

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

DANIELLE DAVI RODRIGUES GONDIM

**EFICIÊNCIA DE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. NO CONTROLE BIOLÓGICO *in vitro*
DE *Ceratocystis fimbriata***

**MONTE CARMELO
2025**

DANIELLE DAVI RODRIGUES GONDIM

**EFICIÊNCIA DE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. NO CONTROLE BIOLÓGICO *in vitro*
DE *Ceratocystis fimbriata***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia Florestal, Campus Monte Carmelo, da Universidade Federal de Uberlândia, como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia Florestal.

Orientador: André Luiz Firmino

DANIELLE DAVI RODRIGUES GONDIM

**EFICIÊNCIA DE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. NO CONTROLE BIOLÓGICO *in vitro*
DE *Ceratocystis fimbriata***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao curso de Engenharia Florestal, Campus
Monte Carmelo, da Universidade Federal de
Uberlândia, como parte dos requisitos
necessários para obtenção do grau de
Bacharel em Engenharia Florestal.

Monte Carmelo, 16 de maio de 2025.

Banca Examinadora

Prof. Dr. André Luiz Firmino
Orientador

Eng. Florestal Bruna Ferreira dos Santos
Membro da Banca

Eng. Agrônomo Werik Pereira Dias
Membro da Banca

**MONTE CARMELO
2025**

À minha filha Cecilia Davi, minha luz e razão da minha persistência,
e à minha mãe Elaine, meu alicerce e maior exemplo de força.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, com toda minha alma e gratidão, por iluminar meus passos e guiar meu caminho com sabedoria, fé e amor. Sua presença foi meu refúgio nos momentos difíceis e minha inspiração para continuar quando tudo parecia incerto. A Ele, toda a glória!

Com um amor que não cabe em palavras, agradeço à minha mãe, Elaine, minha fortaleza, minha amiga, meu alicerce. Obrigada por cada renúncia, por cada gesto de cuidado e pelo apoio incondicional em todas as fases da vida. À minha filha, Cecilia Davi, razão do meu viver, minha luz diária e minha maior motivação. Que ela cresça sabendo que esse sonho realizado também é por ela e para ela.

Aos meus bisavós, Geralda e Pedro (*in memoriam*), e ao meu pai, Edivon (*in memoriam*), meu carinho eterno e minha gratidão profunda. Mesmo ausentes fisicamente, vocês vivem em mim, me fortalecem com suas memórias e me inspiram a seguir com dignidade e coragem. Ao Gustavo e à Fatinha, obrigada pelo carinho, pelas palavras amigas e pelo apoio sincero ao longo do percurso.

Agradeço especialmente ao meu orientador, professor André Luiz Firmino, pela orientação incansável, pelos conselhos valiosos. Sua disponibilidade, paciência e incentivo constante foram fundamentais não apenas para o desenvolvimento deste trabalho, mas também para o meu crescimento acadêmico e pessoal. Obrigada por acreditar no meu potencial, por cada palavra de motivação e por compartilhar seu conhecimento com generosidade e excelência. Foi uma honra aprender com você e ter sua confiança ao longo desta jornada.

Agradeço, de forma especial, aos membros da banca avaliadora, Eng. Florestal Bruna Ferreira dos Santos e Eng. Agrônomo Werik Pereira Dias, pela generosidade em aceitar o convite e pela valiosa contribuição para a avaliação deste trabalho. Suas considerações, conhecimentos técnicos e atenção dedicados a esta etapa foram fundamentais para enriquecer a discussão e elevar a qualidade desta pesquisa. À Bruna, deixo um agradecimento ainda mais especial pelo apoio. Sua disposição e ajuda prática no laboratório foram essenciais para o desenvolvimento desta pesquisa. Sou profundamente grata pela parceria e pela confiança ao longo desse processo.

Com imenso carinho, agradeço aos meus amigos Claudia, Thiago, Karolayne, Susana, Alexandre e Mayumi, que estiveram ao meu lado com palavras de incentivo, apoio sincero e amizade verdadeira ao longo dessa caminhada. Cada conversa, cada gesto de cuidado e cada momento compartilhado com vocês foi essencial para que eu permanecesse firme, mesmo nos dias mais desafiadores. Sou profundamente grata por tê-los na minha vida e por todo o afeto e companheirismo que tornaram essa jornada mais leve e especial. Estendo minha gratidão aos demais amigos que,

mesmo não citados aqui nominalmente, estiveram presentes com carinho, torcida e boas energias, contribuindo com gestos simples, mas com grande significado. Agradeço também aos colegas de trabalho, pela parceria, compreensão e troca de experiências, que me ajudaram a conciliar os desafios da vida profissional com os da vida acadêmica, sendo parte fundamental da construção dessa conquista.

Agradeço à FAPEMIG, pelo apoio à pesquisa e incentivo à ciência, ao Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia (LAMIF), por me acolher e oferecer a estrutura necessária para a realização deste estudo, e ao NCBio – Núcleo de Pesquisas em Controle Biológico, pela colaboração, suporte e contribuição científica que enriqueceram esta pesquisa.

A todos que, de alguma forma, fizeram parte dessa jornada, meu muito obrigada.

"Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem-sucedidos."
Provérbios 16:3

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Escala diagramática para avaliação do teste de culturas pareadas, de acordo com escala proposta por Bell et al. (1982).....	16
Figura 2 - Crescimento de <i>Ceratocystis fimbriata</i> na condição de controle (testemunha).	18
Figura 3 - Teste de antagonismo in vitro entre isolados de <i>Trichoderma</i> spp. (lado direito) e <i>Ceratocystis fimbriata</i> (lado esquerdo) em meio BDA. Representação dos pares de cultivo: A) TA1; B) TA2; C) TA3; D) TA4; E) TA5; F) T01; G) T04; H) T05; I) T09; J) T10; K) T23; L) T31; M) T33; N) T37; O) T39; P) T40; Q) T42; R) T44; S) T46; T) T48.	19
Figura 4 - Estruturas germinadas e não germinadas de <i>Ceratocystis fimbriata</i> sob diferentes tratamentos com isolados de <i>Trichoderma</i> . (a) Conídio de <i>C. fimbriata</i> não germinado (b) Conídio de <i>C. fimbriata</i> não considerado como germinado (c) Conídio de <i>C. fimbriata</i> germinado, (d) CxTA02, (e) CxTA03, (f) CxT04, (g) CxT09, (h) CxT44 e (i) CxT46. Barras de escala: 10 µm.....	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação dos isolados de <i>Trichoderma</i> spp. quanto à atividade antagônica, segundo a escala de Bell et al. (1982)	19
Tabela 2 - Resultados da ANOVA para os tratamentos com <i>Ceratocystis fimbriata</i> e isolados de <i>Trichoderma</i>	21
Tabela 3 - Resultados do teste de Tukey comparando as médias dos tratamentos	22

RESUMO

A cultura do eucalipto tem grande importância para o setor florestal brasileiro, representando a principal espécie plantada no país, com destaque para sua alta produtividade. Entretanto, doenças causadas por fitopatógenos, como a murcha provocada por *Ceratocystis fimbriata*, têm causado prejuízos significativos ao setor florestal, reduzindo o crescimento volumétrico das árvores e o rendimento industrial da madeira. Diante da ineficácia dos métodos químicos convencionais e dos impactos ambientais gerados, o controle biológico surge como uma alternativa sustentável e promissora. O objetivo deste estudo foi avaliar, por meio de testes *in vitro*, o potencial antagonista de isolados de *Trichoderma* spp. contra *C. fimbriata*. Foram utilizados 20 isolados de *Trichoderma* spp. em ensaios de pareamento micelial e germinação de conídios. Os isolados foram avaliados quanto à sua capacidade de inibição do crescimento do patógeno e redução do tubo germinativo. Seis isolados foram selecionados para a segunda etapa dos testes, destacando-se o isolado T09, que reduziu significativamente o crescimento do tubo germinativo de *C. fimbriata*, apresentando média de 17,88 µm em comparação à testemunha com 70,66 µm. Os dados foram submetidos à análise estatística, com diferenças significativas entre os tratamentos confirmadas pela ANOVA e pelo teste de Tukey. Os resultados demonstram que os isolados de *Trichoderma* spp. apresentam um potencial promissor como agentes de biocontrole da murcha-de-*Ceratocystis*. No entanto, estudos adicionais em condições não controladas são necessários para avaliar a viabilidade de aplicações prática desses isolados, considerando variáveis respostas de plantas e nas interações com o patógeno.

Palavras-chave: *Ceratocystis fimbriata*. Micoparasitismo. *Eucalyptus*. Fitopatologia. *Trichoderma* spp.

ABSTRACT

Eucalyptus cultivation is of great importance to the Brazilian forestry sector, representing the main planted species in the country due to its high productivity. However, diseases caused by phytopathogens, such as wilt induced by *Ceratocystis fimbriata*, have caused significant losses to the forestry sector by reducing tree volume growth and industrial wood yield. Given the ineffectiveness of conventional chemical methods and their associated environmental impacts, biological control emerges as a sustainable and promising alternative. This study aimed to evaluate, through in vitro tests, the antagonistic potential of *Trichoderma* spp. isolates against *C. fimbriata*. Twenty *Trichoderma* spp. isolates were used in dual culture assays and conidial germination tests. The isolates were evaluated for their ability to inhibit pathogen growth and reduce germ tube elongation. Six isolates were selected for the second stage of testing, with isolate T09 standing out by significantly reducing the germ tube length of *C. fimbriata*, with an average of 17.88 μm compared to the control's 70.66 μm . Data were subjected to statistical analysis, with significant differences between treatments confirmed by ANOVA and Tukey's test. The results demonstrate that *Trichoderma* spp. isolates have promising potential as biocontrol agents against Ceratocystis wilt. However, further studies under non-controlled conditions are necessary to assess the practical application feasibility of these isolates, considering plant response variability and interactions with the pathogen.

Keywords: *Ceratocystis fimbriata*. Mycoparasitism. Eucalyptus. Phytopathology. *Trichoderma* spp.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVO.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1 LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO E DOS ISOLADOS	15
3.2 TESTE DE PAREAMENTO <i>in vitro</i>	15
3.3 TESTE DE GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS DE <i>C. fimbriata</i>	16
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4.1 AVALIAÇÃO DO TESTE DE PAREAMENTO	18
4.2 AVALIAÇÃO DO TESTE DE GERMINAÇÃO DE ESPOROS	21
5 CONCLUSÃO	24
REFERÊNCIAS	25

1 INTRODUÇÃO

A cultura do eucalipto (*Eucalyptus* spp.) tem se consolidado como um dos pilares da economia florestal brasileira, desempenhando um papel fundamental na produção de madeira para os setores de papel e celulose, móveis, construção civil e bioenergia (IBA, 2024). Em 2023, o Brasil atingiu a marca de 10 milhões de hectares dedicados a árvores plantadas, com 7,8 milhões de hectares ocupados por eucalipto, representando 76% da área total plantada. Esse crescimento reflete a importância estratégica dessa cultura, que obteve um aumento de 41% nos últimos dez anos, consolidando o país como líder mundial em produtividade de madeira de eucalipto, com produtividade média de 33,7 m³/ha/ano (IBA, 2024). No entanto, o avanço e a sustentabilidade dessa produção enfrentam desafios significativos, sendo um dos mais críticos a presença de patógenos que afetam a saúde das plantações e comprometem tanto a quantidade quanto a qualidade da madeira.

No Brasil, já foram identificados cerca de 300 patógenos que afetam diversas espécies de *Eucalyptus* (FUNGAL DATABASE, 2025). Dentre os principais destacam-se o oídio (*Oidium eucalypti*), cancro-do-eucalipto (*Chrysophorte cubensis*), mancha-de-calonectria (*Calonectria* spp.), mancha-de-teratosphaeria (*Teratosphaeria nubilosa* e *T. cryptica*), mancha-de-Mycosphaerella (*Mycosphaerella* spp.), ferrugem-do-eucalipto (*Austropuccinia psidii*) e a murcha-de-*Ceratocystis* (*Ceratocystis fimbriata*) (ALFENAS et al., 2022).

Ceratocystis fimbriata é o agente responsável pela murcha do eucalipto, uma doença devastadora que obstrui o sistema vascular da planta, comprometendo a translocação de água e nutrientes. A infecção por esse patógeno leva ao escurecimento radial do lenho, onde o xilema das plantas exibe estrias escuras que se espalham a partir das extremidades em direção ao centro, interferindo diretamente no transporte hídrico. Além disso, o *die-back* é frequentemente observado, caracterizado pela morte progressiva das extremidades dos galhos e ramos, resultando na perda gradual do vigor e viabilidade econômica da árvore (SILVA et al., 2020). Esses sintomas culminam em queda no incremento volumétrico de madeira e na morte das plantas, com perdas que chegam a até 58% no crescimento volumétrico e 13,7% no rendimento de polpa purificada, especialmente em clones híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla* no sul da Bahia (ANTONIO; FIRMINO, 2024).

O controle de doenças causadas por patógenos de solo é um grande desafio, uma vez que esses agentes afetam as plantas de forma sistêmica, dificultando o uso de métodos tradicionais de controle, como os tratamentos químicos. No caso específico de *Ceratocystis*

fimbriata, essa dificuldade é ainda maior devido à formação de estruturas de resistência, como os clamidósporos, que permitem a sobrevivência prolongada do patógeno no solo e em resíduos vegetais, mesmo sob condições adversas e após a aplicação de tratamentos químicos. Essas características tornam o controle químico não apenas ineficiente, mas, na prática, inviável como medida de manejo para essa doença. Além disso, o uso recorrente de defensivos químicos pode acarretar impactos ambientais negativos e riscos à saúde humana, reforçando a necessidade de alternativas mais sustentáveis. Diante dessas limitações, o plantio de clones resistentes constitui, atualmente, a principal estratégia adotada.

Uma das alternativas mais promissoras para o controle de doenças fúngicas é o controle biológico, que emprega organismos vivos, como fungos benéficos, para inibir a ação de patógenos. Contudo, no setor florestal, as pesquisas sobre o controle biológico de doenças ainda são muito iniciais, e sua aplicação é praticamente inexistente. Os estudos realizados até hoje, foram limitados ao uso de agentes como *Clonostachys* e *Trichoderma* no controle do mofo-cinza (*Botrytis cinerea*) em viveiros (ZALDÚA; SANFENTES, 2010), *Trichoderma harzianum* e *Purpureocillium lilacinum* no controle da murcha-de-*Ceratocystis* em solo (ANTONIO; FIRMINO, 2024). Portanto, a exploração e o desenvolvimento de novos agentes biológicos para o controle de doenças florestais, tanto em viveiros quanto no campo, representam uma alternativa de grande relevância, tanto sob a ótica ambiental quanto comercial, com o objetivo de reduzir a presença de inóculo e a incidência das doenças.

Entre os agentes biológicos mais estudados, destaca-se o gênero *Trichoderma*. Esse fungo possui várias propriedades que o tornam um candidato ideal para o controle de doenças como a causada por *C. fimbriata* Ellis & Halsted. O *Trichoderma* spp. atua por micoparasitismo, reconhecendo, aderindo e parasitando as hifas do patógeno, promovendo a degradação da parede celular e, conseqüentemente, a morte do fungo. Além disso, apresenta mecanismos de competição por espaço e nutrientes e a produção de compostos antifúngicos, como enzimas hidrolíticas (quitinases, glucanases) e metabólitos secundários, que inibem o crescimento e a esporulação de fungos fitopatogênicos (POVEDA, 2021). Fungos desse gênero também induz resistência nas plantas, aumentando sua tolerância a infecções. Já utilizado com sucesso no controle de patógenos como *Ralstonia solanacearum*, *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp., *Sclerotinia* spp., *Cylindrocladium candelabrum* (NASCIMENTO et al., 2022). O *Trichoderma* surge como uma alternativa ecológica e eficaz para o controle de doenças causadas por patógenos de solo em eucalipto, especialmente em condições de viveiro e campo.

A crescente demanda econômica pelo cultivo de eucalipto no Brasil, aliada às dificuldades no manejo da murcha-de-*Ceratocystis*, reforça a necessidade de alternativas de controle mais sustentáveis e de baixo impacto ambiental, que contribuam para a manutenção do equilíbrio ecológico em áreas produtivas. Nesse cenário, o controle biológico desponta como uma estratégia promissora, no estudo do potencial de isolados de *Trichoderma* spp. O desenvolvimento de métodos eficazes para o combate à murcha do eucalipto pode representar um avanço significativo na longevidade e na qualidade dessa importante cultura florestal.

2 OBJETIVO

Considerando a importância econômica do eucalipto para a indústria florestal brasileira, este estudo tem como objetivo avaliar, por meio de testes *in vitro*, o potencial de *Trichoderma* spp. no controle biológico de *C. fimbriata*, com o intuito de oferecer uma alternativa sustentável e eficaz para o manejo da doença fúngica nesta cultura.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO E DOS ISOLADOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia (LAMIF) da Universidade Federal de Uberlândia, Campus Monte Carmelo, no estado de Minas Gerais.

Na pesquisa, foram utilizados 20 isolados de *Trichoderma* spp. e 1 isolado de *Ceratocystis* sp., os quais estavam armazenados na coleção de culturas do LAMIF. Os isolados foram mantidos em tubos criogênicos contendo 1 mL de água destilada autoclavada, garantindo a preservação das amostras.

3.2 TESTE DE PAREAMENTO *in vitro*

Com o objetivo de avaliar o efeito antagônico de *Trichoderma* spp. no crescimento micelial e reprodutivo de *C. fimbriata*, foi adotada a técnica de cultivo pareado, com quatro repetições para cada isolado de *Trichoderma* spp. Para a multiplicação inicial, um disco de micélio de cada isolado foi transferido da preservação para placas de Petri contendo meio batata-dextrose-água (BDA), as quais foram incubadas em câmara B.O.D. a 25 ± 1 °C. Após o crescimento, discos de micélio foram retirados da extremidade das colônias fúngicas dos dois

fungos e posicionados a 1 cm de distância em lados opostos de novas placas. Os discos de *Trichoderma* spp. foram posicionados à direita da placa de Petri, enquanto os discos de *C. fimbriata* foram colocados à esquerda, permitindo a observação da interação direta entre os microrganismos. A repicagem de *C. fimbriata* foi realizada três dias antes de *Trichoderma* spp., devido à velocidade de crescimento mais lenta do patógeno (RODRIGUES et al., 2018). Como controle, o fitopatógeno foi cultivado isoladamente em placas de Petri com o meio BDA, com discos de micélio posicionados a 1 cm da borda. As avaliações foram realizadas 7 dias após a introdução de *Ceratocystis fimbriata* nas placas, correspondendo a 4 dias após a inserção de *Trichoderma* spp., e seguiram a escala proposta por Bell et al. (1982) (Figura 1).

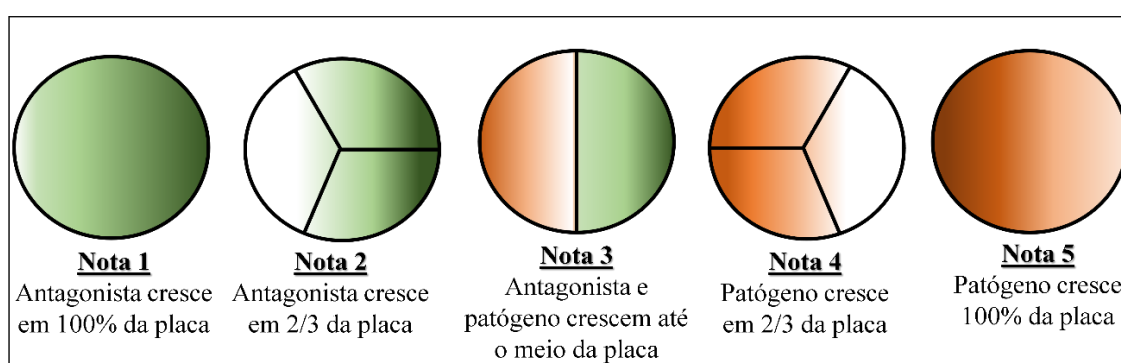


Figura 1 - Escala diagramática para avaliação do teste de culturas pareadas, de acordo com escala proposta por Bell et al. (1982).

Fonte: A autora.

3.3 TESTE DE GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS DE *C. fimbriata*

Para a preparação das suspensões de esporos, os isolados de *Trichoderma* spp. com melhor desempenho no pré-teste, selecionados com base nos resultados do teste de pareamento das culturas, foram transferidos para placas de Petri contendo o meio de cultura BDA e incubados a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ por 7 dias. Após esse período, foram adicionados 10 mL de água destilada esterilizada em cada placa de Petri, e os micélios foram raspados com o auxílio de palito de dente previamente autoclavado a 121°C por 20 min.

Após a preparação da suspensão de conídios, realizou-se a contagem dos conídios do patógeno e dos antagonistas utilizando uma câmara de Neubauer. Devido à alta concentração obtida, foi necessário realizar diluições seriadas para ajustar a suspensão à concentração final de 10^6 conídios/mL, conforme a metodologia descrita por Salcedo-Sarmiento et al. (2021).

Para a realização do teste experimental, foram dispostas em placas de Petri duas camadas de papel germitest, inicialmente secas, sobre as quais foram colocados palitos de dente sustentando duas lâminas de microscopia. Em seguida, todo o material foi autoclavado. Após o resfriamento, as camadas de papel germitest foram umedecidas com 2 mL de água destilada esterilizada, com o objetivo de manter a umidade e evitar o ressecamento das gotas. Posteriormente, foi aplicada a suspensão de conídios de *C. fimbriata* a 10^6 conídios/mL como testemunha. Para cada tratamento, foram depositadas 5 gotas de 15 μ L da suspensão, sendo cada gota considerada uma repetição. Da mesma forma, 5 gotas de 15 μ L das misturas de suspensões contendo *C. fimbriata* e *Trichoderma* spp. foram depositadas sobre as lâminas, totalizando 5 repetições. As preparações foram incubadas em câmara BOD a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ por 72 horas.

Após o período de incubação, foi depositada uma gota de 15 μ L de lactofucsina sobre as gotas para interromper o processo de germinação e crescimento dos fungos. Em seguida, uma lamínula foi cuidadosamente colocada sobre as gotas, sendo selada nas bordas com esmalte incolor. Posteriormente, as preparações foram examinadas em microscópio Leica DM2000 led na objetiva de 63x.

Para a avaliação das preparações, foram medidos no software Leiss, tubos germinativos de cada tratamento que apresentassem o dobro do tamanho do diâmetro do conídio, sendo as medições expressas em micrômetros (μm).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para verificar a existência de diferenças significativas entre os tratamentos. A normalidade dos resíduos foi avaliada por meio do teste de Shapiro-Wilk, adotando-se o nível de significância de 5%. Quando identificado efeito significativo pelo teste F da ANOVA ($p < 0,05$), as médias dos tratamentos foram comparadas por meio do teste de Tukey, também a 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software R.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 AVALIAÇÃO DO TESTE DE PAREAMENTO

Foram avaliados 20 isolados (Figura 3) de *Trichoderma* spp. no teste de pareamento *in vitro* contra o fitopatógeno *C. fimbriata* (Figura 2), e todos os isolados foram analisados de acordo com a escala de Bell et al. (1982) (Figura 1). A tabela 1 apresenta as notas atribuídas a cada isolado com base no seu desempenho no teste de antagonismo.



Figura 2- Crescimento de *Ceratocystis fimbriata* na condição de controle (testemunha).

Fonte: A autora.

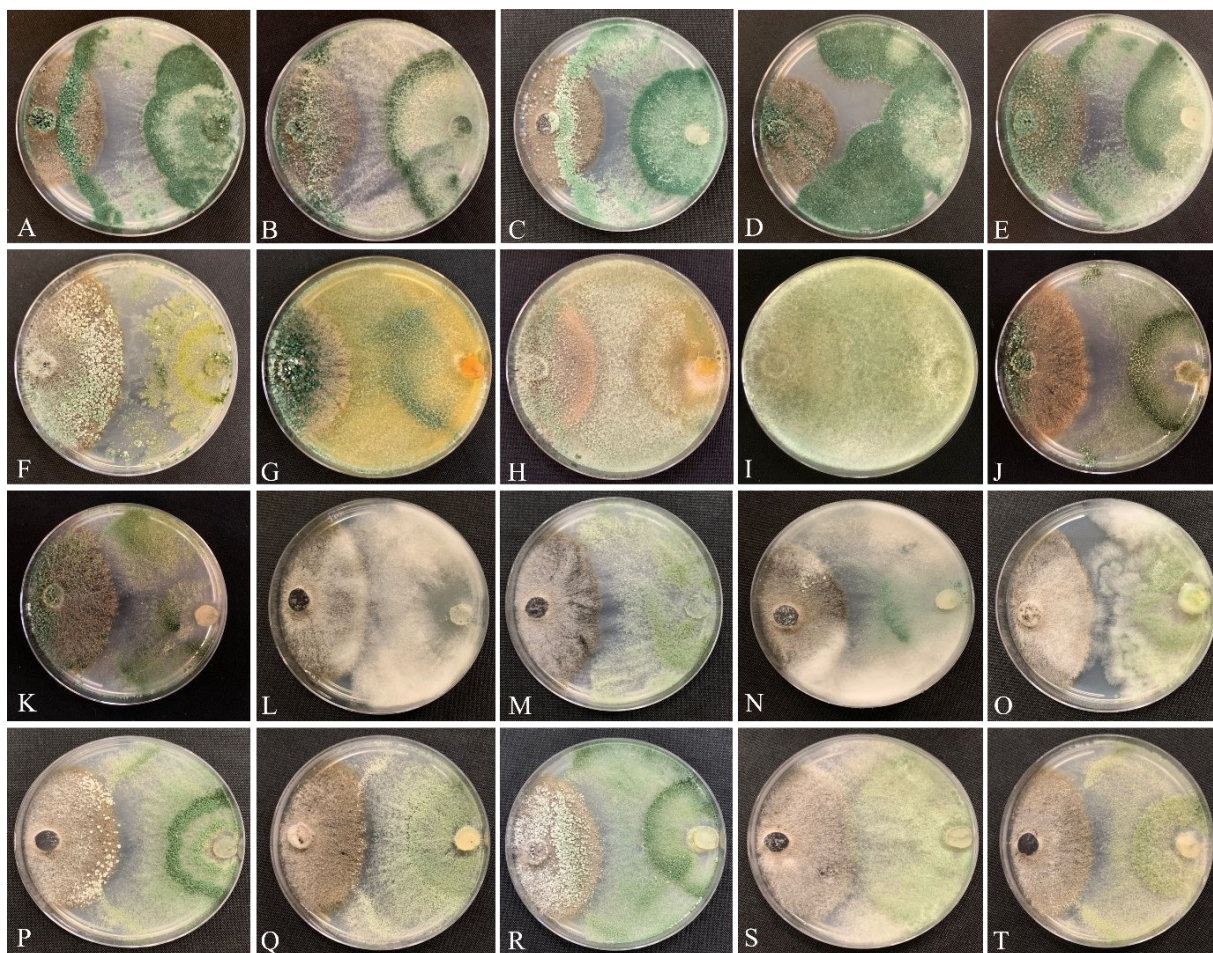


Figura 3 - Teste de antagonismo in vitro entre isolados de *Trichoderma* spp. (lado direito) e *Ceratocystis fimbriata* (lado esquerdo) em meio BDA. Representação dos pares de cultivo: A) TA1; B) TA2; C) TA3; D) TA4; E) TA5; F) T01; G) T04; H) T05; I) T09; J) T10; K) T23; L) T31; M) T33; N) T37; O) T39; P) T40; Q) T42; R) T44; S) T46; T) T48.

Tabela 1 - Classificação dos isolados de *Trichoderma* spp. quanto à atividade antagônica, segundo a escala de Bell et al. (1982)

Isolados de <i>Trichoderma</i>	Nota
TA1	1
TA2*	1
TA3*	1
TA4	2
TA5	1
T01	1
T04*	1
T05	1
T09*	1
T10	2
T23	2
T31	1
T33	2
T37	2
T39	2

Tabela 1 - Classificação dos isolados de *Trichoderma* spp. quanto à atividade antagônica, segundo a escala de Bell et al. (1982)

Isolados de <i>Trichoderma</i>	Nota
T40	2
T42	2
T44*	1
T46*	1
T48	2

Legenda: *Isolados selecionados para o teste de germinação de conídios.

Fonte: A autora.

A avaliação dos isolados de *Trichoderma* spp. com base na escala de Bell et al. (1982) demonstrou que, dos 20 isolados analisados, 12 obtiveram nota 1, indicando elevada atividade antagônica, enquanto 8 isolados foram classificados com nota 2, caracterizando antagonismo moderado. Não foram registrados isolados com notas 3, 4 ou 5, reforçando o alto potencial de inibição dos isolados testados.

Entre os isolados classificados com nota 1, foram selecionados visualmente para o teste de germinação de conídios os isolados TA2, TA3, T04, T09, T44 e T46, com base na capacidade de esporulação e na intensidade do micoparasitismo observado.

Esses achados corroboram os resultados obtidos por Quevedo et al. (2022), que observaram notas médias próximas a 2,00 na avaliação do antagonismo de *Trichoderma* spp. contra *Fusarium oxysporum* em meio BDA, sendo que valores inferiores ou iguais a 2 na escala de Bell indicam isolados com elevado potencial antagônico e capacidade de colonização competitiva sobre o fitopatógeno.

De forma congruente, Aoyagi e Doi (2021) relataram que a cepa *Trichoderma harzianum* TCA5 apresentou nota 1 em todas as repetições do teste de cultivo pareado contra *Fusarium oxysporum*, evidenciando não apenas vigoroso crescimento micelial e formação de halo de inibição, mas também a capacidade de esporular sobre o micélio do patógeno.

Portanto, os dados obtidos neste estudo confirmam que a maioria dos isolados avaliados possui elevado desempenho antagônico, especialmente por mecanismos de competição e micoparasitismo. Recomenda-se, entretanto, que estudos futuros sejam conduzidos para a caracterização mais aprofundada dos mecanismos de ação, incluindo a produção de metabólitos secundários e a validação da eficácia dos isolados em condições de campo, a fim de viabilizar sua utilização como agentes de biocontrole no manejo integrado de doenças fúngicas.

4.2 AVALIAÇÃO DO TESTE DE GERMINAÇÃO DE ESPOROS

Após a análise do potencial antagônico dos isolados de *Trichoderma* no crescimento micelial de *C. fimbriata* no teste de pareamento, a próxima etapa do estudo focou na avaliação do efeito de *Trichoderma* na germinação dos esporos de *C. fimbriata*. Esse teste tem como objetivo analisar de forma mais detalhada como o comportamento dos isolados de *Trichoderma* interferem no desenvolvimento inicial do patógeno, especialmente no processo de germinação do conídio, que é crucial para a infecção das plantas. Os resultados obtidos oferecem uma visão mais precisa sobre o impacto de *Trichoderma* nas fases iniciais do ciclo de vida do patógeno, contribuindo para a compreensão de sua eficácia como agente de controle biológico.

A análise de variância (ANOVA) realizada para os dados experimentais indicou diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,0001$) (Tabela 2), sugerindo que as combinações de *C. fimbriata* com diferentes isolados de *Trichoderma* influenciaram de forma distinta o crescimento e a germinação do patógeno. A testemunha com *C. fimbriata* (C), apresentou a maior média (70,66 μm) (Tabela 3), destacando-se das demais combinações com *Trichoderma*.

Tabela 2 - Resultados da ANOVA para os tratamentos com *Ceratocystis fimbriata* e isolados de *Trichoderma*

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	6	9426.5	1571.09	36.229	$6.0817e^{-12}$
Resíduo	28	1214.2	43.37		
Total	34	10640.8			

Legenda: GL – graus de liberdade; SQ – soma dos quadrados; QM – quadrado médio; Fc – valor da estatística F calculada; Pr>Fc – probabilidade associada à estatística F.

Fonte: A autora.

Os tratamentos envolvendo os isolados de *Trichoderma* spp., como CxTA02, CxTA03, CxT04, CxT09, CxT44 e CxT46, reduziram significativamente a média do comprimento do tubo germinativo em comparação ao controle. O isolado T09 foi o mais eficaz, com a menor média (17,88 μm), evidenciando sua elevada capacidade de redução do crescimento do tubo germinativo de conídios de *C. fimbriata*, destacando como o isolado de melhor desempenho entre os avaliados. De modo geral, os dados obtidos são consistentes com o comportamento esperado para isolados de *Trichoderma* com potencial micoparasítico, confirmando sua eficácia no comprometimento do processo de germinação de *C. fimbriata*.

Esses resultados estão em conformidade com estudos anteriores que demonstram o potencial de *Trichoderma* spp. como agente de controle biológico de fitopatógenos. Yao et al. (2023) relataram que *Trichoderma* spp. tem se destacado por sua capacidade de inibir o crescimento de diversos patógenos, devido à produção de antibióticos, enzimas hidrolíticas e à indução de resistência nas plantas. O desempenho do isolado T09 (Tabela 3), portanto, reforça as evidências de que o gênero pode ser uma ferramenta eficaz no controle de murcha-de-*Ceratocystis*.

O teste de Tukey (Tabela 3) indicou diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. A testemunha apresentou média significativamente superior, enquanto os tratamentos com os isolados de *Trichoderma* apresentaram reduções expressivas no crescimento do tubo germinativo, com destaque para CxT09, CxT44 e CxT46.

Tabela 3 - Resultados do teste de Tukey comparando as médias dos tratamentos

Grupo	Tratamento	Média (µm)
A	C	70.66014
B	CxTA02	33.06220
B	CxTA03	31.29128
Bc	CxT04	29.41154
Bc	CxT44	22.40594
Bc	CxT46	22.38910
C	CxT09	17.88154

Legenda: As letras representam os grupos formados pelo teste de Tukey. Grupos distintos indicam diferenças significativas entre os tratamentos a 5% de significância.

Fonte: A autora.

O coeficiente de variação (CV) foi de 20,3%, representando uma variação moderada entre as repetições, sendo um valor aceitável em experimentos biológicos. A normalidade dos resíduos foi confirmada pelo teste de Shapiro-Wilk ($p = 0,4036$), assegurando a validade das análises estatísticas.

Adicionalmente, para complementar os dados quantitativos, foram registradas imagens representativas das estruturas germinadas e não germinadas de *C. fimbriata* nos diferentes tratamentos, por meio de microscopia óptica. Essas imagens ilustram diretamente os efeitos morfológicos causados pelos isolados de *Trichoderma* sobre os conídios do patógeno, evidenciando a redução do crescimento do tubo germinativo (Figura 4).

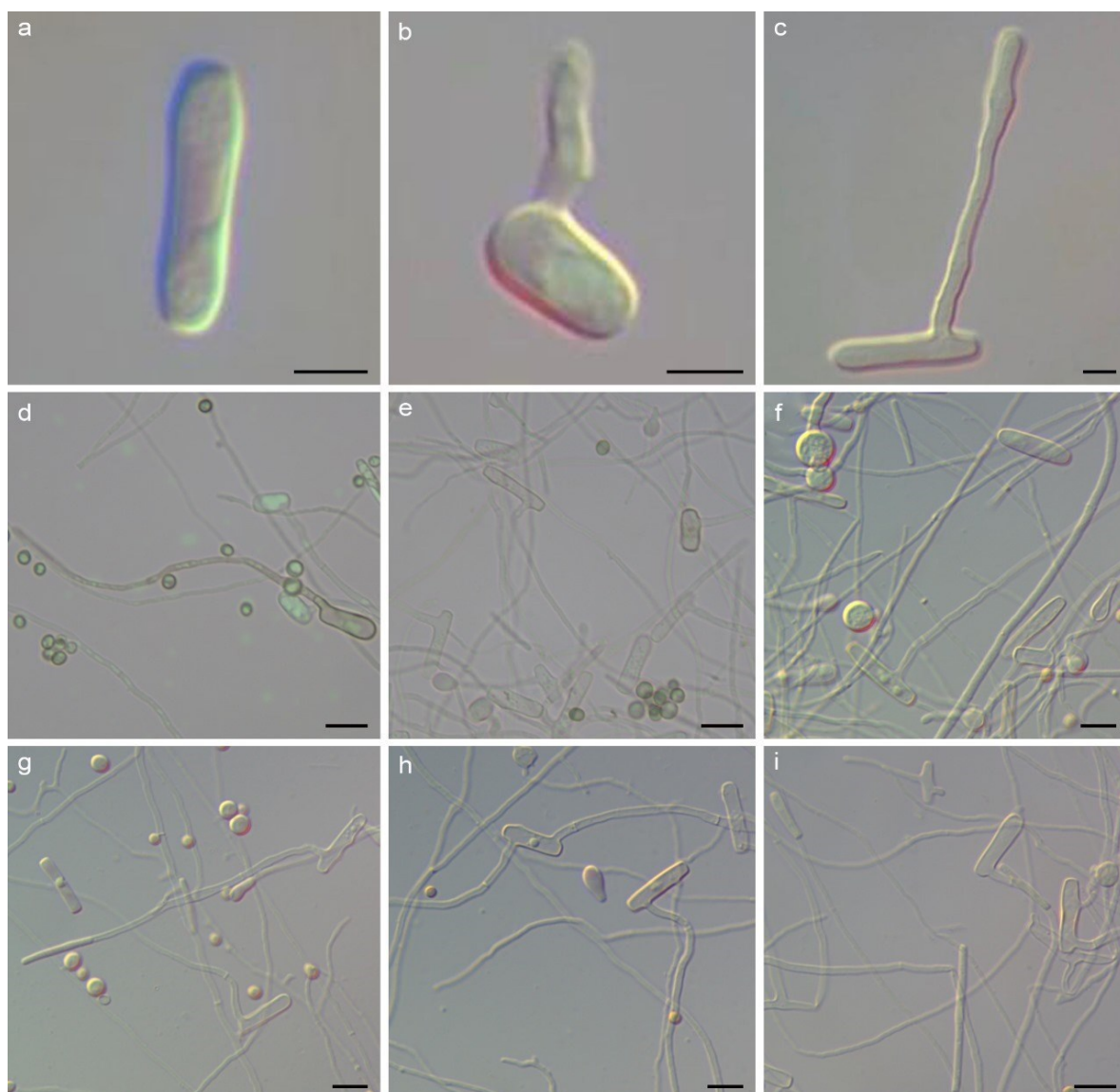


Figura 4 - Estruturas germinadas e não germinadas de *Ceratocystis fimbriata* sob diferentes tratamentos com isolados de *Trichoderma*. (a) Conídio de *C. fimbriata* não germinado (b) Conídio de *C. fimbriata* não considerado como germinado (c) Conídio de *C. fimbriata* germinado, (d) CxTA02, (e) CxTA03, (f) CxT04, (g) CxT09, (h) CxT44 e (i) CxT46. Barras de escala: 10 µm.

Fonte: A autora.

Estudos anteriores destacam que *Trichoderma* pode inibir significativamente o crescimento do tubo germinativo de fungos fitopatogênicos. No estudo realizado por You et al. (2022) observaram que compostos orgânicos voláteis (COVs) produzidos por *Trichoderma koningiopsis* T-51 reduziram o crescimento micelial de *Botrytis cinerea* em 73,78% e de *Fusarium oxysporum* em 43,68%. Além da inibição do crescimento, ambos os patógenos apresentaram redução expressiva na germinação de conídios e, especialmente, no desenvolvimento do tubo germinativo.

De forma semelhante, Elad (2000) relatou que *T. harzianum* T39 dificultou a formação de conídios e o desenvolvimento do tubo germinativo de *B. cinerea*, reforçando que a interrupção dessa fase inicial representa uma estratégia eficiente de biocontrole. A inibição dessa estrutura essencial impede a penetração do fungo e compromete o processo infeccioso, evitando o estabelecimento do patógeno nos tecidos vegetais. Com essa ação antecipada, isolados de *Trichoderma* oferecem uma alternativa eficaz e ecologicamente adequada para o manejo de doenças no setor florestal.

5 CONCLUSÃO

A aplicação de *Trichoderma* (isolado T09) no controle de *C. fimbriata* demonstrou potencial, se destacando pela sua eficácia na redução do crescimento do tubo germinativo dos conídios do patógeno, oferecendo uma alternativa promissora para o manejo biológico da murcha-de-*Ceratocystis* no setor florestal. Embora os resultados laboratoriais sejam promissores, a continuidade das pesquisas, especialmente em condições de campo e a compreensão dos mecanismos de ação do isolado, são essenciais para maximizar sua aplicação prática. O uso de *Trichoderma* no controle biológico representa uma estratégia sustentável, alinhada às exigências de um manejo florestal mais eficiente e responsável.

REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C.; GUIMARÃES, L. M. da S.; COSTA, A. da. S.; ALFENAS, R. F. As principais doenças bióticas da eucaliptocultura no Brasil. Viçosa: AgroPós, [s.d.]. E-book (39 p.).
- ANTONIO, G. L.; FIRMINO, A. C. Potencial antagônico de *Trichoderma harzianum* e *Purpureocillium lilacinum* contra *Ceratocystis fimbriata* em solo cultivado com eucalipto. **Summa Phytopathologica**, v. 50, p. 1–6, 2024.
- AOYAGI, L. N.; DOI, S. M. O. Avaliação da atividade antagonista de *Trichoderma harzianum* sobre *Fusarium oxysporum* e *Botrytis cinerea*. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, Curitiba, v. 4, n. 3, p. 3234–3239, jul./set. 2021.
- 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.
- ELAD, Y. *Trichoderma harzianum* T39 Preparation for Biocontrol of Plant Diseases-Control of *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Cladosporium fulvum*. **Biocontrol Science And Technology**, v. 10, n. 4, p. 499-507, ago. 2000.
- INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES (IBÁ). Relatório anual 2024. São Paulo: Ibá, 2024. Disponível em: <https://iba.org/relatorio2024.pdf>. Acesso em: 05 abr. 2025.
- NASCIMENTO, V. C.; RODRIGUES-SANTOS, K. C.; CARVALHO-ALENCAR, K. L.; CASTRO, M. B.; KRUGER, R. H.; LOPES, F. A. C. *Trichoderma*: biological control efficiency and perspectives for the Brazilian Midwest states and Tocantins. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, p. 1-9, 2022.
- POVEDA, J. *Trichoderma* as biocontrol agent against pests: new uses for a mycoparasite. **Biological Control**, v. 159, p. 104634, ago. 2021.
- QUEVEDO, A. C.; MUNIZ, M. F. B.; SAVIAN, L. G.; SARZI, J. S.; SALDANHA, M. A. Ação antagonista in vitro de *Trichoderma spp.* sobre *Fusarium oxysporum*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 32, n. 4, p. 2288–2303, out./dez. 2022.
- RODRIGUES, G. S. M.; MAGALHÃES, F. F. dos S.; SILVA, C. R. da; OLIVEIRA, A. P. C.; MARTINS, R. da S.; BRITO, J. C. R.; ALMEIDA, J. O. de. Antagonismo de *Trichoderma spp.* ao agente etiológico da Murcha de *Ceratocystis* em cacaueiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 44, n. 1, p. 72-78, 2018.
- SALCEDO-SARMIENTO, S.; AUCIQUE-PÉREZ, C. E.; SILVEIRA, P. R.; COLMÁN, A. A.; SILVA, A. L.; MANSUR, P. S. C.; RODRIGUES, F. Á.; EVANS, H. C.; BARRETO, R. W. Elucidating the interactions between the rust *Hemileia vastatrix* and a *Calonectria* mycoparasite and the coffee plant. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 9106, 2021.

SILVA, A. C.; BETANCOURTH, B. M. L.; FERREIRA, D. C.; ELERATI, T. L.; RODRIGUES, F. Á.; ALFENAS, A. C. Responses of resistant and susceptible hybrid clones of *Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus grandis* to infection by *Ceratocystis fimbriata*. **Annals of Forest Science**, v. 77, n. 45, p. 1-19, 21 jan. 2020.

USDA. Fungal Database. Disponível em: <https://fungi.ars.usda.gov/>. Acesso em: 02 abr. 2025.

YAO, X.; GUO, H.; ZHANG, K.; ZHAO, M.; RUAN, J.; CHEN, J. *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 14, e1160551, 2023.

YOU, J.; LI, G.; LI, C.; ZHU, L.; YANG, H.; SONG, R.; GU, W. Biological Control and Plant Growth Promotion by Volatile Organic Compounds of *Trichoderma koningiopsis* T-51. **Journal Of Fungi**, v. 8, n. 2, p. 131, 28 jan. 2022.

ZALDÚA, S.; SANFENTES, E. Control of *Botrytis cinerea* in *Eucalyptus globulus* Mini-Cuttings Using *Clonostachys* and *Trichoderma* Strains. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 70, n. 4, p. 576-582, dez. 2010.