



**JOSELIN MARICIELO CHANTA AGURTO**

**COMPETIÇÃO SAPROFÍTICA POR MICRORGANISMOS NA  
PALHADA DE BATATA E MILHO: ESTRATÉGIAS PARA A  
REDUÇÃO DA SEVERIDADE DE *Rhizoctonia solani*  
AVALIADA EM FEIJÃO**

**LAVRAS, MG**

**2025**

**JOSELIN MARICIELO CHANTA AGURTO**

**COMPETIÇÃO SAPROFÍTICA POR MICRORGANISMOS NA PALHADA DE BATATA  
E MILHO: ESTRATÉGIAS PARA A REDUÇÃO DA SEVERIDADE DE *Rhizoctonia*  
*solani* AVALIADA EM FEIJÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de Mestre.

**Prof. Dr. Flavio Henrique Vasconcelos de Medeiros**  
**Orientador (a)**

**Dra. Rafaela Araújo Guimarães**  
**Coorientador (a)**

**LAVRAS - MG**

**2025**

**Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração  
de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com  
dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Chanta Agurto, Joselin Maricielo.

Competição saprofítica por microrganismos na palhada de batata e milho:  
estratégias para a redução da severidade de *Rhizoctonia solani* avaliada em feijão /  
Joselin Maricielo Chanta Agurto. - 2025.

47 p. : il.

Orientador: Flavio Henrique Vasconcelos de Medeiros

Coorientadora: Rafaela Araújo Guimarães

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2025.  
Bibliografia.

1. Competição saprofítica. 2. Doenças de plantas. 3. Controle biológico. I.  
Vasconcelos de Medeiros, Flavio Henrique . II. Araújo Guimarães, Rafaela . III.  
Universidade Federal de Lavras. IV. Título.

**JOSELIN MARICIELO CHANTA AGURTO**

**COMPETIÇÃO SAPROFÍTICA POR MICRORGANISMOS NA PALHADA DE  
BATATA E MILHO: ESTRATÉGIAS PARA A REDUÇÃO DA SEVERIDADE DE  
*Rhizoctonia solani* AVALIADA EM FEIJÃO**

**SAPROPHYTIC COMPETITION FOR MICRORGANISMS IN POTATO AND CORN  
STRAW: STRATEGIES FOR REDUCING THE SEVERITY OF *Rhizoctonia solani*  
EVALUATED IN BEANS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 24 de Janeiro de 2025

Dr. Flavio Henrique Vasconcelos de Medeiros - UFLA

Dra. Carolina da Silva Siqueira - UFLA

Dr. Júlio Carlos Pereira da Silva - UFSM

**Prof. Dr. Flavio Henrique Vasconcelos de Medeiros**  
Orientador (a)

**Dra. Rafaela Araújo Guimarães**  
Coorientador (a)

**LAVRAS - MG**

**2025**

***Ao meu Deus misericordioso***

*Por me amparar nos momentos mais difíceis e sempre me fornecer o que eu precisava para concluir esta etapa*

***In memoriam***

*à minha corajosa mãe Carmen Agurto Peña, por sempre me incentivar a continuar avançando em minha vida profissional, por seu amor incondicional que transcende o tempo e o espaço*

***À minha família***

*meu pai José e meus irmãos Katicsa e Pepe, por seu apoio e admiração por mim.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, acima de tudo, por me amparar nos momentos difíceis e por sempre colocar pessoas e situações bondosas a meu favor.

Aos meus pais, José e Carmen, por me proporcionar tudo o que eu precisava para perseguir meus objetivos, aos meus irmãos, Katicsa e Pepe, e ao meu sobrinho Gael, por serem uma grande motivação para mim.

Ao meu parceiro de vida e colega biólogo, Daniel, por seu apoio incondicional durante todo o decorrer do meu mestrado, obrigada por me incentivar a continuar em busca de oportunidades de desenvolvimento profissional.

Ao meu orientador de tese, Dr. Flavio Medeiros, e à minha coorientadora, Dra. Rafaela, por sua guia durante o curso de mestrado.

Aos meus colegas do laboratório de controle biológico: Luna, Rafael, Bárbara, Luísa, Luana e Beransom, pelo apoio em diversas atividades, por estarem sempre dispostos a ajudar.

Ao grupo de estudos do GCBIO, pelo apoio nas atividades do projeto.

A todas as pessoas que estiveram comigo, apoiando-me emocionalmente ou em atividades do projeto, especialmente Raquel e Brayan, meus amigos estrangeiros, que viveram esses dois anos perto de mim.

E, finalmente, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro durante o curso de mestrado.

## RESUMO

Patógenos transmitidos pelo solo podem persistir por longos períodos em resíduos culturais, mesmo na ausência de plantas hospedeiras, o qual vai depender do tipo de resíduo e das condições ambientais. Essa capacidade de sobrevivência representa um obstáculo significativo para o manejo fitossanitário em sistemas de sucessão ou rotação de culturas. Em Minas Gerais; um dos maiores produtores nacionais de feijão (546,3 mil toneladas na safra 2023/2024), milho (7,52 milhões de toneladas em 2023) e batata (1,4 milhão de toneladas em 2023), a sucessão entre essas culturas é comum. No entanto, a disseminação sobrevivência em resíduos culturais de patógenos como *Rhizoctonia solani*, que infectam múltiplas culturas, ocorre com frequência. O fungo *Rhizoctonia solani* Kuhn, é um patógeno radicular amplamente distribuído, capaz de causar perdas de até 40% na produtividade final das culturas hospedeiras. Este patógeno, pode sobreviver como micélio ou na forma de escleródios nos restos culturais, sendo um dos principais desafios para seu controle. Devido à sua ampla gama de hospedeiros, na rotação de culturas o inoculo do patógeno pode continuar ativo. Neste contexto, na primeira etapa deste estudo se avaliou, por meio de experimentos *in vitro*, a interação entre *R. solani* e dois fungos com atividade saprofítica: *Epicoccum nigrum* e um produto comercial à base de *Trichoderma asperellum*. Utilizando testes de pareamento em placas de Petri, foi determinado que tanto *E. nigrum* quanto *T. asperellum* apresentam atividade antagonista contra *R. solani*, com percentuais de inibição de 80,78% e 39,35%, respectivamente. Posteriormente, foram analisadas as necessidades nutricionais de cada microrganismo por meio da avaliação do índice de sobreposição de nicho (NOI). Os resultados demonstraram que, *Epicoccum nigrum* utilizou a maior quantidade de nutrientes avaliados, 9 das 10 fontes de carbono e nitrogênio às 24h de incubação. Foi confirmado também o desempenho da colonização e o desenvolvimento micelial por meio da inoculação da palha de milho e batata, avaliada qualitativamente por observações diárias, considerando dois tipos de inoculação: simultânea e sucessiva. Na segunda etapa, foram realizados experimentos para avaliar o desenvolvimento da doença em plantas de feijão sob condições de casa de vegetação. Os resultados revelaram diferenças estatísticas nos tratamentos com inoculações sucessivas, especialmente nos casos em que ambos os antagonistas foram aplicados, resultando em menor desenvolvimento da doença nesses tratamentos. No entanto, não foram observadas diferenças significativas no crescimento vegetativo das plantas. Os experimentos realizados em conjunto demonstraram que cada substrato apresentou um nível distinto de desenvolvimento dos fungos. Além disso, evidenciaram o potencial do tratamento na palhada como uma estratégia promissora para a redução da doença. No entanto, destaca-se a importância de avaliar com maior detalhe as condições adequadas para a aplicação dessa abordagem.

**Palavras-chave:** *Rhizoctonia solani*, sobrevivência, atividade saprofítica, palhada.

## ABSTRACT

Soilborne pathogens can persist for long periods in crop residues, even in the absence of host plants, depending on the type of residue and environmental conditions. This survival capacity represents a significant obstacle to plant health management in crop succession or rotation systems. In Minas Gerais—one of Brazil's leading producers of beans (546.3 thousand tons in the 2023/2024 season), corn (7.52 million tons in 2023), and potatoes (1.4 million tons in 2023)—succession between these crops is common. However, the survival and dissemination of pathogens such as *Rhizoctonia solani*, which infect multiple crops, frequently occurs in crop residues. The fungus *Rhizoctonia solani* Kühn is a widely distributed root pathogen capable of causing yield losses of up to 40% in host crops. This pathogen can survive as mycelium or sclerotia in crop residues, making it one of the main challenges for control. Due to its broad host range, pathogen inoculum may remain active even under crop rotation. In this context, the first stage of this study evaluated, through in vitro experiments, the interaction between *R. solani* and two fungi with saprophytic activity: *Epicoccum nigrum* and a commercial product based on *Trichoderma asperellum*. Using dual-culture assays in Petri dishes, both *E. nigrum* and *T. asperellum* showed antagonistic activity against *R. solani*, with inhibition rates of 80.78% and 39.35%, respectively. Subsequently, the nutritional requirements of each microorganism were analyzed by evaluating the niche overlap index (NOI). The results showed that *Epicoccum nigrum* utilized the greatest number of tested nutrients—9 out of 10 carbon and nitrogen sources within 24 hours of incubation. Colonization performance and mycelial development were also confirmed through inoculation on corn and potato straw, assessed qualitatively through daily observations, considering two types of inoculation: simultaneous and successive. In the second stage, experiments were conducted to evaluate disease development in bean plants under greenhouse conditions. The results revealed statistical differences in treatments with successive inoculations, especially when both antagonists were applied, resulting in lower disease development in these treatments. However, no significant differences were observed in the vegetative growth of the plants. The combined experiments demonstrated that each substrate presented a distinct level of fungal development. Additionally, they highlighted the potential of straw treatment as a promising strategy for disease reduction. Nevertheless, it is important to further evaluate the optimal conditions for applying this approach.

**Keywords:** *Rhizoctonia solani*, survival, saprophytic activity, straw.

### **Impactos sociais, tecnológicos, econômicos e culturais**

A dissertação apresentada contribui com indicadores de impacto tecnológico e econômico para o setor agrícola, especialmente no contexto dos sistemas de rotação e sucessão de culturas. Por meio da avaliação da competição saprofítica de microrganismos na palhada, buscou-se desenvolver uma tecnologia voltada à redução da severidade de *Rhizoctonia solani*. Os fungos testados demonstraram características favoráveis de colonização e capacidade competitiva por determinados nutrientes, o que resultou na diminuição do patógeno nos substratos analisados. Além disso, foram avaliadas estratégias mais adequadas de inoculação para a aplicação desses agentes de controle biológico.

O trabalho apresenta potencial para avanços, principalmente no que se refere à otimização do desenvolvimento dos fungos sob diferentes condições ambientais, como umidade, temperatura e luminosidade, fatores que influenciam diretamente a eficácia do biocontrole. Os resultados obtidos contribuem para a ampliação das estratégias de manejo da doença e para a gestão eficiente dos resíduos pós-colheita.

Essas abordagens estão alinhadas aos princípios da agricultura sustentável, pois avaliam métodos com menor impacto sobre o solo e o ambiente, promovendo práticas mais seguras e equilibradas. Além disso, colaboram para o consumo e a produção responsáveis, influenciando positivamente a fase produtiva de alimentos e contribuindo para sistemas agrícolas mais resilientes e eficientes.

### **Social, technological, economic and cultural impacts**

The presented dissertation contributes to technological and economic impact indicators for the agricultural sector, especially in the context of crop rotation and succession systems. Through the evaluation of saprophytic competition among microorganisms in crop residues, the study aimed to develop a technology to reduce the severity of *Rhizoctonia solani*. The tested fungi demonstrated favorable characteristics for colonization and competitive ability for specific nutrients, which resulted in a reduction of the pathogen in the analyzed substrates. In addition, the study assessed the most appropriate inoculation strategies for the application of these biological control agents. The work presents potential for further development, particularly regarding the optimization of fungal growth under different environmental conditions such as humidity, temperature, and light—factors that directly influence the effectiveness of biocontrol. The results obtained contribute to the expansion of disease management strategies and to the efficient management of post-harvest residues.

These approaches are aligned with the principles of sustainable agriculture, as they evaluate methods with lower impact on soil and the environment, promoting safer and more balanced practices. Furthermore, they support responsible consumption and production, positively influencing the food production phase and contributing to more resilient and efficient agricultural systems.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – O ciclo da doença do patógeno <i>Rhizoctonia solani</i> .....	15
<b>Figura 2</b> – Fotografias do isolamento de <i>Rhizoctonia solani</i> .....	28
<b>Figura 3</b> – Teste de patogenicidade .....	28
<b>Figura 4</b> – Placas do teste de pareamento após 13° dia de incubação.....	29
<b>Figura 5</b> – Gráfico apresentando os resultados da média de inibição micelial .....	30
<b>Figura 6</b> – Gráfico de barras apresentando os resultados da AACC (%) .....	31
<b>Figura 7</b> – Inoculação simultânea da palhada .....	33
<b>Figura 8</b> – Inoculação sucessiva da palhada .....	34
<b>Figura 9</b> – Teste na casa de vegetação da inoculação sucessiva.....	36
<b>Figura 10</b> – Teste na casa de vegetação da inoculação simultânea.....	38

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Tratamentos para ambos tempos de inoculação .....	25
<b>Tabela 2</b> – Resultados da utilização de nutrientes após 72h de incubação .....	32
<b>Tabela 3</b> - Resultados da incidência e severidade no experimento de inoculação sucessiva da palhada de batata e milho .....	35
<b>Tabela 4</b> – Resultados da incidência e severidade no experimento de inoculação sucessiva da palhada de batata e milho .....	37
<b>Tabela 5</b> – Valores médios do tamanho das raízes e áreas foliar de plântulas de feijão, no experimento de inoculação simultânea .....	38
<b>Tabela 6</b> – Valores dos resultados analíticos nutricionais, emitidos pelo laboratório de DCS/UFLA .....	40

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2.</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	13
<b>2.1</b>	Manejo de resíduos pós-colheita.....	14
<b>2.2</b>	O patógeno <i>Rhizoctonia solani</i> .....	15
<b>2.3</b>	Capacidade saprofítica de <i>R. solani</i> .....	16
<b>2.4</b>	Estratégias de controle biológico de <i>R. solani</i> .....	16
<b>2.5</b>	<i>Trichoderma asperellum</i> .....	18
<b>2.6</b>	<i>Epicoccum nigrum</i> .....	28
<b>2.7</b>	O mecanismo de competição no controle biológico.....	19
<b>3.</b>	<b>HIPÓTESE</b> .....	20
<b>4.</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	20
<b>5.</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	21
<b>5.1</b>	Obtenção dos isolados.....	21
<b>5.2</b>	Identificação morfológica do patógeno e teste de patogenicidade em dois diferentes hospedeiros.....	21
<b>5.3</b>	Teste de pareamento <i>in vitro</i> .....	22
<b>5.4</b>	Preparação das suspensões fúngicas.....	23
<b>5.5</b>	Avaliação do índice de sobreposição de nicho (NOI).....	23
<b>5.6</b>	Inoculação da palhada de batata e milho.....	24
<b>5.7</b>	Ensaio em casa de vegetação de desenvolvimento de doença em plântulas de feijão.....	26
<b>5.8</b>	Avaliação de incidência e severidade.....	26
<b>5.9</b>	Avaliação do comprimento de raiz e área foliar.....	27
<b>5.10</b>	Determinação do estado nutricional da palhada.....	27
<b>6.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	27
<b>7.</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	41
<b>8.</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	42

## 1. INTRODUÇÃO

Atualmente, a gestão de resíduos pós-colheita e a sua utilização para otimizar a fertilidade do solo, aumentar a eficiência no uso da água e reduzir a dependência de fertilizantes químicos constituem práticas amplamente adotadas (Shinde et al., 2022). Em Minas Gerais, a sucessão entre feijão, milho e batata é uma prática comum. No entanto, a suscetibilidade destas culturas a isolados patogênicos que sobrevivem nos resíduos culturais representa um risco significativo, especialmente no que se refere à sobrevivência e disseminação dos inóculos (Ruppel, 1985). Entre os patógenos capazes de persistir nos restos culturais, destaca-se *Rhizoctonia solani*, agente etiológico de diversas doenças radiculares, que pode hibernar sob a forma de micélio ou escleródios. Esses propágulos permanecem viáveis na palha, atuando como inóculo primário e infectando as culturas da safra subsequente (Luz et al., 2022). Essa habilidade, somada à ampla gama de hospedeiros do fungo, torna o seu controle particularmente desafiador (Parmeter, 2023).

Entre as medidas de controle reportadas para este fungo, utiliza-se estratégias para evitar a disseminação do inóculo, como o uso de sementes certificadas, a rotação de culturas e a implementação de variedades moderadamente resistentes (Ariena et al., 1996). No caso do controle químico o uso de fungicidas à base de azoxistrobina e proclorazoxolol, devem ser aplicados preventivamente para serem eficazes. No entanto, fungicidas químicos podem ter impactos ambientais significativos além de afetarem os sistemas biológicos naturais do solo e estarem associados ao desenvolvimento de resistência e efeitos negativos para a saúde humana (Fisher et al., 2022).

Considerando o controle biológico, as cepas bacterianas de *Bacillus* e *Pseudomonas* podem ser utilizadas para inibição desta doença, assim como também os fungos *Verticillium* e *Trichoderma*, que demonstraram eficácia na redução de escleródios e inóculo micelial de patógenos transmitidos pelo solo (Barakat et al., 2007). Além disso, o uso de fungos endófitos, como *Epicoccum nigrum*, também foram avaliados em quanto a supressão do crescimento de *R. solani* mostrando uma inibição *in vitro* significativa do crescimento micelial (Lahlali & Hijri, 2010).

A busca de estratégias de controle que aumentem a produtividade e promovam a sustentabilidade do ecossistema agrícola são pontos fortes no novo cenário mundial. Assim, é fundamental também considerar a diminuição da quantidade de inóculo que sobrevive ao inverno nos restos culturais para obter um controle eficaz desta doença (Kulik et al., 2024).

Baseado nessas inferências, formulou-se a hipótese de que pode ocorrer uma redução no inoculo inicial na palhada, quando esta é tratada com fungos saprófitos capazes de competir com o patógeno. Além disso busca-se avaliar se a combinação desses fungos inoculados simultaneamente e sucessivamente, podem gerar efeitos significativos do que sua aplicação isolada. O objetivo deste estudo foi avaliar a competição saprofítica entre os fungos *Trichoderma asperellum* e *Epicoccum nigrum* contra o patógeno *Rhizoctonia solani*, verificando se essa interação sob o substrato de duas palhadas (milho e batata) resultam em uma redução da doença em plantas de feijão.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1. MANEJO DE RESÍDUOS PÓS-COLHEITA**

O crescimento populacional e, conseqüentemente, o incremento da demanda por alimentos, aliado à adoção recente de sistemas de plantio direto (SPD) na agricultura, tem contribuído para o aumento na geração de resíduos de colheitas (Alghamdi & Cihacek, 2022). Uma proporção significativa destes resíduos é queimada com o objetivo de economizar tempo e trabalho, porém, este procedimento conduz a níveis de poluição ambiental, impactos negativos no ecossistema do solo e aumento na emissão de gases de efeito estufa, com repercussões diretas na saúde humana (Memon et al., 2018). No entanto, na atualidade estão sendo adotadas técnicas para serem gerenciados e mantidos para práticas agrícolas sustentáveis.

A manutenção dos resíduos pós-colheita, como a palha sobre a superfície do solo, representa uma prática importante para a conservação do solo, contribuindo para o aumento dos teores de carbono orgânico, a melhoria da estrutura física, a estabilização da temperatura superficial e o favorecimento da infiltração de água (Rasche & Sos Del Diego, 2020). Um ótimo manejo de resíduos pode aumentar a produtividade das culturas, melhorando a fertilidade e a estabilidade física do solo (Jahangir et al., 2021). Mas para que isso seja possível deve ser efetuado a decomposição de resíduos agrícolas, os quais dependeram de fatores como umidade, temperatura e relação carbono/nitrogênio destes (Alghamdi & Cihacek, 2022).

No entanto, os resíduos de colheita também podem alojar e permitir a sobrevivência de diferentes patógenos vegetais, que possuem a capacidade de hibernar nesses materiais e atuar como inoculo inicial, infectando a safra seguinte (Kulik et al., 2024). Para reduzir o impacto deste risco precisa se compreender o manejo das interações patógenos e

resíduos agrícolas, dentro das diferentes condições ambientais, as práticas dos sistemas de plantio direto e os microrganismos antagonísticos (Bailey, K, 1996).

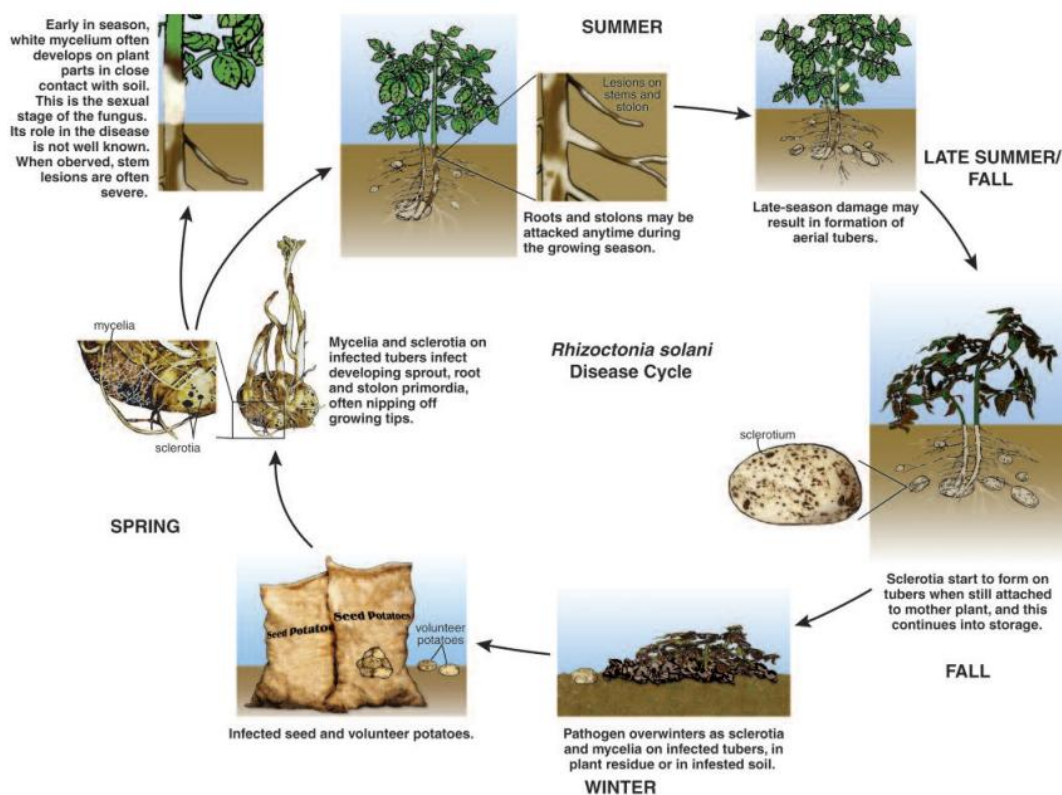
## 2.2. O PATÓGENO *Rhizoctonia solani*

A sintomatologia típica que produz este fungo pode incluir lesões necróticas marrons avermelhadas nos caules, estolões e raízes, e tubérculos com formações de escleródios na sua superfície, conhecida como costra preta (“black scurf”). (Banville, 1989)

O patógeno produz hifas marrom-claras, ramificadas e em ângulo reto, uma característica distintiva do fungo, com largura de 6 a 10  $\mu\text{m}$ . Essas hifas tornam-se rígidas devido ao espessamento das paredes celulares, não possuindo conexões de grampo e conídios (Sneh et al., 1998). Além disso, o fungo forma estruturas de sobrevivência chamadas escleródios, que são resistentes a condições ambientais extremas devido à presença de melanina em suas paredes celulares. Esses escleródios são encontrados geralmente a uma profundidade de 15 cm no solo e apresentam um padrão de distribuição diverso (Sharon et al., 2008).

*Rhizoctonia solani* é um fungo pertencente ao grupo dos basidiomicetos, com uma fase teleomórfica conhecida como *Thanatephorus cucumeris*. Este fungo causa doenças de importância econômica mundial na maioria das plantas agrícolas, incluindo batata, cereais, algodão, beterraba sacarina, hortaliças, culturas de campo, gramíneas, plantas ornamentais, árvores frutíferas e florestais. Além disso, *R. solani* é saprófito e alguns grupos podem formar associações micorrízicas com orquídeas e outras plantas, enquanto outros atuam como agentes de biocontrole (Sneh et al., 1998). Este fungo é o agente causador de podridão de sementes, raízes e frutos, cancro em hastes e doenças foliares. Pode sobreviver como micélio ou na forma de escleródios em solos ou resíduos de plantas, devido à sua boa capacidade de colonização saprofítica (Parmeter, 2023).

**Figura 1** - O ciclo da doença do patógeno *Rhizoctonia solani*, causador do cancro da haste e da costra preta na cultura de batata.



Fonte: Wharton & Madeira, 2013

*R. solani* apresenta uma alta diversidade morfológica e genética que se traduz em uma ampla gama de hospedeiros devido a sua elevada adaptação ecológica relacionada com os diferentes grupos de anastomoses (AGs), o fungo apresenta 14 grupos de anastomose (AG1 a AG13 e AGBI). A anastomose é o critério mais relevante para classificar os isolados deste fungo, e está baseado na capacidade que tem os isolados de um mesmo grupo em se reconhecer e fundir (Ajayi-Oyetunde & Bradley, 2018).

Estudos do Cepea (Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada ESALQ/USP) mostram que o impacto na produtividade das culturas de soja, milho e algodão no Brasil varia de 9,5% a 40%, dependendo do tipo de doença analisada e na ausência de controle adequado.

Controlar *R. solani* é desafiador devido à sua ampla gama de hospedeiros e às grandes perdas de rendimento que provoca em mais de 100 culturas agrícolas e hortícolas

anualmente (Chen et al., 2016). Os métodos de controle incluem abordagens químicas, físicas e culturais, além do uso de variedades resistentes e controle biológico.

Medidas culturais para controlar *R. solani*, visando reduzir o contato da planta com o patógeno, incluem rotação de longo prazo com cereais, coleta precoce e semeadura em condições de alta temperatura e secas para estimular a proliferação dos tubérculos, no caso da batata. Além disso, fungicidas podem ser aplicados em algumas espécies hospedeiras, juntamente com o uso de variedades resistentes específicas (Tsrör, 2010).

### **2.3. CAPACIDADE SAPROFITICA de *Rhizoctonia Solani***

*Rhizoctonia solani*, é considerado como colonizador pioneiro da matéria orgânica (Chavarro-Mesa et al., 2020), apresentando uma capacidade saprofítica que depende não apenas da taxa de crescimento, mas também da produção de antibióticos, toxinas e enzimas, além de outros determinantes do solo, que incluem fatores bióticos e abióticos (Yulianti et al., 2007; Sannazzaro & Fenille, 2001). É de extrema importância considerar essa característica como um indicativo de risco, principalmente quando o inoculo está presente em níveis elevados (Papavizas et al. 1975; Yulianti et al., 2007).

Muitos solos, principalmente no nordeste do Brasil podem ter atividade saprofítica reduzida ou nula de *Rhizoctonia*, indicando que há antagonistas naturais com capacidade supressora do solo. Esses solos são comuns em ambientes ecologicamente equilibrados com componentes físico-químicos e microbiológicos estabilizados (Luz et al., 2022).

O tipo de cobertura do solo também pode influenciar diretamente a atividade saprofítica da *R. solani*, indicando que os solos com um tipo de cobertura podem ser mais supressivos do que os solos sem cobertura (Kunieda-Alonso et al., 2005). No entanto, essas afirmações ainda estão sendo estudadas.

### **2.4. ESTRATÉGIAS DE CONTROLE BIOLÓGICO**

O controle biológico em comparação com o controle químico é considerado uma boa alternativa de manejo de patógenos de solo; que consiste na supressão de um patógeno com um microrganismo vivo não patógeno da cultura em questão. *R. solani* é considerada uma boa candidata ao controle biológico devido à sua ampla adaptação ambiental e ao grande número de hospedeiros, assim como ao alto número de escleródios produzidos no solo (Wong et al., 2020)

Os primeiros trabalhos sobre o uso de microrganismos como antagonistas contra *R. solani* foram as interações com *Trichoderma* e *Gliocladium* (Lewis & Papavizas, 1987). Esses trabalhos isolaram a gliotoxina do fungo *Gliocladium* e testaram sua eficácia. Os estudos de controle biológico foram acelerados a partir da década de 1980. As pseudomonas fluorescentes e o *Bacillus* sp. são as espécies de bactérias mais prevalentes no solo e na rizosfera e têm o potencial de promover o crescimento das plantas e suprimir as doenças das plantas. O *Trichoderma* sp. e o antagonista fúngico do *Gliocladium* foram as espécies mais usadas no controle biológico deste fitopatógeno.

Artigos de revisão compilaram informações sobre antagonistas usados contra *Rhizoctonia*, que incluem: espécies de *Aspergillus*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium solani*, *Gliocladium roseum*, também conhecido como *Clonostachys rosea* f. *rosea*, *Laetisaria arvalis*, *Myrothecium* sp, *Pseudocercospora herpotrichoides*, *Pseudoeurotium multisporum*, *Pythium oligandrum*, várias espécies de *Trichoderma* e *Verticillium*, espécies de *Stretomyces*, *Neocosmospora vasinfecta* var. *africana*, *Acrophialophora levis*, *Botryotrichum piluliferum*, *Coniothyrium sporulosum*, *Dicyma olivacea*, *Gliocladium catenulatum*, *Stachybotrys chartarum*, *S. elegans*, *Stachylidium bicolor*, *Verticillium chlamyosporum*, *Cylindrocarpon olidum* e espécies de *Myrothecium* (Aydm, 2022).

Os mecanismos de biocontrole envolvidos na interação entre o patógeno e o antagonista em uma planta ou ambiente incluem (a) antibiose, (b) competição, (c) micoparasitismo, (d) enzimas que rompem a parede celular do patógeno e (e) resistência induzida e hipovirulência. Esses mecanismos podem ser usados pelo antagonista isoladamente ou em combinação (Djonović et al., 2007).

Vários estudos relatam que o gênero *Trichoderma* (Teleomorfo: *Hypocrea*) é eficaz no controle biológico de *R. solani*, estimulando o crescimento da planta e a reação de defesa, e produzindo antibióticos e enzimas (Abbas et al., 2017). Muitas espécies de *Trichoderma*, especialmente *T.harzianum*, são experimentadas em batatas, arroz, grão-de-bico, feijão, algodão, tomates, pimentões, melões, pepinos, etc. contra *R.solani*, que causa doenças em plantas, e atualmente é usado como bioformulação (Aydm, 2022).

O uso de fungos endófito também tem sido relatado, destacando-se *Epicoccum nigrum*, que demonstrou um bom desempenho tanto em testes *in vitro* quanto em experimentos realizados em casa de vegetação. Este fungo apresentou resultados significativos ao reduzir o índice de severidade da doença nos caules de planta suscetíveis,

assim como melhorando significativamente o rendimento da batata (Lahlali & Hijri, 2010).

### **2.5. *Trichoderma asperellum***

O gênero *Trichoderma* compreende espécies de fungos de vida livre, com comportamento de simbiontes oportunistas, micoparasitas e avirulentos para as plantas, sendo comumente encontrados em ecossistemas de solo e na rizosfera (Harman et al., 2004). Muitas dessas espécies são amplamente utilizadas no controle de doenças radiculares causadas por *Rhizoctonia solani*, um patógeno que pode afetar mudas de pepino, batata, milho, pimenta, feijão, soja, entre outras culturas (Abbas et al., 2017). A eficácia desse controle tem sido demonstrada em ensaios *in vitro* e em condições de campo. No entanto, a viabilidade do inóculo pode ser negativamente afetada por fatores ambientais, como umidade relativa, radiação ultravioleta, temperatura e condições de armazenamento (Herrera et al., 2020).

Entre as espécies mais promissoras, *Trichoderma asperellum* tem se destacado pelo seu potencial no controle de *R. solani*, promovendo a redução das taxas de incidência de podridão radicular e murcha. Essa eficácia está diretamente relacionada ao aumento das concentrações das enzimas peroxidase, catalase e quitinase, reconhecidas por seu papel na ativação de mecanismos de defesa nas plantas (Almaghasla et al., 2023).

### **2.6. *Epicoccum nigrum***

O gênero *Epicoccum*, pertencente ao grupo dos fungos ascomicetos, apresenta diferentes estilos de vida, podendo atuar como endófitas, parasitas, saprófitas ou agentes de controle biológico (Taguiam et al., 2021). Com ampla distribuição, essas espécies podem ser encontradas em diversos habitats, como o ar, o solo, a água e em diferentes partes das plantas, incluindo folhas, ramos, flores e cascas (Melgarejo et al., 1985). O estudo de seu potencial como agente de biocontrole tem revelado sua capacidade de produzir diversos compostos bioativos, que podem atuar na inibição do crescimento e a germinação de conídios de fungos fitopatógenos (Braga et al., 2018).

Dentre as espécies estudadas, *Epicoccum nigrum* tem se destacado por sua capacidade de reduzir a severidade das doenças radiculares da batata causadas por *Rhizoctonia solani*, por meio de mecanismos de antagonismo, resultando em um aumento significativo no rendimento da cultura (Lahlali & Hijri, 2010).

## **2.7. O MECANISMO DE COMPETIÇÃO NO CONTROLE BIOLÓGICO**

Dentro dos principais fatores que podem influenciar na sobrevivência dos microrganismos no solo estão a predação, a competição e o tipo de cultura ou substrato utilizado como nicho, além dos próprios fatores fisiológicos intrínsecos dos organismos. (Blakeman & Fokkema, 1982). A conexão do controle biológico com os fatores abióticos do solo, como textura, pH, temperatura, conteúdo de umidade e disponibilidade de substrato precisam ser monitorados, já que eles determinam a sobrevivência e atividade dos organismos introduzidos (Whipps, 2001).

A capacidade de competição pode ser definida como a disputa entre dois ou mais organismos pela utilização de um mesmo recurso ou requisito essencial, como nutrientes, espaço físico, luz, entre outros. Essa interação pode ocorrer de forma desigual, de modo que um dos organismos reduz a disponibilidade desses recursos para os demais (Bettiol et al., 2019).

O estabelecimento de agentes de controle biológico no micro-habitat do patógeno (raiz, superfície foliar, tubérculo, corte de infecção etc.) é um pré-requisito para o sucesso do controle. (Kalogiannis et al., 2006). Um fator relevante que pode acontecer quando se faz uso do controle biológico e a rápida diminuição das populações de células ativas a níveis não suficientes para controlar o patógeno, isto devido muitas vezes a condições climáticas adversas. (Michereff, 1996).

A atividade do agente de controle biológico deve se predispor para em sua maioria para sincronizar com a os períodos de máxima atividade do patógeno, tanto no tempo como espaço. Um dos atributos mais importantes de um agente de controle biológico é ser ativo no ambiente conducente ao desenvolvimento do patógeno. Neste contexto, é fundamental considerar todas os fatores que podem favorecer o pleno estabelecimento do agente de controle biológico, como sua competitividade e adaptabilidade (Antônio et al., 2016).

### 3. HIPÓTESE

Os fungos saprófitos *Trichoderma asperellum* e *Epicoccum nigrum* atuam na redução do inoculo inicial de *Rhizoctonia solani* na palhada de milho e de batata mediante o mecanismo de competição.

### 4. OBJETIVO

Avaliar a influência de microrganismos saprófitos inoculados em palha de milho e batata sob a diminuição do inoculo inicial de *Rhizoctonia solani* avaliadas em plântulas de feijão.

#### 4.1. Objetivos específicos

- 4.1.1.1. Avaliar com experimentos *in vitro*, a interação entre *Rhizoctonia solani* e dois fungos com atividade saprofítica: *Epicoccum nigrum* e um produto comercial à base de *Trichoderma asperellum*.
- 4.1.1.2. Determinar as necessidades metabólicas de cada microrganismo por meio da avaliação do índice de sobreposição de nicho (NOI).
- 4.1.1.3. Analisar o desempenho da colonização e o desenvolvimento micelial por meio da inoculação da palha de milho e batata com dois tipos de inoculação: simultânea e sucessiva.
- 4.1.1.4. Avaliar o desenvolvimento da doença em plantas de feijão sob condições de casa de vegetação.

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

### PRIMEIRA PARTE

#### 5.1.1. Obtenção dos isolados

Para o isolamento do patógeno *Rhizoctonia solani* foram coletados raízes de batata com lesões elípticas avermelhadas características, além de tubérculos com sintomas de massas miceliais na superfície, sintomatologia conhecida como “Black scurf”, obtidas na localidade de Ipuiuna (22,02304° S; 46,11046° C), município localizado no sul do estado de Minas Gerais. Fragmentos de aproximadamente 5 mm de diâmetro foram esterilizados superficialmente em hipoclorito 1% pelo um minuto, lavadas duas vezes em água destilada estéril e transferidos para placas de ágar água com antibiótico, posteriormente foram incubados a 25°C por 48-72 horas, após este tempo os extremos das hifas das colônias de *Rhizoctonia solani* desenvolvidas foram identificadas sob um microscópio estereoscópico e transferidas para ágar de dextrose de batata (PDA), sendo incubadas a 25°C até o uso. (Woodhall et al., 2007). Os fungos saprófitos utilizados; *Epicoccum nigrum*, foi fornecido pelo laboratório de controle biológico da Universidade Federal de Lavras (Perrony et al., 2023), e *Trichoderma asperellum* BV10, foi obtido de um biofungicida comercial.

#### 5.1.2. Identificação morfológica do patógeno e teste de patogenicidade em dois diferentes hospedeiros

Para a confirmação do isolado se fez observações macroscópicas características como o crescimento de micélio e a formação de escleródios após 15 dias no meio BDA. Na observação microscópica buscou se observar ramificações em ângulo reto e constrição no ponto de origem (Naqvi et al., 2024). Para o teste de patogenicidade do isolado obtido, o desenvolvimento da doença foi testado em plantas de feijão e milho (culturas de sucessão comuns para a cultura da batata). Para isso foi utilizado grãos de arroz colonizados como fonte de inoculo (Michereff-Filho et al., 1996). Vasos de 1,5L forma preenchidos com uma mistura de solo e substrato (2:1 p/p), além de aproximadamente 7,5g de arroz colonizado, utilizado como inoculo. Transcorrida uma semana da infestação, seis sementes de feijão e milho livres de patógenos foram semeadas por vaso (Silva-Barreto et al., 2010). Foram testadas quatro repetições para cada hospedeiro, tendo

um tratamento testemunha inoculado com arroz sem ser colonizado. O experimento foi irrigado diariamente, fazendo observações diárias para a observação dos sintomas iniciais.

### 5.1.2. Teste de pareamento *in vitro*

A relação de interação entre *Rhizoctonia solani* e os fungos *Epicoccum nigrum* e *Trichoderma asperellum*. foi avaliada por meio um teste de pareamento *in vitro* em placas de 9cm contendo 20 ml de ágar dextrose batata (BDA), onde foram inoculados em um extremo discos de aproximadamente 0,5cm dos potenciais antagonistas, e subsequentemente após dois dias foram semeadas o isolado patogênico no outro extremo; foram incubadas a  $25 \pm 2$  °C por 3 dias, após esse tempo as interações foram examinadas e medidas diariamente. O teste foi feito duas vezes, cada um contendo dez repetições. Para o cálculo de porcentagem de inibição micelial do patógeno, foram utilizadas as medições diárias do crescimento micelial radial de *R. solani* em direção ao fungo antagônico (Ri) assim como as das placas controle (Rc). A inibição do crescimento micelial foi calculada pela fórmula:  $(Rc-Ri)/Rc \times 100$  (Campanile et al., 2007). As porcentagens de inibição das combinações foram utilizadas para o cálculo da Área Abaixo da Curva de Inibição Micelial (AABIC), formula baseada no calculco da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) (Shaner, 1977).

$$AABIC = \sum \left( \frac{(I_t + I_{t+1})}{2} \times (T_{t+1} - T_t) \right)$$

Onde:

- $I_t$ : inibição relativa no tempo ttt,
- $I_{t+1}$ : inibição relativa no intervalo de tempo seguinte (t+1)
- $T_{t+1} - T_t$  : intervalo de tempo entre os dois pontos consecutivos.

### 5.1.3. Preparação das suspensões fúngicas

Para o preparo das suspensões fúngicas, utilizou-se uma cultura de *Epicoccum nigrum* com 10 dias de idade, cultivada em placas de ágar batata dextrose (PDA), e incubada no escuro a 25°C. Os conídios foram coletados suspendendo-os em água destilada esterilizada (ddH<sub>2</sub>O), e ajustada a uma concentração final de  $1 \times 10^5$  esporos/ml (Bian et al., 2021). No caso do produto comercial a base *T. asperellum*, o inóculo foi preparado para a quantidade que foi utilizada, seguindo as indicações da bula, na dose recomendada de 100ml do produto para 150L de calda/há. Para o preparo do inóculo de *Rhizoctonia solani* foram transferidos discos de micélios de 5 dias de idade para Erlenmeyers contendo meio líquido BDA, e incubados em um agitador a 25°C, 180rpm por 96h. O micélio desenvolvido no meio líquido foi removido com palitos esterilizados, filtrado e lavado com água destilada. Em seguida, o micélio foi cortado em fragmentos miliciais uniformes com auxílio de agulhas esterilizadas, e ajustado a uma concentração final de  $1 \times 10^6$  fragmentos miceliais/ml (Sun et al., 2024).

### 5.1.4. Avaliação do índice de sobreposição de nicho (NOI)

Este teste foi realizado com o objetivo de avaliar a competição por fontes específicas de carbono e nitrogênio. Foram analisadas seis fontes de carbono e quatro de nitrogênio, nutrientes comumente encontrados nos substratos avaliados (palha de milho e batata). Os fungos foram cultivados individualmente em meio BDA por 5 dias a 25°C com fotoperíodo de 12h posteriormente, foram preparadas as suspensões de cada fungo.

Em uma placa de ELISA de múltiplos poços, foram adicionados 100µL de cada fonte de carbono e nitrogênio: (D-sacarose, arabinose, Ethanolamine, D-galactose, D-rafinose, xilose, L -prolina, L-alanina, L-serina e L-arginina), todas preparadas a 10mM, juntamente com 100 µl da suspensão de cada isolado fúngico, as placas foram incubadas a 25 °C no escuro. Após intervalos de 12, 24, 48 e 72 horas de incubação foram realizadas as leituras no espectrofotômetro a uma absorbância de 750 nm (indicativa de crescimento micelial) (Perrony et al., 2023).

Foram realizadas quatro réplicas para cada tratamento, com os poços A1 a D9 utilizados como controle. As leituras de comprimento de onda foram comparadas para determinar se houve um aumento no crescimento maior que o do patógeno e do controle branco. Valores de absorbância superior ao controle indicaram que o nutriente foi utilizado, sendo considerado na avaliação para o cálculo do índice de sobreposição de nicho (NOI).

O Índice de sobreposição de nicho (NOI), é calculado dividindo o número de fonte de C ou N compartilhadas por dois fungos pelo número de fontes utilizadas por um fungo alvo. Um NOI de 0,9 ou maior é considerado indicativo de uma sobreposição significativa (Wallis, 2021).

#### **5.1.5. Inoculação da palhada de batata e milho**

Amostras de palha de batata, coletadas na localidade de Ipuiúna, no sul do estado de Minas Gerais; e de palha de milho, provenientes de áreas próximas à Ijaci (Cohab I), foram encaminhadas ao laboratório de controle biológico. No laboratório, as palhas, compostas principalmente por caules, foram cortadas em pedaços de 3 a 5 cm de comprimento. Em seguida foram autoclavadas duas vezes a 120°C por 20 minutos (com um intervalo de 24 horas entre ambos ciclos). (Sarrocco et al., 2021).

Os pedaços de palha foram transferidos para placas de Petri (60x15mm), previamente preenchidas com 20g. de solo (esterilizado duas vezes por 20 min a 120°C). O solo foi umedecido com 4ml de água esterilizada um dia antes da inoculação dos tratamentos. Foram realizados oito tratamentos, cada um composto por seis placas, sendo cada placa considerada como uma repetição. No caso da palha de batata, cada placa continha seis pedaços de palha, enquanto as placas com palha de milho apenas continham cinco pedaços. O experimento conduzido em dois tempos de inoculação: **1. Inoculação simultânea:** tanto o patógeno quanto os fungos testados foram inoculados ao mesmo tempo; **2. Inoculação sucessiva:** inicialmente foram inoculados *T. asperellum* e *E. nigrum*, após 48h, foi inoculado o patógeno.

**Tabela 1** – Tratamentos para ambos tempos de inoculação, em palha de batata e palha de milho.

TRATAMENTO	ESPECIFICAÇÃO
T1	<b>Controle negativo:</b> Palha de batata/milho inoculada com água destilada esterilizada.
T2	<b>Controle positivo:</b> Palha de batata/milho inoculada com o patógeno.
T3	Palha de batata/milho inoculada com uma suspensão de <i>E. nigrum</i> e um plug de micélio de <i>R. solani</i>
T4	Palha de batata/milho inoculada com uma suspensão de <i>T. asperellum</i> e um plug de micélio de <i>R. solani</i> .
T5	Palha de batata/milho inoculada com uma suspensão de <i>T. asperellum</i> , uma suspensão de <i>E. nigrum</i> e um plug de micélio de <i>R. solani</i>
T6	Palha de batata/milho inoculada com uma suspensão de <i>E. nigrum</i>
T7	Palha de batata/milho inoculada com uma suspensão de <i>T. asperellum</i> .
T8	Palha de batata/milho inoculada com uma suspensão de <i>T. asperellum</i> , uma suspensão de <i>E. nigrum</i>

Fonte: da autora (2024).

Após a inoculação o solo das placas foi umedecido uma vez mais com 4 ml de água destilada esterilizada e fechadas com fita filme stretch para manter a umidade. As placas foram fotografadas diariamente para observar o aumento da colonização fúngica diária. Sete dias após a inoculação, a palha de cada tratamento foi transferida a vasos para testes em casa de vegetação.

## SEGUNDA PARTE

### 5.1.6. Ensaio em casa de vegetação de desenvolvimento de doença em plântulas de feijão

O ensaio foi conduzido na casa de vegetação do Laboratório de Controle Biológico (LCB) do DFP/UFLA. Copos de 15 cm de diâmetro e 500ml foram preenchidos com uma mistura de solo esterilizado e substrato na proporção 2:1. Em seguida, pedaços de palha inoculados no teste anterior foram colocados na superfície, respeitando a ordem dos tratamentos. Para os copos que continham tratamentos com palha de batata, foram selecionados aleatoriamente quatro pedaços de cada placa, enquanto para os tratamentos com palha de milho, foram escolhidos apenas três pedaços. Os vasos foram dispostos em um delineamento de blocos inteiramente casualizados. Após 24 horas da transferência da palha para os vasos, foram semeadas quatro sementes de feijão da cultivar Pérola, distribuídas nos quatro pontos extremos de cada vaso. A irrigação foi realizada diariamente com água da torneira para evitar estresse hídrico, e as plantas foram mantidas aproximadamente 15 dias. Os primeiros sintomas da doença foram observados após emergência das plântulas.

### 5.1.7. Avaliação de incidência e severidade

Quinze dias após emergência, foram avaliados os sintomas, como lesões circulares marrom-avermelhadas nas raízes e no hipocótilo, além de murcha na parte foliar. O número de plântulas doentes foi registrado para cada tratamento, permitindo o cálculo da porcentagem de incidência. A severidade da doença foi avaliada uma escala de notas específica para plântulas de feijão foi avaliada desde a nota 0 a 5. Onde: 0=plantas sadias; 1=lesões menores ou iguais a 2,5 mm; 2=lesões entre 2,5 e 5 mm; 3=lesões envolvendo o coleto e causando o sintoma de murcha das folhas; 4=planta tombada e/ou morta e 5=sementes não germinadas ou plântulas não emergidas. Com esses dados foi calculado o índice de doença (ID%), onde:

$$ID (\%) = \frac{\sum (\text{valor da nota} \times \text{n}^{\circ} \text{ de plantas com esta nota})}{(\text{n}^{\circ} \text{ total de plantas} \times \text{valor máximo da escala de notas})} \times 100.$$

**Fonte:** Michereff-Filho et al., (1996)

### **5.1.8. Avaliação do comprimento de raiz e área foliar**

Simultaneamente das avaliações de incidência e severidade, foram registrados os dados de comprimento de raiz, e comprimento da parte aérea foliar, isto para determinar se os tratamentos tiveram inferência na parte de promoção de crescimento das plântulas.

### **5.1.9. Determinação do estado nutricional da palhada**

Amostras de palha de batata e milho depois de ser devidamente autoclavadas foram moídas, foi pesado 20gr de cada uma e enviado ao Laboratório de Análises de Solo DCS/UFLA para testes do estado nutricional. Os resultados foram analisados para determinar a diferença entre as amostras.

### **5.1.1 Análises estatísticas**

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, por meio da utilização do Software R versão 4.0.

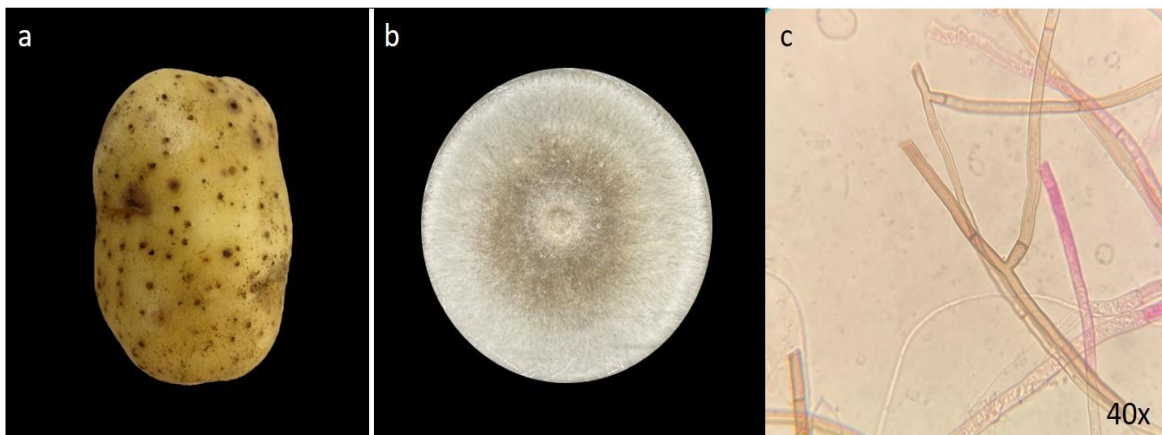
## **6. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **6.1. Identificação do isolado de *Rhizoctonia solani* e teste de patogenicidade**

O isolado obtido de raízes com lesões marrom-avermelhadas e de tubérculos com sintomatologia de massas miceliais em suas superfícies ou também denominado costra preta (Figura 2, seção “a”), exibiu todas as características morfológicas, tanto macroscópicas quanto microscópicas, descritas para identificar *R. solani*.

Na análise por microscopia de luz convencional, foram observadas as estruturas das hifas e o número de núcleos por célula utilizando o corante nuclear Safranina O de Bandoni. Confirmou-se que é um fungo multinucleado, permitindo a identificação e distinção da espécie de *Rhizoctonia solani*, conforme descrito por Sneh et al., (2013). (Figura 2, seção “b e c”).

**Figura 2** – Fotografias do isolamento de *Rhizoctonia solani*, (a) Tubérculo de batata com sintomatologia de “black scurf”, (b) Micélio desenvolvido em meio BDA, após 5 dias de incubação a 25°C. (c) Tintção e observação microscópica das hifas de *R. solani*.



**Fonte:** Da autora (2024).

No teste de patogenicidade conduzido com dois hospedeiros diferentes, foram identificados a partir do 10º dia após a semeadura, sintomas que incluíram ausência de emergência de plântulas, ocorrência de cancro nas hastes e murcha foliar. Com base nestas avaliações, constatou-se que o isolado obtido é patogênico tanto para as plantas de batata como para plantas de feijão e de milho, sendo a severidade maior nas plântulas de feijão. Além disso, foram observadas diferenças no tamanho de raízes e na área foliar entre os tratamentos controle e aqueles inoculados com o patógeno (Figura 3).

**Figura 3** – Teste de patogenicidade. Plântulas ao dia 15 após inoculação do patógeno; (a) Plântulas de feijão, (b) Plântulas de milho



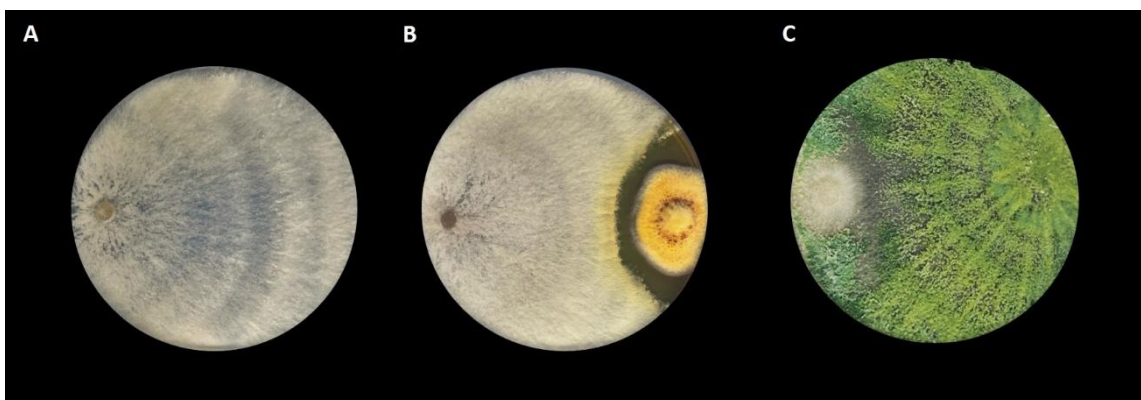
**Fonte:** Da autora (2024).

## 6.2. Padrão de interação entre *Rhizoctonia solani* e os fungos *Epicoccum nigrum* e *Trichoderma asperellum*

Os resultados obtidos no teste de pareamento demonstraram uma interação significativa de inibição de crescimento micelial do patógeno tanto por parte de *E. nigrum* quanto por *T. asperellum*. Os dados de porcentagem de inibição micelial do patógeno, assim como os da Área Abaixo da Curva de Inibição Micelial (AABIC), foram submetidos a análise de variância (ANOVA), a qual indicou um alto nível de significância entre os tratamentos ( $p < 0.001$ ). As médias foram comparadas pelos testes de Tukey, Duncan e Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Observou-se que a maior porcentagem de inibição micelial e por consequência a maior AABIC foi obtida por *T. asperellum* em comparação com *E. nigrum*.

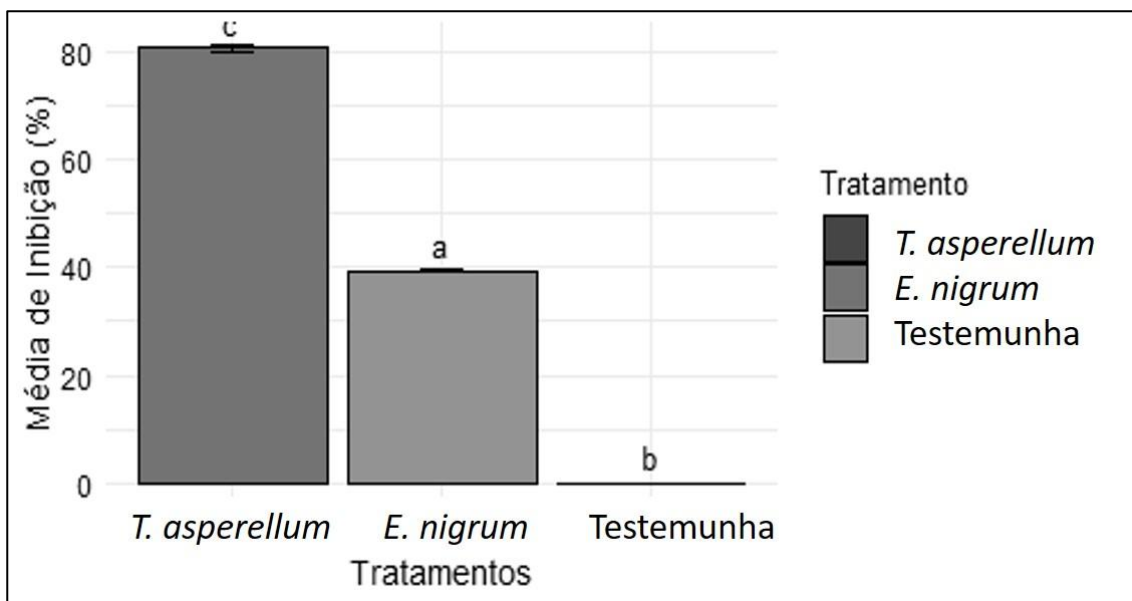
**Figura 4** – Placas do teste de pareamento após 13º dia de incubação. (A) Testemunha: o patógeno *Rhizoctonia solani* (B) *R. solani* + *Epicoccum nigrum*, (C) *R. solani* + *Trichoderma asperellum*



Para *T. asperellum*, os resultados obtidos apresentaram uma porcentagem de inibição micelial de 80,78%, desempenho consideravelmente superior ao reportado por Huma, (2022) onde foi observado uma supressão de crescimento micelial de 68,2%, por parte de um isolado da mesma espécie utilizada neste estudo, o qual foi confrontado com um isolado de *R. solani* causador de costra preta em batata. Considerando os dois hospedeiros adicionais (plântulas de feijão e de milho) que foram abordados neste estudo, Mayo et al., (2015) relataram uma inibição micelial do isolado *R. solani* hospedeiro de feijão comum, por parte de espécies de *Trichoderma*, variando de 86 – 58%, com os melhores resultados nesse estudo, observados para a espécie de *T. harzianum*.

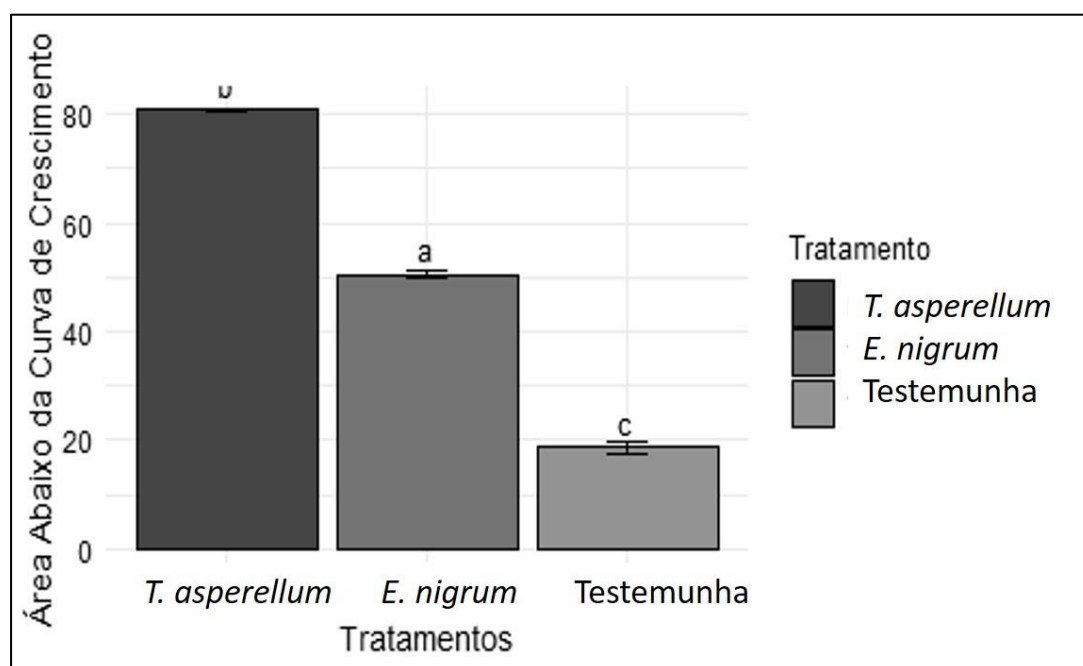
A porcentagem de inibição micelial para *Epicoccum nigrum* foi de 39.35%, resultado relativamente parecido aos intervalos de 23.83-25.52% reportados por Lahlali & Hijri, (2010) para diferentes isolado de *E. nigrum*. Esses autores também destacam que a inibição *in vitro* observada nessa avaliação de pareamento em placas pode ser atribuída a sínteses de metabolitos secundários.

**Figura 5-** Gráfico de barras apresentando os resultados da média de inibição micelial (%)



**Fonte:** Da autora (2024)

Os resultados da Área Abaixo da Curva de Inibição Micelial (AABIC), confirmam os dados previamente obtidos, indicando que *T. asperellum*, com um valor médio de AABIC de 80.89 apresentou melhor desempenho. Em contraste, *Epicoccum nigrum* obteve um AABIC de 50.59, demonstrando uma eficácia inferior nos testes *in vitro*. Mesmo assim os dois fungos avaliados apresentaram uma resposta antagonista ao patógeno, o qual pode ser considerada como um atributo para a competitividade.

**FIGURA 6** - Gráfico de barras apresentando os resultados da AACC (%).

### 6.3. Avaliação do índice de sobreposição de nicho (NOI)

Os resultados demonstraram que tanto *Epicoccum nigrum* quanto *Trichoderma asperellum* exibiram um NOI final após 72h de incubação de 1,0 numa absorbância de 750nm, indicando uma competição eficaz por nutrientes.

*Epicoccum nigrum* mostrou uma utilização mais rápida da maioria dos nutrientes após as 24h primeiras de incubação, enquanto *Trichoderma asperellum*, apresentou um aumento progressivo na utilização de nutrientes ao longo de cada ciclo de incubação. Esse resultado é corroborado por relatos de Perrony et al., (2023) quem isolaram a cepa de *Epicoccum nigrum*, utilizada neste estudo. Além disso, o teste NOI realizado por esses autores foi conduzido com um espectro mais amplo de nutrientes, oferecendo uma análise mais detalhada.

No estudo conduzido por Wallis, (2021), que investigou o uso de sobreposição de nicho (NOI) como técnica para identificar potenciais fungos de biocontrole em plantas lenhosas, foi destacada a capacidade competitiva de *Trichoderma harzianum*. O autor mencionou que esta espécie pode competir de maneira equivalente ou até superior a outros organismos, evidenciando seu potencial como agente de biocontrole eficaz

**TABELA 2** –Resultados da utilização de nutrientes após 72h de incubação.

		<b>FUNGOS AVALIADOS</b>		
		<i>R. solani</i>	<i>E. nigrum</i>	<i>T. asperellum</i>
<b>Fontes de carbono</b>	<i>D-sacarose</i>	+	+	+
	<i>Arabinose</i>	-	+	+
	<i>Ethanolamine</i>	-	+	-
	<i>D-galactose</i>	+	+	+
	<i>D-rafinosse</i>	-	+	-
	<i>Xilose</i>	+	+	+
<b>Fontes de nitrogênio</b>	<i>L -prolina</i>	+	+	+
	<i>L-alanina</i>	+	+	+
	<i>L-serina</i>	+	+	+
	<i>L-arginina</i>	+	+	+
<b>TOTAL</b>		<b>7</b>	<b>10</b>	<b>8</b>

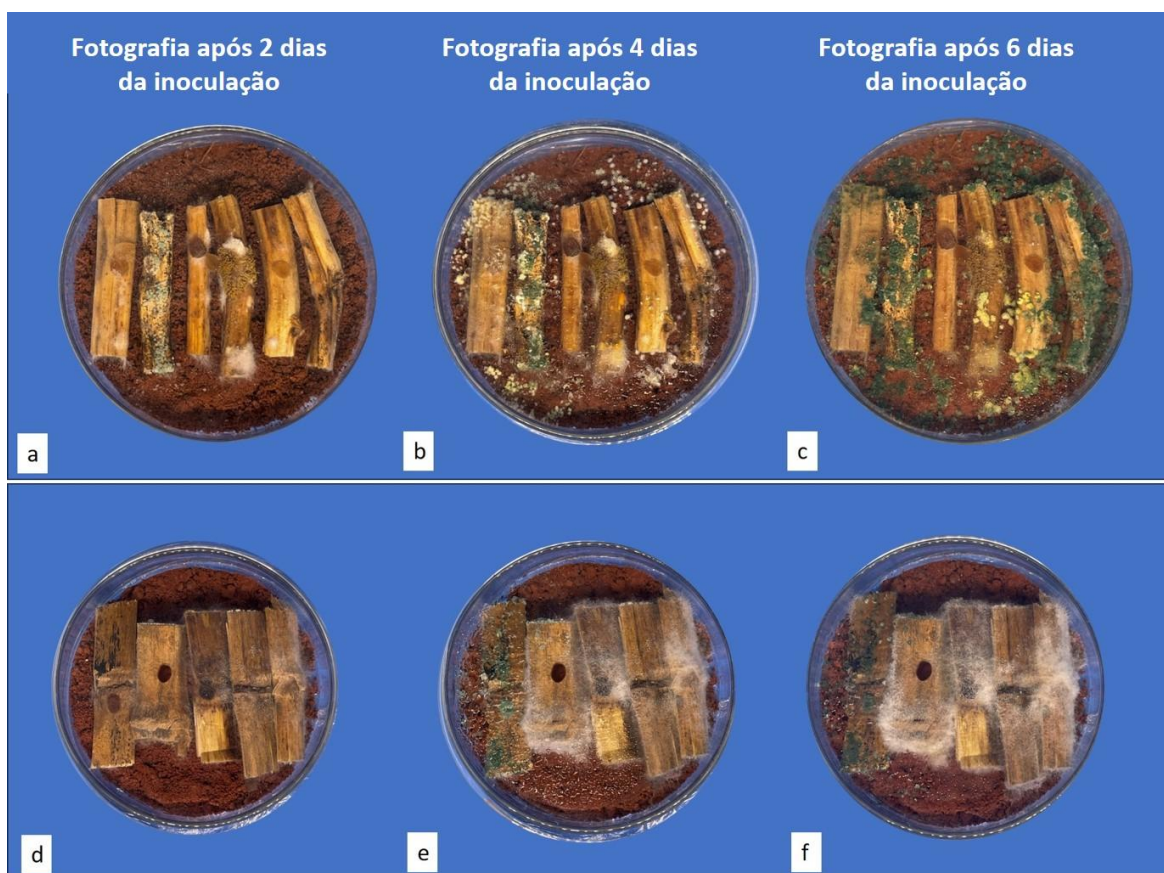
**Nota:** “+” indica que o fungo utilizou o nutriente após 72h de incubação e “-” “que não conseguiu utilizar o nutriente.

**Fonte:** Da autora (2024)

#### 6.4. Inoculação dos isolados fúngicos na palhada de batata e milho

Após 48 horas da inoculação da palha, tanto na inoculação simultânea como a sucessiva se observou crescimento micelial sob a superfície da palha, mas a partir do 5º dia, os pigmentos dos fungos *Trichoderma asperellum* e *Epicoccum nigrum* tornaram-se mais evidentes. Na inoculação simultânea, a colonização de *Trichoderma asperellum* em palha de batata foi mais eficiente em comparação com a palha de milho.

**Figura 7** – Placas com palha de batata (a, b, c) e palha de milho (d, e, f) **inoculada simultaneamente** em combinação de *T. asperellum* + *E. nigrum* e o patógeno *R. solani*.



**Fonte:** Da autora (2024)

Na inoculação sucessiva se observou um aumento maior na colonização de todos os fungos a partir do 2º dia após inoculação do patógeno, sendo observada uma colonização micelial final superior ao da inoculação simultânea.

**Figura 8** – Placas com palha de batata (g, h, i) e palha de milho (j, k, l) com **inoculação sucessiva** em combinação de *T. asperellum* + *E. nigrum* e o patógeno *R. solani*.



Fonte: Autora (2024)

### 6.5. Ensaio em casa de vegetação de desenvolvimento de doença em plântulas de feijão

Os dados de incidência e severidade de ambos experimentos (inoculação simultânea e inoculação sucessiva), foram submetidos a análise de variância (ANOVA), a qual indicou um alto nível de significância entre os tratamentos ( $p < 0.01$ ). As médias foram comparadas pelos testes de Tukey, Duncan e Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

No experimento da inoculação sucessiva, os melhores resultados de incidência foram observados nos tratamentos onde os microrganismos se inocularam isolados. O melhor desempenho foi evidenciado na palha inoculada com *T. asperellum*, seguida pelo tratamento onde foi inoculado apenas *Epicoccum nigrum*. A combinação de ambos fungos (*T. asperellum* e *E. nigrum*) não foi tão eficaz quanto os tratamentos isolados, tendo uma incidência mais alta na palha da batata.

Quanto aos resultados de severidade, o tratamento com palha inoculada apenas com *T. asperellum* foi o que mais reduziu a severidade da doença, com melhores resultados na palha da batata em comparação a de milho. O tratamento com palha apenas inoculada com *Epicoccum nigrum* apresentou maior severidade, sendo a palha de batata a que registrou o maior índice de severidade. A combinação de ambos os microrganismos (*Epicoccum nigrum* + *Trichoderma asperellum*) apresentou uma severidade intermediária, mas não foi mais eficaz que do que os tratamentos isolados.

**TABELA 3** – Valores médios da incidência, severidade, no experimento de inoculação sucessiva.

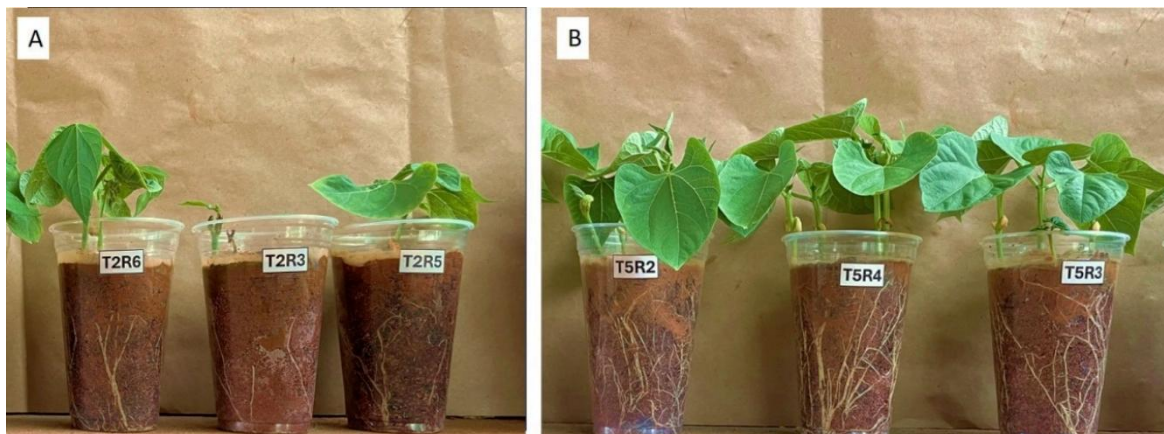
Tratamentos	Incidência		Severidade	
	Batata	Milho	Batata	Milho
<b>T1:</b> Controle_negativo	0.00aA	0.0aA	0.0aA	0.0aA
<b>T2:</b> Controle_Positivo	0.66cB	0.41bA	0.58bA	0.55bA
<b>T3:</b> <i>Epi + Rhizoctonia</i>	0.08aA	0.00aA	0.04aA	0.00aA
<b>T4:</b> <i>Tricho + Rhizoctonia</i>	0.29bB	0.08aA	0.64bB	0.21aA
<b>T5:</b> <i>Epi+Tricho +Rhizoc</i>	0.00aA	0.12aB	0.00aA	0.10aA
Coenf_Variação	60.55		79,7	
p-Valor (da interação)	<0.001		0.0051	

\*Letras minúsculas comparação entre colunas, letras maiúsculas, comparação entre linhas. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa.

**Fonte:** Da autora (2024).

Os dados de tamanho de raiz neste experimento foram submetidos a testes comparativo de Scott Knott para ambos fatores (palha de milho e palha de batata) e não foram identificadas diferenças significativas entre os tratamentos. Todos os valores permaneceram dentro de um intervalo semelhante. Da mesma forma, os resultados para o tamanho foliar não apresentaram diferenças significativas, evidenciando um crescimento consistente entre os tratamentos avaliados.

**Figura 9** – Teste na casa de vegetação. Copos contendo palha inoculada de maneira sucessiva, após 15 dias da semeadura de feijão (A) Controle positivo: palha inoculada com o patógeno. (B) palha inoculada com a combinação de *T. asperellum* + *E. nigrum* após 48h inoculou-se o patógeno.



**Fonte:** Da autora (2024).

No experimento de inoculação simultânea, o tratamento da palha com *T. asperellum*, apresentou os melhores resultados em termos de redução de incidência, com desempenho superior no substrato da palha de batata, em comparação aos demais tratamentos. Já o tratamento com *E. nigrum* também foi eficaz na redução da incidência, porém a diminuição mais evidente foi na palha de batata do que do milho.

A combinação dos dois microrganismos (*T. asperellum* + *E. nigrum*) ressaltou uma incidência intermediária, sendo mais eficaz na palha de batata, embora não tenha superado a eficácia dos tratamentos isolados.

**TABELA 4** - Valores médios da incidência e severidade das plântulas de feijão, no experimento de inoculação simultânea.

Tratamentos	Incidência		Severidade	
	Batata	Milho	Batata	Milho
<b>T1:</b> Controle_Negativo	0.00 aA	0.00 aA	0.00 aA	0.00 aA
<b>T2:</b> Controle_Positivo	0.63 bA	0.66 cA	0.43bcA	0.28abA
<b>T3:</b> <i>Epicoccum + Rhizoctonia</i>	0.67 bA	0.45 cA	0.71 cB	0.44 bA
<b>T4:</b> <i>Trichoderma + Rhizoctonia</i>	0.00 aA	0.29 abB	0.00 aA	0.24 abA
<b>T5:</b> <i>Epi + Tricho + Rhizo</i>	0.08 aA	0.50 bcB	0.25 abA	0.35 abA
Coenf_Variação	65.12		83.51	
p-Valor (da interação)	0.1168		0.0685	

\*Letras minúsculas comparação entre colunas, letras maiúsculas, comparação entre linhas. Letras iguais indicam ausência de diferencia significativa.

Os dados referentes ao tamanho de raiz e a área foliar neste experimento não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos para o tamanho da raiz, (p-valor=0.4248). Contudo, houve diferenças significativas para o tamanho foliar (p-valor <0.001).

No substrato de palha de batata, o tratamento com a inoculação isolada de *E. nigrum* apresentou valores elevados e consistentes, destacando-se e, relação aos demais tratamentos. Já no substrato de palha de milho, não foram observadas diferenças marcantes entre os tratamentos, indicando um impacto menos evidente das inoculações nesse substrato.

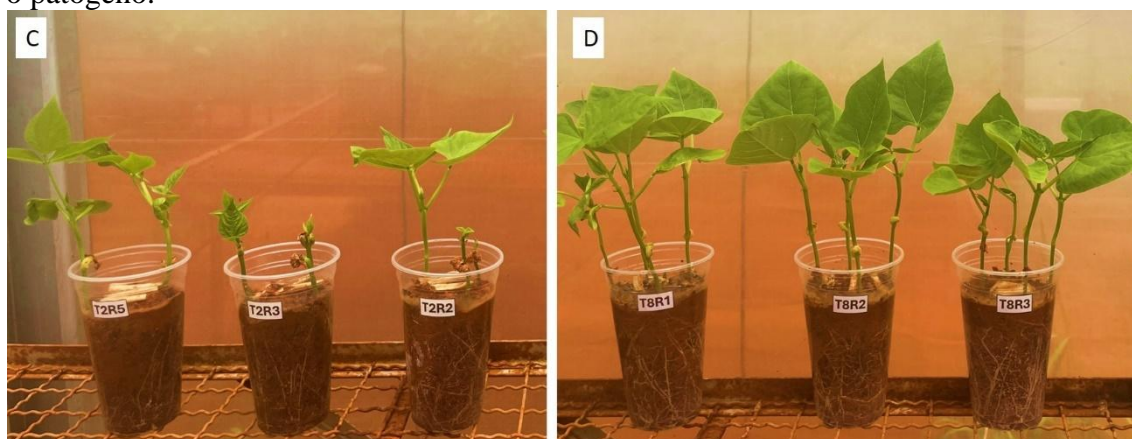
**TABELA 5** – Valores médios do tamanho das raízes e áreas foliar de plântulas de feijão, no experimento de inoculação simultânea.

Tratamentos	Tamanho raiz		Tamanho Foliar	
	Batata	Milho	Batata	Milho
<b>T1:</b> Controle negativo	21.20 aA	20.08 aA	19.08 aA	21.24 aA
<b>T2:</b> Controle_Positivo	19.48 aA	19.30 aA	20.26 bB	19.32 aA
<b>T3:</b> <i>Epicoccum</i>	21.00 aA	22.00 aA	20.65 aA	20.74 aA
<b>T4:</b> <i>Trichoderma</i>	20.11 aA	20.10 aA	20.25 aA	19.32 aA
<b>T5:</b> <i>Epicoccum</i> + <i>Trichoderma</i>	20.51 aA	19.94 aA	20.92 aA	18.81 aA
<b>T6:</b> <i>Epicoccum</i> + <i>Rhizoctonia</i>	20.63 aB	20.79 aA	11.38 bA	13.30 bA
<b>T7:</b> <i>Trichoderma</i> + <i>Rhizoctonia</i>	18.6 aA	20.9 aA	19.83 aA	21.36 aA
<b>T8:</b> <i>Epi</i> + <i>Tricho</i> + <i>Rhizo</i>	17.99 aA	20.59 aA	20.74 aA	19.31 aA
Coenf_Variação	9.64		10.93	
p-Valor (da interação)	0.4248		<0.001	

\*Letras minúsculas comparação entre colunas, letras maiúsculas, comparação entre linhas

**Fonte:** Da autora (2024).

**Figura 10** – Teste na casa e vegetação. Copos contendo palha inoculada de maneira simultânea, após 15 dias da semeadura de feijão (A) Controle positivo: palha inoculada com o patógeno. (B) palha inoculada com a combinação de *T. asperellum* + *E. nigrum* e o patógeno.



**Fonte:** Da autora (2024)

Os resultados obtidos neste estudo, que demonstram uma redução de aproximadamente 40% na incidência da doença por parte de *T. asperellum*, estão em concordância com os

apresentados por Herrera et al., (2020). Nesse trabalho, os autores utilizaram formulações baseadas em *Trichoderma asperelleum* TV190, que reduziram a incidência da doença até 72%. Eles também compararam dois tipos de formulações, uma preparada com óleo mineral, que diminuiu a incidência em 59%, e outra com óleo vegetal, que apresentou uma redução ainda mais expressiva, atingindo 90,04% na severidade da doença.

No caso de *Epicoccum nigrum*, o melhor resultado foi observado quando o isolado foi inoculado sozinho. Este isolado também foi estudado por Lahlali & Hijri, (2010) especificamente para reduzir a incidência e severidade da doença causada por *R. solani* em batata, apresentando um índice que variou de 1,13 a 1,86.

O experimento in vivo realizado por Bagy et al., (2019) demonstrou a eficácia da utilização de uma cepa endofítica *E. nigrum* em combinação com isolados de fungos micorrízicos, os quais, além de reduzir a incidência e severidade de *Pectobacterium carotovora*, agente causal de podridão negra da batata, também promoveram o crescimento das plantas. O estudo também mencionou que, em alguns casos, a combinação utilizada levou ao aumento da intensidade da doença, o que pode ser atribuído ao aumento de resistência sistêmica das plantas, o que também poderia ter ocorrido com alguns tratamentos neste estudo.

#### **6.5. Avaliação nutricional da palha**

Os resultados da avaliação nutricional da palha, demonstraram diferenças significativas, com valores geralmente mais elevados para a palha de batata, em comparação com a palha de milho. No entanto, a palha de milho apresentou vantagens em alguns nutrientes específicos em relação a palha de batata.

**TABELA 6** – Valores dos resultados analíticos nutricionais, emitidos pelo laboratório de DCS/UFLA.

<b>Valores em g/kg</b>							
<b>Tipo</b>	<b>de</b>	<b>N</b>	<b>P</b>	<b>K</b>	<b>Ca</b>	<b>Mg</b>	<b>S</b>
<b>Substrato</b>							
<b>Palha de milho</b>		4.3	0.76	12.46	1.15	1.44	0.51
<b>Palha de batata</b>		13.2	1.06	1.19	23.86	2.58	1.64
<b>Valores em mg/kg</b>							
<b>Tipo</b>	<b>de</b>	<b>Na</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>B</b>
<b>Substrato</b>							
<b>Palha de milho</b>		44.98	1.04	6.87	288.48	11.16	0.6
<b>Palha de batata</b>		49.38	44.27	223.3	3634.08	206.03	12.4

Os estudo de Li et al., (2024) menciona que a composição nutricional da palha depende dos componentes presentes, os quais podem incluir caules, folhas e/ou espigas. De qualquer forma, a palha é rica em nutrientes, e por isso, exerce um efeito direto na saúde do solo. As diferenças nos resultados observados neste teste podem ser atribuídas a composição da palha utilizada, pois ambas eram formadas principalmente por caules, mas o maior teor de material fibroso foi encontrado na palha de milho.

## 7. CONCLUSÕES:

Os fungos avaliados demonstraram possuir características adequadas de colonização e competição por determinados nutrientes, o que resultou na diminuição de *R. solani* nos substratos avaliados. Este efeito foi observado quando os fungos foram inoculados em conjunto nos substratos de palha de milho e batata.

As diferenças nas preferências de substrato e no desenvolvimento da doença foram evidenciadas no estudo. A partir desses resultados, é importante um maior aprofundamento em aspectos que possam otimizar ainda mais o desenvolvimento dos fungos, como as doses de cada um deles, especialmente quando aplicadas em combinação, e a avaliação de fatores ambientais, como umidade, temperatura e luz, que podem influenciar a eficácia do biocontrole.

## REFERÊNCIAS

- ABBAS, A., D, J., & Y, F. ***Trichoderma spp.* As Antagonist of *Rhizoctonia solani*.** *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 08. <https://doi.org/10.4172/2157-7471.1000402>, 2017.
- AJAYI- OYETUNDE OO, BRADLEY CA. ***Rhizoctonia solani*: taxonomy, population biology and management of rhizoctonia seedling disease of soybean.** *Plant pathology*, 67(1): 3-17, 2018.
- ALGHAMDI, R. S., & CIHACEK, L. **Do post-harvest crop residues in no-till systems provide for nitrogen needs of following crops** *Agronomy Journal*, 114(1), 835-852. <https://doi.org/10.1002/agj2.20885>, 2022.
- ALMAGHASLA, M. I., EL-GANAINY, S., & ISMAIL, A. **Biological Activity of Four *Trichoderma* Species Confers Protection against *Rhizoctonia solani*, the Causal Agent of Cucumber Damping-Off and Root Rot Diseases.** *Sustainability*. <https://doi.org/10.3390/su15097250>, 2023.
- ANTÔNIO, J., SCHWAN-ESTRADA, K., JULIANA, S., MARIANNA, & LILIANNE, M. **Induction of defense mechanisms from filtrates of saprophytic fungi against early blight disease in tomato.** *African Journal of Microbiology Research*, 10, 1849-1859. <https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8106>, 2016.
- ARIENA HC, BRUGGEN V, GRÜNWARD NJ, BOLDA M. **Cultural methods and soil nutrient status in low and high input agricultural systems, as they affect *Rhizoctonia* species.** In: Sneh B., Jabaji-Hare S, Neate S, Dijst G., (eds.). *Rhizoctonia species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease control*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands, 1996.
- AYDIN, M. ***Rhizoctonia Solani* and Its Biological Control.** *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 9. <https://doi.org/10.19159/tutad.1004550>, 2022
- BAGY, H. M. M. K., HASSAN, E. A., NAFADY, N. A., & DAWOOD, M. F. A. **Efficacy of arbuscular mycorrhizal fungi and endophytic strain *Epicoccum nigrum* ASU11 as biocontrol agents against blackleg disease of potato caused by bacterial strain *Pectobacterium carotovora* subsp. *Atrosepticum* PHY7.** *Biological Control*, 134, 103-113. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.03.005>, 2019
- BANVILLE, G. J.. **Yield losses and damage to potato plants caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn.** *American Potato Journal*, 66(12), 821-834. <https://doi.org/10.1007/BF02853963>, 1989.

BARAKAT, R., AL-MAHAREEQ, F., ALI SHTAYEH, M. S., & AL-MASRI, M. **Biological control of *Rhizoctonia solani* by indigenous *Trichoderma* spp.** Isolates from Palestine. *Hebron University Research Journal*, 1-15, 2007.

BETTIOL, W., SILVA, J. C., & CASTRO, M. L. M. P. de. **Uso atual e perspectivas do *Trichoderma* no Brasil.** In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da (Ed.). *Trichoderma: uso na agricultura*. Brasília, DF: Embrapa, 2019. pt. 1. cap. 1. <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1119303>, 2019.

BIAN, J.-Y., FANG, Y.-L., SONG, Q., SUN, M.-L., YANG, J.-Y., JU, Y.-W., LI, D.-W., & HUANG, L. **The Fungal Endophyte *Epicoccum dendrobii* as a Potential Biocontrol Agent Against *Colletotrichum gloeosporioides*.** *Phytopathology*®, 111(2), 293-303. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-20-0170-R>, 2021.

BRAGA, R. M., PADILLA, G., & ARAÚJO, W. L. **The biotechnological potential of *Epicoccum* spp.: Diversity of secondary metabolites.** *Critical Reviews in Microbiology*, 44(6), 759-778. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2018.1514364>, 2018.

CAMPANILE, G., RUSCELLI, A., & LUISI, N. **Antagonistic activity of endophytic fungi towards *Diplodia corticola* assessed by in vitro and in planta tests.** *European Journal of Plant Pathology*, 117(3), 237-246. <https://doi.org/10.1007/s10658-006-9089-1>, 2007.

CHAVARRO-MESA, E., CERESINI, P., PEREIRA, D., VICENTINI, S., SILVA, T., RAMOS-MOLINA, L., NEGRISOLI, M., SCHURT, D., & VIEIRA JÚNIOR, J. R. **A broad diversity survey of *Rhizoctonia* species from the Brazilian Amazon reveals the prevalence of *R. solani* AG-1 IA on signal grass and the new record of AG-1 IF on cowpea and soybeans.** *Plant Pathology*, 69(3), 455-466. <https://doi.org/10.1111/ppa.13142>, 2001.

DJONOVIĆ, S., VITTONI, G., HERRERA, A., & KENERLEY, C. **Enhanced biocontrol activity of *Trichoderma virens* transformants constitutively coexpressing 1,3 and 1,6-glucanase genes.** *Molecular plant pathology*, 8, 469-480. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00407>, 2007.

FISHER, M. C., ALASTRUEY-IZQUIERDO, A., BERMAN, J., BICANIC, T., BIGNELL, E. M., BOWYER, P., BROMLEY, M., BRÜGGEMANN, R., GARBER, G., CORNELLY, O. A., GURR, S. J., HARRISON, T. S., KUIJPER, E., RHODES, J., SHEPPARD, D. C., WARRIS, A., WHITE, P. L., XU, J., ZWAAN, B., & VERWEIJ, P. E. **Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health.** *Nature Reviews Microbiology*, 20(9), 557-571. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00720-1>, 2022.

HARMAN, G. E., HOWELL, C. R., VITERBO, A., CHET, I., & LORITO, M. **Trichoderma species—Opportunistic, avirulent plant symbionts.** *Nature Reviews Microbiology*, 2(1), 43-56. <https://doi.org/10.1038/nrmicro797>, 2004.

HERRERA, W., VALBUENA, O., & PAVONE-MANISCALCO, D. **Formulation of *Trichoderma asperellum* TV190 for biological control of *Rhizoctonia solani* on corn seedlings.** *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30(1), 44. <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00246-9>, 2020.

HUMA, Z. E. Efficacy of Biocontrol Agent (BCA) *Trichoderma* spp. **Against Black Scurf Disease (*Rhizoctonia solani*) of Potato.** *Plant Bulletin*, 1(1). <https://doi.org/10.55627/pbulletin.001.01.0126>, 2022.

JAHANGIR, M. M. R., ISLAM, S., NITU, T. T., UDDIN, S., KABIR, A. K. M. A., MEAH, M. B., & ISLAM, R. **Bio-Compost-Based Integrated Soil Fertility Management Improves Post-Harvest Soil Structural and Elemental Quality in a Two-Year Conservation Agriculture Practice.** *Agronomy*, 11(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112101>, 2021.

KALOGIANNIS, S., TJAMOS, S. E., STERGIU, A., ANTONIOU, P. P., ZIOGAS, B. N., & TJAMOS, E. C. **Selection and evaluation of phyllosphere yeasts as biocontrol agents against grey mould of tomato.** *European Journal of Plant Pathology*, 116(1), 69-76. <https://doi.org/10.1007/s10658-006-9040-5>, 2006.

KULIK, T., TREDER, K., ROCHOŃ, M., ZAŁUSKI, D., SULIMA, P., OLSZEWSKI, J., BILSKA, K., ELENA, G., & KOWALSKI, T. **Measurement of the effectiveness of *Clonostachys rosea* in reducing *Fusarium* biomass on wheat straw.** *Journal of Applied Genetics*, 65(4), 937-947. <https://doi.org/10.1007/s13353-024-00906-8>, 2024.

KUNIEDA-ALONSO, S., ALFENAS, A. C., & MAFFIA, L. A. **Sobrevivência de micélio e escleródios de *Rhizoctonia solani* tratados com *Trichoderma* spp., em restos de cultura de *Eucalyptus* sp.** *Fitopatologia Brasileira*, 30(2), 164-168. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582005000200010>, 2005.

LAHLALI, R., & HIJRI, M. **Screening, identification and evaluation of potential biocontrol fungal endophytes against *Rhizoctonia solani* AG3 on potato plants.** *FEMS Microbiology Letters*, 311(2), 152-159. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2010.02084.x>, 2010.

LEWIS, J., & PAPAVIDAS, G. **Permeability changes in hyphae of *Rhizoctonia solani* induced by germling preparations of *Trichoderma* and *Gliocladium*.** *Phytopathology*, 77(5), 699—703. <https://doi.org/10.1094/phyto-77-699>, 1987.

LUZ, C. M. D., AMORIM, H. C. A., BARROS, A. P. O. D., CORREIA, K. C., FERNANDES, M. F., & MICHEREFF, S. J. **Atividade saprofítica de *Rhizoctonia* em**

**solos do Nordeste brasileiro e relação com propriedades físicas, químicas e microbiológicas.** *Research, Society and Development*, 11(3), e34311326477. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i3.26477>, 2022.

MAYO, S., GUTIÉRREZ, S., MALMIERCA, M. G., LORENZANA, A., CAMPELO, M. P., HERMOSA, R., & CASQUERO, P. A. **Influence of *Rhizoctonia solani* and *Trichoderma* spp. In growth of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and in the induction of plant defense-related genes.** *Frontiers in Plant Science*, 6, 685. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00685>, 2015.

MELGAREJO, P., CARRILLO, R., & SAGASTA, E. M. **Mycoflora of peach twigs and flowers and its possible significance in biological control of *Monilinia laxa*.** *Transactions of the British Mycological Society*, 85(2), 313-317. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(85\)80194-7](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(85)80194-7), 1985.

MEMON, M. S., GUO, J., TAGAR, A. A., PERVEEN, N., JI, C., MEMON, S. A., & MEMON, N. **The Effects of Tillage and Straw Incorporation on Soil Organic Carbon Status, Rice Crop Productivity, and Sustainability in the Rice-Wheat Cropping System of Eastern China.** *Sustainability*, 10(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/su10040961>, 2018.

MICHEREFF-FILHO, M., MICHEREFF, S., SILVA, E. B., ANDRADE, D. E. G. T., SOBRINHO, S., NORONHA, M. A., & MARIANO, R. **Influência de tipos de solos do estado de Pernambuco na intensidade de doença induzida por *Rhizoctonia solani* em feijoeiro.** *Fitopatologia Brasileira*, 21, 19-25, 1996.

NAQVI, S. A. H., ABBAS, A., FARHAN, M., KIRAN, R., HASSAN, Z., MEHMOOD, Y., ALI, A., AHMED, N., HASSAN, M. Z., ALREFAEI, A. F., ÖLMEZ, F., YANG, S.-H., & BALOCH, F. S. **Unveiling the Genetic Tapestry: Exploring *Rhizoctonia solani* AG-3 Anastomosis Groups in Potato Crops across Borders.** *Plants*, 13(5), 715. <https://doi.org/10.3390/plants13050715>, 2024.

PARMETER, J. R. ***Rhizoctonia Solani: Biology and Pathology.*** Univ of California Press, 2023.

PERRONY, P. E. P., GUIMARÃES, R. A., REIS, L. O., GOMES, L. B., DA SILVA, L. J., DE ALBUQUERQUE CORREA, C. M., DA SILVA, J. C. P., & DE MEDEIROS, F. H. V. Selectivity of chemical and biological foliar treatments on the phyllosphere communities of bacteria and fungi antagonistic to *Fusarium verticillioides* in maize. *Journal of Phytopathology*, 171(11-12), 656-672. <https://doi.org/10.1111/jph.13226>, 2023.

RASCHE, L., & SOS DEL DIEGO, R. **Pros and Cons of Sugarcane Straw Recovery in São Paulo.** *BioEnergy Research*, 13(1), 147-156. <https://doi.org/10.1007/s12155-019-10078-7>, 2020.

RUPPEL, E. G. **Susceptibility of Rotation Crops to a Root Rot Isolate of *Rhizoctonia solani* from Sugar Beet and Survival of the Pathogen in Crop Residues.** *Plant Disease*, 69(10), 871. <https://doi.org/10.1094/PD-69-871>, 1985.

SANNAZZARO, A. M., & FENILLE, R. C. **Saprotismo e patogenicidade de *Rhizoctonia solani* Kühn AG-4 em solo incorporado com farelo de mamona.** 23(5), 2001.

SARROCCO, S., ESTEBAN, P., VICENTE, I., BERNARDI, R., PLAINCHAMP, T., DOMENICHINI, S., PUNTONI, G., BARONCELLI, R., VANNACCI, G., & DUFRESNE, M. **Straw Competition and Wheat Root Endophytism of *Trichoderma gamsii* T6085 as Useful Traits in the Biological Control of *Fusarium* Head Blight.** *Phytopathology*®, 111(7), 1129-1136. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-20-0441-R>, 2021.

SHANER, G. **The Effect of Nitrogen Fertilization on the Expression of Slow-Mildewing Resistance in Knox Wheat.** *Phytopathology*, 77(8), 1051. <https://doi.org/10.1094/Phyto-67-1051>, 1977.

SHINDE, R., SHAHI, D. K., MAHAPATRA, P., SINGH, C. S., NAIK, S. K., THOMBARE, N., & SINGH, A. K. **Management of crop residues with special reference to the on-farm utilization methods: A review.** *Industrial Crops and Products*, 181, 114772. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114772>, 2022.

SILVA-BARRETO, F. A. DA, PEREIRA, W. V., CIAMPI, M. B., CÂMARA, M. P. S., & CERESINI, P. C. **Associação de *Rhizoctonia solani* Grupo de Anastomose 4 (AG-4 HGI e HGIII) à espécies de plantas invasoras de área de cultivo de batata.** *Summa Phytopathologica*, 36, 145-154. <https://doi.org/10.1590/S0100-54052010000200007>, 2010.

SNEH, B., JABAJI, S., NEATE, S., & DIJST, G. ***Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control.** En *Kluwer Academic Publishers, Dordrecht*, pp. 578, ISBN nr. 0-7923-3644-5. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-2901-7>, 1998.

SNEH, B., JABAJI-HARE, S., NEATE, S. M., & DIJST, G. ***Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control.** Springer Science & Business Media, 2013.

SUN, M., WANG, H., YE, G., ZHANG, S., LI, Z., CAI, L., & WANG, F. **Biological characteristics and metabolic phenotypes of different anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* strains.** *BMC Microbiology*, 24(1), 217. <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03363-9>, 2024.

TAGUIAM, J. D., EVALLO, E., & BALENDRES, M. A. ***Epicoccum* species: Ubiquitous plant pathogens and effective biological control agents.** *European Journal of Plant Pathology*, 159(4), 713-725. <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02207-w>, 2021.

TSROR, L. **Biology, Epidemiology and Management of *Rhizoctonia solani* on Potato.** *Journal of Phytopathology*, 158(10), 649-658. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2010.01671.x>, 2010.

WALLIS, C. M. **Nutritional niche overlap analysis as a method to identify potential biocontrol fungi against trunk pathogens.** *BioControl*, 66(4), 559-571. <https://doi.org/10.1007/s10526-021-10091-w>, 2021.

WHIPPS, J. M. **Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere.** *Journal of Experimental Botany*, 52(suppl\_1), 487-511. [https://doi.org/10.1093/jexbot/52.suppl\\_1.487](https://doi.org/10.1093/jexbot/52.suppl_1.487), 2001.

WONG, C. K. F., TEH, C. Y., VADAMALAI, G., SAIDI, N. B., & ZULPERI, D. **Development of detached root and leaf assays to evaluate the antagonistic properties of biocontrol agents against *Fusarium* wilt of banana.** *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 53(9-10), 479-494. <https://doi.org/10.1080/03235408.2020.1761222>, 2020.

WOODHALL, J. W., LEES, A. K., EDWARDS, S. G., & JENKINSON, P. **Characterization of *Rhizoctonia solani* from potato in Great Britain.** *Plant Pathology*, 56(2), 286-295. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01545.x>, 2007.

YULIANTI, T., SIVASITHAMPARAM, K., & TURNER, D. W. **Saprophytic and pathogenic behaviour of *R. solani* AG2-1 (ZG-5) in a soil amended with *Diplotaxis tenuifolia* or *Brassica nigra* manures and incubated at different temperatures and soil water content.** *Plant and Soil*, 294(1-2), 277-289. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9254-0>, 2007.