

**INSTITUTO FEDERAL GOIANO DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO  
CENTRO DE EXCELÊNCIA EM BIOINSUMOS  
COORDENAÇÃO DE CAPACITAÇÃO EM BIOINSUMOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *lato sensu* EM BIOINSUMOS  
IF GOIANO CAMPUS CRISTALINA**

**TIAGO ATTA ROCHA**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTAGÔNICO DE CEPAS DE *Trichoderma* sp. NO  
CONTROLE DE *Macrophomina phaseolina***

**CRISTALINA, GOIÁS**

**2025**

**TIAGO ATTA ROCHA**

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTAGÔNICO DE CEPAS DE *Trichoderma* sp. NO  
CONTROLE DE *Macrophomina phaseolina*

Trabalho de curso apresentado à Banca Examinadora do Curso de Bioinsumos do Instituto Federal Goiano como exigência parcial para obtenção do título de especialista em Bioinsumos.

Orientador: Me. Bruno Barboza dos Santos

**CRISTALINA, GOIÁS**

**2025**

# TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

## IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

Tese (doutorado)

Dissertação (mestrado)

Monografia (especialização)

TCC (graduação)

Artigo científico

Capítulo de livro

Livro

Trabalho apresentado em evento

Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:

Matrícula:

Título do trabalho:

## RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial:    Não    Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano:    /    /


O documento está sujeito a registro de patente?    Sim    Não

O documento pode vir a ser publicado como livro?    Sim    Não

## DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.


Documento assinado digitalmente  
 **TIAGO ATTA ROCHA**  
Data: 29/05/2026 08:42:17-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Local    /    /  
Data

Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:

Assinatura do(a) orientador(a)

Documento assinado digitalmente  
 **BRUNO BARBOZA DOS SANTOS**  
Data: 29/05/2026 08:31:45-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA  
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Ata nº 1/2025 - GADMP-CRT/CMPCRIS/IFGOIANO

### **Regulamento de Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) 3 CEBIO/IFGoiano**

#### **ANEXO V - ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CURSO**

Aos dezoito dias do mês de outubro de dois mil e vinte e cinco, às 09 horas e 40 minutos, reuniu-se a Banca Examinadora composta por: Prof. Me. Bruno Barboza dos Santos (orientador), Profa. Dra. Miriam de Almeida Marques (IF Goiano) e Prof. Dr. Alecio Rodrigues Nunes (IF Goiano), para examinar o Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) intitulado **Avaliação do potencial antagônico de cepas de *Trichoderma sp.* no controle de *Macrophomina phaseolina* em placa de petri** de **TIAGO ATTA ROCHA**, estudante do curso de Pós Graduação *lato sensu* em Bioinsumos do IF Goiano – Campus Cristalina, sob Matrícula nº 2024110304260012. A palavra foi concedida ao estudante para a apresentação oral do TC, em seguida houve arguição do candidato pelos membros da Banca Examinadora. Após tal etapa, a Banca Examinadora decidiu pela **APROVAÇÃO** do estudante. Ao final da sessão pública de defesa foi lavrada a presente ata, que, após apresentação da versão corrigida do TC, foi assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Cristalina, 18 de outubro de 2025.

*(Assinado eletronicamente)*

**Me. Bruno Barboza dos Santos**

Orientador

*(Assinado eletronicamente)*

**Profa. Dra. Miriam de Almeida Marques**

Membro da Banca Examinadora

*(Assinado eletronicamente)*

**Prof. Dr. Alecio Rodrigues Nunes**

## Membro da Banca Examinadora

Documento assinado eletronicamente por:

- **Bruno Barboza dos Santos**, CHEFE - SUB-CHEFIA - GADMP-CRT, em 18/10/2025 10:44:45.
- **Miriam de Almeida Marques**, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 18/10/2025 10:46:22.
- **Alecio Rodrigues Nunes**, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 18/10/2025 10:46:29.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 16/10/2025. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

**Código Verificador:** 754868

**Código de Autenticação:** d5a357cb6f



INSTITUTO FEDERAL GOIANO  
Campus Cristalina  
Rua Araguaia, Loteamento 71, SN, Setor Oeste, CRISTALINA / GO, CEP 73850-000  
(61) 3612-8500

**Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do  
Programa de Geração Automática do Sistema Integrado de Bibliotecas do IF Goiano - SIBi**

A883a      Atta Rocha, Tiago  
              AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTAGÔNICO DE CEPAS  
              DE *Trichoderma* sp. NO CONTROLE DE *Macrophomina*  
              phaseolina / Tiago Atta Rocha. Cristalina 2025.

31f. il.

Orientador: Prof. Me. Bruno Barboza do Santos.  
Monografia (Especialista) - Instituto Federal Goiano, curso de  
1030426 - Especialização em Bioinsumos - Cristalina (Campus  
Cristalina).

I. Título.


**TIAGO ATTA ROCHA**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTAGÔNICO DE CEPAS DE *Trichoderma* sp. NO  
CONTROLE DE *Macrophomina phaseolina***

Monografia apresentada à Banca Examinadora do Curso de Bioinsumos do Campus Cristalina do IF Goiano como exigência parcial para a obtenção do título de especialista.

Cristalina, GO 18 de outubro de 2025

**BANCA EXAMINADORA**

Documento assinado digitalmente  
 **BRUNO BARBOZA DOS SANTOS**  
Data: 22/05/2026 16:41:49-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Me. Bruno Barboza dos Santos - IF Goiano

Documento assinado digitalmente  
 **MIRIAM DE ALMEIDA MARQUES**  
Data: 25/05/2026 17:54:46-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dra. Miriam de Almeida Marques IF Goiano

Documento assinado digitalmente  
 **ALECIO RODRIGUES NUNES**  
Data: 27/05/2026 14:56:00-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. Alecio Rodrigues Nunes IF Goiano

Dedico esta monografia à minha amiga Jessica Valente, parceira de surtos acadêmicos, conselhos aleatórios e risadas que salvaram meus dias.

Aos meus pais, que fingiram entender o que eu estava estudando, mas nunca deixaram de acreditar que eu ia dar conta.

## AGRADECIMENTOS

Expresso minha sincera gratidão à ao programa de Pós-Graduação em Bioinsumos, FUNAPE, FAPEG, CEBIO e ao Instituto Federal Goiano - IF pelo apoio institucional, técnico e científico prestado ao longo desta pós-graduação lato sensu. A contribuição de cada uma dessas instituições foi fundamental para o desenvolvimento e a conclusão deste trabalho.



## **BIOGRAFIA DO ALUNO**

Tiago Atta Rocha, natural do município de Valparaíso de Goiás, iniciou sua trajetória no setor agrícola em 2010, ao ingressar no curso de Agronomia pela UPIS. Em 2021, concluiu a especialização em Administração em Agronegócios pela UNINTER, ampliando seus conhecimentos na área de gestão do setor rural. Atuou como analista na Câmara dos Deputados, certificador na Agroindústria Sorgatto e extensionista na empresa Zootec Assessoria e Projetos. Também desempenhou a função de tutor na Faculdade Anhanguera. Atualmente, exerce o cargo de analista de pesquisa no Instituto de Pesquisa Agrícola do Cerrado (IPAC), contribuindo para o desenvolvimento e a inovação da agricultura na região do Cerrado.

## RESUMO

O trabalho tem o objetivo de avaliar o potencial antagonico de três cepas de *Trichoderma* sp. (P3, P10 e P6) de controlar a *Macrophomina phaseolina*, causadora de podridão das raízes e do colmo do milho (*Zea mays*). O experimento foi realizado no laboratório de microbiologia e fitopatologia do Instituto de Pesquisa Agrícola do Cerrado (IPAC), em Rio Verde – GO. A técnica utilizada foi o confronto direto (dual culture) em meio BDA. A avaliação com o isolado P10 apresentou a melhor capacidade de controle, colonizando 100 % da superfície do meio de cultura e inibindo o crescimento da *Macrophomina phaseolina*. Os isolados P3 e P6 apresentaram resultados promissores não se igualando ao isolado P10. Os resultados mostram o potencial das cepas em ambiente laboratorial, reforçando a importância em continuar os estudos em casa de vegetação e campo para determinar qual das três cepas são melhores para o controle da *Macrophomina phaseolina*.

**Palavras-chave:** controle biológico; fitopatologia; podridão das raízes e do colmo do milho; antagonismo fúngico.

## ABSTRAT

The study aimed to evaluate the antagonistic potential of three *Trichoderma sp.* strains (P3, P10, and P6) in controlling *Macrophomina phaseolina*, the causal agent of root and stem rot in maize (*Zea mays*). The experiment was conducted at the Microbiology and Phytopathology Laboratory of the Agricultural Research Institute of the Cerrado (IPAC), in Rio Verde, Goiás, Brazil. The technique used was the dual culture method on PDA medium. The evaluation with isolate P10 showed the highest control capacity, colonizing 100% of the culture medium surface and inhibiting the growth of *Macrophomina phaseolina*. Isolates P3 and P6 showed promising results, although not equivalent to isolate P10. The results demonstrate the potential of these strains under laboratory conditions, reinforcing the importance of continuing studies in greenhouse and field environments to determine which of the three strains is most effective in controlling *Macrophomina phaseolina*.

**Keywords:** biological control; phytopathology; maize root and stem rot; fungal antagonism.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	11
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2. OBJETIVO</b> .....	13
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	14
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	16
3.1. Fontes de inóculo de <i>Macrophomina phaseolina</i> .....	16
3.2. Isolados de <i>Trichoderma</i> spp. ....	20
3.3. Confronto direto em meio BDA (dual culture) .....	20
3.4. Cálculo de crescimento em placa de petri.....	21
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	22
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	26
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	27

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Letras diferentes na linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade .....	22
Tabela 2. Letras diferentes na linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ....	23
Tabela 3. Letras diferentes na linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ....	24

## 1. INTRODUÇÃO

Segundo dados da Embrapa (2023), o Brasil ocupa a quarta posição entre os maiores produtores de grãos do mundo, ficando atrás da China, dos Estados Unidos e da Índia, sendo o maior produtor mundial de soja e o terceiro maior produtor de milho (AGROADVANCE, 2024). O milho (*Zea mays*) possui grande importância para a alimentação animal e humana, servindo também como matéria-prima para a produção de etanol (EMBRAPA, 2022; INSPER, 2025).

A produção nacional de grãos na safra 2024/2025 foi estimada em 345,2 milhões de toneladas, enquanto Goiás registrou 35,4 milhões de toneladas, com a produção de milho aproximando-se de 12,7 milhões de toneladas (CONAB, 2025; SEAPA-GO, 2025).

Entretanto, *Macrophomina phaseolina* tem comprometido as raízes e o colmo dos cultivos de milho em todo o Brasil, principalmente em condições de alta temperatura e déficit hídrico. Em condições favoráveis, a podridão-cinzenta causada por *M. phaseolina* resulta em escurecimento interno do colmo, acamamento e perdas de rendimento que podem exceder 25% na produção de grãos e forragem (EMBRAPA, 2022; COSTA et al., 2023; LIMA et al., 2021).

O controle químico apresenta eficiência limitada devido à variabilidade genética das cepas de *Macrophomina phaseolina*, que exibem diferentes níveis de sensibilidade aos fungicidas utilizados no tratamento de sementes, podendo desenvolver resistência parcial ou total a determinados princípios ativos (BOTELHO, 2022). Nesse contexto, o uso de cepas de *Trichoderma* surge como uma alternativa promissora e sustentável para o manejo da podridão-cinzenta do colmo, especialmente por estar alinhado aos princípios da agricultura regenerativa e da redução do uso de insumos químicos (SILVA, 2025). Estudos brasileiros têm demonstrado que o uso de agentes de biocontrole, incluindo cepas de *Trichoderma spp.*, apresenta resultados expressivos em testes *in vitro*, atuando por mecanismos de competição, micoparasitismo e indução de defesas nas plantas hospedeiras (OILVEIRA et al., 2021). Entre os isolados avaliados, espécies como *T. harzianum* e *T. virens* mostraram desempenho superior na inibição do crescimento de *M. phaseolina*, reforçando a importância da seleção de cepas adaptadas ao solo e ao cultivo, bem como da validação de formulações e métodos de aplicação em campo antes de sua recomendação comercial (OLIVEIRA et al., 2021). Dada a importância do controle biológico de doenças do milho, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o potencial antagonico de três cepas de *Trichoderma* (P3, P10 e P6) no controle de *Macrophomina phaseolina* em milho, em condições de laboratório.

## 2. OBJETIVO

Geral: Avaliar o potencial antagônico de diferentes cepas de *Trichoderma* sp. no controle de *Macrophomina phaseolina* visando contribuir para o manejo biológico deste fitopatógeno.

Específicos:

- Selecionar e caracterizar cepas de *Trichoderma* sp. com potencial antagônico.
- Avaliar parâmetros como inibição de crescimento micelial e capacidade de colonização.
- Comparar a eficiência relativa das diferentes cepas de *Trichoderma* sp. quanto ao antagonismo frente a *Macrophomina phaseolina*.
- Identificar as cepas mais promissoras para uso em estratégias de manejo biológico.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

O milho (*Zea mays* L.) é uma das principais culturas agrícolas do mundo, destacando-se por sua ampla adaptabilidade e relevância socioeconômica. No Brasil, é cultivado em praticamente todos os estados, tanto na safra de verão quanto na segunda safra, conhecida como “safrinha”, responsável por grande parte da produção nacional (EMBRAPA, 2023). Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2025), a produção brasileira de milho deve ultrapassar 130 milhões de toneladas, consolidando o país entre os três maiores produtores mundiais, ao lado de Estados Unidos e China.

Grande parte da produção nacional é destinada à alimentação animal especialmente de aves e suínos, devido ao elevado valor energético e à boa digestibilidade dos grãos. Estima-se que entre 60 % e 70 % do milho produzido no Brasil seja voltado para a formulação de rações (MIRANDA et al., 2021). Além disso, o cereal é amplamente utilizado na alimentação humana, em derivados como fubá, canjica, amido e óleo, e tem papel crescente na indústria de etanol de milho, setor que vem expandindo rapidamente nas regiões Centro-Oeste e Sul (MAPA, 2022).

O milho também é fundamental para a sustentabilidade e a integração produtiva dos sistemas agrícolas brasileiros. O uso do cereal em consórcios com soja, pastagens e florestas na Integração Lavoura-Pecuária-Floresta (ILPF) contribui para o aumento da eficiência produtiva e redução da emissão de gases de efeito estufa (EMBRAPA, 2023). Segundo o Ministério da Agricultura e Pecuária, a segunda safra representa atualmente mais de 75 % da produção total, com destaque para os estados de Mato Grosso, Goiás e Paraná (MAPA, 2022).

Entre os principais desafios fitossanitários do milho destaca-se a *Macrophomina phaseolina*, fungo habitante do solo de ampla distribuição geográfica e elevada capacidade de sobrevivência. O patógeno forma microescleródios que permanecem viáveis no solo e em restos culturais por longos períodos, tornando o controle difícil (EMBRAPA, 2019). A infecção ocorre principalmente nas raízes e colmos, sendo favorecida por temperaturas elevadas (30–35 °C) e deficiência hídrica, comuns durante a safrinha. Os sintomas incluem murchamento, escurecimento interno dos colmos e, em casos severos, quebra de plantas antes da colheita.

O controle biológico tem se consolidado como alternativa sustentável ao uso de fungicidas químicos. Fungos do gênero *Trichoderma* apresentam reconhecida capacidade de antagonismo frente a patógenos de solo, atuando por competição, antibiose, micoparasitismo e indução de resistência nas plantas (SÁRZI et al., 2024). Em experimentos recentes conduzidos no Cerrado, o uso de *Trichoderma harzianum* reduziu significativamente a severidade da podridão-cinzenta do colmo e promoveu maior vigor radicular nas plantas (SÁRZI et al., 2024;

SILVA et al., 2025). Além disso, o emprego de bioinsumos como *Trichoderma spp.* e *Bacillus spp.* tem ganhado espaço na agricultura brasileira, reforçando a adoção de práticas mais sustentáveis e com menor impacto ambiental (SILVA et al., 2025).

Dessa forma, o milho representa não apenas um pilar estratégico do agronegócio nacional, mas também um modelo de cultura capaz de integrar produtividade, sustentabilidade e inovação tecnológica.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em condições no laboratório de microbiologia e fitopatologia do IPAC, localizado no município de Rio Verde, estado de Goiás, às margens da Rodovia BR-060, Km 416, Esq. 2 Km no período de 19 de fevereiro a 29 de abril de 2025.

#### 3.1. Fontes de inóculo de *Macrophomina phaseolina*

A fonte de inóculo de *Macrophomina phaseolina* foi obtida a partir de um híbrido de milho (*Zea Mays*) convencional semeado na safrinha 2025, no Instituto de Pesquisa Agrícola do Cerrado – IPAC, LTDA, localizado no município de Rio Verde, estado de Goiás, às margens da Rodovia BR-060, Km 416, Esq. 2 Km. Os isolados de *Trichoderma* sp. foram cedidos pela empresa Biotech Terra Forte Brasil S/A.

As plantas apresentaram sintomas característicos de infecção durante o estágio fenológico R1, com amarelecimento, secamento das folhas, colmo com coloração acinzentada, podridão radicular e tombamento (Damping-off). A coleta das amostras foi realizada em plantas sintomáticas e no solo rizosférico próximos aos pontos de contaminação.



Figura 1. a) Raízes com sintomas de podridão radicular e basal, associados à infecção por *Macrophomina phaseolina*, evidenciando escurecimento dos tecidos e comprometimento do sistema radicular b) Plantas com sintomas de Damping off, característica de contaminação por *Macrophomina phaseolina*.

Os fragmentos de colmo e raiz foram coletados preferencialmente nas regiões de transição entre o tecido saudável e o tecido lesionado, visando garantir a presença do agente patogênico, conforme metodologia adaptada de Alfenas et al. (2007) e Michereff et al. (2008). As amostras foram acondicionadas em sacos de papel kraft devidamente identificados, evitando-se o uso de recipientes plásticos para impedir o acúmulo de umidade, que pode acelerar a degradação do material vegetal (Mendes et al., 1998).

O isolamento de *Macrophomina phaseolina* foi realizado com base nos procedimentos clássicos descritos por Alfenas et al. (2007), com adaptações segundo protocolos recentes de Porto et al. (2020) e Marquez et al. (2021). No laboratório, as amostras foram inicialmente inspecionadas sob lupa estereoscópica (10 a 40×) para a identificação de estruturas compatíveis com o patógeno, como microescleródios escuros e possíveis estruturas de frutificação. Pequenas porções dessas estruturas foram cuidadosamente removidas com agulha entomológica estéril e inoculadas em placas contendo meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA) suplementado com antibiótico (tetraciclina 0,05 g L<sup>-1</sup>), de forma a reduzir contaminações bacterianas, conforme adaptação baseada em protocolos modernos de isolamento fúngico (COTA-BARRERAS et al., 2022).

Os fragmentos da parte vegetativa foram submetidos à desinfestação superficial em álcool 70 % por 30 segundos, seguida por imersão em hipoclorito de sódio 2 % durante 1 minuto e, posteriormente, três lavagens em água destilada estéril, conforme Alfenas et al. (2007) e Michereff et al. (2008), com ajustes de tempo e concentração de acordo com recomendações recentes para tecidos de colmo e raiz (DOLATKHAH et al., 2024). Após secagem em papel filtro estéril, os fragmentos foram plaqueados em meio BDA e incubados a 25 ± 2 °C por cinco a sete dias, conforme orientações da Embrapa (2020) e de estudos internacionais que descrevem condições ótimas de crescimento de *M. phaseolina* (MARQUEZ et al., 2021; SINHA et al., 2022).



Figura 2 Presença de *Macrophomina phaseolina* em tecido vegetal, evidenciada pela necrose dos feixes vasculares e formação de micélio escuro com abundantes microscleródios, estruturas de sobrevivência típicas do patógeno.



Figura 3. Fragmento de colmo de milho cultivado em meio BDA, apresentando crescimento micelial característico do fungo associado ao tecido vegetal.

As colônias fúngicas obtidas foram avaliadas macroscopicamente quanto às características culturais (cor, textura e crescimento do micélio) e microscopicamente, utilizando lâminas coradas com azul de algodão, para observação de estruturas reprodutivas e morfológicas.

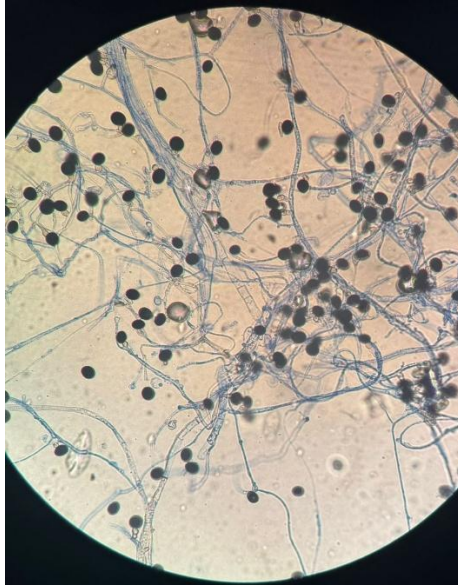


Figura 4 Observação microscópica de *Macrophomina phaseolina*, destacando hifas septadas e a presença de numerosos microscleródios, estruturas de resistência típicas do patógeno

As amostras de solo foram coletadas de 0 a 10 cm de profundidade usando trado de 5 cm de diâmetro. Para o preparo dos meios de cultura, foram inicialmente pesados 100 g de solo seco em temperatura ambiente, que posteriormente foi peneirado em malha de 60 mesh para eliminação de partículas maiores. Em seguida, 5 g do solo peneirado foram adicionados em 90 mL de solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, em Erlenmeyer de 500 mL, sendo a mistura agitada por 10 minutos a 120 rpm. Após esse período, a suspensão foi vertida em peneira de 400 mesh, e o resíduo retido foi lavado em água destilada, obtendo-se assim a suspensão final. O material resultante foi transferido para tubos Falcon, sob condições assépticas em câmara de fluxo laminar. O conteúdo dos tubos foi posteriormente inoculado em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar), acrescido de antibiótico e do agente dispersante Triton X-100, na proporção de 1000  $\mu$ L para cada 500 mL de meio. O uso de hipoclorito de sódio para desinfestação superficial, associado à inoculação em meio BDA suplementado, é amplamente empregado em estudos de isolamento de microrganismos do solo, visando reduzir a contaminação e favorecer a recuperação de fungos de interesse (ALFENAS; MAFIA, 2016; PEREIRA et al., 2020).

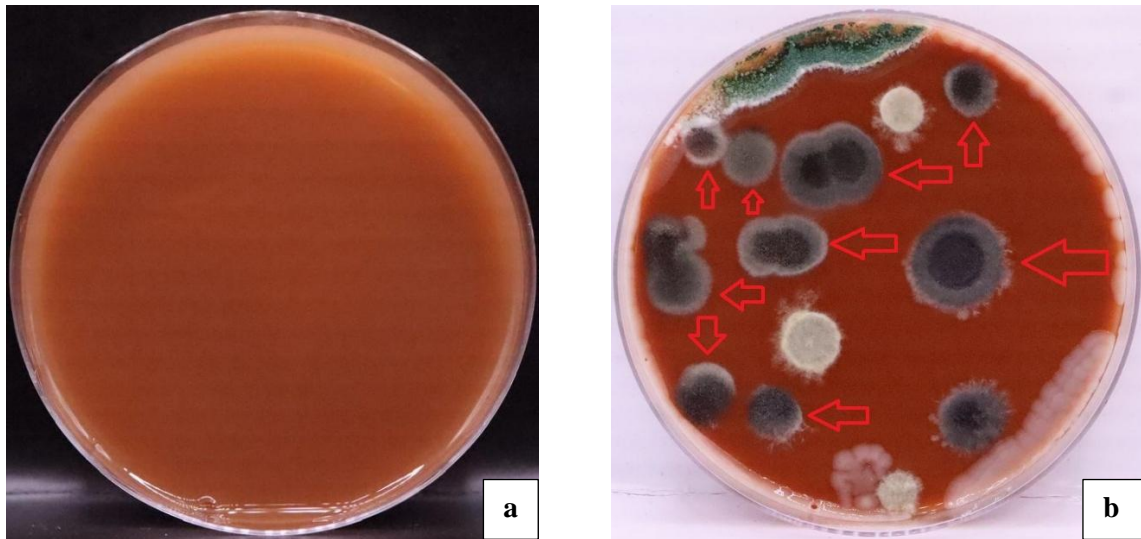


Figura 5 Placa de petri inoculada com solo possivelmente contaminado por *Macrophomina phaseolina*: a) dia da inoculação b) placa já colonizada apresentando diferentes tipos de fungos e pontos escuros característicos de *Macrophomina phaseolina*

### 3.2. Isolados de *Trichoderma* spp.

Os três isolados de *Trichoderma* spp foi cedido pela empresa Biotech Terra Forte Brasil S/A, foi realizado o repique com meio de cultura BDA, sob disco de micélio e armazenados em BOD por 7 dias. As cepas utilizadas foram P10 *Trichoderma asperellum*, P3 *Trichoderma afroharzianum* e P6 *Trichoderma yunnanense*, identificadas pela Fundação André Tosello (FAT).

### 3.3. Confronto direto em meio BDA (dual culture)

O ensaio de cultura dupla foi conduzido para avaliar a interação in vitro entre o fungo patógeno e o fungo antagonista. O experimento foi estruturado em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos: patógeno isolado (controle), antagonista isolado e patógeno junto com antagonista em cultura dupla. Cada tratamento foi composto por quatro repetições, sendo cada placa considerada uma unidade experimental.

Para avaliar o potencial inibitório dos isolados de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial do patógeno, utilizou se a técnica de confrontação direta (dual culture). Onde consistiu, em dispor nas extremidades da placa de Petri contendo BDA, discos de micélio cultivados por 7 dias do fungo *Trichoderma* sp e *Macrophomina phaseolina* para controle, colocou se somente um disco dos fungos em uma extremidade das placas, onde foram mantidas a temperatura de

25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h, até o patógeno colonizar toda a superfície do meio nas placas do tratamento testemunha.



Figura 6. Isolados de *Trichoderma* (P3, P10 e P6) em confronto direto com *Macrophomina phaseolina* em BDA, mostrando o potencial de antagonismo biológico.

O isolado P3 apresentou formação de uma zona de inibição entre as colônias, evidenciando atividade antagônica típica, fenômeno descrito em ensaios de cultura pareada, nos quais a liberação de metabólitos voláteis e não voláteis pelos microrganismos pode restringir o crescimento do patógeno (SUDHA, 2021). O isolado P10 demonstrou colonização completa da superfície da placa, sem delimitação de zona de inibição, indicando comportamento competitivo e predominância sobre *Macrophomina phaseolina*. Já o isolado P6 apresentou uma zona de inibição parcial, na qual o crescimento de *M. phaseolina* foi contido pelo isolado, caracterizando interação antagônica intermediária, semelhante ao observado por Almeida et al. (2023) em estudos com isolados com potencial de biocontrole frente a *M. phaseolina*.

#### 3.4. Cálculo de crescimento em placa de petri

Os dados foram analisados no programa R versão 4.5.1 lançada em 13 de julho de 2025 onde passaram pelo teste de Shapiro-Wilk, a fim de verificar se apresentam distribuição normal. A comparação das médias foi realizada por análise de variância (ANOVA), seguida pelo do teste de Tukey a 5% de significância.

A regressão linear foi aplicada para analisar a taxa de crescimento ao longo de quatro dias, sendo o modelo representado pela equação  $y = ax + b$ , em que  $y$  corresponde ao crescimento do fungo (cm) variável dependente,  $x$  representa o tempo (dias) variável independente,  $a$  é o coeficiente angular, e  $b$  o coeficiente linear. O coeficiente de determinação

( $R^2$ ) indica o grau de ajuste do modelo, sendo que valores próximos de 1 demonstram bom ajuste aos dados, enquanto valores mais próximos de 0 indicam maior dispersão.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O tratamento com o isolado P3 (controle) apresentou um crescimento médio de 1,38 cm por dia, enquanto o tratamento controle da *Macrophomina phaseolina*, obteve crescimento médio de 2,56 cm por dia. No teste de confronto direto, o toque e a sobreposição das colônias ocorreram no quarto dia, com efeito deletério evidentes o que é explicado pela competição por espaço e nutrientes e, sobretudo, antibiose, com secreção de enzimas e metabólitos que inibem a crescimento. Em ensaios semelhantes esse padrão de inibição após o contato demonstra que os isolados antagonistas reduzem o crescimento do patógeno a depender da cepa (KRAEMER, A. P. N., 2022)

Dias	P3 (cm)	Macrophomina (cm)	Confronto (cm)
1	4,3 a	1,4 b	3,1 a
2	8,6 a	3,3 b	4,6 b
3	8,9 a	6,3 b	4,3 c
4	9 a	9 a	5,2 b

Tabela 1. Letras diferentes na linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

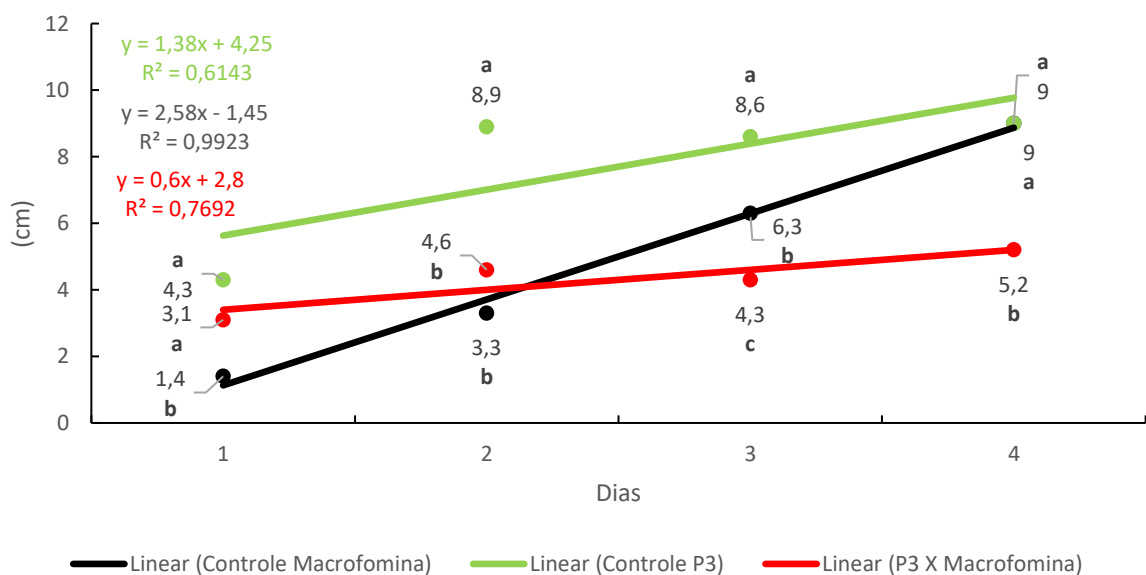


Figura 7 Avaliação do crescimento em dias do isolado controle P3, controle *Macrophomina phaseolina* e do confronto direto. DMS 7,15.

Os resultados do isolado P10 demonstram um crescimento micelial inicial mais acelerado, com uma média de 2,17 cm ao longo dos dias, em comparação com o isolado controle *Macrophomina phaseolina*, que apresentou um crescimento médio de 2,58 cm no mesmo período. No teste de confronto direto, o isolado P10 evidenciou efeito deletério, limitando o crescimento da *Macrophomina phaseolina*, com a sobreposição ocorrendo no quarto dia, conforme pode ser observado nas Figura 6. Esse comportamento é típico de isolados com alta capacidade de micoparasitismo, os quais secretam enzimas como quitinases e glucanases, além de metabólitos que inibem o crescimento de patógenos (Santos et al., 2021). De acordo com Costa et al. (2022), o gênero *Trichoderma* é amplamente reconhecido por competir de forma eficaz por espaço e nutrientes, além de estimular defesas naturais da planta hospedeira. Assim, os dados obtidos reforçam o potencial de *Trichoderma spp.* como agentes biocontrolador de *M. phaseolina*, oferecendo uma alternativa sustentável ao uso de fungicidas químicos e contribuindo para o manejo integrado de doenças do solo (Silva & Almeida, 2023).

Dias	P10(cm)	Macrophomina (cm)	Confronto (cm)
1	2 a	1,4 a	2,9 a
2	7,3 a	3,3 b	4,6 b
3	8 a	6,3 a	3,9 b
4	9 a	9 a	6,6 b

Tabela 2. Letras diferentes na linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

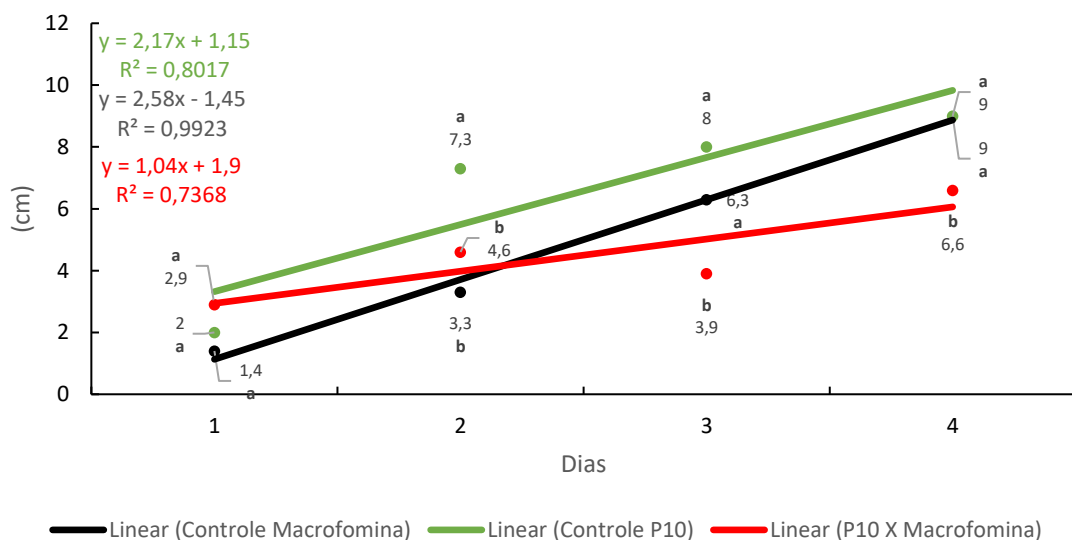


Figura 8 Avaliação do crescimento em dias do isolado P10, *Macrophomina phaseolina* e do confronto direto. DMS 9,04.

O tratamento com o isolado P6 (controle) apresentou um crescimento médio de 1,8 cm por dia, em comparação ao tratamento controle de *Macrophomina phaseolina* que apresentou crescimento médio de 2,58 cm por dia. No teste de confronto direto o toque entre os isolados ocorreu no terceiro dia sem ocorrência de sobreposição, indicando efeito inibitório do isolado, observado também por Monteiro, Silva e Vieira (2020). De acordo com Costa et al. (2022), a eficiência do antagonismo depende do vigor de crescimento e da capacidade de o isolado de *Trichoderma* competir por espaço e nutrientes, além da liberação de metabólitos secundários que interferem no desenvolvimento do patógeno. Silva e Almeida (2023) complementam que a redução no crescimento de *M. phaseolina* em confrontos diretos demonstra o potencial de *Trichoderma spp.* como agente de biocontrolador, sendo uma alternativa promissora no manejo de doenças de solo em culturas agrícolas. Assim, o comportamento observado no isolado P6 reforça o potencial competitivo de *Trichoderma*, ainda que apresente taxa de expansão inferior ao isolado P10, evidenciando variabilidade entre linhagens quanto ao desempenho antagônico.

Dias	P6 (cm)	Macrophomina (cm)	Confronto (cm)
1	3,1 a	1,4 c	2,3 b
2	5,2 a	3,3 c	4,4 b
3	6,3 a	6,4 a	3,7 b
4	8,7 a	9 a	4,5 b

Tabela 3. Letras diferentes na linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

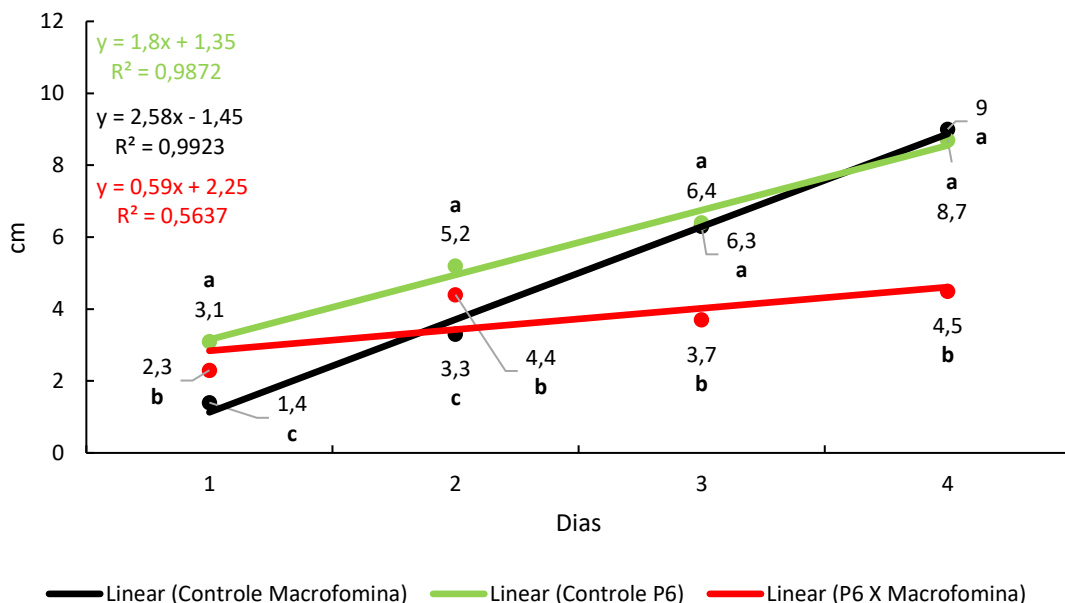


Figura 9 Avaliação do crescimento em dias do isolado P6, *Macrophomina phaseolina* e do confronto direto DMS 7,51.

Os resultados observados apresentam o potencial de diferentes cepas de *Trichoderma* onde o isolado P10 demonstrou a maior capacidade de controle da *Macrophomina phaseolina* inibindo o crescimento e colonizando totalmente a superfície do meio cultura, observado também em testes realizados por Silva, Araújo e Souza (2020) e Gomes et al. (2021).

Nos outros isolados estudados também foi possível observar efeito antagônico, mas com menor intensidade evidenciando a importância de estudos do potencial de diferentes cepas para encontrar uma alternativa viável para controle do patógeno em questão (MONTEIRO, SILVA, VIEIRA, 2020).

## 5. CONCLUSÃO

Os resultados observados mostram que os isolados de *Trichoderma sp.* possuem potencial antagônico frente à *Macrophomina phaseolina*, como agente de inibição do crescimento do patógeno, com micoparasitismo ativo e competindo por espaço e nutrientes. Entre as cepas testadas, o isolado P10 se destacou pela maior capacidade de colonização e inibição do crescimento do patógeno, demonstrando comportamento compatível com micoparasitismo ativo e competição eficiente por espaço e nutrientes. Os isolados P3 e P6 também apresentaram efeito inibitório, embora em menor intensidade, o que reforça a importância de se compreender a variabilidade entre linhagens quanto ao desempenho antagônico.

Esses resultados corroboram estudos realizados por Santos et al. (2021), Costa et al. (2022) e Silva e Almeida (2023), que apontam o gênero *Trichoderma* como um dos mais promissores no controle biológico de fungos de solo, pela sua capacidade de produzir enzimas hidrolíticas, compostos antifúngicos e induzir mecanismos de defesa nas plantas. Assim, o presente estudo confirma que o uso de cepas de *Trichoderma sp.* representa uma alternativa sustentável ao controle químico, podendo integrar programas de manejo para controle da *Macrophomina phaseolina* em milho.

Recomenda-se a continuidade das pesquisas em condições de casa de vegetação e campo, para verificar a eficiência dos isolados sob variações ambientais e interações com a microbiota do solo. A validação dessas cepas em diferentes condições poderá consolidar o uso do *Trichoderma* como ferramenta segura, eficiente e ecologicamente correta no manejo da *Macrophomina phaseolina*.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

EMBRAPA. *Grãos – Agricultura: Agro em Dados*. Brasília, DF: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2023. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agropensa/agro-em-dados/agricultura>. Acesso em: 27 ago. 2025.

AGROADVANCE. *5 maiores produtores de milho do mundo*. 2024. Disponível em: <https://agroadvance.com.br/blog-5-maiores-produtores-de-milho-do-mundo/>. Acesso em: 27 ago. 2025.

AGROADVANCE. *Ranking dos 6 maiores produtores de soja do mundo*. 2024. Disponível em: <https://agroadvance.com.br/blog-6-maiores-produtores-de-soja-do-mundo/>. Acesso em: 27 ago. 2025.

EMBRAPA. *Milho: importância econômica e usos*. Brasília, DF: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2022. Disponível em: <https://www.embrapa.br/milho-e-sorgo/>. Acesso em 27 ago. 2025.

INSPER – Agro em Dados. *Como o milho vem contribuindo para ampliar a produção de energia sem comprometer a segurança alimentar*. São Paulo: Insper, 26 mar. 2025. Disponível em: <https://agro.insper.edu.br/agro-in-data/artigos/como-o-milho-vem-contribuindo-para-ampliar-a-producao-de-energia-sem-comprometer-a-seguranca-alimentar/>. Acesso em 27 ago 2025.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). *Acompanhamento da safra brasileira de grãos: safra 2024/25, 11º levantamento*. Brasília, DF: Conab, v. 12, n. 11, ago. 2025. 123 p. ISSN 2318-6852.

GOIÁS. Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (SEAPA-GO). *Seapa em Pauta – Edição 193: Produção de grãos em Goiás deve avançar 17% na safra 2024/2025*. Goiânia: SEAPA-GO, 14 jul. 2025. 2 p.

GOIÁS. Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (SEAPA-GO). *Seapa em Pauta – 24 de janeiro de 2025: Goiás deve bater recorde na colheita de grãos em 2025*

(dado destacado: milho 2024/25 estimado em 12,7 milhões t). Goiânia: SEAPA-GO, 24 jan. 2025. 10 p.

COSTA, R. V.; SOUZA, M. R.; ALMEIDA, R. E. M.; COTA, L. V.; SILVA, D. D.; SILVA, F. R. *Incidence of charcoal rot (Macrophomina phaseolina) in maize hybrids in different environments during off-season. Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 22, e1319, 2023. DOI: 10.18512/rbms2023v22e1319.

LIMA, L. S.; ALMEIDA, R. E. M.; COSTA, R. V.; et al. *Danos causados pela podridão de colmo (Macrophomina phaseolina) no consórcio de milho safrinha com braquiária*. In: XVI *Milho Safrinha* (anais). Paraíso do Tocantins-TO, 2021.

EMBRAPA. *Biocontrole da podridão de carvão (Macrophomina phaseolina) em milho*. Resumo em anais e proceedings. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2022.

BOTELHO, Amanda Silva. *Compatibilidade de Trichoderma spp. com agrotóxicos e fungicidas utilizados no tratamento de sementes*. 2022. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Brasília, Brasília, 2022.

OLIVEIRA, Luciana Gonçalves de; KETTNER, Mayara Goes; LIMA, Maria Luiza de Souza; ARAÚJO, Emmanuelle Rodrigues; SILVA, Anderson Rodrigo da; COSTA, Antônio Félix da. *Potencial de biocontrole de Trichoderma spp. contra Macrophomina phaseolina do feijão-caupi. Pesquisa Agropecuária Pernambucana*, Recife, v. 26, n. 2, e2512262021, 2021. DOI: 10.12661/pap.2021.003.

SILVA, Matheus Henrique Goveia. *Agricultura regenerativa: práticas e impactos na recuperação do solo. Revista Novos Desafios*, 2025.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. *Sistema de produção: cultivo do milho*. Brasília: Embrapa, 2022. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/486917/1/Sistema-de-Producao-Cultivo-do-Milho.pdf>. Acesso em 13 de out. 2025.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. *Acompanhamento da safra brasileira de grãos: safra 2024/2025 – oitavo levantamento*. Brasília: CONAB, 2025. (Boletim Técnico). Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/s/graos>. Acesso em 21 de out. 2025.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. *Portal Agro em Dados – Milho*. Brasília: EMBRAPA, 2023. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agropensa/agro-em-dados/agricultura/milho>. Acesso em 21 de out. 2025.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. *Macrophomina phaseolina em milho safrinha: levantamento da incidência e perdas na produtividade no Estado do Tocantins*. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2019. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, n.º 254).

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. *Cultivares de milho para safra 2022/2023*. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2022. (Documentos n.º 272). 14 p.

MAPA – Ministério da Agricultura e Pecuária. *Projeções do agronegócio: Brasil 2022/23 a 2032/33*. Brasília: MAPA, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/politica-agricola/todas-publicacoes-de-politica-agricola/projecoes-do-agronegocio-2022-2023-a-2032-2033.pdf>. Acesso em 21 de out. 2025.

MIRANDA, R. A.; DUARTE, J. O.; GARCIA, J. C.; DURAÊS, F. O. M. *Sustentabilidade da cadeia produtiva do milho*. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2021. (Documentos n.º 261). 27 p. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1132079/1/Doc-261.pdf>. Acesso em 21 de out. 2025.

SÁRZI, J. S.; SILVA, L. C.; CASTRO, T. A.; et al. *Biocontrole de Macrophomina phaseolina e indução de resistência em planta-hospedeira por Trichoderma spp. Ensaio & Ciência – Revista da Faculdade de Agronomia, Viçosa, 2024*.

SILVA, K.; SANTOS, R. P.; MELO, C. J.; et al. *Produtos biológicos no mercado brasileiro de manejo de pragas e doenças: fungos e bactérias como Trichoderma spp., Bacillus spp., Beauveria bassiana e Metarhizium anisopliae*. Curitiba: Atena Editora, 2025. 1. ed. 8 p..

ALFENAS, A. C. *et al.* *Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos*. 2. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007.

COTA-BARRERAS, C. I. *et al.* *Molecular detection, virulence, and mycelial compatibility of *Macrophomina phaseolina**. *Canadian Journal of Plant Pathology*, v. 44, n. 6, p. 781-793, 2022. DOI: 10.1080/07060661.2022.2084642

DOLATKHAH, M. *et al.* *Genetic structure of *Macrophomina phaseolina* from root, crown and stem symptomatic samples*. *Research in Plant Disease*, v. 30, n. 1, p. 50-60, 2024. DOI: 10.5423/RPD.2024.30.1.50.

EMBRAPA. *Procedimentos laboratoriais para diagnóstico de fitopatógenos*. Brasília, DF: Embrapa, 2020.

MARQUEZ, N.; GIACHERO, M. L.; DECLERCK, S.; DUCASSE, D. A. *Macrophomina phaseolina: general characteristics of pathogenicity and methods of control*. *Frontiers in Plant Science*, v. 12, p. 634397, 2021. DOI: 10.3389/fpls.2021.634397

MENDES, M. A. S. *et al.* *Manual de fitopatologia: métodos de pesquisa e controle de doenças de plantas*. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1998.

MICHEREFF, S. J.; SILVA, A. M. F.; MENEZES, M. *Métodos de isolamento de fitopatógenos de solo*. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2008.

PORTO, M. A. F. *et al.* *Interaction of *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina* and *Rhizoctonia solani* on muskmelon roots*. *Summa Phytopathologica*, v. 46, n. 1, p. 65-71, 2020. DOI: 10.1590/0100-5405/191868

SINHA, N.; PATRA, S. K.; GHOSH, S. *Secretome analysis of *Macrophomina phaseolina* identifies an array of putative virulence factors*. *Frontiers in Microbiology*, v. 13, p. 847832, 2022. DOI: 10.3389/fmicb.2022.847832.

ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. *Métodos em fitopatologia*. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2016.

PEREIRA, C. M. *et al.* Isolamento e caracterização de fungos do solo rizosférico em áreas agrícolas do Cerrado. *Revista Brasileira de Microbiologia*, v. 51, p. 1271–1280, 2020.

ALMEIDA, A. C. de *et al.* *Antagonism to *Macrophomina phaseolina* and growth promotion by bacterial isolates from cowpea rhizosphere*. OLEL – Observatório Latino-Americano de Estudos sobre Biocontrole, 2023.

SUDHA, A. *Volatile Organic Compounds of some Antagonists against Phytopathogenic Fungi: effect on radial mycelial growth by dual culture technique*. CAB Digital Library, 2021. DOI: 10.5555/20220125737.

KRAEMER, A. P. N. *Avaliação do potencial antagonista de isolados de *Trichoderma* spp. contra fitopatógenos de importância agrícola*. 2022. 83 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2022.

COSTA, L. S. *et al.* *Atividade antagônica de *Trichoderma* spp. contra *Macrophomina phaseolina* em diferentes condições de cultivo*. *Revista de Fitopatologia Brasileira*, v. 47, n. 2, p.1 15-124, 2022.

SANTOS, E. P. *et al.* *Mecanismos de micoparasitismo e produção de enzimas hidrolíticas por espécies de *Trichoderma**. *Revista Brasileira de Microbiologia Aplicada*, v. 13, n. 1, p. 59-68, 2021.

SILVA, M. T.; ALMEIDA, R. F. *Potencial biocontrolador de isolados de *Trichoderma* sobre patógenos de solo em culturas agrícolas*. *Revista de Ciências Agrárias e Ambientais*, v. 21, n. 1, p. 1-10, 2023.

MONTEIRO, A. F.; SILVA, J. R.; VIEIRA, C. E. *Interações entre *Trichoderma* e patógenos de solo: aspectos morfológicos e fisiológicos*. *Revista Agro@ambiente On-line*, v. 14, n. 3, p. 76-85, 2020.