças e plantas ornamentais (GUARNACCIA et al., 2016; GUARNACCIA et al., 2017). Várias espécies de *Colletotrichum* são patógenos vegetais latentes, endófitos ou saprófitos, que são capazes de mudar para um estilo de vida patogênico quando as plantas hospedeiras são submetidas a diferentes tipos de estresse, ou colocadas em armazenamento pós-colheita (CROUS et al., 2016).

O *Colletotrichum* spp. penetra na planta hospedeira com a ajuda de apressórios, forma hifas biotróficas primárias que têm uma aparência grande e bulbosa característica. O estágio biotrófico durante a infecção, no qual a célula hospedeira permanece viva, está confinado à primeira célula infectada. Após 2-3 dias, o patógeno forma hifas secundárias filamentosas e muda seu estilo de vida e estratégia nutricional. Em seguida, as hifas necrotróficas colonizam e matam o tecido vizinho (O'CONNELL et al., 2012).

Na fase final da infecção, pequenos pontos pretos densos chamados acérvulos se formam na lesão; os acérvulos, que são pequenos corpos frutíferos assexuados que podem produzir conídios que facilitam a transmissão de doenças, são a origem da propagação de doenças (LIU et al., 2016).

A temperatura é um dos fatores vitais que afetam o crescimento dos fungos. As taxas de crescimento diminuem ou cessam em temperaturas não permissivas. O pH é outro fator crítico nas interações fungo-hospedeiro. O valor do pH ambiental pode alterar a atividade de enzimas como a poligalacturonase (PG) e a pectatase (PL) e, conseqüentemente, alterar a virulência dos patógenos (MACKENZIE et al., 1993).

2.3 *Trichoderma* spp.

Fungos do gênero *Trichoderma*, pertencentes ao Filo Ascomycota, são a forma anamórfica do gênero *Hypocrea*. Assim, os fungos filamentosos do gênero *Trichoderma* reproduzem-se assexuadamente pela produção de conídios (SAMUELS, 2006).

Compreende um grupo de fungos saprófitas e micoparasitas ativos da microbiota do solo, que são amplamente utilizados como agentes de controle biológico (IRINA et al, 2011). Caracteriza por ser resistentes a substâncias tóxicas produzidos por patógenos e tolerantes a fungicidas (DARYAEI et al., 2016), o que faz com que eleve o interesse para torná-lo um agente usado no controle de alguns fitopatógenos.

O potencial de *Trichoderma* spp., como agentes de biocontrole, é conhecido desde 1930, por atuar no controle de fitopatógenos (BROTMAN et al., 2010) e vem sendo demonstrado em estudos de laboratório, casa de vegetação e campo, como competentes agentes de biocontrole de patógenos em diferentes culturas de interesse agrícola (MACHADO et al., 2012).

As espécies do gênero estão entre os antagonistas mais estudados, pois são encontradas naturalmente em quase todos os tipos de solo e agem contra fitopatógenos por diferentes mecanismos de ação como antibiose, micoparasitismo, produção de enzimas que degradam a parede celular, competem por nutrientes, promove o crescimento de plantas e induz resistência contra diversos patógenos, com efeitos benéficos para as plantas (HARMAN et al., 2004; SHORESH et al., 2005; VITERBO et al., 2005; PERAZZOLLI et al., 2008; VINALE et al., 2008). Pode atuar por antibiose, devido a produção de algumas substâncias, como a trichodermina e a dermadina (MACHADO et al., 2012).

Estudos apontam que algumas espécies de *Trichoderma* são eficazes no biocontrole do patógeno *Colletotrichum* spp. (CHARGAS et al., 2016; SAXENA et al., 2016; CRUZ-QUIROZ et al., 2018; COSTA et al., 2019). A antracnose causada pelo fungo, gera danos em folhas, ramos e vagens, e quando atacada de forma mais severa pelo patógeno, faz com que se tenha uma redução na produtividade da cultura atacada fazendo com que diminua o valor comercial (Lopes et al., 2010), com isso, medidas de controle precisam ser tomadas, para diminuir as perdas causadas por esse microrganismo.

As espécies de *Trichoderma* se destacam por utilizarem uma grande variedade de compostos como fonte de carbono e nitrogênio, serem resistentes a inibidores produzidos por outros microrganismos e tolerantes a diferentes tipos de fungicidas (DARYAEI et al.,

2016), além de possuir uma alta capacidade de dispersão, pois produzem esporos secos e leves que se adaptam às mais diversas situações (SAMUELS, 2006).

Nesse cenário, fungos pertencentes ao gênero *Trichoderma* são economicamente relevantes, pois são amplamente utilizadas em grande variedade de plantas como agentes de biocontrole para o manejo de diferentes patógenos e como promotoras de crescimento de plantas (HARMAN et al. 2004 ; LORITO et al. . 2010 ; MONTE 2001 ; WOO et al. 2006). Esses fungos são simbioses oportunistas e a virulentos de plantas que funcionam como parasitas e antagonistas de muitos fungos fitopatogênicos, protegendo as plantas de doenças (VINALE et al. 2008 ; WILSON et al. 2008 ; LORITO et al. 2010). Além de afetar diretamente os patógenos vegetais através de antibiose e micoparasitismo, *Trichoderma* spp. pode também colonizar raízes e desencadear respostas de defesa contra patógenos bacterianos e fúngicos (YEDIDIA et al. 2003 ; LORITO et al. 2010 ; SHORESH et al. 2010 ; SINGH et al. 2014), além de fornecer efeitos benéficos significativos para as plantas, incluindo alterações na arquitetura das raízes, aumento do crescimento e aumento da produtividade (BAKER et al., 1984 ; CHANG et al., 1986 ; HARMAN, 2000).

Representantes do gênero *Trichoderma* podem ser dominantes na rizosfera, devido às suas elevadas taxas de crescimento e à capacidade de se adaptar a qualquer substrato presente no solo, reduzindo a concentração de outros microrganismos, associado à elevada taxa de decomposição de resíduos orgânicos (MACHADO et al., 2012).

No entanto, as relações que ocorrem entre planta e fungo são complexas, e necessitam análises mais aprofundadas no que se refere à ação de *Trichoderma* spp. como promotor de crescimento vegetal. Alguns estudos indicam a capacidade de *Trichoderma* spp. em disponibilizar nutrientes na forma solúvel para a planta, processo que pode participar na promoção de crescimento (SAITO et al., 2009).

O *Trichoderma* spp. segundo Silva et al. (2017), é um antagonista severo, pois cresce de forma rápida e coloniza vários substratos além de competir por nutriente com possível patógeno, podendo atuar como parasita sob o mesmo.

Para León (2016), *Trichoderma* spp. são fungos fáceis de isolar e reproduzir, isso faz com que aumente o interesse pelas empresas que realizam a comercialização de tais produtos, já que esses fungos, quando aplicados ao solo beneficiam as plantas.

Entretanto, os mecanismos utilizados por tais espécies de fungo para desempenhar a função que beneficia o crescimento vegetal ainda não foram completamente descritos em literatura. Apesar dos benefícios e do potencial que o *Trichoderma* spp. possui para a produção de mudas, principalmente quando se busca a sustentabilidade de agroecossistemas, ainda são poucas as pesquisas realizadas principalmente com espécies frutíferas (SOUZA et al., 2018).

3. METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados na sede da Embrapa Roraima, localizada na BR 174 km, 08 (02°45'27"N, 60°43'52"W), no município de Boa Vista-RR, utilizando as estruturas do Laboratório de Fitopatologia, casa de vegetação e viveiro entre os meses de dezembro de 2019 à janeiro de 2021.

3.1 Coleta de Material vegetal com sintomas de doença e diagnose

Parte de plantas de muricizeiro sintomáticas foram coletadas aleatoriamente em área de plantio cultivado, localizado na BR 432 (04°29'1,3"N, 61°07'12,2"S), no município Cantá-RR, que extraem a polpa para comercialização no estado de Roraima.

Após a coleta das amostras, estas foram armazenadas em saco de papel tipo kraft, identificadas com os dados da planta hospedeira e os dados do produtor onde foram coletadas. Em seguida, essas amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Roraima para diagnosticar o agente causal da doença.

No laboratório, as amostras coletadas foram separadas, lavadas com água corrente, e posteriormente em câmara de fluxo, cortadas em fragmentos menores, no qual foram desinfestadas com álcool 70 por um minuto, e em hipoclorito de sódio por mais um minuto. Em seguida, foram lavadas com água destilada esterilizadas, e colocadas para secar em papel filtro dentro da câmara em temperatura ambiente.

Depois de secos, os fragmentos foram colocados em meio de cultura Batata-Dextrose-Agar (BDA) e mantidos em câmara de incubação (BOD), em temperatura de 27

°C com fotoperíodo de 12 horas para o crescimento do patógeno. Após o crescimento do mesmo, esses foram repicados em meio BDA e realizado diagnose com auxílio de microscópio ótico, chaves de identificação e literatura disponível literatura (COLE; KENDRICK, 1981; BARNETT; HUNTER, 1998).

Os isolados dos fitopatógenos foram identificados e classificados taxonomicamente a nível de gênero os quais foram preservados, armazenados e mantidos na coleção de trabalho de microrganismos do laboratório de fitopatologia da Embrapa Roraima.

3.2 Seleção *in vitro* de isolados de *Trichoderma* spp. antagonísticos a isolados de *Colletotrichum* spp. fungo causador da antracnose em muricizeiro

Foram testados 25 isolados de *Trichoderma* spp. (Taçaí, Tmanga, T4P6, T5P2, T6, T13, T13P2, T14, T15, T17, T25, T27P15, T29, T30, T32, T36, T39, T57, T67, T71, T73, T75, T77, T82, T84), contra os isolados de *Colletotrichum* spp. que foram diagnosticados em plantas de muricizeiro com sintomas de antracnose. Para realização do experimento, foi realizado a repicagem contínua dos isolados de *Trichoderma* spp. e do patógeno em meio de cultura BDA e mantida em câmara de incubação (BOD), em temperatura de 27 °C com fotoperíodo de 12 horas.

Foi realizado bioensaios *in vitro* através da metodologia de cultura pareada conforme relatado por Dennis et al. (1971). Cada placa de Petri de 9 cm de diâmetro receberam uma alíquota de 20 ml de meio de BDA e incubadas em BOD a 27 °C, com fotoperíodo de 12 horas, durante 24 horas. Foi depositado um disco de micélio de cada fitopatógeno (5 mm de diâmetro) e de isolados de *Trichoderma* spp. na extremidade oposta, em uma distância entre o centro dos dois discos de micélio de 6,5 cm conforme descrito por Mello et al. (2007). Cada tratamento foi realizado com quatro repetições, e a testemunha contendo apenas o isolado do patógeno, que foram utilizadas para calcular a redução da taxa de crescimento das colônias do patógeno, quando comparados com as placas contendo cultivo pareado.

As placas foram incubadas em BOD a 27 °C e após oito dias de cultivo, foi avaliado o crescimento dos fitopatógenos adotando a escala de notas proposta por Bell et al.

(1982), modificada conforme Louzada *et al.*, (2009). No qual: Nota 1 é quando o *Trichoderma* spp. cresce sobre o patógeno e ocupa toda a superfície; Nota 1,5, o *Trichoderma* ocupa 7/8 da superfície do meio; Nota 2 - Crescimento do *Trichoderma* sobre o patógeno, ocupando mais de 2/3 da superfície do meio; Nota 2,5, o *Trichoderma* ocupa 5/8 da superfície do meio; Nota 3 o *Trichoderma* ocupando aproximadamente metade da superfície do meio; Nota 3,5 o *Trichoderma*, ocupa 3/8 da superfície do meio; Nota 4 o *Trichoderma*, ocupando 1/3 da superfície do meio; Nota 5 ausência de crescimento de *Trichoderma*, patógeno ocupando toda a superfície do meio.

O crescimento micelial radial foi quantificado através da medida (cm) do diâmetro, previamente marcado na parte externa do fundo da placa de Petri com auxílio de régua milimetrada, em intervalos de tempo determinados, 24 e 48 horas. Os resultados obtidos foram utilizados para o cálculo do IVCM conforme a fórmula de Oliveira (1991), modificada, e o crescimento expresso em cm 24 h⁻¹:

$$\text{IVCM} = ((D24h - 0) + (D48h - D24h)) / 2$$

Sendo: IVCM = Índice de Velocidade de Crescimento Micelial;

D24h = Diâmetro médio em 24 h de incubação;

D48h = Diâmetro médio 48 h de incubação.

Os percentuais individuais de IVCM (%IVCM) dos isolados de *Trichoderma* spp. avaliados foram determinados tomando-se como 100% o maior valor de velocidade de crescimento micelial médio encontrado.

Os Potenciais de Micoparasitismo de isolados de *Trichoderma* spp. a *Colletotrichum* spp. em cultivo pareado *in vitro* foram determinados por meio das medidas dos raios das colônias do antagonista (RCA) em direção ao patógeno, sendo considerado RAC = 9,0 cm equivalente a um %PM = 100%, quando a colônia do antagonista sobrepõe a colônia do patógeno. Isolados de *Trichoderma* spp. com valores de RCA < 9,0 foram considerados com um %PM= 0%.

Os potenciais de *Trichoderma* spp. em inibir o crescimento de *Colletotrichum* spp. (%PAT) por antibiose foram determinados por meio do pareamento das culturas *in vitro*,

sendo calculada a percentagem de inibição do patógeno alocado nos tratamentos, em relação ao cultivo individual, pela fórmula adaptada de Silva et al., (2013):

$$\%PAT = [(C - T) / C] \times 100$$

Sendo:%PAT: Potencial de Antibiose;

C: Raio da colônia do patógeno na placa controle em cultivo individual (no último dia de cultivo pareado);

T: Raio da colônia do patógeno em cada tratamento (no último dia de cultivo pareado).

Os Potenciais Antagônicos (%PA) de *Trichoderma* spp. aos isolados de *Colletotrichum* spp. foram determinados pela fórmula adaptada de Simões (2010):

$$\%PA = (\%PAT + \%PM) / 2$$

Sendo:%PA: Potencial Antagônico de *Trichoderma* spp. a *Colletotrichum* spp.;

%PM: Potencial de Micoparasitismo de *Trichoderma* spp. a *Colletotrichum* spp.;

%PAT: Potencial de Antibiose de *Trichoderma* spp. a *Colletotrichum* spp..

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

3.3 Capacidades de solubilização de fosfato e quantificação da produção de AIA por *Trichoderma* spp.

Os três isolados de *Trichoderma* spp. que apresentaram maior potencial antagônico *in vitro* contra o fitopatógeno obtido de muricizeiro, foram avaliados quanto a capacidade de solubilização de fosfato utilizando-se o meio de cultura proposto por Nautiyal (1999).

O experimento foi realizado com os três *Trichoderma* spp. selecionados, sendo incluída a bactéria de controle positivo *Azospirillum brasiliense*, usada pelo Laboratório de Microbiologia da Embrapa Roraima em avaliações de fosfato e o meio branco, ambos contendo três repetições.

Os *Trichoderma* spp. selecionados no bioensaios e a bactéria controle usada, foram repicados em meio BDA e mantidos em câmara de incubação (BOD), em temperatura de 27 °C com fotoperíodo de 12 horas por cinco dias e após este período, foram retirados discos de 8 mm de diâmetro e colocados em 30 ml de meio NBRIP autoclavado que ficaram sob agitação constante de 140 rpm por cinco dias, em temperatura de 28 °C.

Após os cinco dias, foi determinado o pH da solução e submetido a centrifugação de 10000 rpm durante cinco minutos. Após, foi transferido o sobrenadante do meio para um copo descartável de 50 ml, no qual foi adicionado 10 mL de solução de ácido molibdato de amônio diluído e \pm 30 mg de ácido ascórbico (EMBRAPA, 2009) e colocadas para agir durante uma hora.

Em seguida, foi realizada a leitura das amostras em espectrofotômetro SP 2000 UV, BEL, a 660 nm, e a concentração de fósforo foi estimada através da curva padrão preparada anteriormente com 0; 0,1; 0,5; 0,75; 1; 2; 3; 4; 4,5; 5 e 6 mg L⁻¹ de P na forma de KH₂PO₄. A concentração de fósforo (P) solúvel foi determinada pelo método colorimétrico de Murphy e Riley (1962).

A quantificação da produção de AIA por *Trichoderma* spp. foi realizada seguindo a metodologia utilizada por Oliveira et al. (2012). No qual, discos de micélio de *Trichoderma* spp. e da bactéria de controle positivo usada pelo Laboratório de Microbiologia da Embrapa Roraima e o meio branco foram colocados separadamente em Erlenmeyer contendo 25 mL de meios BD, com triptofano (100 mg L⁻¹) e colocados para agitar à 140 rpm durante cinco dias. Após os cinco dias de crescimento, foi colocado para centrifugação a 10000 rpm durante dez minutos transferido 3ml do sobrenadante para tubo de Eppendorf e adicionado 2 mL de reagente Salkowski (SARWAR E KREMER, 1995). Em seguida, os tubos foram levados para um ambiente sem resquícios de luzes e mantidos por 20 minutos, para as análises colorimétricas de AIA. A constatação da presença de AIA é através da coloração rosa intenso.

3.4 Eficiência *in vivo* de isolados de *Trichoderma* spp. como promotores de crescimento de mudas de muricizeiro

Em janeiro de 2020, foram coletados frutos em estágio de maturação de diversas plantas nos municípios produtores do estado de Roraima. Os frutos maduros foram acondicionados em recipientes abertos cobertos com água, durante três dias, para facilitar a remoção da polpa, que foi realizada esfregando cuidadosamente na tela de uma peneira de arame sob fluxo contínuo de água, até que os pirênios com endocarpos íntegros se apresentem completamente desprovidos de resíduos de polpa.

Os pirênios foram desinfetados com hipoclorito de sódio a 1%, por período de cinco minutos, sendo, posteriormente, secos à sombra com temperatura ambiente de aproximadamente 30 °C durante 10 dias.

Para o tratamento dos pirênios, 150 g de arroz parboilizado foram distribuídos em Erlenmeyer com capacidade de 500 ml e acrescentado 100 ml de água destilada. Após uma hora, o arroz parboilizado foi autoclavado a 121^o C por 20 minutos. Após 24 horas, em cada Erlenmeyer foi adicionado 3 discos contendo micélio e conídios de *Trichoderma* spp. cultivados em meio BDA e mantidos em temperatura ambiente, sendo revolvido diariamente para obtenção de uma colonização homogênea dos grãos.

Após o período de incubação, com o arroz totalmente colonizado por *Trichoderma* spp., esse foi lavado e adicionado 200 ml de água destilada para a extração dos conídios dos grãos do arroz. A concentração de conídios foi determinada em câmara de Neubauer e ajustada a 10⁶ conídios mL⁻¹. Tendo em vista a necessidade de testar métodos de melhor desenvolvimento de mudas de murici com a inoculação de *Trichoderma* spp., foi realizado três diferentes ensaios, alterando a forma de inoculação do *Trichoderma* spp. e o substrato utilizado para o desenvolvimento das mudas.

3.4.1 Adição de suspensão de conídios de *Trichoderma* spp. no transplântio de mudas de murici com 30 dias após germinação em substrato contendo uma mistura de solo, areia lavada e pó de serragem

Conforme recomendado por De Carvalho et al. (2006), foi semeado, pirênios de murici em jardineiras contendo areia lavada o qual foram levadas para casa de vegetação. 30 dias após germinação e as mudas apresentarem o primeiro par de folhas, foi realizado o transplântio das mudas, para sacos de polipropileno com capacidade de 2L contendo como substrato, uma mistura de solo, areia lavada e pó de serragem curtida, na proporção volumétrica de 1:1:1 que foi previamente solarizado por 48 horas. Suas características físico-químicas foram determinadas no laboratório CAMPO - Centro de Tecnologia Agrícola e Ambiental (Tabela 1).

Tabela 1 - Caracterização química e granulométrica do solo utilizado como substrato.

Parâmetros	Substrato Pronto
pH em água	4,85
Matéria Orgânica – MOS (dag/ Kg)	2,74
Fósforo - P (mg/ dm ³)	3,01
Potássio – K (mg/ dm ³)	24,99
Enxofre – S (mg/ dm ³)	1,3
Cálcio – Ca ²⁺ (cmol c/ dm ³)	0,96
Magnésio – Mg ²⁺ (cmol c/ dm ³)	0,33
Alumínio – Al (cmol c/ dm ³)	<0,1
Acidez Potencial - H+Al (cmol c/ dm ³)	1,16
CTC	2,51
Ca/Mg	2,9
Ca/K	15
Mg/K	5,2
Boro – B (mg/dm ³)	<0,1
Cobre – Cu (mg/dm ³)	<0,1
Ferro – Fe (mg/dm ³)	50,65
Manganês – Mn (mg/dm ³)	27,42
Zinco – Zn (mg/dm ³)	6,12

Durante o transplântio das mudas, foi adicionado 6 mL da suspensão de esporos dos três isolados de *Trichoderma* spp., um mix contendo a mistura dos três *Trichoderma*

spp. e a testemunha. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, contendo cinco tratamentos e dez repetições durante 150 dias em viveiro com coleta de dados a cada 15 dias.

3.4.2 Inoculação de pirênios de murici com conídios de *Trichoderma* spp. em substrato contendo areia e pó de serragem

Como forma de verificar o desenvolvimento de mudas de murici inoculadas com *Trichoderma* spp., 30 pirênios de murici foram inoculados através de imersão na suspensão de cada *Trichoderma* spp. e a testemunha apenas em água destilada e deionizada durante dez minutos, com posterior secagem em temperatura ambiente por um período de duas horas. Em seguida, foi semeado 3 pirênios em cada vaso de 3 litros contendo como substrato, areia lavada misturada com pó de serragem curtida, na proporção volumétrica de 1:1, que foi previamente solarizado por 48 horas. Suas características físico-químicas foram determinadas no laboratório CAMPO - Centro de Tecnologia Agrícola e Ambiental (Tabela 2). Os pirênios foram semeados em camadas de aproximadamente um centímetro de substrato, sendo fornecido água no período mais quente do dia como realizado por Murakami et al. (2011).

Após germinação, as plântulas foram mantidas durante 40 dias em casa de vegetação, onde foi realizado um desbaste das plantas para que ficasse apenas uma muda por cada vaso. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, contendo cinco tratamentos e dez repetições durante 120 dias em viveiro com coleta de dados a cada 15 dias.

Tabela 2 - Caracterização química e granulométrica do solo utilizado como substrato areia lavada misturada com pó de serragem curtida

Parâmetros	Areia
pH em água	5,55
Matéria Orgânica – MOS (dag/ Kg)	<0,2
Fósforo - P (mg/ dm ³)	3,03
Potássio – K (mg/ dm ³)	18,48
Enxofre – S (mg/ dm ³)	0,93
Cálcio – Ca ²⁺ (cmol c/ dm ³)	0,67
Magnésio – Mg ²⁺ (cmol c/ dm ³)	0,2
Alumínio – Al (cmol c/ dm ³)	<0,1
Acidez Potencial - H+Al (cmol c/ dm ³)	0,74
CTC	1,66
Ca/Mg	3,4
Ca/K	14,2
Mg/K	4,2
Boro – B (mg/dm ³)	<0,1
Cobre – Cu (mg/dm ³)	<0,1
Ferro – Fe (mg/dm ³)	45,99
Manganês – Mn (mg/dm ³)	16,86
Zinco – Zn (mg/dm ³)	1,39

3.4.3 Inoculação de pirênios de murici com conídios de *Trichoderma* spp. em substrato contendo uma mistura de solo, areia lavada e pó de serragem

Como forma de analisar as formas de inoculação de *Trichoderma* spp. em diferentes substratos para melhor desenvolvimento das mudas de murici, este experimento foi repetido, seguindo os mesmos procedimentos de inoculação de *Trichoderma* spp. do ensaio anterior, porém, os pirênios foram semeados em substrato contendo uma mistura de solo, areia lavada e pó de serragem curtida, na proporção volumétrica de 1:1:1, igualando ao mesmo que foi utilizado no tópico 3.5.1. Este experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, contendo cinco tratamentos e dez repetições durante 120 dias em viveiro com coleta de dados a cada 15 dias.

3.4.4 Coleta de dados e análise estatística

Os três experimentos foram avaliados a cada 15 dias, considerando como variáveis biométricas das mudas: altura em centímetro, diâmetro em milímetro (diam), número de folhas, massa fresca da parte aérea (MF pa), massa seca parte aérea (MS pa), massa fresca raiz em gramas (MF raiz), massa seca raiz em gramas (MS raiz) relação entre altura e diâmetro do coleto (RAD), relação entre a matéria seca da parte aérea e de raízes (RPAR) e índice de qualidade de Dickson (IQD) que considera a distribuição da biomassa na planta, incluindo as avaliações morfológicas de altura, diâmetro e biomassas conforme descrito por Medeiros et al. (2018).

A altura das mudas foi medida com o auxílio de uma régua graduada, medindo do nível do substrato até à inserção da última folha. O diâmetro do caule foi medido ao nível do substrato com um paquímetro digital. Para determinar a massa fresca, a parte aérea e as raízes foram pesadas em balança analítica de precisão (0,01 g) e em seguida, colocadas em sacos de papel separados com suas devidas identificações. Para determinar a massa seca da parte aérea e das raízes, foram separados a parte aérea e o sistema radicular, foi realizado a lavagem em água corrente do sistema radicular, no qual foram para estufa de circulação forçada de ar a 60 °C até que se obtiveram peso constante. Amostras de tecido vegetal foram encaminhadas para o Laboratório de Análise Foliar credenciado para análise de Macro e micronutrientes.

Foi calculado para os três experimentos, Massa seca total da planta (MST) e a relação entre Massa seca de Raiz (MSR) e Massa seca da parte aérea (MSPA) e o índice de qualidade de Dickson (IQD) (Dickson et al., 1960), determinado pela equação:

$$IQD = \frac{MST (g)}{AP (cm)/DC (mm) + MSPA (g)/MSR (g)}$$

Os resultados foram submetidos à análise de variância e em caso de significância as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSÃO

4.1 Diagnose de doenças nas plantas de murici

Através do isolamento parte de plantas de murici, foram identificados três isolados do gênero *Colletotrichum* spp.. Com isso, foi constituído uma coleção de isolados de *Colletotrichum* spp., provenientes de plantas de murici com sintomas de antracnose utilizando como identificação dos isolados a letra M.

4.2 Seleção *in vitro* de isolados de *Trichoderma* spp. antagonísticos a isolados de *Colletotrichum* spp. fungo causador da antracnose em muricizeiro

No teste de bioensaios *in vitro*, observou-se que todos os isolados de *Trichoderma* spp. foram capazes de inibir o crescimento dos três isolados de *Colletotrichum* spp. avaliados, pois durante o teste, foi formado um halo de inibição que dificultou o crescimento micelial do fitopatógeno causado pelo antagonista (Figura 1).

Figura 1. Halo de inibição formado pelo *Trichoderma* spp. em confronto com o *Colletotrichum* spp.



Foram considerados antagonístico, todos os isolados *Trichoderma* spp. apresentaram nota menor que 2,5 de acordo com a escala proposta por Bell *et al.*, (1982). 88% dos

isolados de *Trichoderma* spp. avaliados em confronto com os isolado M8 e M16 e 80% dos isolados de *Trichoderma* em confronto com o isolado M15, apresentaram nota igual a 1,00 como observado na tabela 3. O isolado T39, foi o que obteve maiores notas quando confrontado com os três isolados de *Colletotrichum* spp., pois, não colonizou a superfície total do meio, não sobrepondo o fitopatógeno.

Tabela 3 – Teste in vitro de isolados de *Trichoderma* spp. calculados a partir da escala de Beel et al., (1982), modificada;

Isolados de <i>Trichoderma</i>	Escala de Bell		
	M8	M15	M16
T açai	1.00 c	1.00 c	1.00 b
T manga	1.00 c	1.12 c	1.12 b
T4P6	1.00 c	1.00 c	1.00 b
T5P2	1.00 c	1.00 c	1.00 b
T6	1.00 c	1.00 c	1.00 b
T13	1.25 b	1.00 c	1.12 b
T13P2	1.00 c	1.25 c	1.00 b
T14	1.00 c	1.12 c	1.00 b
T15	1.00 c	1.00 c	1.00 b
T17	1.00 c	1.00 c	1.00 b
T25	1.00 c	1.00 c	1.00 b
T27P15	1.00 c	1.00 c	1.00 b
T29	1.25 b	1.00 c	1.00 b
T30	1.00 c	1.00 c	1.00 b
T32	1.00 c	1.00 c	1.00 b
T36	1.00 c	1.00 c	1.00 b
T39	2.50 a	1.62 a	2.50 a
T57	1.00 c	1.00 c	1.00 b
T67	1.00 c	1.00 c	1.00 b
T71	1.00 c	1.00 c	1.00 b
T73	1.00 c	1.25 b	1.00 b
T75	1.00 c	1.00 c	1.00 b
T77	1.00 c	1.00 c	1.00 b
T82	1.00 c	1.00 c	1.00 b
T84	1.00 c	1.00 c	1.00 b
Cv(%)	10.8	16.01	10.46

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si ($p \leq 0,05$) pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Coeficiente de variação C.V (%).

Esses resultados mostram que o *Trichoderma* spp. é um agente antagônico eficiente, pois fez com que houvesse redução no crescimento micelial dos três *Colletotrichum* spp. como observado na Tabela 2. Segundo Xue *et al.* (2017) isso ocorre pelo fato de que os *Trichoderma* Spp. atuarem como microparasitas de patógenos tendo a capacidade de hidrolisar a parede celular do fitopatógeno, fazendo com que seu crescimento fique comprometido (EL_KOMY *et al.*, 2015).

Quando avaliado o índice de velocidade de crescimento micelial dos isolados de *Trichoderma* spp. e dos fitopatógenos, observou-se que o isolado M8 de *Colletotrichum* spp. não diferiram estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Porém, pode-se observar na tabela 4, que a velocidade de crescimento micelial dos *Trichoderma* spp. são bem mais rápidos quanto a velocidade de crescimento micelial do *Colletotrichum* spp. reduzindo cerca de 40%. Destacando os isolados T36, T67 e T82 que foram os que tiveram maiores valores quando confrontados com o isolado M8, com altos valores de velocidade de crescimento do *Trichoderma* spp. comparados aos demais isolados. O mesmo resultado foi observado por Fantinel *et al.* (2018), que teve cerca de 44,2% de redução das colônias de *Colletotrichum siamense* quando confrontado com *Trichoderma* spp..

Tabela 4 - Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) de isolados de *Trichoderma* spp. e *Colletotrichum* spp., calculados a partir de cultivos em BDA

Isolados de <i>Trichoderma</i>	IVCM (<i>Trichoderma</i> spp.)			IVCM (<i>Colletotrichum</i> spp.)		
	M8	M15	M16	M8	M15	M16
T açai	1.70 a	1.50 b	1.47 d	0.78 a	0.60 b	0.78 a
T manga	1.70 a	1.77 a	1.65 c	0.80 a	0.55 b	0.65 b
T4P6	1.60 a	1.75 a	1.57 c	0.75 a	0.68 a	0.85 a
T5P2	1.60 a	1.70 a	1.62 c	0.78 a	0.55 b	0.75 b
T6	1.70 a	1.72 a	1.65 c	0.80 a	0.53 b	0.75 b
T13	1.65 a	1.80 a	1.62 c	0.83 a	0.65 a	0.75 b
T13P2	1.70 a	1.67 a	1.80 b	0.70 a	0.55 b	0.80 a
T14	1.57 a	1.67 a	1.67 c	0.75 a	0.60 b	0.73 b
T15	1.72 a	1.70 a	1.77 b	0.80 a	0.58 b	0.75 b
T17	1.70 a	1.62 b	1.65 c	0.80 a	0.58 b	0.70 b
T25	1.45 a	1.85 a	1.50 d	0.78 a	0.60 b	0.70 b
T27P15	1.72 a	1.65 a	1.47 d	0.80 a	0.65 a	0.75 b
T29	1.73 a	1.80 a	1.70 c	0.80 a	0.68 a	0.80 a
T30	1.74 a	1.75 a	1.67 c	0.75 a	0.65 a	0.80 a
T32	1.77 a	1.70 a	1.65 c	0.80 a	0.60 b	0.70 b
T36	1.90 a	1.75 a	2.05 a	0.80 a	0.63 a	0.70 b
T39	1.47 a	1.45 b	1.40 d	0.78 a	0.58 b	0.73 b
T57	1.67 a	1.72 a	1.67 c	0.78 a	0.60 b	0.80 a
T67	1.85 a	1.70 a	1.85 b	0.75 a	0.53 b	0.70 b
T71	1.70 a	1.55 b	1.87 b	0.78 a	0.58 b	0.75 b
T73	1.72 a	1.52 b	1.60 c	0.70 a	0.60 b	0.70 b
T75	1.67 a	1.85 a	1.77 b	0.80 a	0.70 a	0.83 a
T77	1.82 a	1.87 a	1.72 b	0.78 a	0.68 a	0.68 b
T82	1.87 a	1.92 a	1.77 b	0.78 a	0.68 a	0.80 a
T84	1.77 a	1.45 b	1.80 b	0.75 a	0.60 b	0.80 a
Cv(%)	8.01	7.23	6.89	6.64	9.4	7.92

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si ($p \leq 0,05$) pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Coeficiente de variação C.V (%).

Quando se avaliou os mesmos *Trichoderma* spp. em confronto com o Isolado M15, observa-se que houve diferença significativa entre eles, no qual os isolados Taçaí, T17, T39 T71, T73 e T84 apresentaram os menores valores de velocidade de crescimento, diferindo dos demais tratamentos. Porém, mesmo não tendo velocidade de crescimento tão satisfatória como os demais, eles ainda fizeram com que os *Colletotrichum* spp. não tivessem velocidade de crescimento tão alta. Isso significa que mesmo não tendo valores altos de velocidade de crescimento, eles ainda inibiram o crescimento do isolado M15.

Os *Trichoderma* spp. quando confrontado com o M16, observou-se que o isolado T36, se destacou por apresentar a maior nota de IVCm no bioensaio, diferindo estatisticamente dos demais. Porém, quando avaliado a velocidade de crescimento do *Colletotrichum* spp. M16, podemos notar que teve valores altos, variando de 65 a 85, uma vez que nesta interação, ambos podem produzir metabólitos antifúngicos e competir por espaço e nutrientes. Mesmo assim, os *Trichoderma* spp. apresentaram valores cerca de 40%, mais altos, mostrando que possuem capacidade de inibir o crescimento do fitopatógeno.

Esses resultados são satisfatórios quando se trata de seleção de agentes de controle biológico, pois segundo Martins-Corder e Melo (1998), o antagonista deve competir por espaço e nutrientes com o fitopatógeno e, é de extrema importância que o fungo ao ser utilizado no controle biológico, apresente um bom índice de velocidade de crescimento, o que determina sua habilidade em se estabelecer no substrato alvo (SANOGO *et al.*, 2002).

Essa redução do crescimento do *Colletotrichum* spp. pode ser causada pela competição por espaço, nutrientes presentes no meio de cultura e micoparasitismo assim como avaliado por Vinale *et al.* (2008), fazendo com que este seja um dos principais mecanismos utilizado pelo antagonista em testes de biocontrole (MILLANESI *et al.*, 2013).

A ação antagônica pode resultar de uma competição por nutrientes, ou uma diminuição na produção de enzimas pelas espécies de *Trichoderma*, que podem causar inatividade do fitopatógeno (BOMFIM *et al.*, 2010). Visto que, algumas espécies de *Trichoderma* spp. utilizam o seu próprio modo de ação, com estratégias diferentes para realizar o controle, como competição por nichos ecológicos, nutrientes, antibiose e o micoparasitismo (RIBEIRO, 2017).

Através dos valores de antibiose ocorrido por competição ou por ação de metabólitos secundários, notou-se que o *Trichoderma* spp. quando confrontado com os isolados M8 e M15, não tiveram diferenças significativas. Porém, quando confrontado com o isolado M16, notou-se que os isolados de *Trichoderma* T4P6, T5P2, T39 foram os que tiveram menores valores, diferindo estatisticamente dos demais isolados (Tabela 5).

Tabela 5 - Potencial de antibiose (%PAT) e potencial antagônico (%PA) de 25 isolados de *Trichoderma* spp contra três isolados de *Colletotrichum* spp.

Isolados de <i>Trichoderma</i>	%PAT			%PA		
	M8	M15	M16	M8	M15	M16
T açai	68.5 a	65.3 a	65.0 a	84.0 a	82.5 a	83.0 a
T manga	64.0 a	66.0 a	68.0 a	82.5 a	70.5 a	72.0 a
T4P6	65.5 a	60.3 a	59.8 b	83.0 a	80.0 a	80.3 a
T5P2	65.5 a	63.0 a	61.5 b	83.0 a	81.0 a	81.3 a
T6	65.5 a	63.5 a	64.5 a	83.0 a	81.5 a	82.8 a
T13	64.0 a	62.3 a	63.0 a	57.5 b	80.8 a	69.5 a
T13P2	67.5 a	62.3 a	62.5 a	83.8 a	80.8 a	81.5 a
T14	67.0 a	64.0 a	64.5 a	83.8 a	69.5 a	82.8 a
T15	65.5 a	67.3 a	64.0 a	83.3 a	83.5 a	82.5 a
T17	66.0 a	63.0 a	63.0 a	83.3 a	81.0 a	82.0 a
T25	64.0 a	64.3 a	65.5 a	82.5 a	81.8 a	83.3 a
T27P15	64.0 a	59.0 a	63.0 a	82.5 a	79.5 a	82.0 a
T29	65.5 a	61.8 a	63.0 a	70.8 a	80.5 a	82.0 a
T30	66.0 a	62.0 a	61.0 b	83.5 a	80.8 a	81.0 a
T32	64.5 a	63.5 a	65.0 a	82.8 a	81.5 a	83.0 a
T36	66.5 a	63.8 a	67.5 a	83.8 a	81.8 a	84.3 a
T39	62.5 a	59.8 a	55.8 c	31.5 c	30.0 b	28.0 b
T57	65.5 a	62.3 a	61.5 b	83.3 a	80.0 a	81.3 a
T67	66.5 a	64.8 a	64.5 a	83.5 a	82.3 a	82.8 a
T71	64.0 a	61.8 a	63.5 a	82.5 a	80.5 a	82.3 a
T73	67.5 a	60.3 a	64.5 a	84.0 a	67.8 a	82.8 a
T75	64.5 a	60.3 a	63.0 a	82.5 a	80.0 a	82.0 a
T77	65.0 a	59.8 a	63.0 a	83.0 a	79.8 a	82.0 a
T82	68.5 a	60.3 a	65.0 a	84.3 a	80.0 a	83.0 a
T84	66.5 a	63.0 a	61.5 b	83.5 a	81.0 a	81.3 a
Cv(%)	3.48	6.04	4.09	9.79	11.35	9.43

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si ($p \leq 0,05$) pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Coeficiente de variação C.V (%).

A antibiose pode ocorrer por meio de mecanismos associados através da produção e liberação compostos tóxicos voláteis ou não voláteis pelo antagonista, que são difundidos no meio (HOWELL, 2003) ou através de competição por espaço ou nutrientes (carbono, nitrogênio, íons ferro etc.), quando estes se encontram de forma limitada (WELLER, 1988), fazendo com que o crescimento do patógeno seja inibido.

Quando avaliado o potencial antagônico dos isolados, notou que o isolado de *Trichoderma* spp. T39 apresentou o menor valor, diferindo estatisticamente do T13, que também diferiu dos demais isolados. Porém, observa-se que o isolado T39, diferiu significativamente quando confrontado com os três isolados de *Colletotrichum* spp., apresentando os menores valores, sendo o menos para ser selecionado, visto que ele não apresentou bons resultados em todas as avaliações durante o bioensaio.

Comparando a ação antagônica dos isolados de *Trichoderma* spp. no controle do *Colletotrichum* spp. observou que os demais isolados, foram capazes de inibir o crescimento dos três isolados de *Colletotrichum* spp. visto que em sua maioria apresentaram valores de antagonismo acima 80% similar aos resultados obtidos por Kumar et al. (2012). Assim como, em estudo de biocontrole de *Macrophomina phaseolina* e *Fusarium solani* no morangueiro, em que os isolados de *Trichoderma* foram eficazes no controle dessas doenças (PASTRANA et al., 2016).

Em busca de bons isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *Colletotrichum* spp. de murici, foram selecionados primeiramente os isolados T15, T36 e T67, por apresentarem melhores valores quando em confronto com os três isolados fitopatogênicos.

Embora seja comprovado a eficiência no controle de diversos fungos fitopatogênicos, o controle biológico ainda é pouco utilizado no Brasil em condições de campo, devido não possuir disponibilidade de produtos comerciais a base do fungo *Trichoderma* spp. com registro válido no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Por conta disso, é de extrema importância a realização de testes em laboratório e casa de vegetação em busca de novos isolados de *Trichoderma* spp. obtidos principalmente na Região Norte, para que se passe a adotar o controle biológico no manejo de doenças.

4.3 Capacidades de solubilização de fosfato e quantificação da produção de AIA por *Trichoderma* spp.

Quando avaliado a capacidade dos três isolados de *Trichoderma* spp. selecionados no bioensaio em solubilizar fosfato, nenhum dos três, apresentaram coloração indicando que houve solubilização de fosfato (Figura 2). Esses resultados diferem de Kapri et al. (2010) e Silva et al. (2011) que tiveram isolados de *Trichoderma* spp. capazes de solubilizar fosfato, disponibilizando para as plantas, bem como Oliveira et al. (2012) também teve todos os isolados de *Trichoderma* capazes de solubilizar fosfato no meio NBRIP modificado.

Figura 2. Teste de solubilização de Fosfato



Quanto a capacidade de sintetizar ácido indol acético (AIA), os isolados de *Trichoderma* spp. selecionados no bioensaio, não foram capazes de sintetizar AIA (imagem). Diferente dos resultados encontrados por De Oliveira et al. (2012), em que todos os isolados *Trichoderma* spp. testados, foram capazes de produzir AIA no meio de cultura BD (batata e dextrose) com L-triptofano, o mesmo usado durante o nosso experimento.

Figura 3. Sintetização colorimétrica de ácido indol acético (AIA)



A produção de AIA através dos isolados de *Trichoderma* indicam o potencial do fungo em promover o crescimento de plantas, conforme relatado por Bjorkman (2004), Resende et al. (2004), Gravel et al. (2007) e Carvalho Filho (2008).

4.4 Eficiência *in vivo* dos isolados de *Trichoderma* spp. como promotores de crescimento de mudas de muricizeiro

4.4.1 Adição de suspensão de conídios de *Trichoderma* spp. no transplântio de mudas de murici com 30 dias após germinação

Quando avaliado mudas de murici transplantadas em substratos inoculados com *Trichoderma* spp., não houve diferença significativa para nenhuma das variáveis analisadas. Embora não tenha tido diferença, verificou-se que a testemunhas, que são as que não receberam tratamento, foi a que obteve maiores valores de altura, tanto na primeira como na última avaliação (tabela 6).

Tabela 6. Resposta das mudas de murici transplantadas em substrato inoculado por *Trichoderma* spp. selecionados (T15, T36 e T67), Mix dos isolados e a testemunha durante 150 dias em casa de vegetação

Trat	1ª avaliação			10ª avaliação			MF p (g)	MS p _a (g)	MF raiz (g)	MS raiz (g)
	Altura (cm)	Diam. (mm)	N folhas	Altur (cm)	Diam. (mm)	N folhas				
T15	3.97 a	0.81 a	4.0 a	6.70 a	1.33 a	9.60 a	0.63 a	0.45 a	0.66 a	0.51 a
T36	4.38 a	0.77 a	4.0 a	6.60 a	1.27 a	9.60 a	0.59 a	0.42 a	0.66 a	0.39 a
T67	4.32 a	0.76 a	4.0 a	6.98 a	1.28 a	9.76 a	0.64 a	0.46 a	0.74 a	0.41 a
Mix	4.07 a	0.82 a	4.0 a	6.40 a	1.31 a	10.4 a	0.62 a	0.42 a	0.75 a	0.47 a
Test	4.67 a	0.56 a	4.0 a	7.10 a	1.34 a	10.8 a	0.63 a	0.46 a	0.77 a	0.44 a
CV(%)	19.09	16.88	7.00	13.89	10.75	13.32	14.91	15.02	28.19	26.4ξ

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Coeficiente de Variação C.V (%).

O tratamento T15, foi o que obteve menor valor de altura e maior valor de diâmetro, porém, quando comparado os tratamentos na última avaliação, observa-se que o T15 recuperou o desenvolvimento, aumentando cerca de 2,73 cm de altura entre a primeira e última avaliação. Plantas contendo o tratamento MIX que é o inoculo obtido da mistura do T15, T36 e T67, foi o que obteve o menor valor de altura na última avaliação, porém quando comparou aos demais, com relação a variável diâmetro.

Embora a testemunha tenha apresentado maior valor de altura na primeira avaliação, e apresentado menor valor de diâmetro, ainda teve destaque por apresenta maior altura e diâmetro na última avaliação. Foi o tratamento que mais obteve produção de folhas, conseqüentemente, maiores índices de massa fresca de parte aérea e raiz seguido do tratamento T15 que obteve valores semelhantes. De acordo com Brotman et al. (2010), *Trichoderma* spp. pode ser capaz de promover crescimento de até 300%, porém, não foi o que aconteceu quando inoculou-se o substrato para produção de mudas de muricizeiro. Segundo De Carvalho et al. (2006) mudas de murici com 120 dias possuem altura de 40 cm, 0,5 cm e 14 folhas, o que difere dos resultados apresentados.

Quando avaliado a MS total entre os tratamentos, nota-se que o T15 foi o que teve maior valor de desenvolvimento das plantas com mais valor em relação aos demais (Tabela 7).

Tabela 7. Massa seca total das plantas, relação entre altura e diâmetro do coleto (RAD), relação entre a matéria seca da parte aérea e de raízes (RPAR) e índice de qualidade de Dickson (IQD) de mudas de murici

Trat	MS total	RAD	RPAR	IQD
T15	0.69 a	5.06 a	0.94 a	0.76 a
T36	0.58 a	5.23 a	0.97 a	0.88 a
T67	0.62 a	5.50 a	1.14 a	0.75 a
Mix	0.64 a	4.94 a	0.95 a	0.76 a
Test	0.64 a	5.34 a	1.08 a	0.75 a
CV(%)	18.65	15.6	23.5	25.34

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Coeficiente de Variação C.V (%).

Em relação ao aumento de altura e redução do diâmetro, verificou-se um aumento nos valores da relação altura e diâmetro de T67 e da testemunha. Os mesmos

tratamentos se destacam quando avaliado a relação de matéria seca da parte aérea e raízes. Porém as mudas que apresentaram maiores valores de qualidade de acordo com o índice de qualidade de Dickson foi o T36 e segundo Fonseca et al. (2002) esse é o melhor indicador da qualidade das mudas, já que leva em consideração todos os parâmetros de desenvolvimento da muda.

4.4.2 Inoculação de pirênios de murici com conídios de *Trichoderma* spp. em substrato contendo areia lavada e pó de serragem

Para a avaliação de promoção de crescimento das mudas de murici em substrato contendo areia lavada e pó de serragem, não houve diferença significativa para as variáveis avaliadas, exceto para a variável massa fresca da parte aérea e raiz que teve as maiores médias representadas pelo tratamento T15 e as menores medias representadas pela testemunha como representado na tabela 8.

Tabela 8. Resposta das mudas de murici com sementes inoculadas com *Trichoderma* spp. selecionados (T15, T36 e T67), Mix dos isolados e a testemunha semeadas em mistura de areia e pó de serragem durante 120 dias

Trat	1 dia de avaliação			120 dias de avaliação				MF pa	MS pa	MF raíz	MS raíz
	Altura	Diam.	N folhas	Altura	Diam.	N folhas					
T15	2.70 a	0.88 a	3.80 a	6.45 a	1.56 a	9.40 a	0.44 a	0.17 a	0.92 a	0.51 a	
T36	3.06 a	1.14 a	4.00 a	6.55 a	1.58 a	9.73 a	0.33 c	0.16 a	0.77 b	0.45 a	
T67	2.67 a	0.88 a	4.00 a	6.22 a	1.52 a	9.33 a	0.33 c	0.16 a	0.83 b	0.47 a	
Mix	2.91 a	0.92 a	4.00 a	6.17 a	1.58 a	12.23 a	0.39 b	0.16 a	0.69 c	0.43 a	
Test	2.85 a	0.92 a	4.00 a	6.05 a	1.54 a	10.20 a	0.27 d	0.15 a	0.67 c	0.44 a	
CV(%)	20.53	29.77	7.14	13.66	10.36	27.6	23.84	26.65	21.32	23.72	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Coeficiente de variação C.V (%).

Quando avaliado altura de planta e diâmetro do caule entre os tratamentos, pode-se observar que embora não houve diferença significativa, o tratamento T36, foi o que obteve os maiores valores, tanto na primeira avaliação, como na última avaliação de altura e diâmetro. Conforme relatado por De Almeida (2020) em experimento realizado, houve um aumento na altura das mudas de tomate quando utilizado *Trichoderma* spp.

Quando avaliado os demais tratamentos em relação altura, observou que teve um aumento de altura quando verificado a primeira e última avaliação, aumentando em média 3.42 cm de altura e 0.60 mm de diâmetro e 5 a 8 folhas. Porém, esses resultados não são tão satisfatórios assim, segundo De Carvalho et al. (2006) mudas de murici com 120 dias possuem altura de 40 cm, 0,5 cm e 14 folhas, o que difere dos resultados apresentados na tabela 8.

Apesar do tratamento T15 foi o que apresentou maiores valores de massa fresca e massa seca da parte aérea com 0.44 e 0.17 respectivamente, assim como para as raízes, com 0.92 e 0.51, só houve diferença significativa para as variáveis de massa fresca da parte aérea e das raízes quando comparadas com os demais experimentos. Em contrapartida, teve a testemunha que apresentou os menos valores de massa fresca e massa seca sendo 0.27 e 0.15 para parte aérea e 0.67 e 0.44 para as raízes. Os mesmos resultados foram observados na tabela 9 que mostra o total de massa seca, com destaque para o tratamento T15 com maior valor. Apesar do *Trichoderma* spp. promover o crescimento de plantas, estudos apontam que os efeitos podem não ser significativo em algumas culturas como descrito por Bortolin et al. (2019).

Tabela 9. Relação entre altura e diâmetro do coleto (RAD), relação entre a matéria seca da parte aérea e de raízes (RPAR) e índice de qualidade de Dickson (IQD) de mudas de murici

Trat	MS total	RAD	RPAR	IQD
T15	0.66 a	4.16 a	0.89 a	0.30 a
T36	0.60 a	4.15 a	0.92 a	0.27 a
T67	0.62 a	4.11 a	0.86 a	0.28 a
Mix	0.59 a	3.93 a	0.91 a	0.27 a
Test	0.59 a	3.96 a	0.91 a	0.28 a
CV(%)	16.89	13.97	20.93	20.46

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Coeficiente de variação C.V (%).

Quando avaliado a relação parte aérea e diâmetro, embora não tenha tido diferença significativa, o tratamento T15 apresentou maior valor, assim como para o IQD. Observa-se que todos os tratamentos apresentaram valores de IQD acima de 0.25, e segundo

Fonseca et al. (2002) o IQD é um ótimo indicador da qualidade das mudas, já que leva em consideração todos os parâmetros de desenvolvimento da muda.

Mesmo que o desenvolvimento das mudas não tenha sido conforme relatado por De Carvalho et al. (2006) para se ter uma muda de murici de qualidade, observou que as mudas que tiveram o *Trichoderma* spp. inoculado nas sementes, apresentou valores maiores que a testemunha.

4.4.3 Inoculação de pirênios de murici com conídios de *Trichoderma* spp. em substrato contendo uma mistura de solo, areia lavada e pó de serragem

Quando avaliado o crescimento de mudas de murici produzidas em substrato contendo solo, areia e serragem que tiveram os pirênios inoculados por *Trichoderma* spp. pode-se observar que não houve diferença significativa nas variáveis avaliadas, conforme apresentado na tabela 10.

Tabela 10. Resposta das mudas de murici cultivadas em substrato por 120 dias em casa de vegetação, com sementes inoculadas pelos *Trichoderma* spp. selecionados (T15, T36 e T67), Mix dos isolados e a testemunha

Trat	1 dia de avaliação			120 dias de avaliação							
	Altura	Diam	N folhas	Altura	Diam	N folhas	MF pa	MS pa	MF raiz	MS raiz	
T15	3.45 a	0.85 a	4.00 a	6.50 a	1.60 a	9.80 a	0.91 a	0.50 a	0.66 a	0.42 a	
T36	3.40 a	0.83 a	3.80 a	5.90 a	1.62 a	9.80 a	1.08 a	0.52 a	0.69 a	0.45 a	
T67	2.95 a	0.77 a	3.80 a	5.85 a	1.67 a	10.60 a	0.89 a	0.56 a	0.69 a	0.47 a	
Mix	3.25 a	0.82 a	4.00 a	6.70 a	1.50 a	9.00 a	0.87 a	0.52 a	0.59 a	0.44 a	
Test	3.16 a	0.82 a	3.56 a	6.00 a	1.43 a	10.00 a	0.98 a	0.47 a	0.51 a	0.38 a	
CV(%)	17.47	12.09	14.26	19.86	13.11	16.71	21.58	23.99	23.49	21.53	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Coeficiente de Variação C.V (%).

Pode-se observar que na primeira avaliação o tratamento T15 apresentou os maiores valores de altura (3.45 cm), diâmetro (0.85 mm) e número de folhas (4) e o T67 apresentou o menor valor para altura (2.95 cm) e diâmetro (0.77 mm). Com o aumento nas variáveis analisadas durante os 120 dias, observa-se que o tratamento Mix foi o que teve

maior valor em altura com 6.70 cm e o T67 continuou sendo o que menos cresceu em altura com 0.85 cm.

Porém, quando avaliado o diâmetro do caule, o T67 foi o que teve maior incremento, atingindo 1.67 mm e com maior número de folhas (10.60). O desenvolvimento das plantas foi lento, com resultados não tão satisfatórios, conforme relatado por De Carvalho et al. (2006) com mudas de murici aos 120 dias apresentando altura de 40 cm, 0,5 mm e 14 folhas, o que difere dos resultados apresentados. Quando comparado os resultados dos tratamentos em relação a testemunha, nota-se que não houve diferença entre eles, descartando qualquer influência que o *Trichoderma* spp. poderia apresentar com esta interação com mudas de murici.

Assim, as características agrônômicas de mudas de murici, quando inoculado *Trichoderma* spp. nas sementes não foi satisfatório. Porém, quando avaliado a massa fresca e seca das raízes, observa-se que a testemunha obteve os valores mais baixos, mostrando que as plantas que tiveram o *Trichoderma* spp. inoculados nas sementes fizesse com que eles contribuíssem com esses resultados, visto que as raízes liberam açúcares como fonte de alimento para os microrganismos fazendo com que aconteça a colonização desses fungos de forma eficiente (DRUZHININA *et al.*, 2011; VARGAS; CRUTCHER; KENERLEY, 2011).

Ao avaliar a MS total, observa-se que na tabela 11, o tratamento T67 foi o que apresentou o maior valor (0.73) principalmente quando comparado com a testemunha que teve o valor de (0.60). Esse resultado mostra que o *Trichoderma* spp. por ter colonizado as raízes das plantas, proporcionando aumento do sistema radicular, é disponibilizado nutrientes no solo, através de mecanismos que estimula à produção de fitohormônios, liberação de ácidos orgânicos na rizosfera, solubilização de fosfato e potássio (LÓPEZ-BUCIO; PELAGIO-FLORES; HERRERA-ESTRELLA 2015).

Tabela 11. Massa seca total e relação entre altura e diâmetro do coleto (RAD), relação entre a matéria seca da parte aérea e de raízes (RPAR) e índice de qualidade de Dickson (IQD) de mudas de murici

Trat	MS total	RAD	RPAR	IQD
T15	0.66 a	4.06 a	1.24 a	0.28 a
T36	0.69 a	3.68 a	1.62 a	0.31 a
T67	0.73 a	5.52 a	1.22 a	0.33 a
Mix	0.68 a	4.50 a	1.23 a	0.28 a
Test	<u>0.60 a</u>	<u>4.51a</u>	<u>1.23 a</u>	<u>0.25 a</u>
CV(%)	19.5	18.7	23.52	19.59

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Coeficiente de Variação C.V (%).

Quando avaliado a relação parte aérea e diâmetro, embora não tenha tido diferença significativa, o tratamento T67 apresentou maior valor, assim como para o IQD. Observa-se que todos os tratamentos apresentaram valores de IQD acima de 0.25, e segundo Fonseca et al. (2002) o IQD é um ótimo indicador da qualidade das mudas, já que leva em consideração todos os parâmetros de desenvolvimento da muda.

Embora o *Trichoderma* venha se destacando em diversas espécies de plantas por promover o crescimento das mudas pela habilidade de solubilizar fosfatos e outros minerais tornando disponíveis para as plantas (KAPRI; TEWARI, 2010; SILVA et al., 2011), além de produzir auxinas (VINALE et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2012), que segundo Taiz e Zeiger (2006) são substâncias que induzem o crescimento celular nos vegetais.

5. CONCLUSÃO

No presente estudo, os *Trichoderma* spp. selecionados no bioensaios tenha apresentado potencial para controlar *Colletotrichum* spp., eles não solubilizaram fosfato e nem produziram auxinas, levando a dedução que por conta disso, não foram eficientes na promoção de crescimento das mudas, mesmo estão em condições recomendadas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEKUNLE, A. T.; IKOTUN, T.; FLORINI, D. A.; CARDWELL, K. F. Field evaluation of selected formulations of *Trichoderma* species as seed treatment to control damping-off of cowpea caused by *Macrophomina phaseolina*. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 5, p. 419-424, 2006.
- ALENCAR SOBRINHO, R. S., ISHIDA, A., da SILVA, C. T. B., LAMEIRA, O. Efeito de extratos vegetais sobre *Cylindrocladium* sp. In: **Embrapa Amazônia Oriental-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 20.; SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 4., 2016, Belém, PA. Anais. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2016., 2016.
- BAE, Y. S.; KNUDSEN, G. R. Soil microbial biomass influence on growth and biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum*. **Biological Control**, v. 32, n. 2, p. 236-242, 2005.
- BAKER, R., ELAD, Y.; CHET, I. O experimento controlado no método científico, com ênfase especial no controle biológico. **Fitopatologia**, v. 74, n. 9, p. 1019-1021, 1984.
- BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. Illustrated genera of imperfect fungi. St. Paul: APS Press, 1998.
- BELL, D.K.; WELLS, H.D.; MARKHAM, C. R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, v.72, n.4, p.379-382, 1982.
- BJORKMAN, T. Effect of *Trichoderma* colonization on auxin-mediated regulation of root elongation. *Plant Growth Regulation*, Berlin, v. 43, n. 1, p. 89-92, 2004.
- Bomfim, M. P.; Sao Jose, A. R.; Reboucas, T. N. H.; Almeida, S. S.; Souza, I. V. B.; Dias, N. O. 2010. Avaliação antagonista *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stoloniferum* no maracujazeiro amarelo. *Summa Phytopathologica*, 36(1): 61-67.
- Bortolin, G. S., Wiethan, M. M. S., Vey, R. T., Oliveira, J. C. P., Köpp, M. M., & da Silva, A. C. F. *Trichoderma* na promoção do desenvolvimento de plantas de *Paspalum regnellii* Mez. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 1, p. 135-145, 2019.
- BROTMAN, Y.; KAPUGANTI, J. G.; VITERBO, A. *Trichoderma*. **Current Biology**, v. 20, n. 9, p. R390-R391, 2010.
- Cannon, P. F., Damm, U., Johnston, P. R. & Weir, B. S. *Colletotrichum*—current status and future directions. *Stud. Mycol.* **73**, 181–213 (2012).
- CAPORAL, F. R., PAULUS, G., & CASTOBEBER, J. A. Agroecologia: uma ciência do campo da complexidade. 2009.

CARDOSO, S.; ISHIDA, A. K. N.; BOARI, A. D. J.; DA COSTA, E. F. N. Identificação molecular de *Calonectria* sp. associado ao muricizeiro. In: **Embrapa Amazônia Oriental- Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SIMPÓSIO DE FRUTICULTURA SUSTENTÁVEL DO NORDESTE PARAENSE, 1., 2014, Capitão Poço. Fruticultura no Nordeste paraense: oportunidades e desafios para uma sustentabilidade eficiente: anais. Capitão Poço: UFRA, 2014., 2014.

CARVALHO, J. E. U. D., & NASCIMENTO, W. M. O. D. Caracterização biométrica e respostas fisiológicas de diásporos de murucizeiro a tratamentos para superação da dormência. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 3, p. 704-712, 2013.

CARVALHO FILHO, M.R. *Trichoderma* spp. como agentes de biocontrole de *Cylindrocladium scoparium* e como promotores de crescimento de mudas de eucalipto. Brasília: Universidade de Brasília, 2008. 74p. Dissertação Mestrado.

CHANG, Y. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. **Plant Dis.**, v. 70, p. 145-148, 1986.

CHAGAS JUNIOR, A. F.; GODOY, V. H. S.; MILLER, L. O.; CARVALHO FILHO, M. R. 2016. Bioprospecção de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum cliviae* e *Colletotrichum truncatum*. *Revista Brasileira de Biociências*, 14(4): 238-242.

COLE, G.T.; KENDRICK, B. *Biology of conidial fungi*. Nova York: Academic Press, 1981.

COSTA, K. K.; RUFINO, C. P. B.; MACEDO, P. E. F.; NOGUEIRA, S. R. 2019. Antagonismo de *Trichoderma* spp. sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da Antracnose de Euterpe precatoria. *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*, 6(1): 391-397.

Crous, P.W.; Groenewald, J.Z.; Slippers, B.; Wingfield, M.J. Global food and fibre security threatened by current inefficiencies in fungal identification. *Philos. Trans. R. Soc. B* **2016**, 371, 1709.

CRUZ-QUIROZ, R.; ROUSSOS, S.; RODRÍGUEZ-HERRERA, R.; HERNANDEZ-CASTILLO, D.; AGUILAR, C. N. 2018. Growth inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Phytophthora capsici* by native Mexican *Trichoderma* strains. *Karbala International Journal of Modern Science*, 4(2), 237-243.

SAXENA, A.; RAGHUWANSHI, R.; SINGH, H. B. 2016. Elevation of defense network in chilli against *Colletotrichum capsici* by phyllospheric *Trichoderma* strain. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35(2): 377-389.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. American Phytopathological Society, 1983.

Damm, U.; Cannon, P.F.; Woudenberg, J.H.C.; Crous, P.W. The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Stud. Mycol.* **2012**, 73, 37–113.

DARYAEI, A.; JONES, E. E.; GHAZALIBIGLAR, H.; GLARE, T. R.; FALLOON, R. E. Effects of temperature, light and incubation period on production, germination and bioactivity of *Trichoderma atroviride*. **Journal of applied microbiology**, v. 120, n. 4, p. 999-1009, 2016.

Dean, R. *et al* . Os 10 principais patógenos fúngicos na patologia molecular de plantas. *Mol. Plant Pathol.* **13** , 414–430 (2012).

DE ALMEIDA, S. F.. Avaliação de linhagens de *Trichoderma* na promoção de crescimento de raízes de tomateiro e no controle de *Meloidogyne enterolobii*. *Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Tese/dissertação (ALICE)*, 2020.

DE CARVALHO, J. E. U.; MULLER, C. H. Biometria e rendimento percentual de polpa de frutas nativas da Amazônia. **Embrapa Amazônia Oriental-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2005.

DE CARVALHO, J. E. U.; DO NASCIMENTO, W. M. O.; MÜLLER, C. H. Propagação do murucizeiro. **Embrapa Amazônia Oriental-Documentos (INFOTECA-E)**, 2006.

DO NASCIMENTO, W. M. O.; DE CARVALHO, J. E. U. Propagação do murucizeiro. **Embrapa Amazônia Oriental-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2016.

DE OLIVEIRA, A. G., JUNIOR, A. F. C., DOS SANTOS, G. R., MILLER, L. O., & CHAGAS, L. F. B. Potencial de solubilização de fosfato e produção de AIA por *Trichoderma* spp. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 3, p. 149-155, 2012.

DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; MUKHERJEE, P. K.; ZEILINGER, S.; GRIGORIEV, I. V.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 9, p. 749-759, 2011.

EL_KOMY, M. H. E.; SALEH, A. A.; ERANTHODI, A.; MOLAN, Y. Y. 2015. Characterization of novel *Trichoderma asperellum* isolates to select effective biocontrol agents against tomato Fusarium wilt. *The Plant Pathology Journal*, 31(1): 50-60.

EMBRAPA. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2. ed. Brasília: EMBRAPA, p. 627, 2009.

FANTINEL, V. S.; MUNIZ, M. F. B.; POLETTO, T.; DUTRA, A. F.; KRAHN, J. T.; FAVARETTO, R. F.; SARZI, J. S. 2018. Biocontrole *in vitro* de *Colletotrichum siamense*

utilizando *Trichoderma* spp. e *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. *Ciência Agrícola*, 16(3): 43-50.

Farr, D.F.; Rossman, A.Y. *Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory*; ARS, USDA: Washington, DC, USA, 2019.

FERREIRA, M. Murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich.). **Embrapa Rondônia-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E)**, 2005.

FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO. Malvaceae in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB156>. (Acessado em 25 de novembro).

FONSECA, É. P.; VALÉRI, S. V.; MIGLIORANZA, É.; FONSECA, N. A. N.; COUTO, L. Padrão de qualidade de mudas de *Trema micrantha* (L.) Blume, produzidas sob diferentes períodos de sombreamento. *Revista Árvore*, v.26, p.515-523, 2002.

GLARE, T.; CARADUS, J.; GELERNTER, W.; JACKSON, T.; KEYHANI, N.; KÖHL, J.; STEWART, A. Have biopesticides come of age. **Trends in biotechnology**, v. 30, n. 5, p. 250-258, 2012.

GOMES, R. P. Fruticultura brasileira. 11. Ed. São Paulo, SP: Nobel, 1983. 446 p.

GRAVEL, V.; ANTOUN, H.; TWEDDELL, R.J. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biology & Biochemistry*, Amsterdam, v. 39, n. 8, p. 1968-1977, 2007.

Guarnaccia, V.; Vitale, A.; Cirvilleri, G.; Aiello, D.; Susca, A.; Epifani, F.; Perrone, G.; Polizzi, G. Characterisation and pathogenicity of fungal species associated with branch cankers and stem-end rot of avocado in Italy. *Eur. J. Plant Pathol.* **2016**, 146, 963–976.

Guarnaccia, V.; Groenewald, J.Z.; Polizzi, G.; Crous, P.W. High species diversity in *Colletotrichum* associated with citrus diseases in Europe. *Persoonia* **2017**, 39, 32–50.

GUILHON-SIMPLICIO, F.; PEREIRA, M. D. M. Chemical and pharmacological aspects of *Byrsonima* (Malpighiaceae). **Química Nova**, v. 34, n. 6, p. 1032-1041, 2011.

GUIMARÃES, M. M.; SILVA, M. S. Valor nutricional e características químicas e físicas de frutos de murici-passa (*Byrsonima verbascifolia*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 817-821, 2008.

HAMACEK, F. R.; MARTINO, H. S.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Murici, fruit from the Cerrado of Minas Gerais, Brazil: physical and physicochemical characteristics, and occurrence and concentration of carotenoids and vitamins. **Fruits**, v. 69, n. 6, p. 459-472, 2014.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzinum* T-22. **Plant disease**, v. 84, n. 4, p. 377-393, 2000.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A., CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature reviews microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43, 2004.

Hyde, K. D. *et al.* *Colletotrichum*: a catalogue of confusion. *Fungal Divers.* **39**, 117–124 (2009a).

HORSFALL, J. G.; BARRAT, R. W. An improved grading system for measuring plant disease. *Phytopathology*, v.35, p.655, 1945.

HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, v. 87, n. 1, p. 4 – 10, 2003.

IRINA S, D.; VERENA, S. S.; ALFREDO, H. E.; BENJAMIN A, H.; CHARLES M, K.; ENRIQUE, M.; HRISTIAN P, K. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 10, 2011.

Jayawardena, RS *et al.* Notas sobre as espécies atualmente aceitas de *Colletotrichum*. *Mycosphere*. **7**, 1192–1260 (2016).

KAPRI, A.; TEWARI, L. Phosphate solubilization potential and phosphatase activity of rhizospheric *Trichoderma* spp. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo-SP, v. 41, n. 3, p. 787-795, 2010.

KOTZ, F. A., ARTMANN, M., & AARESTRUP, J. R.. O uso de etanol e isopropanol na extração de DNA de plantas. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 10, n. 1, 2014.

KUMAR, D. P.; THENMOZHI, R.; ANUPAMA, P. D.; NAGASATHYA, A.; THAJUDDIN, N.; Paneerselvam, A. Selection of potential antagonistic *Bacillus* and *Trichoderma* isolates from tomato rhizospheric soil against *Fusarium oxysporum* F. sp. *Lycoperscisi*. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 2012, 2, 1, 78-89.

LEÓN, L.; AGUSTÍN, J. **Efectos de la asociación Micorrizas más *Trichoderma* sobre el crecimiento de plántulas de cacao (*Theobroma cacao*) en viveros, en la zona de Babahoyo**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso. Babahoyo: UTB, 2016.

Liu, W., Yuan, D., Yin, P., Wang, Z., and Guo, G. (2016). Research Progress on Anthracnose of Tea Plant. *Chin. J. Trop. Agric.* 36, 20–26.

LÓPEZ-BUCIO, José; PELAGIO-FLORES, Ramón; HERRERA-ESTRELLA, Alfredo. *Trichoderma* as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. **Scientia horticulturae**, v. 196, p. 109-123, 2015.

LORITO, M.; WOO, S. L.; HARMAN, G. E.; MONTE, E. Translational research on *Trichoderma*: from omics to the field. **Annual review of phytopathology**, v. 48, p. 395-417, 2010.

LOUZADA, G. A. S.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; LOBO JÚNIOR, M.; MARTINS, I.; BRAÚNA, L. M. Potencial antagonístico de *Trichoderma* spp originários de diferentes agroecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biota Neotropica**, v. 9, n. 3, p. 145-149, 2009.

MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, Santa Maria, v. 35, n. 1, p.274-288, 2012.

Mackenzie, D. A., Jeenes, D. J., Belshaw, N. J., and Archer, D. B. (1993). Regulation of secreted protein production by filamentous fungi: recent developments and perspectives. *J. Gen. Microbiol.* 139:2295. doi: 10.1099/00221287-139-10-2295

MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S. M.; SILVA, W. R. **Avaliação da qualidade de sementes**. Piracicaba, SP: FEALQ, 1987. 230 p.

MARTINS-CORDER, M. P.; DE MELO, I. S. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. a *Verticillium dahliae* KLEB. **Scientia Agricola**, v. 55, n. 1, p. 1 – 7, 1998.

Medeiros, M. D. B. C. L., Jesus, H. I., Santos, N. D. F. A., Melo, M. R. S., Souza, V. Q., Borges, L. S., Freitas, L. S. Índice de qualidade de dickson e característica morfológica de mudas de pepino, produzidas em diferentes substratos alternativos. **Revista Agroecossistemas**, v. 10, n. 1, p. 159-173, 2018.

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

MILANESI, P. M.; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B.; REINIGER, L. R. S.; ANTONIOLLI, Z. I.; JUNGES, E.; LUPATINI, M. Detecção de fusarium spp. e *Trichoderma* spp. e antagonismo de *Trichoderma* spp. em soja sob plantio direto. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 34, n. 6, suplemento 1, p. 3219 – 3234, 2013.

MONTE, E. Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. **International Microbiology**, v. 4, n. 1, p. 1-4, 2001.

- MONTEIRO, D. C. B.; SOUSA, W. C.; PIRES, C. R. F.; AZEVEDO, L. A.; BORGES, J. S. Caracterização físico-química do fruto e da geleia de murici (*Brysonima crassifolia*). **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, n. 21, p. 3356-3366, 2015.
- MORAIS JÚNIOR, O. P.; LEÃO, E. F.; SILVA, F. C. E.; SILVA, D. C.; AGUIAR, J. T. PEIXOTO, N. Métodos para superação de dormência em sementes de murici. **Revista Agrotecnologia**, Anápolis, v. 6, p. 01-12, 2015.
- MURAKAMI, D. M.; BIZÃO, N.; VIEIRA, R. D. Quebra de dormência de semente de muruci. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1257-1265, 2011.
- MURPHY, J.; RILEY, J.P. A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. *Analytical Chemistry Acta*, Amsterdam, v. 27, p. 31-36, 1962.
- NAGAYAMA, K.; WATANABE, S.; KUMAKURA, K.; ICHIKAWA, T.; MAKINO, T. Development and commercialization of *Trichoderma asperellum* SKT-1 (Ecohope), a microbial pesticide. **Journal of Pesticide Science**, v. 32, n. 2, p. 164-169, 2007.
- NAUTIYAL, C.S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphorus solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, Malden, v.170, n.1, p. 265-270, 1999.
- O'Connell, RJ, Thon, MR, Hacquard, S., Amyotte, SG, Kleemann, J., Torres, MF, et al. (2012). Transições de estilo de vida em fungos *Colletotrichum* fitopatogênicos decifrados por análises de genoma e transcriptoma. *Nat. Genet.* 44, 1060–1065.
- OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annum* L.)**. 111 f. Dissertação Mestrado em Fitossanidade, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 1991.
- OLIVEIRA, A.G.; CHAGAS JUNIOR, A.F.; SANTOS, G.R.; MILLER, L.O. Potencial de solubilização de fosfato e produção de AIA por *Trichoderma* spp. *Revista Verde (Mossoró – RN)*, v. 7, n. 3, p. 149-155, jul-set, 2012.
- PASTRANA, A. M.; BASALLOTE-UREBA, M. J.; AGUADO, A.; AKDI, K.; CAPOTE, N. Biological control of strawberry soil-borne pathogens *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium solani*, using *Trichoderma asperellum* and *Bacillus* spp. *Phytopathologia Mediterranea*, 2016, 55, 1, 109–120.
- PERAZZOLLI, M.; MORETTO, M.; FONTANA, P.; FERRARINI, A., VELASCO, R.; MOSER, C.; PERTOT, I. Downy mildew resistance induced by *Trichoderma harzianum* T39 in susceptible grapevines partially mimics transcriptional changes of resistant genotypes. **BMC genomics**, v. 13, n. 1, p. 660, 2012.

PEREIRA, J. O. P.; FREITAS, B. M. Estudo da biologia floral e requerimentos de polinização do muricizeiro (*Byrsonima crassifolia* L.). **Revista Ciência Agronômica**, v. 33, n. 2, p. 5-12, 2002.

POLTRONIERI, T. P. D. S.; BENCHIMOL, R. L.; VERZIGNASSI, J. R.; POLTRONIERI, L. S. Primeiro relato de *Myrothecium roridum* em mucucizeiro no Pará. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 4, p. 347-347, 2012.

RAI, Bharat; SINGH, V. N.; SINGH, D. B. *Trichoderma viride* as a mycoparasite of *Aspergillus* spp. **Plant and Soil**, v. 57, n. 1, p. 131-135, 1980.

REGO, M. M.; ALBUQUERQUE, P. M.; RAMOS, M. C.; CARREIRA, L. M. Aspectos da biologia de nidificação de *Centris flavifrons* (Friese)(Hymenoptera: Apidae, Centridini), um dos principais polinizadores do murici (*Byrsonima crassifolia* L. Kunth, Malpighiaceae), no Maranhão. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 5, p. 579-587, 2006.

RESENDE, M.L. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 4, p. 793-798, 2004.

RIBEIRO, T. S. **O fungo *Trichoderma* spp. no controle de fitopatógenos: dificuldades e perspectivas**. 2009. 35 f. Monografia (Especialização) - Curso de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

RIBEIRO, M. S. Estudo funcional do gene gluc31 que codifica uma β -1,3-glucanase da família GH16 de *Trichoderma harzianum*. 2017. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

SAITO, L. R.; SALES, L. L. S. R.; MARTINCKOSKI, L.; ROYER, R.; RAMOS, M. S. D.; REFFATTI, T. Aspectos dos efeitos do fungo *Trichoderma* spp. no biocontrole de patógenos de culturas agrícolas. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v. 2, n. 3, p. 203-216, 2011.

SAMUELS, G. J. *Trichoderma*: systematics, the sexual state, and ecology. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 195-206, 2006.

SANOGO, S.; POMELLA, A.; HEBBAR, P. K.; BAILEY, B.; COSTA, J. C. B.; SAMUELS, G. J.; LUMSDEN, R. D. Production and Germination of Conidia of *Trichoderma stromaticum*, a Mycoparasite of *Crinipellis pernicioso* on Cacao. **Phytopathology**, v. 92, p.1032 – 1037, 2002.

SIHAG, R. C. Pollination, pollinators and pollination modes: ecological and economic importance. **Pollination of cultivated plants in the tropics** (Roubik DW, ed.). **FAO Agricultural Services Bulletin**, Rome, p. 11-39, 1995.

SILVA, J. S.; COIMBRA, J. L.; TAVARES, D. G.; AFONSO, G. O. Inibição *in vitro* do crescimento micelial do fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* utilizando isolados de actinomicetos obtidos da rizosfera de plantas nativas do cerrado baiano. *Natureza on line* 11 (1): 15-19, 20013.

SILVA, V. N.; GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M.; HAKAKAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília-DF, v. 46, n. 12, p. 1609-1618, 2011.

SILVA JUNIOR, A. L.; CARDOSO, A. F.; RÊGO, M. C. F.; BATISTA, T. F. V.; DA SILVA, G. B. Uso de *Trichoderma asperellum* na promoção do crescimento de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.). In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 40., 2017, Campinas. Anais... Campinas: Instituto Agrônômico, 2017.

SIMÕES, M. L. G. **Controle Biológico de *Moniliophthora perniciosa*, Agente Causal da Vassoura de Bruxa do Cacaueiro, por diferentes Espécies e Linhagens De *Trichoderma* spp.** Rio Claro: [s.n.], 220 p. 2010.

SINGH, A.; SRIVASTAVA, S.; SINGH, H. B. Effect of substrates on growth and shelf life of *Trichoderma harzianum* and its use in biocontrol of diseases. **Bioresource technology**, v. 98, n. 2, p. 470-473, 2007.

SINGH, B. N.; SINGH, A.; SINGH, B. R.; SINGH, H. B. *Trichoderma harzianum* elicits induced resistance in sunflower challenged by *Rhizoctonia solani*. **Journal of applied microbiology**, v. 116, n. 3, p. 654-666, 2014.

SHORESH, M.; YEDIDIA, I.; CHET, I. Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. **Phytopathology**, v. 95, n. 1, p. 76-84, 2005.

SHORESH, M.; HARMAN, G. E.; MASTOURI, F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. **Annual review of phytopathology**, v. 48, p. 21-43, 2010.

SOBRINHO, R.; ISHIDA, A.; SILVA, C. T. B.; BEZERRA, V. Efeito de extratos vegetais sobre *Lasiodiplodia* spp. In: **Embrapa Amazônia Oriental-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 50., 2017, Uberlândia. Anais..[SI]: SBF, 2017., 2017.

SOUZA, R. S.; BILHARVA, M. G.; DE MARCO, R.; JANDREY, W. F.; GOMES, F. T.; MARTINS, C. R. *Trichoderma* e húmus líquido no enraizamento de mudas de ficus carica L. **Revista Científica Rural**, v. 20, n. 1, p. 263-274, 2018.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; WOO, S. L.; LORITO, M. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 1-10, 2008.

- VITERBO, A.; HAREL, M.; HORWITZ, B. A.; CHET, I.; MUKHERJEE, P. K. *Trichoderma* mitogen-activated protein kinase signaling is involved in induction of plant systemic resistance. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 71, n. 10, p. 6241-6246, 2005.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Giberelinas: Reguladores da altura dos vegetais. **TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal**, v. 3, p. 449-540, 2006.
- Weir, BS, Johnston, PR & Damm, U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Viga. Mycol.* **73**, 115-180 (2012).
- WELLER, D. M. Biological control of soilborne plant pathogens in the rizosphere with bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, v. 26, p. 379 – 407, 1988.
- WILSON, P. S.; KETOLA, E. O.; AHVENNIEMI, P. M.; LEHTONEN, M. J.; VALKONEN, J. P. T. Dynamics of soilborne *Rhizoctonia solani* in the presence of *Trichoderma harzianum*: effects on stem canker, black scurf and progeny tubers of potato. **Plant Pathology**, v. 57, n. 1, p. 152-161, 2008.
- WOO, S. L.; SCALA, F.; RUOCCO, M.; LORITO, M. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 181-185, 2006.
- XUE, A.G.; GUO, W.; CHEN, Y.; SIDDIQUI, I.; MARCHAND, G.; LIU, J.; REN, C. 2017. Effect of seed treatment with novel strains of *Trichoderma* spp. on establishment and yield of spring wheat. *Crop Protection*, 96: 97-102. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2017.02.003>.
- YEDIDIA, I.; SHORESH, M.; KEREM, Z.; BENHAMOU, N.; KAPULNIK, Y.; CHET, I. Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and accumulation of *phytoalexins*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 69, n. 12, p. 7343-7353, 2003.