



**NATÁLIA BOTELHO ALVES ALVARENGA**

**INFLUÊNCIA DA VARIAÇÃO DE TEMPERATURA NO CRESCIMENTO  
MICELIAL E PRODUÇÃO DE CONÍDIOS DE *Trichoderma* spp.**

**LAVRAS-MG  
2021**

**NATÁLIA BOTELHO ALVES ALVARENGA**

**INFLUÊNCIA DA VARIAÇÃO DE TEMPERATURA NO CRESCIMENTO  
MICELIAL E PRODUÇÃO DE CONÍDIOS DE *Trichoderma* spp.**

Monografia apresentada ao Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Agronomia, para a obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Prof. Dr. Flavio Henrique Vasconcelos de Medeiros  
Orientador

Amanda Flausino de Faria  
Coorientadora

**LAVRAS – MG  
2021**

*Dedico aos meus pais, Viviane e Luciano e ao meu irmão Diego.*

## **Agradecimentos**

Agradeço primeiramente à Deus, sem ele nada disso seria possível.

Agradeço meus pais Luciano e Viviane, que durante toda graduação me apoiaram, me deram força e todo suporte para chegar até aqui. Como também, meu irmão Diego por sonhar junto comigo e desejar meu sucesso. A vocês, todo meu amor e minha gratidão.

Agradeço meus avôs, Sebastião e Irineu e minhas avós, Elza e Noêmia, por despertarem em mim desde muito nova a vontade de me tornar agrônoma e a paixão pelo campo.

Agradeço todos meus amigos pelo apoio, cumplicidade e companheirismo que levarei por toda a vida, em especial Ana Júlia, Gabriella, Nadyne, Igor e Lucas.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros, pela oportunidade de conduzir este trabalho e por todos ensinamentos durante três anos de graduação.

Agradeço à coorientadora deste trabalho, Me. Amanda Flausino, por toda ajuda desde o início deste trabalho, pelo entusiasmo e vontade em me auxiliar em todos os momentos, principalmente nas análises estatísticas.

Meu muito obrigada à Universidade Federal de Lavras, por me proporcionar momentos que ficarão sempre em minha memória, pelos excelentes professores, pelas experiências que vivenciei e por todos aprendizados.

## RESUMO

O controle biológico atua na redução da intensidade de inóculo ou na infecção causada por patógenos com a utilização de um ou mais organismos de forma natural ou manipulada. Os principais mecanismos de antagonismo de agentes de biocontrole de fitopatógenos são antibiose, competição, parasitismo e indução de resistência. Sendo assim, o gênero de fungo mais usado para o biocontrole de doenças é *Trichoderma* spp. Desta maneira, o presente trabalho objetivou avaliar a influência da temperatura no crescimento micelial e na produção de conídios de *Trichoderma* spp. em diferentes produtos comerciais. Este estudo foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico, do Departamento de Fitopatologia (DFP), na Universidade Federal de Lavras (UFLA), no município de Lavras, Minas Gerais. Para a instalação e condução do experimento, foram utilizadas trinta e duas placas de Petri, autoclavadas em temperatura de 121°C, para cada faixa de temperatura. As placas foram preenchidas com 10 mL de meio de cultura Batata Dextrose Ágar – BDA. No centro de cada placa, foi transferido um disco de micélio dos isolados de *Trichoderma* spp. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com oito repetições, constituído por quatro isolados de *Trichoderma*, sendo eles: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum* A, *Trichoderma asperellum* B e *T.harzianum* + *B. amyloliquefaciens*, submetidos a sete temperaturas crescentes de 15;17;20;25;30;35 e 40 °C no crescimento micelial do fungo *Trichoderma* spp., para obtenção dessa faixa de temperaturas foi programada B.O.D, previamente regulada. As variáveis analisadas foram: Crescimento micelial e Produção de conídios. Para verificar se os dados obtidos apresentavam distribuição normal e homogeneidade nos erros, os testes de Shapiro-Wilk e Brown-Forsythe foram utilizados individualmente para as variáveis. De acordo com a análise de variância, os dados apresentaram um P valor menor que 0,01%. O teste F foi significativo para crescimento micelial e produção de esporos. Os testes de modelo de regressão linear e polinomial foram realizados com o auxílio dos programas R Studio versão 3.4.2 e Sigma Plot versão 14 e ajustados de acordo com o valor de R<sup>2</sup> e significância dos interceptos. Para produção de esporos, as análises foram realizadas em esquema fatorial duplo (temperatura x isolados), apresentando (P = < 0,01), em seguida submetidos ao Teste de Tukey (p < 0,05).

**Palavras-Chave:** Antagonismo; bactérias; biocontrole; fungos; microorganismos.

## SUMÁRIO

1.	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	7
2.	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	9
2.1	<i>Trichoderma</i> spp.....	9
2.2	PRODUÇÃO DE <i>Trichoderma</i> .....	11
2.3	INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NOS MECANISMOS DE AÇÃO DE BIOAGENTES .....	12
3.	<b>METODOLOGIA</b> .....	14
3.1	LOCAL E CONDUÇÃO.....	14
3.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	14
3.3	VARIÁVEIS ANÁLISADAS .....	15
3.3.1	<b>Crescimento micelial</b> .....	15
3.3.2	<b>Produção de conídios</b> .....	15
3.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS OBTIDOS.....	15
4.	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	166
5.	<b>CONCLUSÃO</b> .....	22

## 1. INTRODUÇÃO

O controle biológico de doenças de plantas, refere-se à utilização de um microrganismo com ação não-patogênica para controlar outros microrganismos com ação causadora de doenças de plantas (MEDEIROS, et al.,2018). Os microrganismos antagonistas podem ser encontrados em diferentes grupos taxonômicos, estes, responsáveis por inibir ou diminuir a doença de alguma forma (BETTIOL; GHINI, 2005). Os principais grupos utilizados no controle biológico de doenças de plantas são os fungos e as bactérias.

Os fungos do gênero *Trichoderma*, estudado no biocontrole desde a década de 1930 (WEINDLING, 1932), são microrganismos que apresentam grande eficiência, devido aos diferentes mecanismos de ação que utilizam para o controle de patógenos, como por exemplo, competição, antibiose, parasitismo e ainda pode contribuir para a indução de resistência, promovendo crescimento e desenvolvimento de plantas (MEDEIROS et al., 2018).

O gênero de *Bacillus*, tem sido usado comercialmente para o biocontrole de patógenos em plantas, assim como para aumentar a produtividade de culturas (NGUGIA et al., 2005; YAO et al., 2006). Se destaca ainda, como o antagonista de maior prevalência no controle biológico por ter a capacidade de formar endósporo, além disso, apresenta uma multiplicidade de mecanismos de ação antagonísticos (BRITO e et al., 2018). O endósporo é uma estrutura que possibilita a sua sobrevivência em diferentes situações, proporciona às bactérias uma maior defesa dos fitopatógenos resistência em condições ambientais adversas (MARIANO, et al., 2004; SANTOS e et al., 2021).

Um fator limitante ao crescimento de fungos e bactérias é a temperatura, apesar de tratar de gêneros que são encontrados em diversos ambientes (OLIVEIRA et al., 2019). É viável e relevante a escolha do agente biológico e a faixa de temperatura que melhor se adequa, para que os mesmos possam ter eficiência no biocontrole (BRAGA et al., 2001). As alterações climáticas apresentam influência diretamente em sistemas de produção agrícola, alterando o processo fisiológico, crescimento, desenvolvimento, rendimento das culturas (AINSWORTH et.al., 2002; PERCY et al., 2003) e interação entre patógeno hospedeiro (MCELDRONE et al., 2010).

Desta maneira, o presente trabalho objetivou avaliar a influência da temperatura no crescimento micelial e na produção de conídios de *Trichoderma* spp. em diferentes produtos comerciais.



## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 *Trichoderma* spp.

O controle biológico atua com redução da intensidade de inóculo ou da infecção causada pelo patógeno pelo uso de um ou mais organismos de forma natural ou manipulada (GABARDO et al., 2020). Os mecanismos de antagonismo de agentes de biocontrole de fitopatógenos são antibiose, competição, parasitismo e indução de resistência (VINALE et al., 2008). Sendo assim, o gênero de fungo mais usado para o biocontrole de doenças é *Trichoderma* spp. (DE CONTO et al., 2021).

De acordo com Nehra et al. (2021) antibiose pode ser definida como, o antagonismo resultante da toxicidade de metabólitos secundários produzidos por um microrganismo para outro microrganismo. Da Silva et al. (2019) em estudos de efeito de compostos orgânicos voláteis no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, concluíram que a linhagem *Trichoderma* sp. CEN 1241 reduziu em 35% o crescimento do patógeno demonstrado que os compostos orgânicos voláteis produzidos por esta linhagem podem ser utilizados como estratégia para controle da doença do mofo branco.

Hiperparasitismo ou micoparasitismo consiste na secreção de enzimas que degradam a parede celular, a penetração subsequente e morte são suas principais características (WOO et al., 2019). Nesse mecanismo de ação *Trichoderma* utiliza outro microrganismo como fonte de alimento, consome suas reservas, por meio da produção de quitinases, enzimas hidrolíticas e proteases tóxicas para o hospedeiro (MACHADO et al., 2012). Na competição, por ser decompositores por natureza, *Trichoderma* eficientemente mobiliza e absorve macro e micronutrientes do solo, o que resulta em escassez de nutrientes para outros micróbios em sua vizinhança, leva à diminuição da competição inter e intra espécies (KESWANI et al. 2014).

Ademais da capacidade de produzir substâncias fungicidas *Trichoderma* spp. induzem resistência sistêmica e localizada a várias plantas (MONTE; BETTIOL; HERMOSA, 2019). Oliveira et al. (2019) em pesquisas de indução de resistência em plantas de soja por *Trichoderma* spp. contra a infecção pelo fitonematoide *Pratylenchus brachyurus*, constataram que diferentes isolados do fungo diminuíram a penetração em 92% nas raízes da soja.

*Trichoderma* spp. é conhecido desde 1920 por sua capacidade de atuar como agentes de biocontrole contra patógenos de plantas, presente em quase todos os tipos de solos temperados e tropicais, comumente encontrados em vários ambientes (KUBICEK et al., 2001; VERMA et al., 2007). Esse fungo apresenta grande versatilidade de ação, pois é capaz de produzir substâncias antifúngicas e também enzimas responsáveis por degradar paredes celulares de outros fungos, além de serem altamente competitivos no ambiente (LOUZADA et al., 2009).

A principal característica morfológica do *Trichoderma* spp. é a formação de um micélio, inicialmente de coloração branca e de crescimento rápido (principalmente em meio de cultura), que posteriormente exhibe uma coloração de vários tons de verde, essa coloração depende da quantidade de conídios e da pigmentação do mesmo (SAITO et al., 2011).

Há muitos relatos sobre a capacidade das espécies de *Trichoderma* de antagonizar uma ampla gama de patógenos de plantas comercialmente importantes, combinados com sua capacidade de reduzir a incidência de doenças causadas por esses patógenos em uma ampla gama de culturas (BLASZCZYK et al., 2014).

No Brasil existem pelo menos 246 produtos formulados a base de *Trichoderma* (BETTIOL et al., 2019). A aplicabilidade do fungo é comprovada em estudos realizados *in vitro* (laboratório), casa de vegetação e campo. Este antagonista tem sido efetivo contra patógenos habitantes do solo como: *Meloidogyne javanica* (SHARON et al., 2001), *Sclerotinia sclerotiorum* (DE CONTO et al., 2021), *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* (JUNIOR et al., 2018), dentre outros. Cerca de 90% dos antagonistas de fungos fitopatogênicos usados no controle biológico são realizados com diferentes isolados pertencentes a esse gênero (BENÍTEZ et al., 2004).

Os mecanismos de ação em atuação aos fitopatógenos, como a produção de antibióticos voláteis e não voláteis, competição por espaço e nutrição, atividade enzimática hidrolítica e parasitismo. O potencial de controle biológico do *Trichoderma* também pode ser estendido às plantas daninhas parasitas, pois pode atuar como uma barreira fisiológica para impedir a germinação de suas sementes e inibir os sinais que estimulam o desenvolvimento das culturas invasoras. Estudos têm demonstrado que mais de 1.100 cepas de *Trichoderma* obtidas de 75 espécies

podem exercer atividade microparasitária contra os patógenos *Alternaria*, *Botrytis cinerea* e *Sclerotinia*.

## 2.2 PRODUÇÃO DE *Trichoderma* sp.

*Trichoderma* pode produzir três tipos de propágulos hifas, clamidósporos e conídios e estes podem ser produzidos em fermentação líquida e sólida (PANAHIAN; RAHNAMA; JAFARI, 2012). As hifas são os principais propágulos de *Trichoderma* spp., mas não pode resistir durante o processo de secagem e perdem viabilidade durante a desidratação. Clamidósporos e conídios têm sido usados como ingredientes ativos na maioria dos produtos à base de *Trichoderma* (MACHADO et al., 2012).

Em ambos os casos, o ponto chave é o baixo custo dos materiais de propagação com rendimento máximo. Este material pode ser proveniente de resíduos de colheitas, resíduos de gado, resíduos industriais e qualquer material orgânico que seja econômico para a produção deste fungo (HALFELD-VIEIRA et al., 2016).

Os propágulos do fungo após o isolamento podem ser formulados de diferentes maneiras. Estes propágulos podem ser formulados no meio de cultura e podem ser secos com diferentes técnicas, como liofilização ou drenagem por pulverização (MASCARIN et al., 2019).

As principais pesquisas sobre biocontrole estão centradas no uso de esporos de *Trichoderma* sp. diretamente na semente. As tecnologias se tornam viáveis apenas de modo que os resultados da pesquisa são transferidos do laboratório para o campo (MUNIZ et al., 2018). Assim, a cultura de *Trichoderma* sp. deve ser preparada em formulações de fácil aplicação, armazenamento, comercialização e uso em campo (HALFELD-VIEIRA et al., 2016).

A formulação em meio sólido, se dá em substrato livre de água. A produção de *Trichoderma* spp. em substrato sólido, realizado no Brasil não é automatizado, apresenta dificuldades de maximizar e padronizar a produção (MUNIZ et al., 2019). Para a produção em meio líquido são exigidos carbono e nitrogênio, sais minerais e vitaminas, portanto a composição nutricional do meio em que o fungo está

inserido exerce uma influência na qualidade dos propágulos cultivados (MASCARIN et al., 2019).

Por ser um organismo quimiotrófico, o gênero *Trichoderma* necessita de fontes de carbono de origem mais complexa, ademais, para ter um crescimento adequado necessita de vários elementos químicos como macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S), hidrogênio e oxigênio (MASCARIN et al., 2019). Portanto, na produção de propágulos para utilização no biocontrole é necessário um meio que proporcione rápida multiplicação e viabilidade do inoculo (MUNIZ et al., 2018).

No que tange aos custos, segundo Steffen et al. (2018), produtos à base de *Trichoderma* custam R\$ 60,00 a R\$ 125,00 por hectare, aplicados em pré ou pós emergência das plantas, já outros bioprodutos podem custar de R\$ 45,00 e R\$ 350,00 por hectare, depende da dosagem e do biocontrolador. Neste contexto, a produção de *Trichoderma* se torna viável em vários níveis, seja pelo menor custo de aplicação, pela redução do uso de defensivos químicos que são prejudiciais à saúde humana, animal e ao meio ambiente além de ser um excelente biocontrolador.

### 2.3 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NOS MECANISMOS DE AÇÃO DE BIOAGENTES

Os microrganismos são um componente integral dos ecossistemas agrícolas. Microrganismos que colonizam as raízes, rizosfera, filosfera e espermosfera estabelecem relações orgânicas com as plantas e são capazes de influenciar seus processos fisiológicos, inclui tolerância a estresses abióticos e bióticos (GROVER et al., 2011).

As espécies de *Trichoderma* são ascomicetos onipresentes do solo, conhecidas por suas capacidades de biocontrole contra muitos patógenos de plantas economicamente importantes (GAVA; MENEZES, 2012). Uso de *Trichoderma* sp. como agente de biocontrole oferece muitas vantagens, o fungo pode ser facilmente cultivado em uma ampla variedade de substratos, portanto, pode ser facilmente cultivado para produção em larga escala (BETTIOL; MORANDI, 2009).

Porém, o controle biológico é apenas um subconjunto das vantagens que as cepas endofíticas eficazes de *Trichoderma* podem conferir, também pode promover o crescimento e induzir resistência a uma variedade de estresses abióticos, inclui déficit hídrico, temperatura, sal e estresse osmótico (HARMAN, 2000). Além disso, também ocorrem melhorias nas taxas fotossintéticas e respiratórias e na eficiência do uso de nitrogênio. Prevê-se que, com o uso do gênero, a eficiência do uso do nitrogênio pode ser reduzida em 30% para safras selecionadas, sem reduzir os rendimentos (HARMAN, 2011). Essas aplicações têm implicações importantes para a agricultura vegetal.

Entretanto, a capacidade de inibir o crescimento de fungos patogênicos e seus mecanismos antagônicos, é influenciada pelas condições ambientais (umidade, temperatura, nutrientes disponíveis), tipo de solo e pela microflora. (ZAIDI et al., 2014). Os fatores abióticos alteram as propriedades antagônicas do pH, que também influenciam o crescimento micelial de fungos fitopatogênicos e também de agentes de biocontrole (KOIKE; LUCON, 2003).

O sucesso de *Trichoderma* sp. como biopesticida, em condições de campo, depende não apenas de sua atividade antagônica sozinha, mas de uma combinação de várias outras características enumeradas acima. *Trichoderma* é vital para o gerenciamento geral da fitossanidade das plantas, ao invés do controle de doenças transmitidas pelo solo apenas (MARTINS, 2013).

O estresse térmico é muitas vezes definido como o aumento da temperatura além de um nível limite por um período de tempo suficiente para causar danos irreversíveis ao crescimento e desenvolvimento da planta (CARVALHO, 2015). Em geral, uma elevação transitória na temperatura, geralmente 10-15 °C acima da temperatura ambiente, é considerada choque térmico ou estresse por calor (HALL, 2000). O estresse térmico devido às altas temperaturas ambiente é uma séria ameaça à produção agrícola em todo o mundo (DIDONET; VITORIA, 2006).

As plantas exibem uma variedade de respostas a altas temperaturas, que são representadas por mudanças sintomáticas e quantitativas no crescimento e na morfologia (DUTRA et al., 2011). A capacidade da planta de lidar com ou se ajustar ao estresse térmico varia entre e dentro das espécies, bem como em diferentes estágios de desenvolvimento (GRANDIS; GODOI; BUCKERIDGE, 2010).

O crescimento de *Trichoderma* é favorecido em uma faixa de temperatura entre 25 – 30°C. Alterações no meio ambiente serão refletidos nos microrganismos (benéficos e maléficos) e nas plantas (OLIVEIRA et al., 2019). Embora os solos durante o estágio de semeadura não estejam frequentemente na temperatura adequada, há uma necessidade de identificar potenciais isolados de *Trichoderma* tolerantes a altas temperaturas (MEYER; MAZARO; DA SILVA, 2019).

Portanto é necessário selecionar isolados que consigam se sustentar e sobreviver às oscilações de temperatura devido ao aquecimento global e antagonizar naturalmente os patógenos que sobrevivem a tais condições adversas nos solos.

### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1 LOCAL E CONDUÇÃO**

Este presente estudo foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico, do Departamento de Fitopatologia (DFP), na Universidade Federal de Lavras (UFLA), no município de Lavras, Minas Gerais.

Para a instalação e condução do experimento, foram utilizadas trinta e duas placas de Petri, autoclavadas em temperatura de 121°C por 30 minutos, para cada faixa de temperatura. As placas foram preenchidas com 10 mL de meio de cultura Batata Dextrose Ágar – BDA. No centro de cada placa, foi transferido um disco de micélio dos isolados de *Trichoderma* sp.

#### **3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com oito repetições, constituído por quatro isolados de *Trichoderma* (Tabela 1), submetidos a sete temperaturas crescentes de 15;17;20;25;30;35 e 40 °C no crescimento micelial do fungo *Trichoderma* sp., para obtenção dessas faixas de temperaturas, foi programada B.O.D, previamente regulada.

**Tabela 1.** Tratamentos utilizados na avaliação da influência da variação de temperatura no crescimento micelial, produção de conídios de *Trichoderma* spp. Lavras, Minas Gerais, 2021.

TRATAMENTOS
T1. <i>Trichoderma harzianum</i>
T2. <i>Trichoderma asperellum</i> A
T3. <i>Trichoderma asperellum</i> B
T4. <i>T. harzianum</i> + <i>B. amyloliquefaciens</i>

### 3.3 VARIÁVEIS ANÁLISADAS

#### 3.3.1 Crescimento micelial

Os resultados foram obtidos com auxílio de um paquímetro digital, realizando-se a medição do diâmetro das colônias, durante sete dias com intervalos de vinte e quatro horas entre as avaliações, obtendo-se o total de sete leituras.

#### 3.3.2 Produção de conídios

Foi realizada ao sétimo dia após a avaliação do crescimento dos isolados, a contagem de conídios, foi realizada em Câmara de Neubauer, transferindo-se uma alíquota da suspensão de conídios até o preenchimento da canaleta com a lamínula. Foram considerados os dois campos da câmara, e a contagem realizada nos cinco subcompartimentos em microscópio ótico com aumento de 400 vezes.

### 3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS OBTIDOS

Para verificar se os dados obtidos apresentavam distribuição normal e homogeneidade nos erros, os testes de Shapiro-Wilk e Brown-Forsythe foram utilizados individualmente para a variável crescimento micelial. De acordo com a análise de variância, os dados apresentaram um P valor menor que 0,01%. O teste F foi significativo para crescimento micelial. Os testes de modelo de regressão linear e polinomial foram realizados com o auxílio dos programas R Studio versão 3.4.2 e Sigma Plot versão 14. O melhor ajuste de modelo para o crescimento

micelial dos diferentes isolados foi baseado no valor de  $R^2$ , assim como a significância nos parâmetros de regressão do modelo ajustado. Para determinação da melhor temperatura de crescimento, o cálculo de pontos máximo foi realizado utilizando a derivada de primeira ordem e igualando a equação a zero. Para a produção de conídios, os dados foram analisados em esquema fatorial duplo (temperatura x isolado), submetidos ao teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

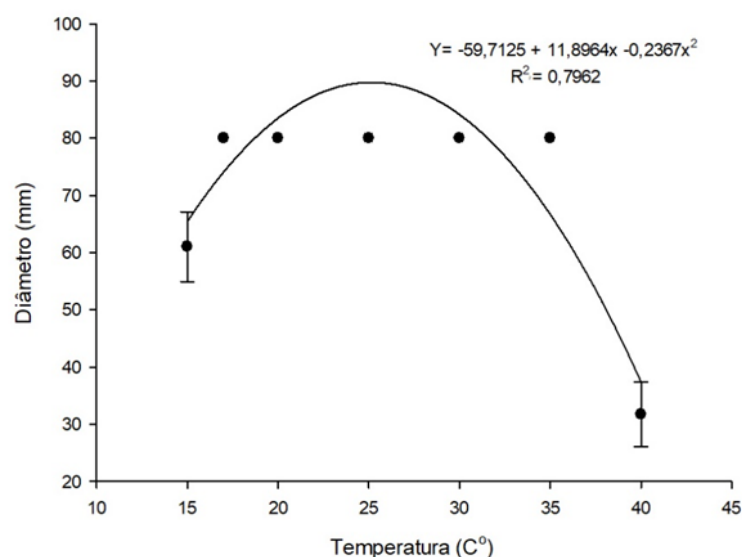
Para o índice de crescimento micelial (IVMC) considerando os isolados analisados e a temperatura submetidas, apresentaram uma única regressão. Todos os isolados apresentam melhor desenvolvimento entre as temperaturas de 23°C a 25°C (Figuras 1A, 2A, 3A,4A). Segundo pesquisas, a temperatura ótima para isolados de *Trichoderma* spp. está em torno de 25°C a 30°C (BOMFIM et al., 2010).

No que se refere ao tratamento *Trichoderma harzianum*, o melhor ajuste para o crescimento micelial no modelo de regressão polinomial foi o quadrático ( $R^2 = 0,7962$ ), apresentando significância em todos os parâmetros da regressão ( $P = <0,0001$ ). A melhor temperatura para o crescimento micelial do isolado foi de 25,15 C°, apresentando crescimento médio superior a aproximadamente 90mm (Figura 1A).

Corroborando com os resultados encontrados neste estudo Koike e Lucon (2003), observaram que as temperaturas de 25 e 30 °C favoreceram uma média maior de crescimento a diferentes isolados de *Trichoderma* spp. Em estudo realizado por Santamarina e Rosselló (2006), *T. harzianum* apresentou maior crescimento micelial a 25 do que a 15 °C, resultados semelhantes aos encontrados neste estudo.

Hjeljord; Stensvand e Tronsmo (2000) concluíram que conídios de produtos comerciais formulados com *T. harzianum* germinaram em 40 a 62 horas a 25 °C, mas precisaram de 129 a 182 horas para germinar a 12 °C. Da mesma forma, o crescimento radial desses isolados foi maior a 25 °C do que a 12 °C. Esses resultados indicam que o crescimento de *Trichoderma harzianum* é melhor na temperatura de 25 °C nas condições estudadas.



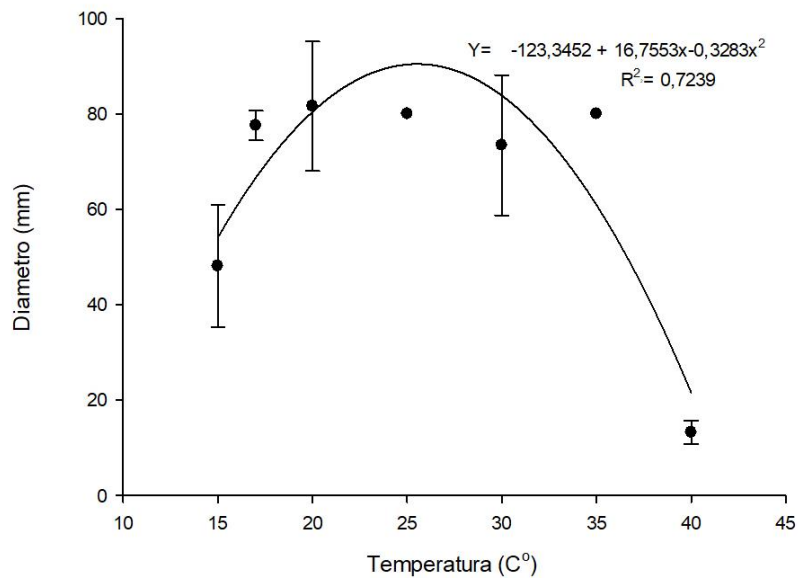


**Figura 1A.** Crescimento micelial de *Trichoderma harziaum* sob diferentes temperaturas.

O melhor ajuste para o crescimento micelial de *Trichoderma asperellum* A, no modelo de regressão polinomial foi o quadrático ( $R^2$  0,7239), apresentando significância em todos os parâmetros da regressão ( $P = <0,0001$ ). A melhor temperatura para o crescimento micelial do isolado foi de 25,51 C°, (Figura 2A).

Srivastava et al. (2014), relataram que a temperatura mais favorável para o crescimento e esporulação de *Trichoderma asperellum* estava entre 25-30 ° C, corroborando com os dados apresentados neste estudo. Segundo Qiu et al. (2017), o aumento da temperatura, afeta o diâmetro da colônia diminuindo a taxa de crescimento de *T. asperellum*.

A temperatura de incubação comum para o crescimento de fungos como *A. niger*, *Trichoderma* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. e *Graphium* sp. é considerado como sendo 30 °C (SANTOS; LINARDI, 2014). Sharma et al. (2005) relataram que a média de temperatura e o pH tem um efeito profundo no crescimento de fungos. Eles também relataram que nenhuma das espécies estudadas de *Trichoderma* cresceram em temperatura acima de 40 °C. Singh et al. (2011) também obtiveram resultados semelhantes. Estes resultados revelam que o crescimento micelial de *T. asperellum* A foram afetados pelo aumento da temperatura.

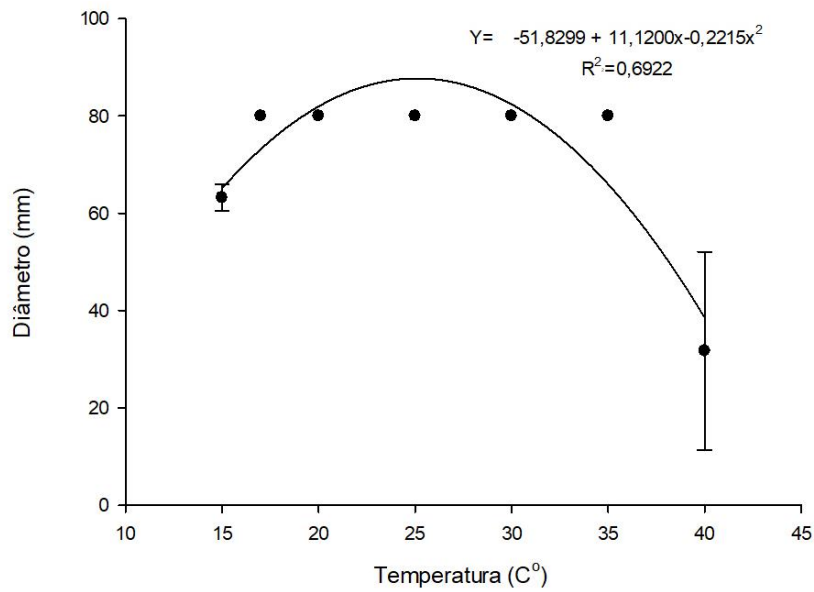


**Figura 2A.** Crescimento micelial de *Trichoderma asperellum* A sob diferentes temperaturas.

O melhor ajuste para o crescimento micelial de *Trichoderma asperellum* B, no modelo de regressão polinomial foi o quadrático ( $R^2$  0,6922), apresentando significância nos parâmetros intercepto e coeficiente angular da regressão ( $P < 0,0001$ ). A melhor temperatura para o crescimento micelial do isolado foi de 25,10 C°, (Figura 3A).

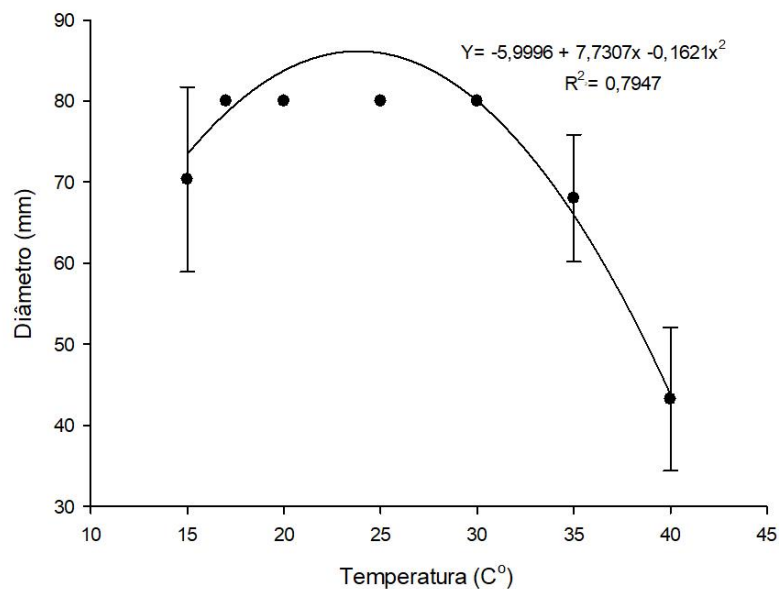
Da mesma forma, Goldfarb, Nelson e Hansen (1989) relataram que a atividade antagonista máxima de *T. harzianum* foi na temperatura até 20 °C. Além disso, os resultados estão quase de acordo com os de Zehra et al. (2017) que relataram que a temperatura ótima para o crescimento de *T. harzianum*, *T. viride* é de 20-30 °C. Eles também descobriram que o crescimento diminui à medida que a temperatura caiu de 25 para 15 °C.

O crescimento foi lento acima de 35 °C e parou a 40 °C. A tolerância a altas temperaturas de *Trichoderma* spp. deve-se ao aumento do acúmulo de trealose, manose e rafinose (GEZGIN et al., 2020). O papel desses açúcares na sobrevivência dos fungos e como agentes estabilizadores de estruturas celulares e proteínas celulares em condições de estresse térmico já está bem estabelecido (POOSAPATI et al., 2014). Em solo natural, a temperatura pode exceder o máximo para crescimento e pode ser um fator limitante que determina a distribuição das espécies de *Trichoderma* no solo (HADDAD et al., 2017).



**Figura 3A.** Crescimento micelial de *Trichoderma asperellum* B sob diferentes temperaturas.

O melhor ajuste para o crescimento micelial de *Trichoderma harzianum* + *Bacillus* spp., no modelo de regressão polinomial foi o quadrático ( $R^2$  0,7947), apresentando significância nos parâmetros intercepto e coeficiente angular da regressão ( $P = <0,0001$ ). A melhor temperatura para o crescimento micelial do isolado foi de 23,84 C° (Figura 4A).



**Figura 4A.** Crescimento micelial de *Trichoderma harzianum* e *Bacillus amyloliquefaciens* sob diferentes temperaturas.

Para a variável produção de conídio, cada tipo de fungo precisa de uma faixa de temperatura ideal para formação de conídios, que diminui em baixas temperaturas e aumenta conforme a temperatura sobe até atingir o ponto máximo ou ideal de formação de conídios (DA COSTA et al., 2011). A 40 °C, as colônias ficaram anormais com margem irregular e escassa esporulação após X dias de incubação. A esporulação máxima dos isolados foi observada a 20 °C e 25 °C, que diminuiu acima de 30 °C (Tabela 5). O estágio de maturação dos conídios, dependente do meio utilizado para o crescimento, é crucial para determinar o nível de termotolerância dos isolados (KIM et al., 2010).

**Tabela 5.** Efeito de diferentes temperaturas na produção de conídios (ml x 10<sup>5</sup>) de *Trichoderma* sp. Lavras - MG, 2021.

Temperatura (°C)	Princípios ativos – fungicidas microbiológicos			
	T. harzianum	T. asperellum A	T. asperellum B	T + B
15	8.00 ab	3.85 b	6.40 a	3.14 b
17	8.42 ab	12.14 a	7.42 a	6.71 ab
20	12.14 a	10.85 a	8.50 a	6.71 ab
25	12.12 a	12.57 a	8.87 a	5.57 b
30	10.71 ab	10.71 a	7.62 a	7.28 ab
35	7.57 ab	4.00 b	10.12 a	5.14 ab
40	6.85 b	4.00 b	7.40 a	5.57 ab

\*medias seguidas de mesma letra na coluna não se diferem entre si pelo teste de Tukey (p<=0.05); °C: graus Celsius; *Trichoderma harzianum*; *Trichoderma asperellum* A; *Trichoderma asperellum* B; *Trichoderma harzianum* + *Bacillus amyloliquefaciens*.

## 5. CONCLUSÃO

Nas condições em que foi conduzido este experimento e a partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que:

A temperatura influencia no crescimento micelial e produção de conídios dos *Trichoderma* sp.

Os agentes de biocontrole *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum* A, *Trichoderma asperellum* B, *Trichoderma harzianum* + *Bacillus amyloliquefaciens*, apresentaram melhor desenvolvimento de crescimento micelial entre as temperaturas de 23°C a 25°C;

A produção de conídios pelos agentes de biocontrole *T. harzianum*, *T. asperellum* A, *T. asperellum*, *T. harzianum* + *B. amyloliquefaciens*, apresentaram esporulação máxima nas temperaturas de 20°C a 25°C.

## 6. REFERÊNCIAS

AINSWORTH, E. A. e et al. A meta-analysis of elevated [CO<sub>2</sub>] effects on soybean (*Glycine max*) physiology, growth and yield. **Global Change Biology**, v. 8, n. 8, p. 695-709, 2002.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Controle Biológico. *In Manual de Fitopatologia, Princípios e conceitos* (BERGAMIN FILHO, A; KIMATI, H; AMORIM, L.). 3ª ed. São Paulo, Agronômica Ceres, v. 1, p. 717-728, 1995.

BOMFIM, M.P; SÃO JOSÉ, A.R; REBOUÇAS, T.N.H; ALMEIRA, S.S; SOUZA, I.V.B; DIAS, N.O. Avaliação antagônica *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma* spp a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. **Summa Phytopathologica**, v.36, n.1, p.61-67, 2010.

BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.;LIMÓN, M. C.; CODON, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International microbiology**, v.7, n.3, p. 249-260, 2004.

BRAGA, A.B.A.C, et al. Microencapsulação de conídios de *Trichoderma asperellum* por spray drying para produção de fungicida microbiológico. 2018.

BŁASZCZYK, Lidia et al. *Trichoderma* species occurring on wood with decay symptoms in mountain forests in Central Europe: genetic and enzymatic characterization. **Journal of applied genetics**, v. 57, n. 3, p. 397-407, 2016.

BRITO, T.S; LIMA, W.F de; PAN, R; PORFIRIO, M.D; CANELLO, K.T; CHAVES, E.I.D.O. Antagonismo de bactérias diazotróficas isoladas de plantas de milho no biocontrole de fitopatógenos. **Revista Cultivando o Saber**. v.11, p.78-88. ISSN 2175-2214, 2018.

GEZGIN, Yüksel et al. Evaluation of *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma citrinoviride* growth profiles and their potentials as biocontrol agent and biofertilizer. **Turkish Journal of Biochemistry**, v. 45, n. 2, 2020.

GOLDFARB, B.; NELSON, E.E.; HANSEN, E.M. *Trichoderma* species from Douglas-fir stumps and roots infested with *Phellinus weirii* in the western Cascade Mountains of Oregon. **Mycologia**, v. 81, n. 1, p. 134-138, 1989.

HADDAD, Patrícia Elias et al. Selection of *Trichoderma* spp. strains for the control of *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, p. 1140-1148, 2017.

HJELJORD, L.G; STENSVAND, A.; TRONSMO, A. Effect of temperature and nutrient stress on the capacity of commercial *Trichoderma* products to control *Botrytis cinerea* and *Mucor piriformis* in greenhouse strawberries. **Biological Control**, v. 19, n. 2, p. 149-160, 2000.

- KOIKE, C. M.; LUCON, C. M. M. Efeito de diferentes fatores na esporulação e crescimento de isolados de *Trichoderma* spp. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 70, n. suplemento 3, p. 96-99, 2003.
- MARIANO, R.de. L.R. et al., Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v.1, p. 89-111, 2004.
- MEDEIROS, F.H.V.de; SILVA, J.C.P. da Silva; PASCHOLATI, S.F. **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. In: BERGAMIN FILHO; REZENDE. J.A.M; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 5ª ed, v.1, p.261-274, 2018.
- NGUGIA, H.K.; DEDEJB, S.; DELAPLANEB, K.S.; SAVELLEA, A.T.; SCHERMA, H. Effect of flower-applied Serenade biofungicide (*Bacillus subtilis*) on pollination-related variables in rabbiteye blueberry. **Biological Control**, v.33, p.32-38, 2005.
- OLIVEIRA, L.L.B.de; e et al. Influência da temperatura e radiação ultravioleta no desenvolvimento isolados de *Trichoderma* spp. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v.34, n.3, 423-430, 2019.
- PERCY, K. E. et al. Altered performance of forest pests under atmospheres enriched by CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub>. **Nature**, v. 421, n. 6919, p. 190-191, 2003.
- POOSAPATI, Sowmya et al. Selection of high temperature and salinity tolerant *Trichoderma* isolates with antagonistic activity against *Sclerotium rolfsii*. **SpringerPlus**, v. 3, n. 1, p. 1-11, 2014.
- QIU, Zhiheng et al. High temperature enhances the ability of *Trichoderma asperellum* to infect *Pleurotus ostreatus* mycelia. **PLoS One**, v. 12, n. 10, p. e0187055, 2017.
- SAITO LR; SALES LLSR; MARTINEKOSKI L; REFFATTI TO. Aspects of the effect fungu *Trichoderma* spp. in biocontrol of pathogens of agricultural crops. 2: 209-216, 2009
- SANTAMARINA, María Pilar; ROSELLO, Josefa. Influence of temperature and water activity on the antagonism of *Trichoderma harzianum* to *Verticillium* and *Rhizoctonia*. **Crop Protection**, v. 25, n. 10, p. 1130-1134, 2006.
- SANTOS, L. A. da. L; PINHEIRO, L.R.B; ROCHA, L de S; BRAGANÇA, C.A.D; SILVA, H.S.A. Biocontrole da antracnose em frutos de mamoeiro por bactérias epifíticas formadoras de biofilme. **Summa Phytopathol.** v.47, n.1, p. 45-53, 2021.
- SANTOS, V. L.; LINARDI, Valter R. Biodegradation of phenol by a filamentous fungi isolated from industrial effluents—identification and degradation potential. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 8, p. 1001-1006, 2014.
- SHARMA, R. L. et al. Effect of media, temperature, pH and Light on the growth and sporulation of *Fusarium oxysporum* f. sp. lini (Bolley) Snyder and Hensan.

**Annals of Plant Protection Sciences**, v. 13, n. 1, p. 172-174, 2005.

SHARON, E; BAR-EYAL, M.I. CHET,I; HERRERA-ESTRELA, A; KLEIFELD, O; SPIEGEL, Y. Biological Control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**. V. 91, n.7, 2001.

SINGH, Anuradha et al. Influence of temperature, pH and media for growth and sporulation of *Trichoderma atroviride* and its Shelf life study in different carrier based formulation. **Journal of Plant Disease Sciences**, v. 6, n. 1, p. 32-34, 2011.

SRIVASTAVA, M. e et al. Determination of biochemical and physiological aspects of a biocontrol agent *Trichoderma harzianum* Th azad. **International Journal of Advanced Research**, v. 2, n. 3, p. 841-849, 2014.

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

WEINDLING, R. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. **Phytopathology**. V.22, 250-256, 2007.

ZEHRRA, A. et al. Effect of different environmental conditions on growth and sporulation of some *Trichoderma* species. **Journal of Environmental Biology**, v. 38, n. 2, p. 197, 2017.