

MICAÉLA SOUZA DIOGO

**CONTROLE BIOLÓGICO DE *Rhizoctonia solani* DE DIFERENTES
HOSPEDEIROS**

Botucatu

2025

MICAÉLA SOUZA DIOGO

**CONTROLE BIOLÓGICO DE *Rhizoctonia solani* DE DIFERENTES
HOSPEDEIROS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Proteção de Plantas).

Orientador(a): Prof. Dr. Edson Luiz Furtado

Coorientador(a): Dr. César Júnior Bueno

Botucatu

2025

D591c

Diogo, Micaéla Souza

Controle biológico de *Rhizoctonia solani* de diferentes hospedeiros / Micaéla Souza Diogo. -- Botucatu, 2025

104 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu

Orientador: Edson Luiz Furtado

Coorientador: César Júnior Bueno

1. Biocontrole. 2. Controle químico. 3. *R. solani* AG-1. 4. *R. solani* AG-4. 5. *Rhizoctonia binucleada* AG-F. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

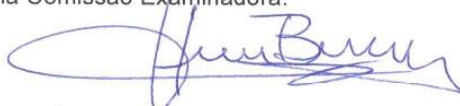
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: CONTROLE BIOLÓGICO DE *Rhizoctonia solani* DE DIFERENTES HOSPEDEIROS

AUTORA: MICAÉLA SOUZA DIOGO

ORIENTADOR: EDSON LUIZ FURTADO

COORIENTADOR: CÉSAR JUNIOR BUENO

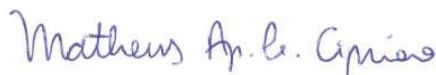
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Agronomia (Proteção de Plantas), pela Comissão Examinadora:



Pesquisador Dr. CÉSAR JUNIOR BUENO (Participação Presencial)
Instituto Biológico / Agencia Paulista de Tecnologia dos Agronegocios APTA



Pesquisador Dr. IVAN HERMAN FISCHER (Participação Presencial)
Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Bauru / Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios



Prof. Dr. MATHEUS APARECIDO PEREIRA CIPRIANO (Participação Presencial)
Protecao Vegetal / Faculdade de Ciencias Agronomicas de Botucatu UNESP

Botucatu, 27 de janeiro de 2025

À Deus e aos meus amados pais,

Arlindo e Patrícia,

dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que colaboraram para a realização deste trabalho, de maneira direta ou indireta e que estiveram ao meu lado nessa conquista, em particular:

Ao Prof. Dr. Edson Luiz Furtado, pela orientação, ensinamentos, paciência e exemplo de professor e pessoa.

Ao Dr. César Júnior Bueno, pela coorientação, ensinamentos, paciência, confiança e exemplo de pessoa e pesquisador.

A todos os professores do Programa de Proteção de Plantas.

Aos colegas do Laboratório de Fitopatologia e Controle Biológico do Instituto Biológico de Campinas.

À minha colega de laboratório Juliana Borelli, por todos os aprendizados e contribuição para tornar esse trabalho possível.

Aos meus pais, Arlindo e Patrícia, por todo carinho, amor, apoio e esforço para que eu pudesse desfrutar da melhor educação. Vocês sempre serão meu lar, aqueles que sempre estarão ao meu lado, torcendo pelo meu crescimento profissional e pessoal. Admiro e me espelho sempre, amo vocês.

Ao meu irmão, João Pedro, pela paciência, amor, parceria e incentivo. Que nossa união se fortaleça a cada dia. Amo você.

Ao apoio do Departamento de Proteção de Plantas da Faculdade de Ciências Agrônomicas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) e do Laboratório de Fitopatologia do Instituto Biológico de Campinas/SP.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Que possamos restituir ao alimento seu sentido de nutrição humana. E que façamos da centralidade da segurança e da soberania alimentar e nutricional um caminho para a construção da justiça social e ambiental”.

BOMBARDI, L. M. **Agrotóxicos e colonialismo químico**. São Paulo: Elefante, 2023. p. 108.

RESUMO

Rhizoctonia solani é um fungo que ocorre em diferentes plantas e suas partes, causando queda de produtividade. Pesquisa com a mistura de agentes biológicos no controle de *R. solani* de diferentes culturas é escassa no país. Assim, avaliou-se o potencial antagonístico de isolados de *Trichoderma* e bactérias no controle de *Rhizoctonia* de cinco diferentes hospedeiros. Identificados os isolados do fungo, verificou-se o antagonismo entre 8 isolados de *Trichoderma* spp. e 28 isolados bacterianos sobre *Rhizoctonia* de soja, feijão, manjerona, eucalipto, batata, impatiens e crisântemo. Pelo pareamento duplo, constatou-se a compatibilidade entre os agentes, sendo então aplicados em mistura nos ensaios. Pela técnica de contato com papel-filtro e pela incorporação dos fungicidas em meio BDA, constatou-se a compatibilidade dos agentes com os princípios ativos dos fungicidas Fluazinam e Tiofanato-Metílico e o controle dos isolados do fungo. O antagonismo *in vitro* de um biofungicida comercial (Frowncide® e Certeza®) foi testado sobre os isolados do fitopatógeno, constatando baixa eficiência no controle, tanto aplicado sólido (nota de antagonismo de 3,4 a 4,0), quanto em solução (porcentagem de inibição de 22% a 47%) em comparação aos isolados antagonísticos selecionados (nota de antagonismo de 2,4 a 2,6 por *Trichoderma* e porcentagem de inibição de 30% até 100% do fungo por bactérias). Os agentes de controle biológico em mistura, os fungicidas Fluazinam+Tiofanato-Metílico e Fluazinam, controle positivo (fungos inoculados) e controle negativo (sem nada) foram testados *in vivo* em sementes e folhas de soja e feijão, em mini-tubérculos de batata, e em mudas de crisântemo e de eucalipto no controle de *R. solani*. Avaliou-se a incidência e a severidade da doença com escalas de notas e mediu o cancro na região do colo com régua milimetrada. Tiofanato-Metílico+Fluazinam foi eficiente para controlar o fungo *R. solani* AG-4 HGI de batata. Fluazinam foi eficiente para controlar *R. solani* AG-4 HGI em mudas de eucalipto e crisântemo. A mistura de *X. szentirmaii* (PAM25) + *T. endophyticum* (LQC99) foi eficiente para controlar *R. solani* AG-4 HGI de batata. A mistura *X. szentirmaii* (PAM25) + *T. lentiforme* (IB04/08) foi eficiente para reduzir a severidade e incidência da doença causada por *R. solani* AG-4 HGI em crisântemo (0,9% e 12,5%, respectivamente) e controlar *R. solani* AG-4 HGI em batata. A mistura *T. endophyticum* (LQC 99) + *B. velezensis* foi eficiente para controlar a doença causada por *R. solani* AG-1 IA em sementes de soja.

Palavras-chave: biocontrole; controle químico; *R. solani* AG-1; *R. solani* AG-4; *Rhizoctonia binucleata* AG-F; *Trichoderma* spp.; *Xenorhabdus* spp.

ABSTRACT

Rhizoctonia solani is a fungus that occurs in different plants and their parts, causing a decrease in productivity. Research with the mixture of biological agents to control *R. solani* in different crops is scarce in the country. Thus, the antagonistic potential of *Trichoderma* isolates and bacteria to control *Rhizoctonia* in five different hosts was evaluated. Once the fungus isolates were identified, antagonism was obtained between 8 isolates of *Trichoderma* spp. and 28 bacterial isolates on *Rhizoctonia* in soybeans, beans, marjoram, eucalyptus, potatoes, impatiens and chrysanthemum. By double pairing, compatibility between the agents was verified, and they were then applied as a mixture in the tests. By contact technique with filter paper and incorporation of fungicides in PDA medium, the combination of the agents with the active ingredients of the fungicides Fluazinam and Thiophanate-Methyl and control of the fungus isolates was verified. The in vitro antagonism of a commercial biofungicide (Frowncide® and Certeza®) was tested on the phytopathogen isolates, and low control efficiency was observed, both in solid application (antagonism score of 3.4 to 4.0) and in solution (deficiency percentage of 22% to 47%) compared to the selected antagonistic isolates (antagonism score of 2.4 to 2.6 for *Trichoderma* and inhibition percentage of 30% to 100% of fungi by bacteria). The biological control agents in mixture, the fungicides Fluazinam+Thiophanate-Methyl and Fluazinam, positive control (inoculated fungi) and negative control (without anything) were tested in vivo on soybean and bean seeds and leaves, on potato mini-tubers, and on chrysanthemum and eucalyptus seedlings to control *R. solani*. The incidence and severity of the disease were assessed using grade scales and the cancer in the collar region was measured using a millimeter ruler. Thiophanate-methyl + Fluazinam was effective in controlling the fungus *R. solani* AG-4 HGI in potato. Fluazinam was effective in controlling *R. solani* AG-4 HGI in eucalyptus and chrysanthemum seedlings. A mixture of *X. szentirmaii* (PAM25) + *T. endophyticum* (LQC99) was effective in controlling *R. solani* AG-4 HGI in potato. The mixture *X. szentirmaii* (PAM25) + *T. lentiformis* (IB04/08) was effective in reducing the severity and incidence of the disease caused by *R. solani* AG-4 HGI in chrysanthemum (0.9% and 12.5%, respectively) and in controlling *R. solani* AG-4 HGI in potato. The mixture *T.*

endophyticum (LQC 99) + *B. velezensis* was efficient in controlling the disease caused by *R. solani* AG-1 IA in soybean seeds.

Keywords: biocontrol; chemical control; *R. solani* AG-1; *R. solani* AG-4; *Rhizoctonia* binucleate AG-F; *Trichoderma* spp.; *Xenorhabdus* spp.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Escala de notas proposta por BELL et al. (1982) visando avaliar o nível do antagonismo dos isolados de *Trichoderma* spp. sobre os isolados de *Rhizoctonia* sp.....45
- Figura 2 - Escala diagramática para avaliar a incidência e a severidade da doença causada pelos isolados de *Rhizoctonia* sp. em folhas destacadas de plântulas de soja e feijão.....52
- Figura 3 - Severidade da doença causados pelos isolados de *Rhizoctonia* sp. em semente, radículas e hipocótilos de soja e feijão.....53
- Figura 4 - Inibição do crescimento micelial dos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros propiciado por *Bacillus velezensis*.....62
- Figura 5 - Inibição do crescimento micelial dos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros propiciado por *Xenorhabdus szentirmaii* – PAM 25.....63
- Figura 6 - Inibição do crescimento micelial dos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros propiciado por *Trichoderma lentiforme* - IB 04/08.....66
- Figura 7 - Inibição do crescimento micelial dos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros propiciado por *Trichoderma endophyticum* – LQC99.....67
- Figura 8 - Compatibilidade entre *Trichoderma lentiforme* - IB04/08 com os isolados de bactérias selecionados.....68
- Figura 9 - Compatibilidade entre *Trichoderma endophyticum* (LQC99) com os isolados de bactérias selecionados.....69
- Figura 10 - Compatibilidade entre os agentes de controle biológico e o princípio ativo Fluazinam.....71
- Figura 11 - Compatibilidade entre os agentes de controle biológico e o princípio ativo Tiofanato-Metílico.....72
- Figura 12 - Antagonismo *in vitro* do bioproduto Pardella® (*Trichoderma harzianum*, *T. asperellum* e *Bacillus amyloliquefaciens*) sólido frente aos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros.....74
- Figura 13 - Antagonismo *in vitro* do bioproduto Pardella® (*Trichoderma harzianum*, *T. asperellum* e *Bacillus amyloliquefaciens*) em solução frente aos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros.....75

Figura 14 - Inibição micelial dos isolados de <i>Rhizoctonia</i> sp. de diferentes hospedeiros pelo princípio ativo Tiofanato-Metílico.....	77
Figura 15 - Inibição do crescimento micelial dos isolados de <i>Rhizoctonia</i> sp. de diferentes hospedeiros pelo princípio ativo Fluazinam.....	78
Figura 16 - Efeito do Tiofanato-Metílico+Fluazinam e da mistura biológica <i>Trichoderma endophyticum</i> - LQC99 + <i>Bacillus velezensis</i> no tratamento de semente contra a ação de <i>Rhizoctonia solani</i> AG1-IA.....	81
Figura 17 - Níveis de severidade da doença causada por <i>Rhizoctonia</i> binucleada AG-F em sementes de feijão submetidas a diferentes tratamentos.....	83
Figura 18 - Níveis de severidade doença causada por <i>Rhizoctonia solani</i> AG-4 HGI em mudas de crisântemo tratadas preventivamente com diferentes tratamentos.....	86
Figura 19 - Níveis de severidade doença causada por <i>Rhizoctonia solani</i> AG1-IA em folhas de soja tratadas com diferentes tratamentos.....	88
Figura 20 - Níveis de severidade doença causada por <i>Rhizoctonia</i> binucleada AG-F em folhas de feijão tratadas com diferentes tratamentos.....	91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Gêneros e espécies de bactérias utilizadas.....	42
Tabela 2 - Espécies de <i>Trichoderma</i> utilizados.....	43
Tabela 3- Identificação do grupamento de anastomose dos isolados de <i>Rhizoctonia</i> sp. de diferentes hospedeiros por meio do sequenciamento da região ITS.....	55
Tabela 4 - Percentual de inibição do crescimento micelial dos isolados de <i>Rhizoctonia</i> de cada planta hospedeira propiciado pelos isolados de bactérias antagônicas.....	59
Tabela 5 - Nota média de antagonismo <i>in vitro</i> dos isolados de <i>Trichoderma</i> spp. frente aos isolados de <i>Rhizoctonia</i> sp. de diferentes hospedeiros.....	65
Tabela 6 - Teste de compatibilidade entre <i>Trichoderma lentiforme</i> - IB04/08 com os melhores isolados de bactérias antagônicas selecionados.....	68
Tabela 7 - Teste de compatibilidade entre <i>Trichoderma endophyticum</i> (LQC99) com as melhores isolados de bactérias selecionados.....	69
Tabela 8 - Teste de compatibilidade entre os agentes de controle biológico e o princípio ativo Fluazinam.....	70
Tabela 9 - Teste de compatibilidade entre os agentes de controle biológico e o princípio ativo tiofanato metílico.....	71
Tabela 10 - Antagonismo propiciado pelo bioproduto comercial Pardella® (<i>Trichoderma harzianum</i> , <i>T. asperellum</i> e <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>) sólido frente aos isolados de <i>Rhizoctonia</i> sp. de diferentes hospedeiros.....	73
Tabela 11 - Percentual de inibição micelial dos isolados de <i>Rhizoctonia</i> sp. de diferentes hospedeiros pelo bioproduto Pardella® (<i>Trichoderma harzianum</i> , <i>T. asperellum</i> e <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>) em solução.....	75
Tabela 12 - Percentual de inibição micelial dos isolados de <i>Rhizoctonia</i> sp. de diferentes hospedeiros pelo princípio ativo Tiofanato-Metílico.....	76
Tabela 13 - Percentual de inibição micelial dos isolados de <i>Rhizoctonia</i> sp. de diferentes hospedeiros pelo princípio ativo Fluazinam.....	78
Tabela 14 - Princípio ativo e agentes de controle biológico empregados preventivamente no tratamento de semente de soja visando o controle de <i>Rhizoctonia solani</i> AG1-IA.....	80

Tabela 15 - Princípio ativo e agentes de controle biológico empregados preventivamente no tratamento de semente de feijão visando o controle de <i>Rhizoctonia</i> binucleada AG-F.....	83
Tabela 16 - Princípio ativo e agentes de controle biológico empregados preventivamente em pulverização na região do colo de mudas de eucalipto visando o controle de <i>Rhizoctonia solani</i> AG-4 HGI.....	85
Tabela 17 - Princípio ativo e agentes de controle biológico empregados preventivamente em pulverização na região do colo de mudas de crisântemo visando o controle de <i>Rhizoctonia solani</i> AG-4 HGI.....	86
Tabela 18 - Princípio ativo e agentes de controle biológico empregados preventivamente em pulverização na folha de soja visando o controle de <i>Rhizoctonia solani</i> AG1-IA.....	88
Tabela 19 - Princípio ativo e agentes de controle biológico empregados preventivamente em pulverização na folha de feijão visando o controle de <i>Rhizoctonia</i> binucleada AG-F.....	90
Tabela 20 - Princípio ativo e agentes de controle biológico empregados preventivamente em mini-tubérculos de batata visando o controle de <i>Rhizoctonia solani</i> AG-4 HGI.....	93

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	21
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	23
2.1	A cultura da soja.....	23
2.2	A cultura do feijão.....	24
2.3	A cultura do eucalipto.....	26
2.4	A cultura do crisântemo.....	27
2.5	A cultura do <i>Impatiens</i>	28
2.6	A cultura da batata.....	29
2.7	A cultura da manjerona.....	30
2.8	O fungo <i>Rhizoctonia solani</i> e <i>Rhizoctonia binucleada</i>	30
2.8.1	Grupos de anastomose e variabilidade de <i>Rhizoctonia</i>	32
2.8.1.1	AG-4 HGI.....	33
2.8.1.2	AG-F.....	34
2.8.1.3	AG-1-IA.....	35
2.9	Controle químico.....	35
2.10	Controle biológico.....	36
2.10.1	<i>Trichoderma</i> spp.....	37
2.10.2	<i>Bacillus</i> e outros gêneros de bactérias.....	39
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	41
3.1	Isolados de <i>Rhizoctonia</i> sp. e de agentes de controle biológico e sementes, mudas e brotos de diferentes plantas hospedeiras.....	41
3.2	Identificação molecular dos isolados de <i>Rhizoctonia</i> sp.....	43
3.3	Antagonismo <i>in vitro</i> dos agentes de controle biológico sobre <i>Rhizoctonia</i> sp. de cada hospedeiro.....	43
3.4	Teste de compatibilidade entre os agentes de controle biológico selecionados.....	46
3.5	Teste de compatibilidade entre fungicidas e os agente de controle biológico selecionados.....	46
3.6	Antagonismo <i>in vitro</i> de um biofungicida comercial sobre isolados de <i>Rhizoctonia</i> sp.....	47

3.7	Antagonismo <i>in vitro</i> dos fungicidas sobre isolados de <i>Rhizoctonia</i> sp.....	48
3.8	Efeito <i>in vivo</i> dos agentes de controle biológico sobre <i>Rhizoctonia</i> sp. de diferentes hospedeiros.....	49
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
4.1	Identificação molecular do grupamento de anastomose dos isolados de <i>Rhizoctonia</i> sp. de diferentes plantas hospedeiras.....	54
4.2	Antagonismo <i>in vitro</i> dos agentes de controle biológico sobre <i>Rhizoctonia</i> sp. de cada hospedeiro.....	57
4.2.1	Bactérias antagonistas.....	57
4.2.2	<i>Trichoderma</i> spp. antagonistas.....	63
4.3	Teste de compatibilidade entre os isolados de <i>Trichoderma</i> e de bactérias selecionados.....	67
4.4	Teste de compatibilidade entre fungicidas e os agente de controle biológico selecionados.....	70
4.5	Antagonismo <i>in vitro</i> de um biofungicida comercial sobre <i>Rhizoctonia</i> sp. proveniente de diferentes hospedeiros.....	72
4.6	Ação de princípio ativo sobre <i>Rhizoctonia</i> sp. de diferentes hospedeiros.....	76
4.7	Ação <i>in vivo</i> dos agentes de controle biológico sobre <i>Rhizoctonia</i> sp. de diferentes hospedeiros.....	79
4.7.1	<i>R. solani</i> AG1-IA de soja – tratamento de semente.....	79
4.7.2	<i>Rhizoctonia binucleada</i> AG-F de feijão – tratamento de semente.	82
4.7.3	<i>R. solani</i> AG-4 HGI de eucalipto – mudas.....	84
4.7.4	<i>R. solani</i> AG-4 HGI de crisântemo – mudas.....	85
4.7.5	<i>R. solani</i> AG1-IA de soja – folhas.....	87
4.7.6	<i>Rhizoctonia binucleada</i> AG-F de feijoeiro – folhas.....	89
4.7.7	<i>R. solani</i> AG-4 HGI de batata – minitubérculos.....	91
5	CONCLUSÕES.....	94
	REFERÊNCIAS.....	95

1 INTRODUÇÃO

A intensificação do uso de agrotóxicos no Brasil provoca diversos impactos sociais, ambientais e à saúde. Apesar do número de agrotóxicos aprovados no Brasil cair em 2023, uma queda de 15% em relação a 2022, depois de sete anos seguidos de alta, foram liberados 555 pesticidas. Sendo que a quantidade de aprovações foi o terceiro mais alto da série histórica do Ministério da Agricultura, iniciada há 24 anos. Ademais, a aprovação dos agrotóxicos deve ficar mais rápida devido o governo sancionar no fim do ano passado, a lei que acelera o tempo de análise para liberar agrotóxicos. Embora os efeitos dos agrotóxicos na agricultura sejam conhecidos, seus potenciais efeitos sobre a saúde humana permanecem sob investigação, podendo apresentar diferentes propriedades carcinogênicas ou mutagênicas (Dutra *et al.*, 2020; “Liberação de agrotóxicos cai no Brasil em 2023, após sete anos seguidos de alta”, 2024).

Rhizoctonia solani, um fungo fitopatogênico habitante do solo, ataca muitas plantas e causa sérios prejuízos de produtividade, principalmente em mudas. O controle da doença causada por *R. solani* é feito através de diferentes métodos incluindo o uso de fungicidas. O uso de defensivos agrícolas dessa natureza pode induzir resistência genética em populações fúngicas e causar danos ambientais e aos humanos. Há muitos agentes de controle biológico que podem ser empregados no controle de fungos fitopatogênicos habitantes do solo, mas na prática há poucas pesquisas que avaliam o potencial de mistura destes agentes no controle de *R. solani* de diferentes hospedeiros (Bell; Wells; Markham, 1982; Leroux, 2003).

A compatibilidade entre microrganismos antagônicos é importante estudar, podendo constatar efeitos aditivos ou sinérgicos entre eles com o objetivo final de controlar doenças em plantas. Com a finalidade de avaliar a compatibilidade de microrganismos, Braga (2021) relatou que a interação entre *Bacillus subtilis* e *Trichoderma asperellum* apresentou potencial para utilização conjunta no controle de doenças em soja, com potencial efeito sinérgico. Porém, a interação entre *B. methylotrophicus* e *T. asperellum* apresentou redução dos esporos viáveis, indicando a possibilidade de efeito antagônico na utilização conjunta desses microrganismos.

A compatibilidade de microrganismo antagônico com princípio ativo de fungicida também é importante estudar, possibilitando a aplicação conjunta no campo ou evitando o uso de um determinado fungicida após aplicação de agentes de controle biológico. Silva *et al.* (2006) avaliaram a compatibilidade entre *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Btk) e os princípios ativos Epoxiconazole, Azoxystrobin, Tebuconazole, Carbendazin e Fentin hidróxido. Para isso, utilizaram a técnica de impregnação de discos de papel-filtro nas caldas dos fungicidas e colocaram estes em contato com a superfície do meio de cultura já inoculado com *Bacillus*. Epoxiconazole e Azoxystrobin e Carbendazin (metade da concentração recomendada) foram classificados como compatíveis com Btk, pois não houve formação de halo de inibição em nenhuma repetição. Por outro lado, Tebuconazole foi classificado como parcialmente compatível com as células de Btk. Por último, Fentin hidróxido foi o único produto classificado como incompatível, pois apresentou halo de inibição em todos os discos.

Conhecer a eficiência individual de cada agente biológico previamente selecionado sobre isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros, bem como a compatibilidade entre os agentes de controle biológico e esses em relação a fungicidas pode permitir conhecer o nível de controle das doenças causadas pelos patógenos nas respectivas plantas hospedeiras pela aplicação preventiva de misturas de agentes biológicos.

O presente trabalho avaliou a eficiência da mistura de dois agentes de controle biológico (*Trichoderma* e bactéria) no controle *in vitro* de *Rhizoctonia* de sete diferentes hospedeiros e no controle *in vivo* de *Rhizoctonia* de cinco diferentes hospedeiros. Após a identificação do grupo de anastomose dos isolados, verificou-se se os agentes têm especificidade ou amplo espectro de ação sobre o patógeno *Rhizoctonia*, independentemente da planta hospedeira.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura da soja (*Glycine max* L.)

A soja é uma leguminosa pertencente à família Fabaceae. O grão possui 18% a 20% de óleo. A parte restante do grão é farelo, o qual apresenta 45% de proteína. Em seu processo evolutivo, houve cruzamentos naturais entre espécies selvagens da oleaginosa, que foram domesticadas e melhoradas na própria China. No Brasil, apesar de haver relato da chegada da soja na Bahia no ano de 1823, somente no final da década de sessenta do século XX que o grão começa a ganhar relevância como uma opção de lavoura de verão, em sucessão ao trigo, tendo produção estimada de 500 mil toneladas em 1966. O forte crescimento da safra brasileira de soja se deve a demanda internacional pelo grão de soja. O comércio mundial do grão passou de cerca de 50 milhões de toneladas em 2001 para 150 milhões de toneladas nos últimos anos (2019-2022). Dessa forma, pode-se dizer que a lavoura de soja em grão no Brasil cresce para atender à demanda internacional pelo produto. Em todo esse século XXI, praticamente 70% ou mais da produção de soja brasileira em grãos foi exportada seja na forma de grãos ou como de farelo. A estimativa de produção na safra 2023/2024 é de 147,34 milhões de toneladas, uma redução de 4,7% ou 7,27 milhões de toneladas sobre a safra anterior, com a colheita finalizada. Nesse resultado, destacam-se os estados de Mato Grosso, maior produtor de soja do país, com 39,34 milhões de toneladas, e Bahia, com a maior produtividade, com 3.780 kg/há (Brasil, 2024; Conab, 2024).

O fitopatógeno *Rhizoctonia solani* AG-1, causador da mela em soja, pode causar reduções médias de produtividade de 30% até a 60%, em situações de extrema favorabilidade climática. O fungo pode afetar toda a parte aérea da planta, principalmente as folhas do terço médio, causando lesões encharcadas, de coloração pardo-avermelhada a roxa, evoluindo rapidamente para marrom-escura a preta. Os sintomas de murcha ou podridão mole estão relacionadas e as lesões podem ser pequenas manchas ou tomar todo o limbo foliar. Folhas infectadas normalmente ficam aderidas a outras folhas ou a hastes pelo micélio do fungo que, rapidamente, se dissemina para tecidos saudáveis. Com baixa umidade, as lesões ficam restritas a manchas necróticas marrons (Amorim *et al.*, 2019; Seixas *et al.*, 2020).

Em estudo realizado por Fenille (2001), os isolados de *R. solani* dos AG-4 e AG-2-2 IIIB foram patogênicos em plântulas de soja cv. FT-Cristalina, causando tombamentos, podridões de raízes e de hipocótilos. O isolado do AG-2-2 IIIB causou lesões extensas, com fendilhamento e exposição do córtex, diferente da infecção pelos isolados do AG-4. Os isolados do AG-1 IA causaram queima foliar em plantas adultas de soja cv. Xingu. Assim, no Brasil, a podridão de raízes e de colo em soja é causada por *Rhizoctonia solani* AG-2-2 IIIB, AG-4 HGI e AG-4 HGII e a mela ou requeima é causada pelo AG-1 IA do patógeno.

O tombamento ou *damping-off*, causado por *R. solani* AG-4, ocorre entre a pré-emergência e 30-35 dias após a emergência, sob condições de temperatura e umidade elevadas. Na fase de plântula ocorre o estrangulamento da haste ao nível do solo, resultando em murcha e tombamento ou em sobrevivência temporária, com emissão de raízes adventícias acima da região afetada. Normalmente, essas plantas tombam antes da floração. Na fase adulta, a morte das plantas ocorre em manchas ou reboleiras, começando a partir do início do desenvolvimento das vagens. O sintoma inicia-se por podridão castanha e aquosa da haste, próximo ao nível do solo e essa podridão expande-se para baixo e para cima. Com o avanço da doença, o sistema radicular adquire coloração castanho-escuro, o tecido cortical fica mole e solta com facilidade, expondo o lenho firme com coloração branca a castanho-clara (Henning *et al.*, 2014; Seixas *et al.*, 2020).

2.2 A cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)

O feijão é uma leguminosa pertencente à família Fabaceae, sendo considerado um importante componente da alimentação da população do Brasil. O cultivo é realizado em todo o território nacional, no sistema solteiro ou consorciado a outras culturas. O feijão-comum é plantado em três safras anuais no país. A semeadura da 1ª safra (safra das águas) ocorre entre outubro e dezembro, e tem como característica o plantio e a colheita beneficiados pelo alto índice de chuvas. A 2ª safra (safra da seca) é plantada em período com menor índice de chuva, normalmente em fevereiro ou março. A 3ª safra (safra de outono-inverno ou safra irrigada) ocorre no inverno, referindo-se à colheita de feijão irrigado plantado entre os meses de maio e julho. A colheita pode ser feita, em média, após 90 dias de plantio. Elementos climáticos, como chuva e temperatura, exercem grande influência na produção de feijão. Na temporada

2023/2024, o feijão deverá registrar um incremento de 9,7% na produção total, ultrapassando as 3,3 milhões de toneladas. Apenas na segunda safra da leguminosa, a Companhia Nacional de Abastecimento (Conab) prevê uma alta de 26,3% no volume a ser colhido, impulsionado pelo cultivo do feijão preto e do caupi, que devem registrar uma colheita de 589,4 mil toneladas e 462,8 mil toneladas, respectivamente. Para o feijão preto, a alta é influenciada pela melhora de 8,5% na produtividade e, principalmente, pela maior área destinada para o cultivo da cultura, com alta de 63,5% e chegando a 331 mil hectares. Já para o caupi o cenário é oposto. Enquanto a área cresce 4,9%, o desempenho das lavouras registra uma melhora de 20,6% na produtividade. Na terceira safra da leguminosa, cerca de 60% da área é irrigada e o plantio está em andamento (Conab, 2024; Landau *et al.*, 2020).

Rhizoctonia solani Khün, fitopatógeno que é responsável por causar mela, também conhecida como queima da teia micélica, resultando na redução da produtividade do feijão. Os sintomas manifestam-se, inicialmente, nas folhas próximas ao solo, com manchas irregulares e posterior necrose, podendo ocorrer desfolha e a presença de teia micélica do patógeno na face abaxial das folhas atacadas, sendo este o principal sinal da doença (De Sousa *et al.*, 2017).

Poloni *et al.* (2016) relataram que dois grupos de isolados de *R. solani* AG-1 IA de *Urochloa* (BBTou BHM) obtidos na Colômbia foram altamente agressivos ao feijão-caupi, à soja e ao milho, apresentando valores médios de agressividade de 50,6, 85,6 e 64,8% de área foliar infectada, respectivamente. As folhas de plantas inoculadas com os isolados citados apresentaram sintomas de mela do feijão caupi e da soja e de mancha bandeada do milho.

No Brasil, Fenille e De Souza (1999) relatam a patogenicidade de *R. solani* GA-4 HGI em feijão, causando sintomas de lesões no colo e nos cotilédones nas plantas.

Blanco (2016) relatou que os isolados de *R. solani* AG1-1A e AG1-IB apresentaram-se hipovirulentos às raízes de milho e feijão, respectivamente, apesar dessas plantas serem descritas como hospedeiras dessas duas espécies.

Yildirim e Erper (2017), identificaram isolados de *Rhizoctonia* spp. pertencentes a diferentes AGs obtidos de raízes doentes e solos de rizosfera de plantas de feijão, pepino, berinjela, pimenta e tomate cultivadas em estufas na província de Samsun, Turquia. De todos os isolados, 83,8% eram *R. solani* (AG-2, AG-4, AG-5 e AG-6) e 16,2% *R. binucleada* (AG-A, AG-E e AG-F). O índice de gravidade da doença causada por estes isolados foi feito por meio de testes em mudas de feijão. Os isolados de *R.*

solani AG-4 tiveram a maior virulência (3,2–3,8) nas plantas de feijão, equanto que os isolados *R. binucleada* AG-A, AG-E e AG-F foram moderadamente virulentos (2,0–2,4).

No Brasil, isolados de *R. solani* foram patogênicos em plantas de feijão-caupi cv. Mazagão e caracterizados como pertencentes ao grupamento de anastomose AG-1-1A. O grupamento de anastomose de outros três isolados do fungo não foram possíveis de caracterizar, devido a reação C0, em que as hifas cresceram por cima uma das outras, não havendo reconhecimento entre os isolados pareados. Também, não foi realizada a identificação do único isolado binucleado (Nechet; Halfeld-Vieira, 2006).

Em estudo realizado por Tenório (2015) foi identificado que AG-4 HG-I é o principal grupo de *R. solani* que causa rhizoctoniose no feijoeiro no município de São João – Pernambuco/Brasil e que a doença também é causada por AG-4 HG-III e AG-3 PT. *Ceratobasidium* AG-L é também agente causal da rhizoctoniose do feijoeiro no município citado.

2.3 A cultura do eucalipto (*Eucalyptus* sp.)

O eucalipto é uma espécie arbórea de uso industrial mais plantada no Brasil. As folhas e a madeira do eucalipto podem ser utilizadas para diferentes finalidades, como: energia, celulose e papel, laminação, serraria, medicamentos, cosméticos, tecidos e alimentos. Uma característica da planta de eucalipto é que depois do primeiro corte há a brotação de uma nova planta no toco que ficou no solo. A rebrota pode ser utilizada para mais dois cortes, sendo uma vantagem para o produtor que, com apenas um plantio, pode realizar três colheitas. A produtividade depende de diversos fatores, dentre os quais se destacam o local de plantio, os tratos culturais e os insumos disponibilizados. Em 2018, o setor de florestas teve participação de 1,3% no PIB nacional e cerca de 7% no PIB industrial, crescimento de 13,1% em relação a 2017. Crescimento que gerou uma receita de R\$ 86,6 bilhões e esse avanço foi superior aos setores de agropecuária, serviços e indústria geral. De toda floresta plantada no Brasil, 73% (5,7 milhões de hectares) são ocupados pelo plantio de árvores de eucalipto, localizado principalmente nos estados de Minas Gerais, São Paulo e Mato Grosso do Sul. As espécies mais utilizadas de eucalipto no Brasil são:

Eucalyptus grandis, *E. urophylla*, *E. benthamii*, *E. saligna* e *E. deglupta* (Croplife, 2020; Santarosa; Júnior; Dos Reis Goulart, 2014).

No Brasil, a produção de mudas de eucalipto é realizada, quase que exclusivamente, por propagação vegetativa. Portanto, as condições ambientais requeridas para o enraizamento são extremamente favoráveis à incidência do fitopatógeno *R. solani*, podendo ocorrer a queima foliar de brotações em jardim clonal e em banco clonal e a podridão de estacas durante o enraizamento podem ser limitantes à clonagem, por estaquia, de eucalipto. Em plantios comerciais, *R. solani* incide inicialmente sobre as folhas de ramos rasteiros, por meio de crescimento micelial epifítico a partir de solo infestado. Posteriormente, ataca as folhas de ramos superiores, causando a queima ascendente na copa. O espaçamento reduzido entre plantas, a irrigação e o intenso crescimento vegetativo de mudas em viveiro favorecem a disseminação e a multiplicação do patógeno, que causa a queima de folhas. Brotações, contendo micélio e escleródios do patógeno, podem constituir fonte de inóculo às estacas para enraizamento (Kuenieda-Alonso; Alfenas; Maffia, 2005; Mafia *et al.*, 2003; Sanfuentes *et al.*, 2007)

No Brasil, Da Silveira *et al.* (2000) relataram que isolados de *R. solani* AG-1 apresentaram-se patogênicos para folhagens e brotos de *Eucalyptus* sp. Neste mesmo estudo,

Isolados de *R. solani* AG-1 foram altamente virulentos em estacas de eucalipto e apresentaram crescimento naturalmente epifítico em brotos de eucalipto. Isolados binucleados e multinucleados de *R. solani* AG-4 também foram virulentos em estacas e mais virulentos em mudas híbridas de *E. grandis* e *E. urophylla*, causando tombamento pré e pós-emergência. A virulência em estacas e mudas de eucalipto não foi restrita a uma única espécie ou grupo de anastomose de *Rhizoctonia*.

2.4 A cultura do crisântemo (*Chrysanthemum* sp.)

O crisântemo, um dos principais representantes da família Asteraceae (Compositae), é uma das principais flores comercializadas no Brasil e no mundo. O principal produtor nacional é o Estado de São Paulo, onde a cultura foi iniciada há aproximadamente 70 anos, oriundas de cultivares importadas do Japão, Europa, USA, Argentina e Uruguai. Uma flor de origem subtropical, que apresenta como exigência climática períodos de dias curtos (09-11 h) antes e durante a sua floração. É uma

planta de ciclo curto e apresenta grande variedade de formas e cores, podendo ser mantida em diferentes condições de cultivo, ambiente protegido ou a céu aberto, e podendo ser utilizada tanto como flor de vaso, quanto de corte e jardim (Freire; Viana; De Araújo Lima, 2002; Rego *et al.*, 2009).

No Brasil, o fitopatógeno *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI pode causar prejuízos na fase de enraizamento da cultura. O fungo causa lesões escuras na região do colo, necrose nas folhas basais, tornando-as amareladas, e escurecimento do sistema radicular (Bueno *et al.*, 2013).

2.5 A cultura do *Impatiens* (*Impatiens* sp.)

As plantas e flores ornamentais em vaso, para exportação ou para o mercado interno, estão entre os segmentos do agronegócio que mais crescem no Brasil. No primeiro semestre de 2005, as exportações totais do setor atingiram US\$ 14 milhões, com uma expansão de 19,5% em relação ao mesmo período de 2004. Devido a diversidade microclimática no Brasil, muitas espécies de plantas ornamentais podem ser cultivadas durante todo o ano. As plantas de *Impatiens* são pertencentes à família Balsaminaceae que se subdividem em aproximadamente 500 espécies identificadas. As plantas do gênero são caracterizadas como ervas perenes, eretas, providas de caules suculentos e carnosos, podem atingir em média 20-40 cm de comprimento e são geralmente encontradas em florestas tropicais e subtropicais, principalmente próximas às encostas dos rios. Despertam interesse devido às suas flores coloridas e atraentes que podem variar entre as cores branca, rosa, laranja e roxa (Pires *et al.*, 2021; Reis; Boiteux; Paz-Lima, 2007).

Podridão de raiz e caule provocada por *R. solani* AG-4 HG-I causa prejuízos no sistema de produção de flores na China. Lesões verde-acinzentadas e de aspecto encharcadas aparecem inicialmente na parte basal do caule de *Impatiens* sp. Posteriormente, os pecíolos colapsam com a podridão mole e aquosa, seguida de morte das folhas e, eventualmente, de toda a planta (Jiang *et al.*, 2022).

2.6 A cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.)

A batata é a hortaliça mais importante no Brasil, com uma produção anual de aproximadamente 3,5 milhões de toneladas em uma área de cerca de 130 mil hectares. De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2023, foi produzido 4.188.704 toneladas de batata, sendo o estado de Minas Gerais o maior produtor. No Brasil, o plantio e a colheita ocorrem em todos os dias do ano. A área total de 100.000 hectares anuais, é destinada ao mercado fresco (65%), à indústria de chips (15%), à indústria de pré-fritas (12%) e à batata semente (8%). E as principais variedades plantadas são Ágata (45%), Asterix (15%), Orquestra (13%), Cúpido (7%), Markies (6%), Atlantic e FL (7%) (Abba, [s.d.]; Da Silva; Lopes, 2015; Ibge, [s.d.]).

Rhizoctonia solani é importante fitopatógeno associado à batata no mundo, resultando no aparecimento do cancro em hastes e estolões bem como a crosta-preta que é caracterizada pela produção maciça de escleródios do fungo aderidos firmemente à superfície do tubérculo de batata. A maioria dos isolados de *R. solani* associados com tubérculos de batata ou outras partes da planta são do grupo de anastomose AG-3 (~73% de frequência de ocorrência). Porém, isolados do AG-1, AG-2, tipo 1 (~20,1%) e 2, AG-4 e AG -5, também têm sido encontrados em plantas de batata. Isolados do AG-3 e AG-4 foram considerados mais agressivos em batata, enquanto isolados do AG-2-1 foram medianamente agressivos. Exceto AG-3, acredita-se que outros AGs raramente podem formar escleródios em tubérculos. Entretanto, o AG-4 é considerado o principal agente de cancrios em hastes e estolões. Quando o fungo ataca brotações, causa retardamento da emergência e morte das plantas, resultando em menor estande, desenvolvimento irregular das plantas e consequente redução na produção (Silva-Barreto *et al.*, 2010).

A Rhizoctoniose pode afetar os brotos durante a emergência ou infectar os tubérculos. Ao atacar as brotações do tubérculo, causa atraso da emergência e morte das plantas, resultando em menor estande, desenvolvimento irregular das plantas e redução na produção. Os brotos que emergem podem estar infectados e apresentar cancrios que posteriormente desenvolvem-se, levando os brotosque emergem à morte (Amorim *et al.*, 2019).

2.7 A cultura da manjerona (*Origanum majorana* L.)

As espécies vegetais da família Lamiaceae estão distribuídas mundialmente. No Brasil, existem cerca de 28 gêneros e 350 espécies dessa família de plantas, entre elas a manjerona. Planta herbácea, originária do Nordeste da África, Oriente Médio até a Índia. Pouco tolerante a climas frios e solos com excesso de umidade e muito argilosos. Uma espécie aromática, sendo utilizada na culinária, no tempero de carnes, saladas e aromatização de bebidas. É considerada uma planta medicinal, apresentando uma das melhores atividades antibacterianas entre as espécies desse grupo, devido à presença de compostos em seu óleo essencial (De Melo *et al.*, 2017; De Souza, 2020).

No Brasil, De Melo *et al.* (2017) relataram a primeira ocorrência de *R. solani* AG-1-IB causando queima das folhas em *Mentha spicata*, *M. piperina* e *Origanum manjerona* e de *R. solani* AG-4 HG-I em *Rosmarinus officinalis*, *Ocimum basilicum* e *O. vulgare* causando podridão de raiz.

2.8 O fungo *Rhizoctonia solani* e *Rhizoctonia binucleada*

Rhizoctonia solani Kühn, fase anamórfica de *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk, possui hifas bem desenvolvidas, multinucleadas, com septos transversais evidentes e ramificam-se formando um ângulo reto com relação à hifa de origem (90°), com ligeira constrição no ponto de origem da ramificação com um septo em seguida. O micélio é inicialmente hialino, desenvolvendo-se para marrom claro e, posteriormente, para uma coloração marrom escuro. Além disto, não produz conídios, apenas células monilióides (escleródios). É um fungo necrotrófico e habitante do solo, que pode sobreviver saprofiticamente ou através de estruturas de resistência, os escleródios, que permitem que o fungo sobreviva sob condições ambientais severas ou na ausência de planta hospedeira, sendo onipresente. Essas características fazem com que *R. solani* seja considerado um patógeno de difícil controle (Abbas *et al.*, 2019; Oliveira, 2011).

Ao encontrar um hospedeiro, *R. solani* forma um sítio de infecção, produzindo enzimas digestivas para degradar as paredes celulares da planta e infectá-la. Os hospedeiros são mais suscetíveis durante a emergência e o desenvolvimento das plântulas. Os micélios mais velhos formam escleródios nos tecidos infectados.

Quando os tecidos são deixados no solo, podem se tornar uma fonte de inóculo para as culturas seguintes. Deste modo, quando as culturas suscetíveis são cultivadas em rotações próximas, a fonte de inóculo aumenta ("*Rhizoctonia solani* symptoms and risk in oilseed rape", [s.d.]).

O fungo infecta grande número de espécies vegetais em todo o mundo, causando, comumente, tombamento de pré e pós-emergência, podridão de raiz, de colo e de vagens, queima de folhas e morte de sementes e tubérculos. Devido a tudo isso, causa perdas consideráveis à várias plantas cultivadas comercialmente no Brasil, como pimentão (*Capsicum annuum* L.), seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.), soja (*Glycine max* (L.) Merr.), batata (*Solanum tuberosum* L.), manjerona (*Origanum majorana* L.), amendoimzeiro (*Arachis hypogaea* L.), feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), eucalipto (*Eucalyptus* spp.), *Impatiens walleriana* e dentre outras (Amorim *et al.*, 2019; De Melo *et al.*, 2017; Jiang *et al.*, 2022; Silva-Barreto *et al.*, 2010).

O grupo de espécies binucleadas incluem *Rhizoctonia callae* E. Castell, *R. cerealis* Van Der Hoeven, *R. endophytica* Saksena & Vaartaja, *R. fragariae* S. Husain & W. E. McKeen, *R. fumigata* S. Gunnell & R. K. Webster, *R. ramicola* W. A. Weber & D. A. Roberts, *R. oryzae-sativae* (Sawada) Mordue, *R. repens* Bernard e *R. anaticula* Currah (Amâncio, 2018).

Kodati *et al.* (2021) discutiram sobre a diferença obtida na proporção de isolados de *R. solani* e *Rhizoctonia* binucleadas identificados com outros estudos que, na maioria, os isolados de *R. solani* superaram em número os isolados de *Rhizoctonia* binucleadas. A diferença entre os estudos pode ser devido ao fato de *Rhizoctonia* binucleadas ter um papel ecológico diferente em ambientes agrícolas do que em ecossistemas de pastagens virgens. Em ambientes de culturas em linha, *Rhizoctonia* binucleadas provavelmente existem principalmente como saprófitas do solo em tecido de culturas mortas ou exsudatos de raízes. Em sistemas de pastagens não perturbados, no entanto, eles provavelmente são adaptados para serem colonizadores de raízes vivas e patógenos levemente agressivos de gramíneas.

Segundo Oliveira *et al.* (2014), isolados de *Rhizoctonia* binucleada apresentam apenas dois núcleos dentro de cada célula vegetativa hifa.

2.8.1 Grupos de anastomose e variabilidade de *Rhizoctonia*

O grupo de anastomose (AG) é uma coleção de isolados geneticamente relacionados, agrupados com base na capacidade de efetuar fusão de hifas entre si. Reações que podem variar desde uma fusão completa entre hifas, incluindo paredes celulares e membranas citoplasmáticas, até uma completa ausência de reação, ou seja, fusão de hifas entre representantes de mesmo grupo ou incompatibilidade somática entre indivíduos de grupos distintos. Este conceito é de grande importância, pois os grupos de AGs representam populações geneticamente isoladas e não intercruzáveis, normalmente apresentam similaridade morfológica, mas são geneticamente diferentes (Amâncio, 2018; Gonzalez Garcia; Portal Onco; Rubio Susan, 2006; Meyer, 2002).

O pareamento das hifas tem sido aplicado para caracterizar isolados de *R. solani* e espécies binucleadas de *Rhizoctonia*. Devido à grande variabilidade genética, *R. solani* é composto por 14 grupos de AG, subdivididos em 23 grupos intraespecíficos (ISG) descritos. A caracterização de AG e ISG é fundamental para a definição de estratégias de controle da doença e do patógeno alvo em programas de melhoramento genético. As técnicas moleculares utilizadas para caracterização de AGs e ISGs são sequenciamento de DNA ribossômico e mitocondrial, reação de polimerase em cadeia (PCR), isoenzimas, hibridização DNA/DNA, análises de polimorfismo de tamanho de fragmentos restringidos (RFLP) e polimorfismo de DNA amplificado ao acaso (RAPD) (Amâncio, 2018; Boysen, 1996; Gonzalez Garcia; Portal Onco; Rubio Sisan, 2006; Kuninaga *et al.*, 1997; Meyer, 2002; Toda; Hyakumachi; Arora, 1999).

R. solani AG-3, exemplo de grupo de AG, é subdividido em dois subgrupos: AG-3 PT, que infecta batata, tomate e berinjela, causando doenças associadas ao sistema radicular e AG-3 TB, que causa mancha foliar em fumo. Já o AG-4 não é tão específico, podendo causar podridão de sementes, tombamento (*damping off*) de pré e de pós-emergência e, ocasionalmente, podridão de raízes em diversas culturas, causando perdas significativas em soja, feijão e ao amendoim, podendo ocorrer também em hortaliças como espinafre, pimentão, brócolis, tomate e batata, e frutíferas como o melão. Este grupo é subdividido em AG-4 HGI, HGII e HGIII, sendo que todos

os subgrupos já foram detectados atacando várias culturas de importância econômica no Brasil (Silva-Barreto *et al.*, 2010).

Sanfuentes *et al.* (2007) identificaram e relataram pela primeira vez isolados de *R. solani* AG2-2 IIIB e os binucleados de *Rhizoctonia* spp. AG-P e AG-O, como agentes etiológicos da podridão de estacas de eucalipto em casa de vegetação, e os isolados binucleados AG-A e AG-L em solo de jardim clonal de eucalipto.

No que se refere à agrupamento de anastomose, já foram identificados 18 AGs, com telemorfo em *Ceratobasidium*, denominados AG-A a AG-W. Portanto, os AG-J, AG-M e AG-N foram excluídos de *Rhizoctonia*, isolados de AG-M foram perdidos, AG-T e AG-U foram reclassificados como AG-A e AG-P, enquanto AG-V e AG-W foram recentemente relatadas (Amâncio, 2018).

A variabilidade de *R. solani* está relacionada ao ciclo parassexual, que ocorre em fungos imperfeitos que não apresentam o ciclo sexuado, gerando assim novas combinações de genes. Hifas haplóides fundem-se (AG), resultando em células heterocarióticas contendo dois núcleos que podem se fundir (cariogamia), originando uma célula diplóide. Esta célula diplóide irá se dividir por mitose, originando micélio e conídios também diplóides. Durante o processo, pode ocorrer “crossing-over”, resultando na recombinação mitótica. As células diplóides podem germinar, originando micélio diplóide, ou podem sofrer haploidização. A AG, que forma o heterocário, é geneticamente controlada, ou seja, apenas ocorre entre hifas de linhagens geneticamente diferentes. Isso gera variabilidade no fungo *R. solani* mesmo na ausência na fase perfeita (fase sexual) (Amorim *et al.*, 2019).

2.8.1.1 AG-4 HGI

O subgrupo HGI, pertencente ao AG-4, é descrito na literatura como um grupamento não tão específico em termos de hospedeiro, podendo causar podridão de sementes, *damping off* de pré e pós-emergência e, ocasionalmente, podridão de raízes em diversas culturas de importância econômica no Brasil (BUENO *et al.*, 2013).

Em batata e nas plantas invasoras beldroega (*Portulaca oleracea* L.), maria-pretinha (*Solanum americanum* Mill) e juá-de-capote (*Nicandra physaloides* L. Pers.),

isolados de *R. solani* AG-4 HGI causam sintomas de cancro em hastes e/ou tombamento das plantas (Silva-Barreto *et al.*, 2010).

Em crisântemo (Papiro Branco e Amarelo), o fungo *R. solani* AG-4 HG I causa lesões escuras no colo, necrose escura no sistema radicular e, conseqüentemente, folhas basais amareladas, (Bueno *et al.*, 2013).

Em soja, o patógeno *R. solani* AG-4 HGI causa lesões no hipocótilo e lesões delimitadas, afundadas e com borda escura nas raízes das plantas (Fenille *et al.*, 2003).

Silva-Barreto *et al.* (2010) relataram que a temperatura ótima para crescimento do AG-4 HGI é de 25°C, a mínima de 15°C e a máxima de 35°C.

2.8.1.2 AG-F

Na alface, cebola, morango, rabanete, tomate, amendoim, feijão comum, algodão e taro ocorre o fungo *Rhizoctonia* binucleada pertencente ao grupo de anastomose AG-F (AMÂNCIO, 2018). Em 2017, foi relatado pela primeira vez *Rhizoctonia* sp. binucleada AG-F causando podridão do caule e da raiz no pistache no Irã e no mundo. Sintomas graves da doença aparecem em plântulas de seis meses de idade e devido a isso sugere-se atenção durante esta fase na propagação de plântulas de pistache em viveiro (Alaei *et al.*, 2017).

Rhizoctonia binucleada AG-A, AG-E e AG-F costuma ser moderadamente virulento em plantas de feijão (Yildirim; Erper, 2017).

Em um estudo realizado por Eken e Demirci (2004) foi observado que os isolados de *R. solani* do AG-5 e AG-4 causam doenças mais severas em hipocótilos do que em raízes do feijoeiro. Os isolados de *Rhizoctonia binucleada* do AG-G (B-16, B-3) e AG-F (B-5) são fracamente patogênicos, enquanto isolados de *R. solani* do AG-2-1, AG-3, AG-9, AG-10 e AG-11 e *Rhizoctonia binucleada* (AG-A e AG-K) não são patogênicos nas cultivares de feijão Aras-98, Dermason, Seker, Terzibaba e Yakutiye. *Rhizoctonia binucleada* do AG-F apresenta crescimento ótimo na temperatura de 35°C (Alaei *et al.*, 2017).

2.8.1.3 AG-1-IA

O fungo *R. solani* pertencente ao grupo de anastomose 1-IA (AG-1 IA) é um dos patógenos mais importantes afetando as culturas de soja, arroz, milho, sorgo, feijão-de-corda e caupi no Brasil. A faixa de temperatura ótima para crescimento micelial do AG-1 IA está situada entre 25°C e 30°C, com mínima de 10°C. Na cultura da soja (*Glycine max* L. Merrill), este fungo causa queima da folha e/ou mela. A fase teleomórfica deste grupamento (*Thanatephorus cucumeris*). Além de necrose foliar, o fungo causa lesões nas hastes e pecíolos reduzindo drasticamente a produção da soja. Em determinados estados brasileiros onde as condições ambientais são favoráveis para o patógeno como Maranhão, Mato Grosso, Piauí, Tocantins, Pará e Roraima, as perdas causadas pela doença podem variar de 31 a 60% (Basseto; Ceresini; Valério Filho, 2007; Souza *et al.*, 2007).

A queima da bainha do arroz é causada pelo fungo *R. solani* AG-1 IA, com perdas na colheita chegando até 50% (Padasht-Dehkaei *et al.*, 2013).

2.9 Controle químico

O controle químico no manejo de doenças de plantas baseia-se no uso de moléculas orgânicas ou inorgânicas, obtidas naturalmente ou sintetizadas. Trata-se de um método eficiente e economicamente viável, que garante a alta produtividade e qualidade da produção. Sob outra perspectiva, este método apresenta algumas desvantagens, quando comparado ao controle biológico, tais como: a possibilidade de ressurgência da praga, seleção de insetos ou microrganismos resistentes e contaminação humana e ambiental (Barbosa, 2015; Silva Junior; Behlau, 2019).

De acordo com a base de dados do AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários) - MAPA (Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento) (2024) para o controle de *damping-off*, podridão-aquosa e mela na cultura da soja e podridão radicular e mela na cultura do feijão, todas causadas por *R. solani*, é indicado o uso do produto Certeza N® (princípios ativos Fluazinam + Tiofanato-Metílico). Este produto possui formulação de suspensão concentrada para o tratamento de sementes, apresentando classificação toxicológica 5, produto improvável de causar dano agudo, e classificação ambiental II, produto muito perigoso ao meio ambiente.

Para o controle da crosta-preta e *damping-off* na cultura da batata é indicado o uso do fungicida comercial Frowncide 500 SC (princípio ativo Fluazinam). Este produto possui formulação de suspensão concentrada, apresentando classificação toxicológica 4, produto pouco tóxico, e classificação ambiental I, produto altamente perigoso ao meio ambiente.

2.10 Controle biológico

O controle biológico de doenças de plantas é um método alternativo, racional e sadio que se utiliza da ação de um microrganismo antagônico, o qual pode atuar por meio de antibiose, parasitismo, competição, predação ou hipovirulência no controle de um patógeno. Ou seja, qualquer interferência negativa de um microrganismo no crescimento, infectividade, virulência, agressividade ou outros atributos do patógeno. Uma interação entre patógeno, hospedeiro e ambiente que visa manter um equilíbrio no agroecossistema (Amorim, *et al.*, 2019; Bettiol; Morandi, 2009; Grigoletti Júnior; Dos Santos; Auer, 2000). Essa interação está relacionada com o sistema complexo e interdependente dos indivíduos com outros organismos, em que a dinâmica de todos é afetada mutuamente, sendo isso conhecido como uma relação tritrófica. O estudo isolado de cada componente de um sistema é importante, porém, o sucesso do controle depende de fatores interligados, formando a grande cadeia de relações (“Como funciona o controle biológico na agricultura?”, 2020).

Antagonistas ou agentes de controle biológico podem ser indivíduos ou populações avirulentas ou hipovirulentas do próprio patógeno, dessa forma, sendo responsáveis por inibir ou diminuir de algum modo a doença (AMORIM, L. *et al.*, 2019).

Para a seleção e obtenção de um agente de controle biológico, algumas características são essenciais, como: geneticamente estável e não sofrer variação nas atividades antagônicas entre as gerações; crescer facilmente em meios de cultivo de baixo custo; efetivos no controle mesmo em baixas concentrações; compatível com outros métodos de controle (químico e cultural); e não causar patogenicidade aos organismos não alvos (Amorim *et al.*, 2019; Medeiros; Silva; Pascholati, 2019).

Assim, para a seleção destes microrganismos com potencial antagonista podem ser realizados os testes *in vitro* em condições controladas ou naturais. Os principais métodos são: pareamento de culturas, camada dupla, líquido metabólico, entre outros que, além de avaliar a capacidade antagônica, também indicam o comportamento do

microrganismo *in vitro* (capacidade de adaptação, crescimento e reprodução) (Grigoletti Júnior; Dos Santos; Auer, 2000).

Desta forma, existem três estratégias que podem ser utilizadas no controle biológico de doenças de plantas: controle do inóculo do patógeno; proteção da superfície da planta; indução da resistência das plantas (Michereff, 2001).

Existem várias possibilidades e vantagens do uso do controle biológico: pode atuar juntamente as táticas de controle cultural no manejo integrado de doenças; propicia reduzir a quantidade de fungicida aplicado; redução de custo de produção por propiciar controle da doença a longo prazo e requerer poucas aplicações na área afetada; apresentar amplo espectro de ação, devido aos vários mecanismos envolvidos; não causar fitotoxicidade à planta hospedeira ou efeitos nocivos à microbiota do solo; e auxiliar na recomposição da biodiversidade da área reduzida pelo homem.

Porém, também possui algumas limitações, como a aumentar uma ou mais espécies dos agentes biológicos devido as reaplicações efetuadas pelo produtor. Também, em alguns casos, este método isoladamente não consegue resolver o problema, necessitando da associação com mais de uma técnica para se obter o resultado esperado (Evoneo; Macedo, 2010; Medeiros; Silva; PAascholati, 2018).

2.10.1 *Trichoderma* spp.

Trichoderma é um fungo caracterizado pelo rápido crescimento e produção de conídios em conidióforos ramificados de tonalidades da cor verde. As espécies do gênero *Trichoderma* são encontradas naturalmente em quase todos os tipos de solo e também em habitats naturais que contenham grandes quantidades de matéria orgânica, onde se comporta como ótimo decompositor de matéria vegetal e fúngico. Além disso, são oportunistas, característica que se deve a alta capacidade de *Trichoderma* de colonizar a rizosfera das plantas e de substratos com diferentes características (Bettiol; Ghini, 2005; Monte; Bettiol; Hermosa, 2019; Pinto; Lucon; Bettiol, 2019).

Trichoderma é um dos agentes de controle biológico mais pesquisados no mundo, com relatos de eficiência para controlar diversos fitopatógenos, sendo ainda tolerante a diversos fungicidas, herbicidas, inseticidas e fitohormônios. O fungo é

conhecido por atuar por mais de um mecanismo de interação antagonista, característica importante para organismos que sobrevivem no solo. A ação antagônica frente ao fitopatógeno ocorre por antibiose, competição por nutrientes e substrato, micoparasitismo, produção de enzimas de degradação de parede celular, promoção do crescimento das plantas e indução de resistência na planta hospedeira do fitopatógeno (Bettiol; Ghini, 2005; Monte; Bettiol; Hermosa, 2019; Pinto; Lucon; Bettiol, 2019; Sarkar *et al.*, 2010; Singh *et al.*, 2012; Tapwal *et al.*, 2012; Thiruchchelvan *et al.*, 2013).

A maior parte dos trabalhos publicados nas bases de dados em relação ao controle biológico de *R. solani* é associada com a espécie *Trichoderma harzianum*. (Paulitz; Belanger, 2001). De acordo com Bettiol *et al.* (2019), dos produtos à base de *Trichoderma*, a espécie *T. harzianum* é a mais comercializada mundialmente, sendo encontrada, quando considerado os produtos sem mistura de microrganismos, em 38,8% dos produtos comerciais. Entretanto, quando considerado os produtos onde há mistura de espécies de *Trichoderma* este valor chega 50% dos produtos disponíveis no mercado mundial e sobe para 60% quando considerado todos os produtos, incluindo aqueles que espécies de *Trichoderma* são misturadas com outros fungos, bactérias e micorrizas. Apesar do avanço da tecnologia, o estudo do uso de *Trichoderma* em mistura ou não com outro agente antagônico sobre a doença causada por *R. solani* proveniente de diferentes hospedeiros ainda é escasso no Brasil.

Através da análise transcriptômica realizada por Manganiello *et al.* (2018), foi possível identificar genes diferencialmente expressos (DEGs) de *Trichoderma harzianum* cepa M10 que desempenham um papel fundamental na resistência ao estresse biótico, sendo capaz de ativar respostas de defesa em plantas de tomate infectadas por *R. solani*.

Heflish *et al.* (2021) relataram as atividades de controle biológico *in vitro* e a ativação *in vivo* da resposta de defesa do tomateiro por *Trichoderma asperelloides* com ou sem *Rhizoctonia solani*. O *T. asperelloides* Ta41 promoveu aumento significativo na altura da planta de tomate, bem como no comprimento e no peso fresco e seco da raiz. Também aumentou significativamente o teor de clorofila e de fenóis totais, tanto nos tratamentos preventivos como nos tratamentos curativos. No

ensaio do tratamento preventivo, o índice de doença foi mais baixo e ainda foram observados aumentos significativos em quatro genes relacionados com a defesa da planta, sendo eles o PR-1, gene marcador do ácido salicílico (SA); PR-2, proteínas com atividade de -1,3-glucanase; PR-3, que codifica uma enzima quitinase e CHS, enzima inicial da via dos flavonóides, em todas as plantas tratadas com Ta41, em comparação com as plantas não tratadas.

Jambhulkar *et al.* (2024) relataram o elevado potencial antagonista de *Trichoderma afroharzianum* (BThr29), isolado de rizosfera de culturas de cereais, leguminosas, plantas frutíferas e solo florestal do sul do Rajastão (Índia), contra três fungos fitopatogênicos habitantes do solo como *Sclerotinia rolfsii*, *Rhizoctonia solani* e *Fusarium verticillioides*. A cepa *T. afroharzianum* BThr29 apresentou uma inibição máxima *in vitro* de *S. rolfsii* (76,6%), *R. solani* (84,8%) e *F. verticillioides* (85,7%). Essa cepa de *Trichoderma* também foi eficiente contra os mesmos patógenos em experimentos *in vivo*, quando inoculados em plantas de tomate, apresentando um aumento significativo na germinação das sementes de 84,5% quando inoculado *S. rolfsii* e 89,8% quando *R. solani* em comparação com o controle (67,1% e 66,3%, respectivamente). Além de reduzir a incidência de doenças nas plantas de tomate em 8,4% quando inoculado *S. rolfsii* e 5,2% quando *R. solani* em comparação com o controle (21,7% e 18,5%, respectivamente).

2.10.2 *Bacillus* e outros gêneros de bactérias

Os principais gêneros de bactérias estudados que atuam como antagonistas no controle biológico de doenças de plantas são *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Pasteuria* e *Enterobacter*. O potencial em controlar patógenos deve-se aos mecanismos das interações antagônicas que esses microrganismos desempenham, como: antibiose, indução de resistência, parasitismo e promoção de crescimento (Medeiros; Silva; Pascholati, 2019).

Do mesmo modo, Martinez (2023) relatou o potencial antagônico dos isolados das bactérias entomopatogênicas *Xenorhabdus szentirmaii* e *X. doucetiae*. O isolado *X. szentirmaii* obteve um alto percentual de controle do crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos habitantes do solo como *Sclerotinia sclerotiorum*,

Macrophomina phaseolina e *Fusarium oxysporum*, e de *Botrytis cinérea*, através do principal composto antifúngico produzido, a fabclavinas, que possui alta eficiência no controle micelial dos fungos. Além da xenocoumacina, produzida por *X. doucetiae*, que apresentou atividade antifúngica, inibindo o crescimento micelial dos fungos *S. sclerotiorum*, *M. phaseolina* e de *B. cinereae*.

A proteína superóxido dismutase, identificada por Durgadevi *et al.* (2021), produzida por *Rhizoctonia solani* AG1-1, é regulada positivamente no patógeno e é responsável pela patogenia. Porém, a aplicação de isolados de *Bacillus* sp. restaura a proteína regulada positivamente e, portanto, protege a planta. Assim, as proteínas de defesa identificadas podem ser bem exploradas no programa de manejo de da mancha da bainha do arroz (*Oryza sativa*).

Bhargavi *et al.* (2024) relataram o potencial das rizobactérias isoladas, *Priestia megaterium* e *Serratia marcescens*, para serem utilizadas como agentes de biocontrole no controle da murcha de *Fusarium* e do bolor cinzento de *Botrytis* em grão-de-bico.

Faltin *et al.* (2004) reportaram o potencial antagônico de *Serratia plymuthica* B4 contra *R. solani* em alface e o de *Pseudomonas reactans* B3 como o melhor candidato para suprimir o patógeno na beterraba.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Isolados de *Rhizoctonia* sp. e de agentes de controle biológico e sementes, mudas e brotos de diferentes plantas hospedeiras

Os sete isolados de *Rhizoctonia* obtidos foram das seguintes plantas hospedeiras: soja, feijão, crisântemo, batata, *Impatiens*, eucalipto e manjerona. Esses isolados do fungo foram disponibilizados pela micoteca do Laboratório de Fitopatologia do CAPSA, Campinas – SP, pela micoteca do Laboratório do Instituto Biológico de São Paulo e, também, pela Embrapa Meio Ambiente de Jaguariúna - SP. Os agentes de controle biológico utilizados no presente estudo foram 28 isolados de bactérias de diferentes gêneros (Tabela 1) e 8 isolados *Trichoderma* de diferentes espécies (Tabela 2), obtidos de coleções do Laboratório de Controle Biológico do CAPSA, Campinas – SP; da micoteca do Laboratório do Instituto Biológico de São Paulo e, também, pela Embrapa Meio Ambiente de Jaguariúna - SP.

Para a realização dos ensaios, sementes de soja Foscarin, feijão do cv. IPA 7919 e mini tubérculos de batata var. Cupido, de origem G-0 importado e colhido em telado (set. – out. 2023) foram obtidas do Instituto Agrônomo de Campinas. Mudas de crisântemo da cultivar Juneau foram doadas pela empresa Terra Viva e mudas de eucalipto do cruzamento *E. grandis* com *E. urophylla* foram cedidos pela empresa Sylvamo Celulose e Papel Ltda.

Tabela 1 – Gêneros e espécies de bactérias antagônicas utilizadas

Isolados	Gêneros e espécies
AZOS2	<i>Azospirillum brasilense</i>
AMYLO	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
BL	<i>Bacillus licheniformis</i>
CYTO2	<i>Bacillus licheniformis</i>
BP	<i>Bacillus pumilus</i>
447B.3	<i>Bacillus</i> sp.
447B.4	<i>Bacillus</i> sp.
427B.6	<i>Bacillus</i> sp.
BS	<i>Bacillus subtilis</i>
BT2	<i>Bacillus thuringiensis</i>
BTK	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>
BT.T1	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>thuringiensis</i>
BV	<i>Bacillus velezensis</i>
CS	<i>Chromobacterium subtsugae</i>
CF	<i>Cytobacillus firmus</i>
8.CUPIM	<i>Kitasatospora griseola</i>
HB	<i>Photorhabdus luminescens</i>
UEMP5	<i>Photorhabdus</i> sp.
UEL8	<i>Photorhabdus</i> sp.
PA	<i>Priestia aryabhatai</i>
PM	<i>Priestia megaterium</i>
F2	<i>Pseudochrobactrum asaccharolyticum</i>
PF	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
F4	<i>Pseudomonas protegens</i>
PP	<i>Pseudomonas protegens</i>
PP1	<i>Pseudomonas putida</i>
PONTO1A	<i>Xenorhabdus doucetiae</i>
PAM25	<i>Xenorhabdus szentirmaii</i>

Tabela 2 – Espécies de *Trichoderma* utilizados

Isolados	Espécies
LQC96	<i>T. asperelloides</i>
IB04/08	<i>T. asperelloides</i>
IB32/06	<i>T. endophyticum</i>
IB46/11	<i>T. inhamatum</i>
LQC99	<i>T. lentiforme</i>
IB30/07	<i>T. lentiforme</i>
IB37/01	<i>T. orientale</i>
IB48/19	<i>T. virens</i>

3.2 Identificação molecular dos isolados de *Rhizoctonia* sp.

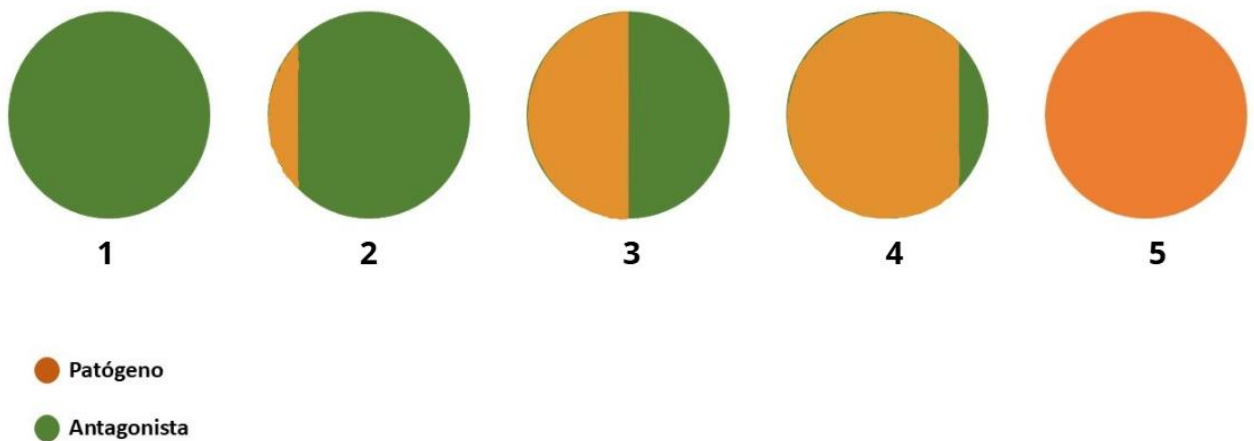
A extração de DNA dos sete isolados de *Rhizoctonia*, a reação de PCR, a amplificação da região ITS, a purificação dos produtos de PCR, o sequenciamento e a clonagem foram realizados de acordo com as metodologias descritas por Picarelli (2015). Essa etapa foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular Aplicada do Instituto Biológico de São Paulo sob os cuidados do Dr. Ricardo Harakava. Todas as sequencias foram depositadas no Genbank.

3.3 Antagonismo *in vitro* dos agentes de controle biológico sobre isolados de *Rhizoctonia* sp.

O antagonismo dos oito isolados de *Trichoderma* spp. sobre os isolados de *Rhizoctonia* sp. foi verificado por meio da técnica de pareamento duplo. A técnica consiste na remoção de discos de 8 mm de diâmetro da borda da colônia em expansão no meio de cultura batata dextrose ágar (BDA) (incubadas a 25°C por 7 dias), onde se encontra o micélio mais novo, tanto dos isolados do antagonista, quanto dos isolados do fitopatógeno. Os discos de meio de ambos foram plaqueados em lados opostos em placas de Petri de 8,5 x 1,5 cm contendo ~20 mL do meio BDA. As culturas

pareadas foram incubadas em estufa tipo BOD regulada para ~25°C sob fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro. O controle negativo consistiu dos isolados do fitopatógenos crescidos em placas de Petri com meio de cultura BDA e o controle positivo consistiu dos isolados de *Trichoderma* crescidos em placas de Petri com meio de cultura BDA. O delinamento experimental empregado foi o inteiramente ao acaso em esquema fatorial (*Trichoderma* x *Rhizoctonia*) com 4 repetições. A parcela (repetição) consistiu de uma placa de Petri com BDA contendo *Trichoderma*, *Rhizoctonia* sp. e os dois em lados opostos (Bell; Wells; Markham, 1982; Marraschi, 2015). A avaliação do ensaio foi realizada após o crescimento total dos isolados de *Rhizoctonia* sp. ou do *Trichoderma* nas placas controle, observando o grau de antagonismo por meio de uma escala de notas que variou de 1 a 5 (Figura 1): nota 1 = *Trichoderma* supera completamente o patógeno e cobre toda a superfície do meio; nota 2 = *Trichoderma* supera pelo menos dois terços da superfície do meio; nota 3 = *Trichoderma* e cada patógeno coloniza aproximadamente metade da superfície a superfície média e nenhum organismo parecia dominar o outro; nota 4 = o patógeno colonizou pelo menos dois terços da superfície do meio e pareceu resistir à invasão por *Trichoderma*; e nota 5 = o patógeno cresceu completamente sobre o *Trichoderma* e ocupou toda a superfície do meio. A seleção dos isolados de *Trichoderma* foi feita de acordo com os critérios de Bell *et al.* (1982), em que um bom antagonista tem nota ≤ 2 (Bell; Wells; Markham, 1982). No caso específico do presente estudo, considerou-se como um bom isolado aquele que apresentou nota ≤ 2 frente ao maior número de *Rhizoctonia* sp. dos diferentes hospedeiros.

Figura 1 - Escala de notas proposta por BELL et al. (1982) visando avaliar o nível do antagonismo dos isolados de *Trichoderma* spp. sobre os isolados de *Rhizoctonia* sp.



Fonte: DIOGO (2025).

O antagonismo de 28 isolados de bactérias sobre *Rhizoctonia* sp. foi verificado pela técnica de pareamento único, mas diferente da utilizada para o *Trichoderma*. Os isolados das bactérias foram cultivadas em meio Agar Nutriente (NA) (incubados a 25°C por 2 dias) e os de *Rhizoctonia* cultivados em meio BDA (incubados a 25°C por 7 dias). Depois de crescidos, em uma placa de Petri contendo o meio BDA as bactérias foram estriadas (1 cm) em quatro pontos (simulando os vértices de um quadrado), a três centímetros de distância do centro da placa de Petri. No centro da placa inoculou-se um disco de 8 mm de diâmetro do meio BDA colonizado com o isolado de *Rhizoctonia*. O experimento foi instalado em delineamento experimental inteiramente ao acaso em esquema fatorial (bactérias x fitopatógeno) com 4 repetições e posteriormente incubados em BOD regulada para ~25°C sob fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro. Placas sem a presença dos isolados de bactéria serviram como controle negativo (Silva, 2021).

A avaliação do ensaio foi realizada após o crescimento total dos isolados do fungo nas placas controle, medindo-se o diâmetro do crescimento (cm) micelial dos isolados de *R. solani*. Os isolados de bactéria que permitiram o crescimento total do fungo não foram selecionados para posteriores avaliações (Silva, 2021).

Ambos os experimentos foram repetidos integralmente uma vez, visando a reprodutibilidade dos dados.

Os percentuais de inibição das bactérias frente ao isolado do fungo foram transformados em arcoseno $\sqrt{x/100}$. Para os dados dos dois ensaios, realizou-se a análise de variância e aplicou-se o teste de Scott-Knott com 5% de significância para verificar a diferença entre os tratamentos (isolados). O programa estatístico utilizado foi o Sisvar (DEX/UFLA), versão 5.8 (Build 92).

3.4 Teste de compatibilidade entre os agentes de controle biológico selecionados

Utilizou-se a técnica de pareamento duplo para averiguar a compatibilidade entre os agentes de controle biológico selecionados a partir do teste de antagonismo *in vitro*, sendo eles dois isolados de *Trichoderma* e três isolados de bactéria que apresentaram o maior potencial de antagonismo sobre *Rhizoctonia* sp. De maneira semelhante ao do ensaio anterior, removeram-se discos de 8 mm de diâmetro da borda de colônias de *Trichoderma* em expansão cultivadas em meio batata dextrose ágar (BDA) em placas de Petri. Os isolados de bactéria (uma estria de 1 cm) e *Trichoderma* foram colocados em lados opostos de placas de Petri com meio de cultura BDA. As culturas pareadas foram incubadas em estufa tipo BOD regulada para ~25°C sob fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro. Placas contendo somente isolados de *Trichoderma* foram feitas como controle e após 100% de crescimento destes no meio realizou-se a avaliação, consistindo em observar e medir o halo de inibição (Bell; Wells; Markham, 1982; Silva, 2021). O delineamento experimental empregado foi o inteiramente ao acaso em esquema fatorial (bactéria x *Trichoderma*) com 4 repetições. O experimento foi repetido integralmente uma única vez, visando a reprodutibilidade dos dados.

3.5 Teste de compatibilidade entre fungicidas e agente de controle biológico selecionados

De acordo com a base de dados do AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários) - MAPA (Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento) para as culturas de feijão e soja é indicado o uso do produto Certeza N® (Fluazinam +

Tiofanato-Metílico) para o controle de doença causada por *Rhizoctonia* e para a cultura da batata é indicado o uso de Frowncide 500 SC (Fluazinam). Para verificar o efeito individual de cada princípio ativo sobre os agentes biológicos optou pelo uso dos fungicidas Frowncide 500 SC® (Fluazinam) e Cercobin 700 SC® (Tiofanato-Metílico).

A compatibilidade entre os fungicidas Frowncide 500 SC® (princípio ativo Fluazinam) e Cercobin 700 SC® (princípio ativo Tiofanato-Metílico), e os dois isolados de *Trichoderma* selecionados por meio da técnica de contato com papel-filtro em placa de Petri de 9 cm de diâmetro contendo meio de cultura BDA (Leite, 2021; Silva *et al.*, 2006). Na superfície do meio foram plaqueados 100 µL de uma suspensão de esporos de *Trichoderma* produzida por meio de 50 g de arroz parboilizado colonizado pelo *Trichoderma* e 150 mL de água destilada autoclavada, totalizando em uma concentração de $\sim 1,0 \times 10^8$ conídios/mL. Com o auxílio de pinça, três discos de papel de filtro estéreis de 1 cm de diâmetro foram mergulhados na solução de cada fungicida (1 mL de Frowncide 500 SC em 99 mL de água destilada e 0,07 gramas de Cercobin 700 SC em 100 mL de água destilada) (AGROFIT – MAPA) e colocados em contato com a superfície do meio de cultura já inoculado com o respectivo agente de controle biológico. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente ao acaso com 4 repetições. Os isolados de *Trichoderma* foram plaqueados em meio BDA sem fungicida como controle. As placas foram incubadas em BOD regulada para $\sim 25^\circ\text{C}$ sob fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro. Após o crescimento dos isolados de *Trichoderma* na superfície total do meio, a avaliação consistiu em observar e medir (mm) a presença ou ausência de halo de inibição no crescimento das colônias de *Trichoderma* ao redor dos discos de papel de filtro impregnados com o fungicida. Cada disco foi avaliado individualmente, e o disco com formação de halo foi considerado incompatível (-) e a não formação de halo, compatível (+) (Leite, 2021). O experimento foi repetido integralmente visando a reprodutibilidade dos dados.

3.6 Antagonismo *in vitro* de um biofungicida comercial sobre isolados de *Rhizoctonia* sp.

O antagonismo do biofungicida Pardella® (*Trichoderma harzianum* URM 8119, *Trichoderma asperellum* URM 8120 e *Bacillus amyloliquefaciens* CCT 7901) da empresa Ballagro sobre *Rhizoctonia* de cada hospedeiro foi avaliado por meio de duas

técnicas: pareamento duplo e único. Para o pareamento duplo foi utilizado o biofungicida em sua forma original, sólido (0,02 g do produto por placa) (AGROFIT – MAPA). Para isso, foi realizada a remoção de discos de 8 mm de diâmetro da borda de colônias dos isolados de *Rhizoctonia* em expansão cultivadas em meio batata dextrose ágar (BDA). O biofungicida e os isolados de *Rhizoctonia* foram colocados em lados opostos de placas de Petri contendo o meio BDA. As culturas pareadas foram incubadas em estufa tipo BOD regulada para ~25°C sob fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro. Foram estabelecidas quatro repetições por tratamento. Após o crescimento total dos isolados de *Rhizoctonia* no meio BDA (controle), avaliou-se o grau de antagonismo com uma escala de notas que variou de 1 a 5: nota 1 = Pardella supera completamente o patógeno e cobre toda a superfície do meio; nota 2 = Pardella supera pelo menos dois terços da superfície do meio; nota 3 = Pardella e cada patógeno coloniza aproximadamente metade da superfície a superfície média e nenhum organismo parecia dominar o outro; nota 4 = o patógeno colonizou pelo menos dois terços da superfície do meio e pareceu resistir à invasão por Pardella; e nota 5 = o patógeno cresceu completamente sobre o Pardella e ocupou toda a superfície do meio (Bell; Wells; Markham, 1982; Silva, 2021).

Para o pareamento único, a solução do biofungicida Pardella (100 L/ha) foi estriada (1 cm) (AGROFIT – MAPA) em quatro pontos (simulando os vértices de um quadrado), a três centímetros de distância do centro da placa de Petri contendo o meio BDA. No centro da placa, inoculou-se um disco de 8 mm de diâmetro do meio BDA colonizado com o isolado de *Rhizoctonia*. Foram estabelecidas quatro repetições por tratamento e as placas foram incubadas ~25°C sob fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro, por cinco dias. Após o crescimento total dos isolados de *Rhizoctonia* no meio BDA (controle), mediu-se o diâmetro do crescimento (cm) micelial do fungo *Rhizoctonia* sp. (Silva, 2021). Ambos os experimentos foram montados em esquema experimental inteiramente ao acaso e repetidos integralmente uma vez visando a reprodutibilidade dos dados.

3.7 Antagonismo *in vitro* dos fungicidas sobre isolados de *Rhizoctonia* sp.

Para o ensaio de antagonismo *in vitro* dos fungicidas sobre *Rhizoctonia* sp. de cada planta hospedeira, foi realizada a incorporação dos fungicidas, em suas devidas concentrações, no meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) ainda em estado

líquido e com temperatura próxima a 45°C, após autoclavagem. Foi incorporado 0,1 g do fungicida Frowncide 500 SC em 200 mL de BDA e 0,14 g do fungicida Cercobin 700 SC em 200 mL de BDA (AGROFIT – MAPA). Após a homogeneização, foram vertidos 20 mL do meio (BDA + fungicida) em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Após sua solidificação, foi efetuada a repicagem de um disco de 8 mm de diâmetro de meio, contendo micélio de cada isolado de *Rhizoctonia*, no centro da superfície do meio de cultura, com os respectivos tratamentos. O tratamento controle consistiu-se na repicagem de um disco de meio BDA colonizado com os isolados de *Rhizoctonia*, no centro da superfície do meio de cultura BDA, sem a incorporação dos fungicidas (Leite, 2021).

O delinejamento experimental empregado foi o inteiramente ao acaso em esquema fatorial (fungicida x isolado de *Rhizoctonia*) com 4 repetições. As placas de Petri foram vedadas com filme plástico PVC (Policloreto de Vinila) e incubadas em estufa BOD regulada para ~25°C sob fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro. A avaliação foi realizada após o crescimento do tratamento controle, medindo o diâmetro do crescimento (cm) micelial do fungo *Rhizoctonia* nos meios (Leite, 2021).

O experimento foi repetido integralmente visando a reprodutibilidade dos dados.

3.8 Efeito *in vivo* dos agentes de controle biológico sobre *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros

A avaliação da ação *in vivo* dos agentes de controle biológico sobre *Rhizoctonia* de diferentes hospedeiros foi feita por meio da instalação de ensaio utilizando folha, semente/broto ou muda da planta hospedeira e sua incubação ou não em placas de Petri sob condições de câmara úmida. Para tanto, os agentes biológicos selecionados e os fungicidas foram aplicados uma única vez e de forma preventiva nos órgãos citados das plantas hospedeiras. Os agentes biológicos foram aplicados na forma de uma mistura de *Trichoderma* + bactéria, estes nas concentrações de $1,0 \times 10^8$ esporos/mL e $3,0 \times 10^8$ UFC/mL, respectivamente. Todos os tratamentos empregados foram: controle negativo (sem fungicida, sem agente de controle biológico e sem inoculação do isolado do fungo); controle positivo – inoculação do isolado de *Rhizoctonia*; Fungicida Frowncide 500 SC ou Certeza (Tiofanato-Metílico + Fluazinam) na dosagem prescrita no AGROFIT - MAPA; Primeira mistura dos agentes de controle biológico (*Trichoderma lentiforme* - IB 04/08 + *Xenorhabdus szentirmaii* -

PAM25); Segunda mistura dos agentes (*Trichoderma endophyticum* - LQC99 + *Bacillus velezensis*); e Terceira mistura dos agentes (*Trichoderma endophyticum* - LQC99 + *Xenorhabdus szentirmaii* - PAM25).

O inóculo dos isolados de *Rhizoctonia* foi feito em meio BDA incubado em BOD por cinco dias a ~25°C sob fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro. O inóculo dos isolados de *Trichoderma* spp. foi preparado em arroz. Para tanto, 1 kg de arroz parboilizado foi embebido em 600 mL de água destilada por 20 minutos. Em seguida, o arroz foi colocado separadamente em três sacos plásticos autoclaváveis, contendo cada um 50 g, e autoclavados a 1 atm de pressão por 20 minutos. Posteriormente, em cada saco plástico, foram colocados 10 discos de BDA colonizado com *Trichoderma* spp. (incubado a 25°C por cinco dias com 12 horas de fotofase). Todos os sacos foram mantidos em BOD regulada para 25°C com fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro por duas semanas, até completar a colonização total do arroz pelo fungo. O inóculo de cada isolado de bactéria foi preparado em meio líquido Nutrient Broth (NB) agitado a 150 rpm por 6 dias no escuro, de acordo com a metodologia por Leite *et al.* (2003) e Orozco (2018).

De acordo com a base de dados do AGROFIT - MAPA para as culturas de feijão e soja é indicado o uso do produto Certeza N® (fluazinam + tiofanato metílico) para o controle de doença causada por *Rhizoctonia* sp. e para a cultura da batata é indicado o uso de Frowncide 500 SC® (fluazinam). Dessa forma, foi estabelecido o uso de Certeza para tratamento de sementes (feijão e soja) e de tubérculos (batata) e Frowncide para tratamento do caule das mudas de crisântemo e de eucalipto e folhas das plantas hospedeiras de soja e feijão.

No hospedeiro soja e feijão, os tratamentos e a inoculação dos isolados do fungo foram realizados, tanto em sementes, quanto em folhas destacadas. Isso foi feito devido ao comportamento do grupamento de anastomose dos isolados de *Rhizoctonia*, que podem infectar hipocótilo e principalmente folhas. As sementes e as folhas foram incubadas, em placas de Petri contendo duas folhas de papel de filtro umedecido (câmara úmida). As placas e os papéis de filtro foram previamente autoclavados a 1 atm de pressão por 20 minutos. As mudas de crisântemo e as folhas de soja e feijão foram colocadas sob lâminas de vidro estéreis mantidas nas placas de Petri contendo papel de filtro, sendo o pedicelo das folhas envolto em algodão estéril umedecido com água destilada autoclavada, visando aumentar a longevidade devido ao fato de as folhas terem sido destacadas das plantas (Leite, 2021; Silva,

2021). As mudas de eucalipto foram mantidas originalmente em tubetes contendo substrato.

Nos demais hospedeiros, a inoculação do fungo foi feita em mudas de crisântemo e eucalipto e nos brotos de batata. As mudas de eucalipto foram mantidas em tubetes e após o tratamento e inoculação do fitopatógeno, foram incubadas em estufa tipo BOD a 25°C com 12 horas de fotófase, umedecidas a cada dois dias. Quanto aos brotos de batata, após a aplicação dos tratamentos, os mesmos foram plantados em vasos de 0,8 L contendo substrato autoclavado Carolina Soil (2 x a 1 atm de pressão). Após 3 dias da aplicação dos fungicidas ou mistura e dos agentes de controle biológico, realizou-se a inoculação dos isolados do fungo. A inoculação da mistura dos agentes de controle biológico foi realizada por meio do contato com as culturas, pulverizando as mudas de eucalipto e colocando as sementes e folhas de soja e feijão, mudas de crisântemo e os tubérculos de batata em um recipiente com a mistura, com três minutos de reação. Nas sementes, um disco de meio BDA colonizado com o isolado do fungo foi colocado em contato com o hilo. Nas mudas de eucalipto e de crisântemo, um disco de BDA colonizado com o isolado do fungo foi inoculado na região do colo das mudas. Para batata, um disco de BDA com o fungo foi inoculado no broto não germinado do tubérculo. Nas folhas de soja e feijão, o isolado do fungo foi inoculado próximo ao pedicelo e na parte superior, que continha um algodão estéril umedecido com água destilada autoclavada.

Nos tratamentos com o fungicida Frowncide 500 SC® (3 L do ingrediente ativo/ha ou 1000 L de calda/ha) (AGROFIT- MAPA), o mesmo foi pulverizado nas folhas de feijão, soja e em mudas de crisântemo e de eucalipto. O fungicida Certeza® foi aplicado nas sementes de feijão e de soja (180 mL do produto comercial para 100 Kg de sementes) e nos brotos de batata (a mesma dose para 100 Kg de brotos de batata) (AGROFIT- MAPA). Os fungicidas reagiram nos respectivos hospedeiros por 3 minutos e depois foram plantados ou mantidos em estufa BOD ou em placas de Petri. A dosagem pulverizada da mistura dos agentes de controle biológico nos hospedeiros foi idêntica ao do fungicida Frowncide 500 SC® (3 L do ingrediente ativo/ha ou 1000 L de calda/ha) quando na folha e idêntica ao fungicida Certeza® (180 mL do produto comercial para 100 Kg de sementes) quando aplicado em tratamento de semente.

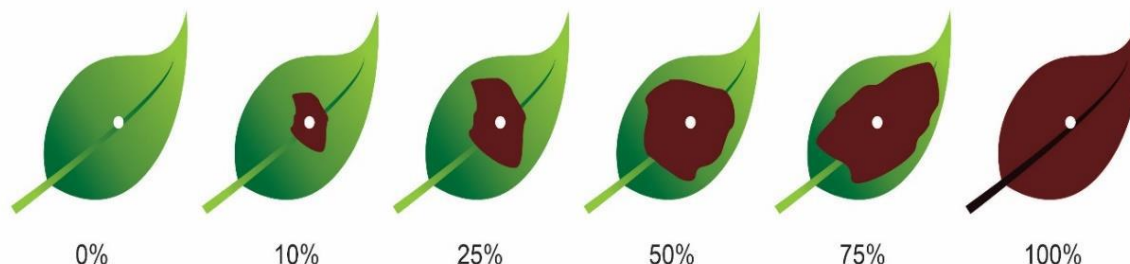
As culturas tratados e inoculados com o isolado do fungo foram mantidas em estufa BOD a 25°C com fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro, por seis dias e

dez dias. Para a batata, os vasos foram mantidos em casa de vegetação (sem controle de temperatura) com irrigação automática 3 vezes ao dia.

O delineamento experimental empregado foi o de blocos ao acaso com 6 tratamentos (controle negativo, controle positivo, fungicida, *X. szentirmaii* - PAM25 + *T. lentiforme* - IB04/08, *T. endophyticum* - LQC99 + *B. velezensis* e *X. szentirmaii* - PAM25 + *T. endophyticum* - LQC99) e quatro repetições.

A avaliação da incidência e severidade da doença foi realizada aos seis dias e 10 dias após a inoculação do fungo em ambos os experimentos. Para avaliar a incidência e a severidade da doença nas folhas de soja e feijão utilizou-se a mesma escala diagramática (Figura 2) modificada por Leite (2021) para avaliar a severidade do mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em folha de soja.

Figura 2 - Escala diagramática para avaliar a incidência e a severidade da doença causada pelos isolados de *Rhizoctonia* sp. em folhas destacadas de plântulas de soja e feijão



Fonte: LEITE (2021, p.39).

A avaliação da severidade da doença nas sementes de soja e feijão foi feita de acordo com a escala descrita abaixo por Silva (2021) (Figura 3):

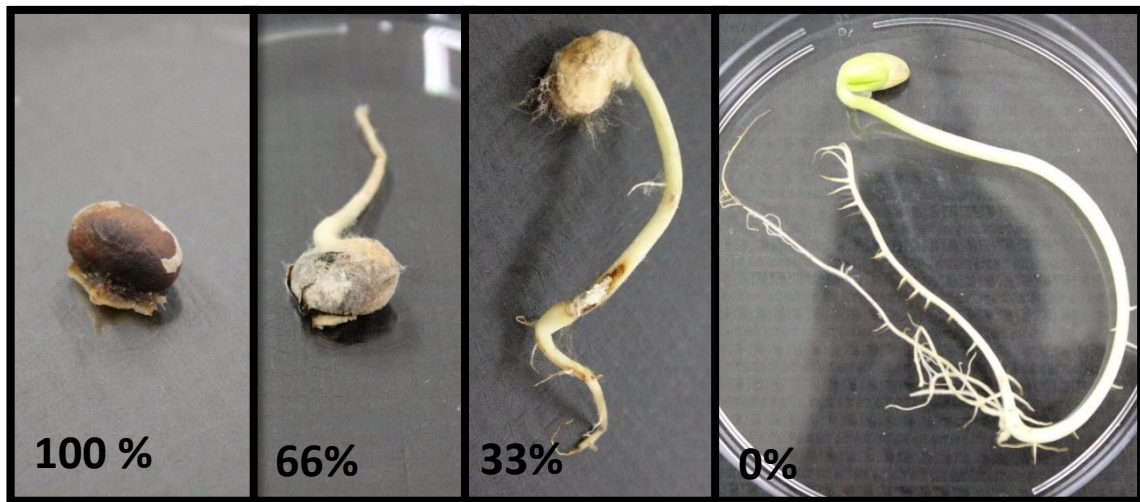
Nota 1 ou 100% de doença - Semente sem nenhuma emissão de radícula;

Nota 2 ou 66,66% de doença - Semente com início de emissão de radícula e com necrose;

Nota 3 ou 33,33% de doença - Semente com emissão completa de radícula, mas com necroses;

Nota 4 ou 0% de doença - Semente com emissão completa de radícula e sem necroses.

Figura 3 - Severidade da doença causados pelos isolados de *Rhizoctonia* sp. em semente, radículas e hipocótilos de soja e feijão



Fonte: SILVA (2021, p. 23).

A severidade da doença nas mudas de crisântemo e de eucalipto foi mensurada por meio da medição (cm) do tamanho da lesão (cancro) causada pelos isolados do fungo na região do colo, com auxílio de uma régua milimétrica.

Para a batata, avaliou-se apenas o percentual de germinação do mini-tubérculo dos vasos contendo os tratamentos em relação ao controle (sem nenhum tratamento e sem inoculação do fungo). Não foi realizado a avaliação da severidade da doença porque os sintomas de cancro em haste e estolões bem como a crosta-negra ou mancha asfalto nos tubérculos de batata leva tempo para aparecer (Tofoli *et al.*, 2012).

Os experimentos foram repetidos integralmente uma única vez visando a reprodutibilidade dos dados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Identificação molecular do grupamento de anastomose dos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes plantas hospedeiras

Através do sequenciamento da região ITS, três grupos de anastomose foram constatados: *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI de batata, eucalipto, manjerona, *Impatiens* e crisântemo; *Rhizoctonia* binucleada AG-F de feijão e *R. solani* AG-1 IA de soja (Tabela 1).

Silva-Barreto *et al.* (2010) identificaram o grupamento de anastomose de isolados de *R. solani* causadores de cancro-da-haste em batata, por meio das técnicas de pareamento de hifas entre isolados e sequenciamento da região ITS-5.8S do rDNA, constataram o grupamento *R. solani* AG-4 HGI.

Bueno *et al.* (2013) relataram a ocorrência de *R. solani* em crisântemo (*R. solani* AG-4 HGI) e em gipsófilo (*R. solani* AG-4 HG III) no estado de São Paulo e identificaram o grupamento de anastomose dos isolados por meio do sequenciamento da região ITS. Além disso, os autores reportaram a patogenicidade cruzada dos isolados nas culturas.

Tabela 3 - Identificação do grupamento de anastomose dos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros por meio do sequenciamento da região ITS.

Sequência – região ITS	Hospedeiro	% de identidade	Acession Number ¹	Grupo de anastomose
GCGGAAGGATCATTATTGAATTAATGTAGAGTTTGGTTGTAGCTGGCCCCTAAT TAACCTGGGGGCATGTGCACACCTTTCTCTTTCATCCATACACACCTGTGCAC CTGTGAGACAGATGTTTTCTAGGGGGAAGGAACCTTTATTGGACCTACTCTCC TTGGACTCTCTGTCTACTTAATCTATATAAACTCAATTTATTTAAAATGAATGTA ATGGATGTAACACATCTAATACTAAGTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGC ATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAG TGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCTTGGAGCAT GCCTGTTTGAGTATCATGAAATCTTCAAAGTCAAACCTTTTGTTAACTCAATTGG TTCTGCTTTGGTATTGGAGGTCTATTGCAGCTTCACACCTGCTCCTCTTTGTGC ATTAGCTGGATCTCAGTGTTATGCTTGGTTCCACTCAGCGTGATAAGTTATCTA TCGCTGAGGACACCCTGTAAAAAGGGGTGGCCAAGGTAAATGCAGATGAGC CGCTTCTAACAGTCCATTCACTTGGACAAATATTAATTTTATGATCTGATCTCAA ATCAGGTAGGCTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	Batata	99,9	KT970788.1	<i>R. solani</i> AG-4 HGI
Sequência similar	Eucalipto	99,9	KT970788.1	<i>R. solani</i> AG-4 HGI
Sequência similar	Crisântemo	99,9	KT970788.1	<i>R. solani</i> AG-4 HGI
Sequência similar	<i>Impatiens</i>	99,7	KJ170344.1	<i>R. solani</i> AG-4 HGI

Tabela 3 - Identificação do grupamento de anastomose dos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros por meio do sequenciamento da região ITS.

Sequência – região ITS	Hospedeiro	% de identidade	Acession Number ¹	Grupo de anastomose
GCGGAAGGATCATTATTGAATTTTATTAATGAGGAGTTGAGTTGTTGCTGGCCT TTTCTACCTTAATTTGGCAGGAGGGGCATGTGCACACCTTCTCTTTCATCCATC ACACCCCCTGTGCACTTGTGAGACAGCAATAGTTGGTGGATTTAATTCCATCAT CCATTTGCTGTCTACTTAATTTACACACACTCTACTTAATTTAAACTGAATGTAA TTGATGTAACGCATCTAATACTAAGTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCA TCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGT GAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTATTCTTGGAGCATG CCTGTTTGAGTATCATGAAATCTTCAAAGTAAACCTTTTGTTAATTCAATTGGTC TTTTTACTTTGGTTTTGGAGGATCTTATTGCAGCTTCACACCTGCTCCTCTTTG TGCATTAGCTGGATCTCAGTGTTATGCTTGGTTCCACTCGGCGTGATAAGTTAT CTATCGCTGAGGACACCCGTAAAAAAGGTGGCCAAGGTAAATGCAGATGAACC GCTTCTAATAGTCCATTGACTTGGACAATATTCTATTTTATGATCTGATCTCAAA TCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAA	Soja	100,0	KJ577141.1	<i>R. solani</i> AG 1 – IA

¹Isolado depositado no GenBank-NCBI com maior similaridade com o isolado de *Rhizoctonia* sp. do presente trabalho.

Kuninaga *et al.* (1997) relataram em seu estudo que o comportamento de anastomose hifal em *R. solani* pode ser indicativo de parentesco genético, mas nem sempre parece refletir as relações evolutivas que ocorrem entre diferentes AGs. Portanto, a análise da região ITS exibindo uma alta taxa de deriva pode não ser adequada como uma ferramenta filogenética em estudos do fitopatógeno. Outras comparações de sequências de regiões codificadoras de rDNA são necessárias para garantir a melhor compreensão das relações filogenéticas no complexo *R. solani*.

A partir da revisão de literatura, foi possível observar que os isolados do presente estudo de *R. solani* dos agrupamentos de anastomose AG-1 e AG-4 já são relatados no Brasil ocorrendo nas culturas da soja, batata, eucalipto e crisântemo (Bueno *et al.*, 2013; Seixas *et al.*, 2020; Silva-Barreto *et al.*, 2010). *R. solani* AG-4 e *R. binucleada* AG-F já são reportadas em outros países infectando culturas de impatiens e feijão, respectivamente. No presente estudo, relata-se pela primeira vez no Brasil a ocorrência de *R. solani* AG-4 nas culturas de manjerona e impatiens e *Rhizoctonia* binucleada AG-F na cultura do feijão.

4.2 Antagonismo *in vitro* dos agentes de controle biológico sobre *Rhizoctonia* sp. de cada hospedeiro

4.2.1 Bactérias antagonistas

De acordo com os dados da Tabela 3, os isolados de bactéria que controlaram o crescimento micelial dos isolados de *Rhizoctonia* sp. e sem diferenças significativas entre eles foram: *Xenorhabdus szentirmaii* – PAM 25, *X. doucetiae* – PONTO 1A e *Bacillus velezensis*. O isolado *X. szentirmaii* - PAM 25 apresentou um percentual médio de inibição micelial de *R. solani* variando de 30% a 65,3%, *X. doucetiae* – PONTO 1A de 25,9% a 100% e o isolado *B. velezensis* de 35,3% a 69,6%. Os isolados de *R. solani* de eucalipto, impatiens e batata foram os mais afetados pelas bactérias (Figuras 4 e 5).

A variabilidade dos percentuais de inibição micelial de *Rhizoctonia* entre os diferentes hospedeiros por um isolado de bactéria está relacionado com a especificidade em controlar ou reduzir o crescimento micelial do fitopatógeno.

A inibição do fitopatógeno *Rhizoctonia solani* por *Bacillus velezensis* também foi relatada por Meena *et al.* (2022), cuja atividade de inibição percentual do fitopatógeno

por biossurfactantes bacterianos foi de 88,4%. O estudo mostra que isso pode ocorrer devido à natureza anfífila do biossurfactante produzido por *B. velezensis*, que se liga à membrana celular dos fungos por interações hidrofóbicas, danificando-a.

Zhang *et al.* (2019) relataram o potencial do composto nematofina (NEP-1) de *Xenorhabdus nematophila* para uso como biopesticida na produção agrícola, onde o composto apresentou efeitos inibitórios sobre o crescimento micelial de *R. solani* e de *Phytophthora infestans*. O composto NEP-1 demonstrou eficácia preventiva e curativa significativa contra *R. solani* em folhas de fava, além de inibir eficazmente a extensão da doença em plantas de arroz e fava. A formação de escleródios, a maturação e a germinação de *R. solani* também foram significativamente inibidas pelo NEP-1, mesmo em concentração baixa.

Em um estudo realizado por Araújo, Henning e Hungria (2005), as estirpes selecionadas de *Bacillus subtilis*, AP-3 e PRBS-1, apresentaram potencial de utilização no controle biológico de cinco fungos fitopatogênicos via tratamento de sementes de soja, sendo estes: *Rhizoctonia solani*; *Colletotrichum truncatum*; *Sclerotinia sclerotiorum*; *Macrophomina phaseolina*; e *Phomopsis* sp. Além do controle dos fungos, foram detectados efeitos de metabólitos dessas duas cepas na promoção do crescimento radicular.

Em um experimento realizado por Wahyudi *et al.* (2018) com diferentes estirpes de *Bacillus* sp., isolados da rizosfera da planta de soja e que produzem o composto bioativo sideróforo, foram capazes de inibir os fungos fitopatogênicos *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. Os resultados deste estudo sugerem que o sideróforo produzido, que têm uma afinidade muito alta por ferro, funciona como supressor do crescimento destes fungos fitopatogênicos devido a baixa disponibilidade de ferro no ambiente.

Otoya-Martinez (2023) relatou a inibição do crescimento micelial ($\geq 85,0\%$) de *Sclerotinia sclerotiorum*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium oxysporum*, e *Botrytis cinerea* pelas bactérias entomopatogênicas *Xenorhabdus szentirmaii* e *Xenorhabdus doucetiae* filtradas na concentração de 20%.

Para seguir adiante com demais ensaios no presente estudo, optou-se por escolher os isolados de bactéria *Xenorhabdus szentirmaii* – PAM 25, *X. doucetiae* – PONTO 1A e *Bacillus velezensis*. O critério adotado foi o percentual médio de inibição micelial do fungo *Rhizoctonia* $\geq 40\%$.

Tabela 4 - Percentual de inibição do crescimento micelial dos isolados de *Rhizoctonia* sp. de cada planta hospedeira propiciado pelos isolados de bactérias antagonicas

Bactérias	Eucalipto	Manjerona	Crisântemo	Feijão	Impatiens	Batata	Soja	Média
<i>A. brasilense</i> (AZOS2)	0,0 aF	0,0 aE	0,0 aD	0,0 aC	0,0 aE	0,0 aE	0,0 aE	0,0 J
<i>B. amyloliquefaciens</i> (AMYLO)	39,7 aB	35,9 aB	29,6 aB	34,7 aA	38,2 aB	39,7 aB	0,0 bE	31,1 B
<i>B. licheniformis</i> (BL)	3,5 bE	0,0 bE	7,7 bD	0,0 bC	16,5 aC	3,5 bE	0,0 bE	4,5 H
<i>B. licheniformis</i> (CYTO2)	2,5 bE	2,9 bD	9,0 aC	0,0 bC	13,5 bC	2,5 bD	4,7 bE	5,0 G
<i>B. pumilus</i> (BP)	5,9 bD	2,9 cD	1,8 cD	11,5 aB	14,4 aC	5,9 bD	21,2 aD	9,1 F
<i>B. subtilis</i> (BS)	23,8 aC	21,2 aC	1,5 bD	17,6 aB	32,6 aB	23,8 aC	16,8 aD	19,6 C
<i>B. thuringiensis</i> (BT2)	15,3 aD	4,1 bD	1,5 cD	7,1 bC	16,2 aC	10,6 bD	25,6 aC	11,5 F
<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> (BTK)	30,6 aC	1,8 cD	24,7 bB	18,2 bB	14,3 bC	30,6 aC	0,0 cE	17,2 D
<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>thuringiensis</i> (BTT1)	24,7 aC	18,5 bC	23,3 bB	11,5 bB	29,6 aB	24,7 aC	14,1 bD	20,9 C
<i>B. velezensis</i> (BV)	47,1 bB	35,3 bB	69,6 aA	43,8 bA	51,8 bA	47,1 bB	38,8 bB	47,6 A
<i>Bacillus</i> sp. (427B6)	12,9 aD	0,0 cE	13,9 aC	0,0 cC	5,7 bD	12,9 aD	0,0 cE	6,5 G

Tabela 4 - Percentual de inibição do crescimento micelial dos isolados de *Rhizoctonia* sp. de cada planta hospedeira propiciado pelos isolados de bactérias antagonicas

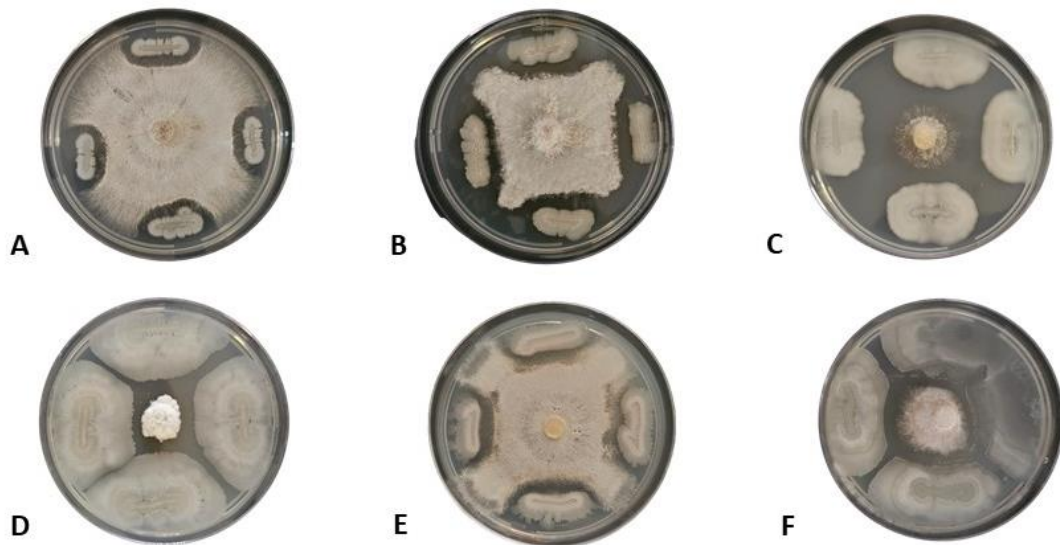
Bactérias	Eucalipto	Manjerona	Crisântemo	Feijão	Impatiens	Batata	Soja	Média
<i>Bacillus</i> sp. (447B3)	10,3 aD	0,0 bE	18,0 aC	0,0 bC	23,9 aC	10,3 aD	0,0 bE	8,9 G
<i>Bacillus</i> sp. (447B4)	28,5 bC	19,4 bC	25,8 bB	42,4 aA	41,1 aB	28,5 bC	31,8 bC	31,1 B
<i>C. firmus</i> (CF)	0,0 cF	16,8 aC	7,4 bD	8,2 bC	10,3 aC	0,0 cE	0,0 cE	6,1 G
<i>C. subtsugae</i> (CS)	22,4 aC	30,0 aB	23,1 aB	2,9 bC	20,3 aC	22,4 aC	12,1 aD	19,0 C
<i>K. griseola</i> (8.CUPIM)	27,5 aC	5,3 bD	11,3 bC	19,9 aB	16,7 aC	27,5 aC	27,6 aC	19,4 C
<i>P. aryabhattai</i> (PA)	1,5 bE	0,0 bE	0,6 bD	0,0 bC	7,1 aD	0,0 bE	0,0 bE	1,3 I
<i>P. asaccharolyticum</i> (F2)	0,0** a ¹ F ²	0,0 aE	0,2 aD	0,0 aC	0,0 aE	0,0 aE	0,0 aE	0,0 J
<i>P. fluorescens</i> (PF)	7,1 aD	14,4 aC	13,5 aC	5,0 aC	12,6 aC	7,1 aD	0,0 bE	8,5 F
<i>P. luminescens</i> (HB)	34,1 aC	30,0 aB	0,0 bD	0,0 bC	32,4 aB	34,1 aC	0,0 bE	18,7 E
<i>P. megaterium</i> (PM)	27,4 aC	14,4 bC	20,1 bB	0,0 cC	3,9 cD	27,4 aC	0,0 cE	13,3 F
<i>P. protegens</i> (PP)	30,9 aC	15,3 bD	15,5 bC	8,2 bC	8,2 bC	26,6 aC	15,3 bD	17,1 D

Tabela 4 - Percentual de inibição do crescimento micelial dos isolados de *Rhizoctonia* sp. de cada planta hospedeira propiciado pelos isolados de bactérias antagonicas

Bactérias	Eucalipto	Manjerona	Crisântemo	Feijão	Impatiens	Batata	Soja	Média
<i>P. protegens</i> (F4)	89,1 aA	0,0 cE	14,7 bC	0,0 cC	15,3 bC	89,1 aA	0,0 cE	29,8 C
<i>P. putida</i> (PP1)	4,1 aE	0,0 aE	1,8 aD	2,4 aC	2,9 aD	1,3 aE	0,0 aE	1,8 I
<i>Photorhabdus</i> sp. (UEL8)	35,3 aB	31,5 aB	35,3 aB	32,1 aA	33,8 aB	35,3 aC	18,5 bD	31,7 B
<i>Photorhabdus</i> sp. (UEMP5)	34,6 aC	32,9 aB	1,8 bD	31,5 aA	31,5 aB	34,6 aC	3,5 bE	24,3 C
<i>X. doucetiae</i> (PONTO1A)	33,5 bC	28,8 bB	25,9 bB	34,7 bA	41,2 bB	33,5 bC	100,0 aA	42,5 A
<i>X. szentirmaii</i> (PAM25)	49,4 bB	54,1 bA	65,3 aA	30,0 cA	61,0 aA	49,4 bB	47,6 bB	51,0 A
Média	22,9 a	14,8 b	16,5 b	12,9 c	21,3 a	22,4 a	13,5 c	

** Média de dois ensaios – oito repetições; ¹Duas letras minúsculas iguais ou mais na linha significa que não há diferença entre *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros fixado a bactéria, segundo o teste de Scott-Knott a 5% de significância; ²Duas letras maiúsculas iguais ou mais na coluna significa que não há diferença entre as bactérias fixado a *Rhizoctonia* sp. de determinado hospedeiro, segundo o teste de Scott-Knott a 5% de significância. CV = 8,6%

Figura 4 - Inibição do crescimento micelial dos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros propiciado por *Bacillus velezensis*

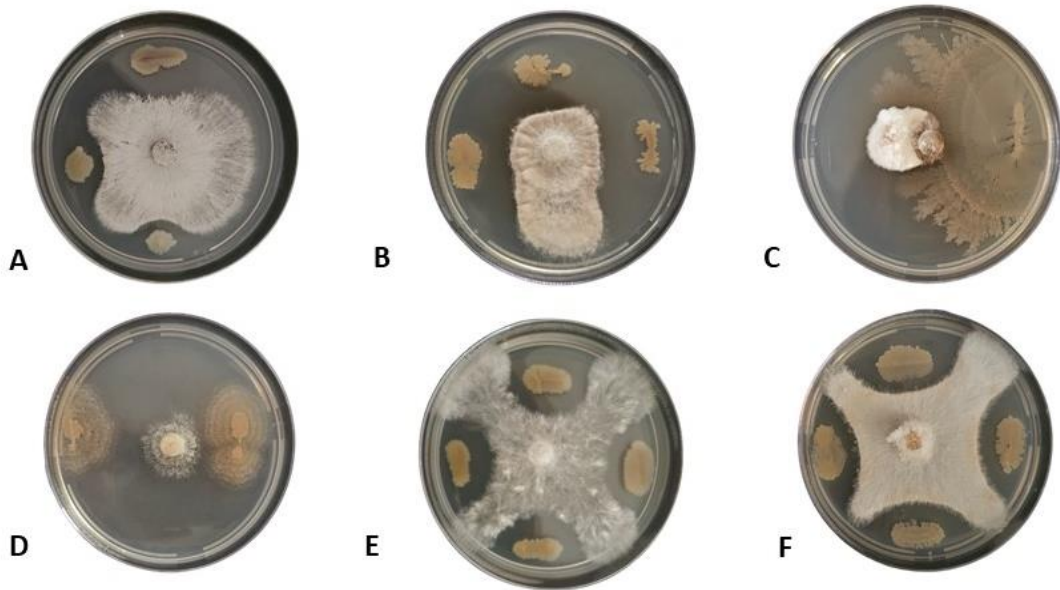


Antagonismo *in vitro* de *Bacillus velezensis* frente aos isolados de *Rhizoctonia* sp. dos seguintes hospedeiros: A= Manjerona; B= *Impatiens*; C= Feijão; D= Eucalipto; E= Batata; e F= Crisântemo.

Fonte: DIOGO (2025).

Na imagem A e B da Figura 5 pode-se observar o crescimento micelial de *Rhizoctonia* de manjerona e crisântemo, respectivamente, sobre o isolado de *Xenorhabdus szentirmaii* (PAM 25), inibindo o crescimento da bactéria.

Figura 5 - Inibição do crescimento micelial dos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros propiciado por *Xenorhabdus szentirmai* – PAM 25



Antagonismo *in vitro* de *Xenorhabdus szentirmai* - PAM25 frente os isolados de *Rhizoctonia* sp. dos seguintes hospedeiros: A= Manjerona; B=Crisântemo; C= Feijão; D= Eucalipto; E= Soja; e F= *Impatiens*
Fonte: DIOGO (2025).

4.2.2 *Trichoderma* spp. antagonistas

De acordo com os dados da Tabela 4 e com o critério de Bell et al. (1982), um bom antagonista de *Trichoderma* spp. é aquele que apresenta uma nota de antagonismo contra fitopatógeno $\leq 2,0$. Os isolados *T. lentiforme* - IB 04/08, *T. lentiforme* – 30/07 seguidos por *T. endophyticum* - LQC99 e *T. inhamatum* – IB 37/01 demonstraram ser potenciais antagonistas para o fitopatógeno *Rhizoctonia* de diferentes hospedeiros. Os isolados de *R. solani* de eucalipto, batata e crisântemo foram os mais afetados por *Trichoderma*. Analisando todos os *Trichoderma* frente aos isolados de *Rhizoctonia*, constatou-se que os dois melhores isolados antagônicos para controlar *Rhizoctonia* foram *T. lentiforme* – IB 04/08 e *T. virens* - IB 48/19 com notas de antagonismo variando de 1,8 até 4,8 (Figura 06).

Heflish et al. (2021) relataram a diminuição da incidência da doença causada por *R. solani* em tomateiro devido ao tratamento com *T. asperelloides* Ta41, além de promover o crescimento do tomateiro.

Em experimento realizado *in vitro* em laboratório, um isolado de *T. viride* apresentou uma percentagem máxima de 74,5% de inibição micelial de *R. solani* (Omara *et al.*, 2018).

Para seguir adiante com os demais ensaios no presente estudo, optou-se por escolher os isolados *T. lentiforme* - IB 04/08 e *T. endophyticum* - LQC99. O critério adotado foi a maior quantidade de nota de antagonismo $\leq 2,0$ ou mais próximo de 2,0 causado pelos isolados de *Trichoderma* contra o fungo *Rhizoctonia* de cada planta hospedeira.

Tabela 5 - Nota média de antagonismo *in vitro* dos isolados de *Trichoderma* spp. frente aos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros

<i>Trichoderma</i>	Eucalipto	Manjerona	Crisântemo	Feijão	Impatiens	Batata	Soja	Média	Nº notas ≤2,0
<i>T. asperelloides</i> (IB 48/19)	2,0** a ¹ A ²	4,0 cB	2,0 aA	4,0 cD	3,0 bC	2,0 aA	4,8 dD	3,1 D	03
<i>T. virens</i> (LQC 96)	2,0 aA	4,0 cB	2,0 aA	3,0 bB	2,8 bB	2,0 aA	4,0 cC	2,8 C	03
<i>T. endophyticum</i> (LQC 99)	2,0 aA	3,0 bA	2,0 aA	3,0 bB	2,1 aA	2,0 aA	4,0 cC	2,6 B	03
<i>T. orientale</i> (IB 32/06)	2,0 aA	3,8 dB	2,0 aA	3,3 cC	2,5 bB	2,0 aA	4,0 dC	2,8 C	03
<i>T. inhamatum</i> (IB 37/01)	2,0 aA	3,1 bA	2,0 aA	3,4 bC	2,3 aA	2,0 aA	3,7 cC	2,6 B	03
<i>T. asperelloides</i> (IB 46/11)	2,4 bA	4,0 dB	2,5 bB	3,9 dD	3,8 dD	2,0 aA	3,4 cB	3,1 D	01
<i>T. lentiforme</i> (IB 30/07)	2,0 aA	3,0 dA	2,0 aA	2,9 dB	2,4 dB	2,0 aA	2,5 cA	2,4 A	03
<i>T. lentiforme</i> (IB 04/08)	1,8 aA	2,8 bA	1,9 aA	2,0 aA	2,0 aA	2,0 aA	4,0 cC	2,4 A	05
Média	2,0 a	3,5 d	2,1 a	3,2 c	2,6 b	2,0 a	3,8 e		

Escala de notas de antagonismo - 1 a 5: nota 1= *Trichoderma* spp. supera completamente o patógeno e cobre toda a superfície do meio; e nota 5= o patógeno cresce completamente sobre o *Trichoderma* spp. e ocupa toda a superfície do meio

** Média de dois ensaios – oito repetições; ¹Duas letras minúsculas iguais ou mais na linha significa que não há diferença entre *R. solani* de diferentes hospedeiros fixado o *Trichoderma*, segundo o teste de Scott-Knott a 5% de significância; ²Duas letras maiúsculas iguais ou mais na coluna significa que não há diferença entre os *Trichodermas* fixado a *Rhizoctonia* sp. de determinado hospedeiro, segundo o teste de Scott-Knott a 5% de significância. CV= 13,2%

Figura 6 - Inibição do crescimento micelial dos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros propiciado por *Trichoderma lentiforme* - IB 04/08

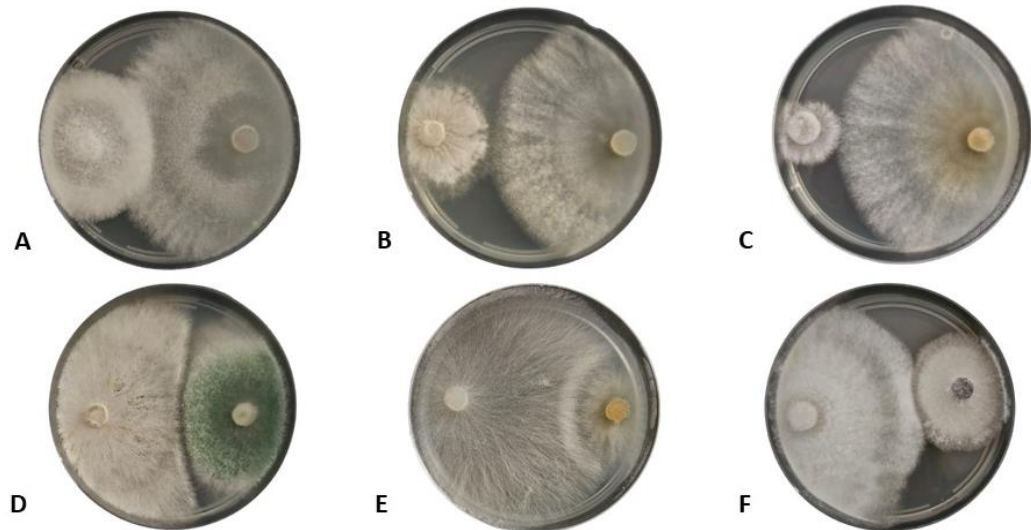


Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma lentiforme* - IB 04/08 frente aos isolados de *Rhizoctonia* sp. dos seguintes hospedeiros: A= *Impatiens*; B= Feijão; C= Manjerona; D= Eucalipto; E= Crisântemo; e F= Soja

Fonte: DIOGO (2025).

Nas imagens A, B e D da Figura 6 pode-se observar o *T. lentiforme* – IB 04/08 do lado esquerdo da placa. Em A e B, o agente de controle biológico superou pelo menos dois terços da superfície do meio e em D superou completamente o patógeno oriundo de eucalipto, cobrindo toda a superfície do meio. Também, nas imagens C, E e F observa-se que *T. lentiforme* – IB 04/08 do lado direito da placa. Em C e E, o agente de controle biológico superou pelo menos dois terços da superfície do meio e em F o patógeno colonizou pelo menos dois terços da superfície do meio, parecendo resistir à invasão por *T. lentiforme* – IB 04/08.

Figura 7 - Inibição do crescimento micelial dos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros propiciado por *Trichoderma endophyticum* - LQC99



Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma endophyticum* - LQC99 frente aos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros: A= *Impatiens*; B= Crisântemo; C= Eucalipto; D= Manjerona; E= Soja; e F= Batata

Fonte: DIOGO (2025).

Nas imagens A, B, C, D e E da Figura 7, observa-se *T. endophyticum* - LQC99 do lado direito da placa. Em A, B e C, o agente de controle biológico superou pelo menos dois terços da superfície do meio e em D e E os isolados de *Rhizoctonia* colonizaram pelo menos dois terços da superfície do meio, parecendo resistir à invasão por *T. endophyticum* - LQC99. Também na imagem F, observa-se que *T. endophyticum* - LQC99 do lado esquerdo da placa supera em pelo menos dois terços da superfície do meio frente a *Rhizoctonia* obtido de batata.

4.3 Teste de compatibilidade entre os isolados de *Trichoderma* e de bactérias selecionados

Constatou-se um halo médio de inibição de 0,7 cm entre o isolado de *T. lentiforme* (IB04/08) com os isolados das bactérias *B. velezensis* e *X. szentirmaii* PAM25 (Tabela 5).

Tabela 6 – Teste de compatibilidade entre *Trichoderma lentiforme* - IB04/08 com os melhores isolados de bactérias antagonicas selecionados

Bactérias	Halo médio de inibição (cm)
<i>Bacillus velezensis</i>	0,7**
<i>Xenorhabdus doucetiae</i> (PONTO1A)	0,8
<i>Xenorhabdus szentirmaii</i> (PAM25)	0,7

** Média de dois ensaios – 8 repetições

Figura 8 – Compatibilidade entre *Trichoderma lentiforme* - IB04/08 com os isolados de bactérias selecionados



Compatibilidade entre *Trichoderma lentiforme* - IB04/08 com os isolados de bactérias selecionados: A= *Xenorhabdus doucetiae* - PONTO1A; B= *Xenorhabdus szentirmaii* - PAM25; e C= *Bacillus velezensis*
Fonte: DIOGO (2025).

Observou-se um halo médio de inibição de 0,6 cm e 0,7 cm entre os isolados das bactérias *X. doucetiae* - PONTO1A e *X. szentirmaii* PAM25, respectivamente, com o isolado de *T. endophyticum* (LQC99). Porém, frente a estirpe *B. velezensis*, o antagonista *T. endophyticum* (LQC99) apresentou um halo médio de inibição de 1,7 cm (Tabela 6).

Com a finalidade de avaliar a compatibilidade dos microrganismos, Braga (2021) relatou que a interação entre *Bacillus subtilis* e *Trichoderma asperellum* apresentou potencial para utilização conjunta no controle de doenças em soja, com potencial efeito sinérgico. Porém, a interação entre *B. methylotrophicus* e *T. asperellum* apresentou redução dos esporos viáveis, indicando a possibilidade de efeito antagonico na utilização conjunta desses microrganismos.

Como critério para haver mistura entre os antagonistas, *Trichoderma* e bactéria, optou-se por um halo médio de inibição entre eles $\leq 1,0$. Acima disto, os antagonistas

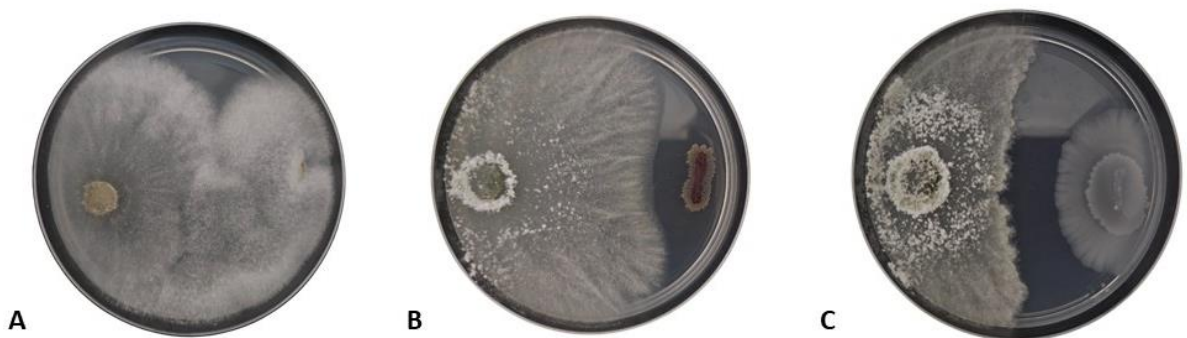
não devem ser aplicados juntos na planta hospedeira para controlar o fitopatógeno *Rhizoctonia*. Assim, a interação dos melhores antagonistas será testada pelas seguintes combinações: *X. szentirmaii* (PAM25) + *T. lentiforme* (IB04/08); *T. endophyticum* (LQC99) + *B. velezensis* e *X. szentirmaii* (PAM25) + *T. endophyticum* (LQC99). O isolado de *B. velezensis* foi escolhido também pelo fato de propiciar teste com gêneros diferentes de bactérias antagonicas sobre os isolados de *Rhizoctonia*.

Tabela 7 - Teste de compatibilidade entre *Trichoderma endophyticum* (LQC99) com as melhores isolados de bactérias selecionados

Bactérias	Halo médio de inibição (cm)
<i>Bacillus velezensis</i>	1,7**
<i>Xenorhabdus doucetiae</i> (PONTO1A)	0,6
<i>Xenorhabdus szentirmaii</i> (PAM25)	0,7

** Média de dois ensaios – 8 repetições

Figura 9 – Compatibilidade entre *Trichoderma endophyticum* (LQC99) com os isolados de bactérias selecionados



Compatibilidade entre *Trichoderma endophyticum* e (LQC99) com os isolados de bactérias selecionados: A= *Xenorhabdus doucetiae* - PONTO1A; B= *Xenorhabdus szentirmaii* - PAM25; e C= *Bacillus velezensis*

Fonte: DIOGO (2025).

4.4 Teste de compatibilidade entre princípio ativo e agente de controle biológico selecionados

Tanto o princípio ativo Fluazinam quanto o Tiofanato-Metílico (Tabelas 7 e 8) apresentaram compatibilidade com os agentes de controle biológico porquê não houve halo de inibição significativo (Figuras 10 e 11).

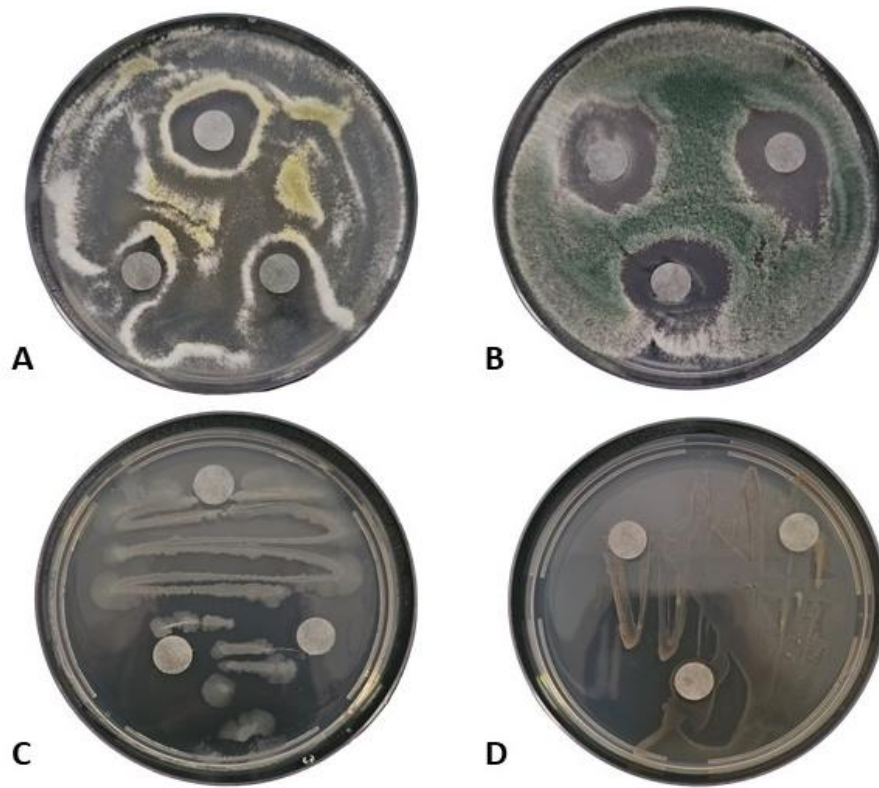
Silva *et al.* (2006) utilizaram a técnica de papel de filtro impregnado com fungicida para avaliar a compatibilidade entre *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Btk) com os fungicidas Epoxiconazole, Azoxystrobin, Tebuconazole, Carbendazin e Fentin hidróxido. Epoxiconazole e Azoxystrobin e Carbendazin (metade da concentração recomendada) foram classificados como compatíveis com Btk, pois não houve formação de halo de inibição em nenhuma repetição. Por outro lado, Tebuconazole foi classificado como parcialmente compatível com as células de Btk. Por último, Fentin hidróxido foi o único produto classificado como incompatível, pois apresentou halo de inibição em todos os discos. No presente estudo e utilizando também a técnica de papel de filtro impregnado com a calda dos fungicidas, fluazinam e tiofanato metílico foram compatíveis com os antagonistas selecionados (Tabela 7 e 8).

Tabela 8 – Teste de compatibilidade entre os agentes de controle biológico e princípio ativo Fluazinam

Agentes biológico	Halo médio de inibição (mm)
<i>Trichoderma endophyticum</i> (LQC99)	0,0**
<i>Xenorhabdus szentirmaii</i> (PAM25)	0,0
<i>Bacillus velezensis</i>	0,0
<i>Trichoderma lentiforme</i> (IB04/08)	0,0

** Média de dois ensaios – 8 repetições

Figura 10 – Compatibilidade entre os agentes de controle biológico e o princípio ativo Fluazinam



Compatibilidade entre agentes de controle biológico e o fungicida Frowncide 500 SC: A= *Trichoderma endophyticum* - LQC99; B= *Trichoderma lentiforme* - IB04/08; C= *Bacillus velezensis*; D= *Xenorhabdus szentirmaii* - PAM25

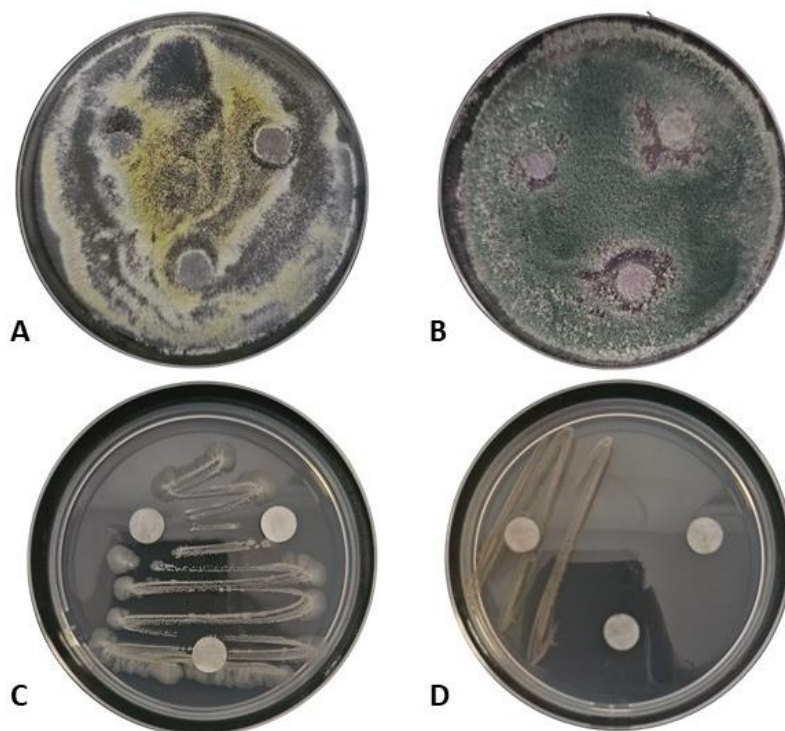
Fonte: DIOGO (2025).

Tabela 9 - Teste de compatibilidade entre os agentes de controle biológico e o princípio ativo Tiofanato-Metílico

Agentes	Halo médio de inibição (mm)
<i>Trichoderma endophyticum</i> (LQC99)	0,0**
<i>Xenorhabdus szentirmaii</i> (PAM25)	0,0
<i>Bacillus velezensis</i>	0,0
<i>Trichoderma lentiforme</i> (IB04/08)	0,0

** Média de dois ensaios – 8 repetições

Figura 11 – Compatibilidade entre os agentes de controle biológico e o princípio ativo Tiofanato-Metílico



Compatibilidade entre agentes de controle biológico e Cercobin 700 SC: A= *Trichoderma endophyticum* - LQC99; B= *Trichoderma lentiforme* - IB04/08; C= *Bacillus velezensis*; D= *Xenorhabdus szentirmaii* - PAM25

Fonte: DIOGO (2025).

4.5 Antagonismo *in vitro* de um biofungicida comercial sobre *Rhizoctonia* sp. proveniente de diferentes hospedeiros

De acordo com os dados da Tabela 9 e com o critério de Bell *et al.* (1982) para um bom antagonista (nota de antagonismo contra fitopatógeno $\leq 2,0$) observou-se que o produto biológico Pardella® sólido não propiciou um bom controle *in vitro* do fitopatógeno *Rhizoctonia* proveniente de diferentes hospedeiros. A nota média de antagonismo variou de 3,4 a 4,0 (Figura 12).

Em contraste com os resultados obtidos do bioproduto comercial no presente estudo, Portolan *et al.* (2020) testaram o bioproduto Trichodermil 1306 sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* em mudas de tomateiro. Os autores destacaram que a concentração de 100% do biofungicida foi a mais eficiente para o tratamento de

sementes de tomate contra o fungo. Embora esta concentração não tenha diferido da menor dosagem utilizada, 50%.

Ao comparar os resultados do bioproduto Pardella® com os dois isolados de *Trichoderma* spp. testados *in vitro* no item 4.2.2, visando o controle biológico de *Rhizoctonia* de diferentes hospedeiros, constatou-se melhor desempenho dos isolados de *Trichoderma* spp., que apresentaram uma nota média de antagonismo de 2,4 a 2,6 contra 3,4 a 4,0 do Pardella®. Portanto, o produto biológico Pardella® não foi selecionado para ser utilizado no ensaio *in vivo* visando compará-lo com os demais tratamentos visando o controle biológico de *Rhizoctonia* de diferentes hospedeiros.

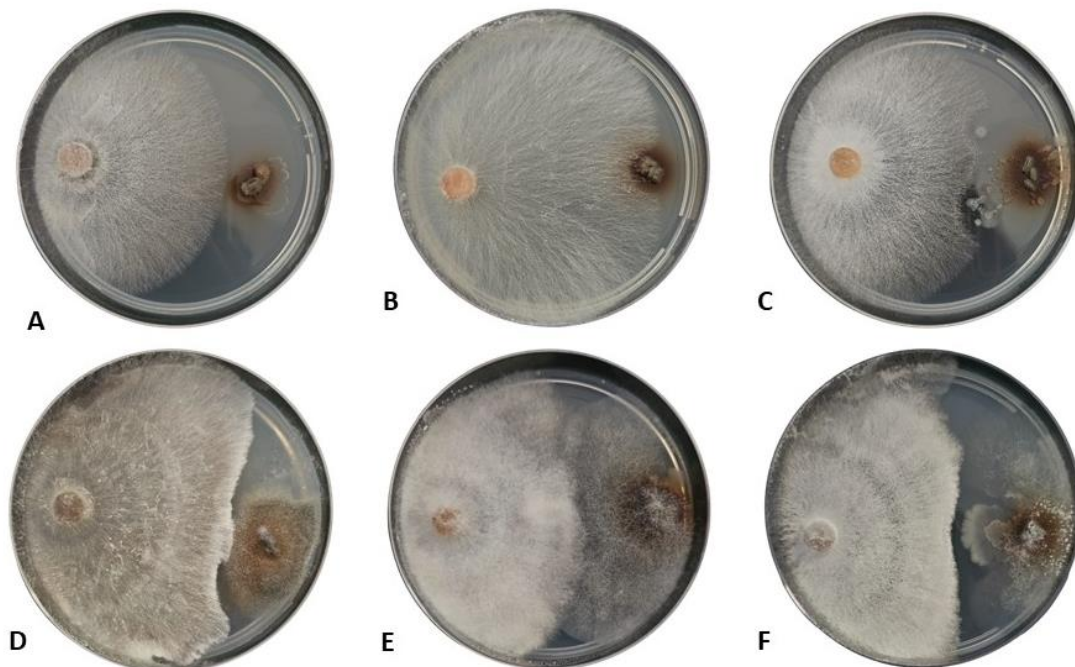
Tabela 10 – Antagonismo propiciado pelo bioproduto comercial Pardella® (*Trichoderma harzianum*, *T. asperellum* e *Bacillus amyloliquefaciens*) sólido frente aos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros

<i>Rhizoctonia solani</i> / Hospedeiros	Nota média de antagonismo
Batata	3,8** b ¹
Crisântemo	3,4 a
Eucalipto	4,0 b
Feijão	4,0 b
<i>Impatiens</i>	3,4 a
Manjerona	4,0 b
Soja	4,0 b

Escala de notas de antagonismo - 1 a 5: nota 1= Pardella® supera completamente o patógeno e cobre toda a superfície do meio; e nota 5= o patógeno cresce completamente sobre o Pardella® e ocupa toda a superfície do meio

** Média de dois ensaios – 8 repetições; ¹Duas letras minúsculas iguais ou mais significa que não há diferença no controle entre *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros. CV= 14,8%

Figura 12 – Antagonismo *in vitro* do bioproduto Pardella® (*Trichoderma harzianum*, *T. asperellum* e *Bacillus amyloliquefaciens*) sólido frente aos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros



Antagonismo *in vitro* de Pardella® sólido frente aos isolados de *Rhizoctonia* sp.: A= Eucalipto; B= Soja; C= Manjerona; D= Feijão; E= *Impatiens*; e F= Batata

Fonte: DIOGO (2025).

O bioproduto Pardella® em solução apresentou um percentual de inibição micelial de *Rhizoctonia* de diferentes hospedeiros variando de 22,1% até no máximo 47,0% (Tabela 10).

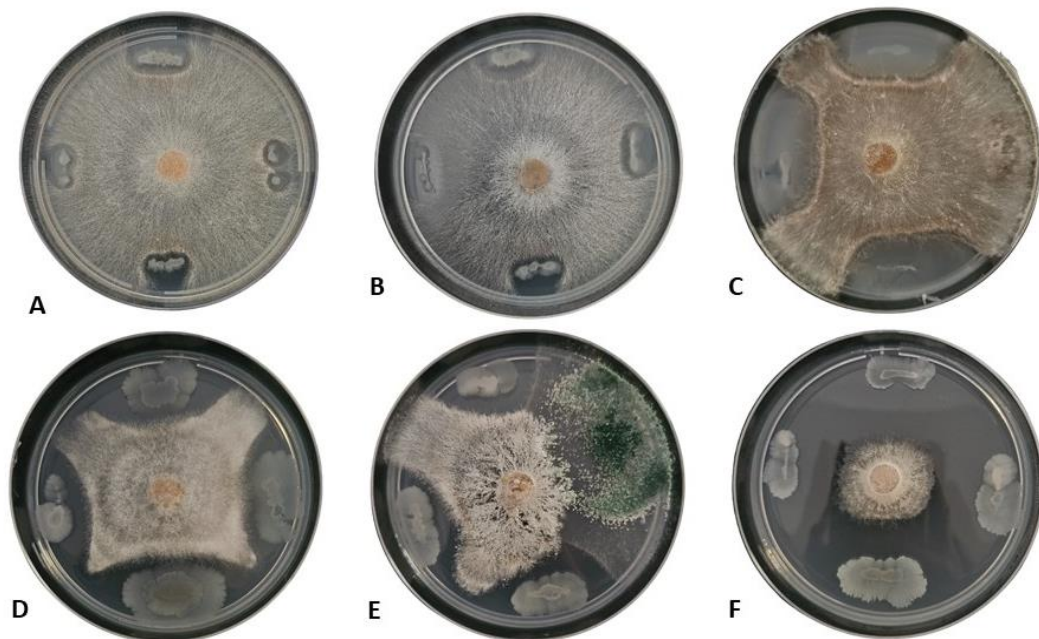
Ao comparar os resultados do bioproduto com os dos isolados de bactérias testadas *in vitro* no item 4.2.1 visando o controle biológico sobre *Rhizoctonia*, foi constatado o melhor desempenho dos isolados de bactérias, que apresentaram um percentual de inibição micelial variando 30,0 a 100%. Isso demonstra novamente que o produto biológico Pardella® não deve ser utilizado no estudo *in vivo* visando o controle de *Rhizoctonia* de diferentes hospedeiros.

Tabela 11 – Percentual de inibição micelial dos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros pelo bioproduto Pardella® (*Trichoderma harzianum*, *T. asperellum* e *Bacillus amyloliquefaciens*) em solução

<i>R. solani</i> / Hospedeiros	Crescimento micelial médio (cm)	Crescimento micelial médio (cm) Controle	Percentual de inibição micelial
Batata	4,4**	6,9	36,9 b ¹
Crisântemo	3,2	6,0	47,0 a
Eucalipto	6,1	8,5	28,0 c
Feijão	5,9	8,5	30,4 c
<i>Impatiens</i>	4,6	8,5	46,5 a
Manjerona	6,0	8,5	29,9 c
Soja	6,6	8,5	22,1 c

** Média de dois ensaios – 8 repetições; ¹Duas letras minúsculas iguais ou mais significa que não há diferença no controle entre *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros. CV= 10,1%

Figura 13 - Antagonismo *in vitro* do bioproduto Pardella® (*Trichoderma harzianum*, *T. asperellum* e *Bacillus amyloliquefaciens*) em solução frente aos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros



Antagonismo *in vitro* de Pardella® em solução frente aos isolados de *Rhizoctonia* sp.: A= Eucalipto; B= Manjerona; C= Feijão; D= *Impatiens*; E= Batata; e F= Crisântemo

Fonte: DIOGO (2025).

4.6 Ação de princípio ativo sobre *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros

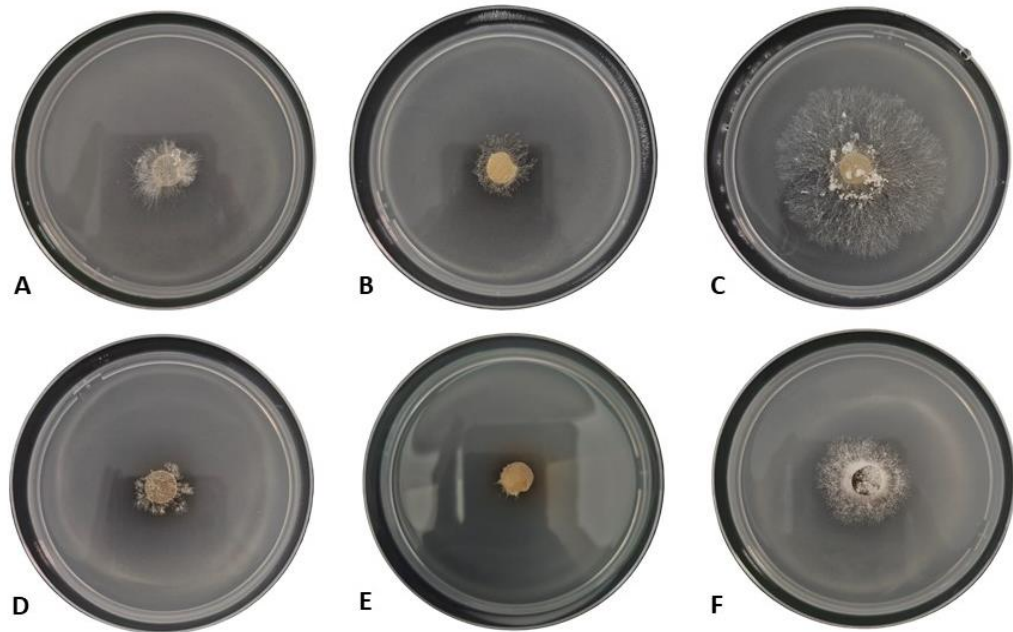
O princípio ativo Tiofanato-Metílico (Tabela 11 e Figura 14) só não foi eficiente para controlar *Rhizoctonia* binucleada AG-F de feijoeiro (33,1%), enquanto que para *R. solani* dos demais hospedeiros o percentual médio de inibição micelial variou de 49,6% a 89,0%. Esses percentuais demonstram que esse fungicida pode ser indicado para controlar o fungo nessas plantas hospedeiras.

Tabela 12 - Percentual de inibição micelial dos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros pelo princípio ativo Tiofanato Metílico

<i>R. solani</i> / Hospedeiros	Crescimento micelial médio (cm)	Crescimento micelial médio (cm) Controle	Percentual de inibição micelial
Manjerona	1,5	8,5	82,4** b ¹
Soja	2,3	8,5	73,2 c
Feijão	5,7	8,5	33,1 e
<i>Impatiens</i>	2,3	8,2	72,0 c
Batata	0,9	8,0	89,0 a
Eucalipto	1,6	8,5	81,4 b
Crisântemo	2,8	5,6	49,6 d

**Média de dois ensaios – 8 repetições; ¹Duas letras minúsculas iguais ou mais significa que não há diferença no controle entre *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros. CV= 6,9%

Figura 14 – Inibição micelial dos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros pelo fungicida Cercobin 700 SC® (princípio ativo Tiofanato-Metílico)



Antagonismo *in vitro* de Cercobin 700 SC® frente aos isolados de *Rhizoctonia* sp.: A= Soja; B= Manjerona; C= Feijão; D= Eucalipto; E= Batata; e F= Crisântemo

Fonte: DIOGO (2025).

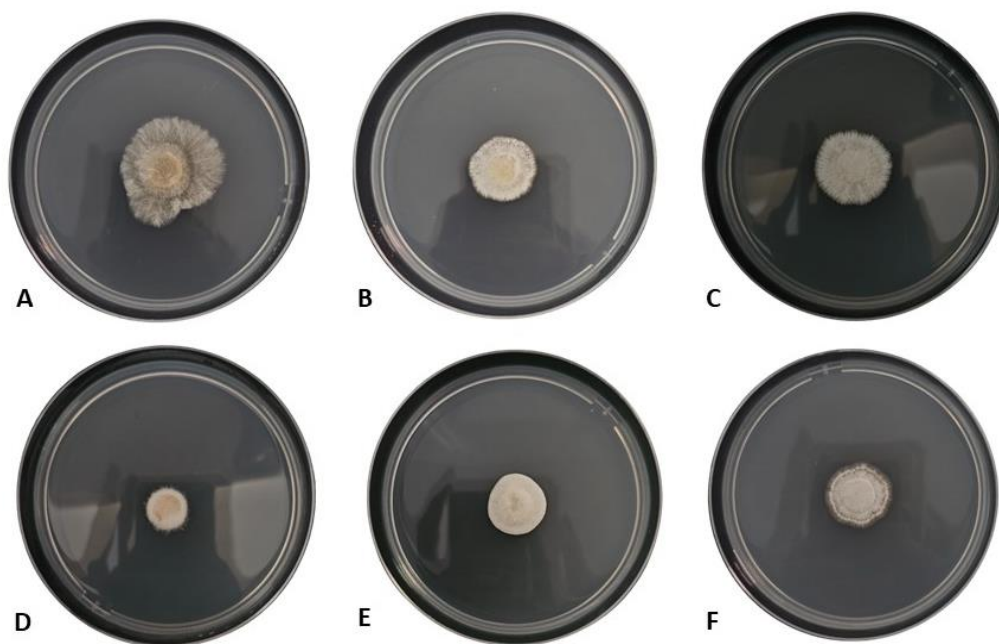
O fungicida Frowncide 500 SC® (princípio ativo Fluazinam) controlou eficientemente o crescimento micelial de *Rhizoctonia* proveniente de todos os hospedeiros, com um percentual de controle micelial do fungo variando de 66,8% a 80,6% (Tabela 12 e Figura 15). Esses percentuais demonstram que esse fungicida também pode ser indicado para controlar o fungo nessas plantas hospedeiras.

Tabela 13 – Percentual de inibição micelial dos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros pelo princípio ativo Fluazinam

<i>R. solani</i> / Hospedeiros	Crescimento micelial médio (cm)	Crescimento micelial médio (cm) Controle	Percentual de inibição micelial
Manjerona	2,1	8,5	75,9** b ¹
Soja	1,7	8,5	80,6 a
Feijão	2,8	8,5	66,8 d
Impatiens	1,7	8,2	79,8 a
Batata	2,3	8,0	71,6 c
Eucalipto	2,1	8,5	75,5 b
Crisântemo	1,8	5,6	68,6 d

**Média de dois ensaios – 8 repetições; ¹Duas letras minúsculas iguais ou mais significa que não há diferença no controle entre *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros. CV= 5,9%

Figura 15 - Inibição do crescimento micelial dos isolados de *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros pelo princípio ativo Fluazinam



Antagonismo *in vitro* de Frownicide 500 SC® frente aos isolados de *Rhizoctonia* sp.: A= Feijão; B= Eucalipto; C= Batata; D= *Impatiens*; E= Crisântemo; e F= Manjerona

Fonte: DIOGO (2025).

Meyer *et al.* (2006) relataram que o ácido salicílico e o acibenzolar-s-metil, mesmo nas menores concentrações (50% e 90%), diminuíram a severidade do

crestamento foliar causado por *R. solani* AG-1 IA em soja em aplicações 10 dias antes da inoculação do patógeno. O efeito do acibenzolar-s-metil no crescimento micelial do patógeno pode ter sido promovido por algum ingrediente usado na formulação do produto comercial de Bion®. Os ativadores de resistência podem ter melhor desempenho no controle de crestamento foliar por *Rhizoctonia* em soja quando aplicados junto com um fungicida. No presente estudo, os princípios ativos tiofanato metílico e fluazinam controlaram eficientemente o crescimento micelial de *R. solani* AG-1 IA, com percentuais de 73,2% e 80,6% respectivamente.

Em estudo realizado por Chitarra, Goulart e Zorato (2008), foi avaliado o efeito de diversos fungicidas, utilizados em tratamento de sementes de algodão, no controle de patógenos associados às sementes e/ou presentes no solo. A partir dos ensaios realizados, foi possível observar que a mistura dos fungicidas Tolyfluanid+Pencycuron+Triadimenol proporcionou o melhor controle dos fungos *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e *Rhizoctonia solani*, diferentemente das misturas Carboxin+Thiram e Fluazinam+Tiofanato metílico.

4.7 Ação *in vivo* dos agentes de controle biológico sobre *Rhizoctonia* sp. de diferentes hospedeiros

4.7.1 *R. solani* AG1-IA de soja – tratamento de semente

O tratamento que apresentou o melhor resultado no controle de *R. solani* AG1-IA em sementes de soja foi *T. endophyticum* - LQC99 + *B. velezensis*. Esse tratamento propiciou 87,5% de sementes germinadas, ausência de incidência e de severidade da doença, comportamento esse semelhante ao tratamento controle negativo (Tabela 13 e Figura 15). Esse tratamento não se diferenciou significativamente dos tratamentos como fungicida e da interação *X. szentirmaii* (PAM25) + *T. endophyticum* (LQC99) com relação a severidade da doença (Tabela 13).

Tabela 14 - Princípio ativo e agentes de controle biológico empregados preventivamente no tratamento de semente de soja visando o controle e *Rhizoctonia solani* AG1-IA

Tratamentos	% sementes germinadas	% incidência da doença	% severidade da doença
Controle negativo	87,5	0,0	0,0** a ¹
Tiofanato-Metílico+Fluazinam	100,0	62,5	20,8 a
Controle positivo (<i>R. solani</i> AG1-IA)	75,0	87,5	50,0 b
<i>T. endophyticum</i> (LQC99) + <i>B. velezensis</i>	87,5	0,0	0,0 a
<i>X. szentirmaii</i> (PAM25) + <i>T. endophyticum</i> (LQC99)	100,0	62,5	20,8 a
<i>X. szentirmaii</i> (PAM25) + <i>T. lentiforme</i> (IB04/08)	37,5	62,5	62,5 b

Escala de notas de severidade da doença – 1 a 4: nota 1 ou 100% de doença= semente sem nenhuma emissão de radícula; nota 2 ou 66,66% de doença= semente com início de emissão de radícula e com necrose; nota 3 ou 33,33% de doença= semente com emissão completa de radícula, mas com necroses; nota 4 ou 0% de doença= semente com emissão completa de radícula e sem necroses.

** Média de dois ensaios – 8 repetições; ¹Duas letras minúsculas iguais ou mais significa que não há diferença entre os tratamentos (controles, fungo, fungicida e interação dos agentes de controle biológico). CV= 34,6%

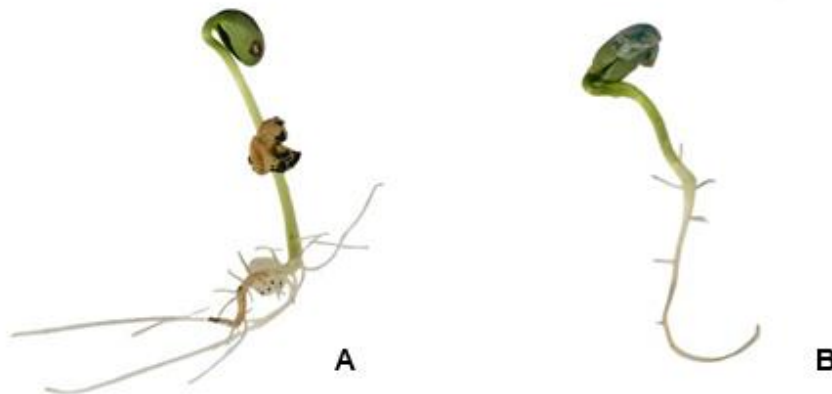
Rhizoctonia solani é um fungo que causa vários sintomas em plantas de soja, tais como *damping-off*, podridão radicular e do hipocótilo, queima foliar e da parte aérea. Enquanto o *damping-off*, a podridão radicular e do hipocótilo têm sido associados ao grupo de anastomose (AG) 2-2 IIIB ou AG-4 de *R. solani*, as doenças foliares estão associadas ao AG-1 IA, AG-1 IB ou AG-2-3 do fungo (Ciampi *et al.*, 2005; Meyer, 2002). Entretanto, Bolkan e Ribeiro (1985) inocularam uma estirpe de *R. solani* AG-1 IA, obtida de folhas de soja, nos hipocótilos e nas folhas da planta, resultando em lesões em ambos os tecidos. Portanto, esse relato de Bolkan e Ribeiro, 1985) justificam o porquê do tratamento de semente de soja no presente estudo, apesar do fungo *R. solani* AG-1 IA ser problema na parte aérea da soja.

Na Figura 16 é visível a similaridade do efeito do Tiofanato-Metílico+Fluazinam e do tratamento *T. endophyticum* - LQC99 + *B. velezensis* no controle de *R. solani* AG1-IA em sementes de soja, uma vez que ambos os tratamentos não diferiram significativamente entre si quanto ao impedimento do desenvolvimento do fungo ou baixa severidade da doença na semente e nas radículas (Tabela 13).

Em um estudo realizado por Omara *et al.* (2018), *T. viride* e/ou outros inoculantes estudados, onde foram propostos tratamentos com apenas um inoculante ou a mistura entre diferentes inoculantes, diminuíram os sintomas de *damping-off* causado por *R. solani* em plantas de soja. Além do controle da doença, esses inoculantes aumentaram o desenvolvimento de biomassa (peso fresco e seco) e quantidade de clorofila e número de nódulos nas raízes.

Les *et al.* (2020) relataram resultados promissores com isolados de *Bacillus* no controle de *R. solani* em soja. Os tratamentos à base de *B. subtilis* e *B. pumilus* propostos foram efetivos para o controle de Rhizoctoniose em plantas de soja, diminuindo a incidência e a severidade de *R. solani*, não diferindo significativamente do tratamento Tiofanato-Metílico+Fluazinam. Também, os tratamentos à base de *B. subtilis* e *B. pumilus* proporcionaram bom estabelecimento das plântulas e aumentaram o comprimento, a altura e a massa seca da raiz e parte aérea da soja.

Figura 16 – Efeito do Tiofanato-Metílico+Fluazinam e da mistura biológica *Trichoderma endophyticum* - LQC99 + *Bacillus velezensis* no tratamento de semente de soja contra a ação de *Rhizoctonia solani* AG1-IA



A= *T. endophyticum* - LQC99 + *B. velezensis*; B= Fungicida Certeza®

Fonte: DIOGO (2025).

4.7.2 *Rhizoctonia* binucleada AG-F de feijão – tratamento de semente

De acordo com os dados da Tabela 14 e Figura 17, nenhum tratamento propiciou um controle satisfatório de *Rhizoctonia* binucleada AG-F em sementes de feijoeiro. O princípio ativo Tiofanato-Metílico+Fluazinam e as interações dos agentes de controle biológico não diferiram significativamente do controle positivo (fungo inoculado) quanto ao percentual de severidade da doença.

Em um estudo constatou-se a inibição completa da infecção em sementes de feijão-preto (*Vigna mungo* (L.) por *Rhizoctonia solani*, quando as sementes foram tratadas com *Bacillus thuringiensis* e *B. cereus* e inibição significativa de *R. solani* em sementes de feijão-miúdo (*Vigna unguiculata*) tratadas com *B. subtilis* e *B. thuringiensis*. Além do controle houve um aumento significativo do comprimento e do peso da parte aérea, comprimento de raiz e peso de raízes (Dawar *et al.*, 2010).

Akladious, Gomma e El-Mahdy (2019) relataram que um isolado de *Bacillus licheniformis* diminuiu a incidência de *R. solani* em até 60% em plantas de feijão-fava (*Vicia faba*). Além do controle houve um aumento no mecanismo antioxidante de defesa e diminuição dos danos oxidativos causados pela infecção patogênica.

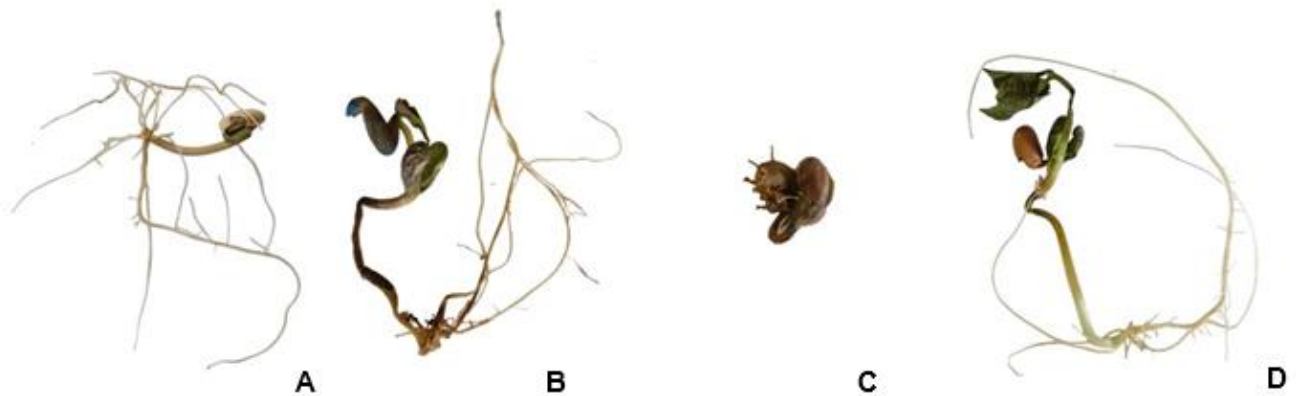
Tabela 15 – Princípio ativo e agentes de controle biológico empregados preventivamente no tratamento de semente de feijão visando o controle de *Rhizoctonia binucleada* AG-F

Tratamentos	% sementes germinadas	% incidência da doença	% severidade da doença
Controle negativo	100,0	0,0	0,0** a ¹
Tiofanato-Metílico+Fluazinam	87,5	87,5	47,6 b
Controle positivo (<i>R. binucleada</i> AG-F)	87,5	87,5	41,7 b
<i>T. endophyticum</i> (LQC99) + <i>B. velezensis</i>	100,0	100,0	50,0 b
<i>X. szentirmaii</i> (PAM25) + <i>T. endophyticum</i> (LQC99)	100,0	100,0	43,5 b
<i>X. szentirmaii</i> (PAM25) + <i>T. lentiforme</i> (IB04/08)	100,0	100,0	52,6 b

Escala de notas de severidade da doença – 1 a 4: nota 1 ou 100% de doença= semente sem nenhuma emissão de radícula; nota 2 ou 66,66% de doença= semente com início de emissão de radícula e com necrose; nota 3 ou 33,33% de doença= semente com emissão completa de radícula, mas com necroses; nota 4 ou 0% de doença= semente com emissão completa de radícula e sem necroses.

** Média de dois ensaios – 8 repetições; ¹Duas letras minúsculas iguais ou mais significa que não há diferença entre os tratamentos (controles, fungo, fungicida e interação dos agentes de controle biológico). CV= 35,4%.

Figura 17 – Níveis de severidade da doença causada por *Rhizoctonia binucleada* AG-F em sementes de feijão submetidas a diferentes tratamentos



A= *X. szentirmaii* - PAM25 + *T. endophyticum* - LQC99 + *R. binucleada* AG-F; B= Tiofanato-Metílico+Fluazinam + *R. binucleada* AG-F; C= Controle positivo - *R. binucleada* AG-F; D= Controle negativo – sem inoculação de *R. binucleada* AG-F

Fonte: DIOGO (2025).

4.7.3 *R. solani* AG-4 HGI de eucalipto – mudas

No presente estudo, o melhor tratamento para inibir completamente a incidência e a severidade da doença causada por *R. solani* AG-4 HGI no colo das mudas de eucalipto foi o princípio ativo Fluazinam aplicado preventivamente, e esse não diferiu significativa do tratamento controle negativo. O segundo melhor tratamento foi a aplicação preventiva dos agentes de controle biológico *X. szentirmaii* - PAM25 + *T. endophyticum* - LQC99, que propiciaram 50% de incidência da doença e 0,8 cm de lesão necrótica no colo da muda, diferindo significativamente do controle positivo com inoculação do fungo (Tabela 15). O princípio ativo Fluazinam tem potencial de registro na cultura do eucalipto visando o controle de *R. solani* em mudas de eucalipto.

Otoya-Martinez (2023) relatou a inibição do crescimento micelial ($\geq 85,0\%$) de *S. sclerotiorum*, *M. phaseolina*, *F. oxysporum* e *B. cinerea* por bactérias entomopatogênicas *X. szentirmaii* e *X. doucetiae* filtradas na concentração de 20%. Sendo que um dos isolados testados no trabalho de Otoya-Martinez (2023) e com alto potencial de controle dos fungos fitopatogênicos de *X. szentirmaii* foi o PAM25. Esse mesmo isolado da bactéria foi utilizado no presente estudo visando o controle de *R. solani* em mudas de eucalipto e uma vez em interação com *T. endophyticum* (LQC99) reduziu significativamente o comprimento da lesão do cancro causado pelo fungo (0,8 cm) em comparação ao controle positivo (3,0 cm) (Tabela 15).

No estudo realizado por Mafia *et al.* (2003), o encapsulamento em grânulos contendo as fontes alimentares (farelo de trigo, palha de arroz, farelo de aveia, folhas de eucalipto ou farelo de milho na concentração de 50 g/l) junto com o isolado de *T. inhamatum* (UFV – 03) resultou no aumento da supressão da atividade saprofítica de *R. solani* AG-1B em eucalipto quando acrescido de uma fonte alimentar, principalmente quando testado com farelo de trigo, obtendo uma interação significativa e positiva ao aumento de sua concentração na formulação.

O Brasil possui a maior área reflorestada com espécies de eucalipto (*Eucalyptus* spp.) no mundo. As plantações destinam-se principalmente à produção de celulose e carvão. A técnica de propagação clonal de eucalipto possibilita a formação de talhões homogêneos formados por genótipos silvicultural e tecnologicamente superiores e resistentes a doenças. Portanto, as condições ambientais requeridas para o

enraizamento são extremamente favoráveis à incidência do fitopatógeno *R. solani* (Mafia *et al.*, 2003). Além disso, é importante ressaltar que apenas um produto, Hollic (Metiram+Piraclostrobina), é indicado pela base de dados do AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários) - MAPA (Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento) registrados para a eucaliptocultura visando o controle do fungo. Porém, é relatado que a baixa eficiência dos produtos químicos impossibilita o seu uso na propagação clonal de *Eucalyptus* spp. (Mafia *et al.*, 2003).

Tabela 16 - Fungicida e agentes de controle biológico empregados preventivamente em pulverização na região do colo de mudas de eucalipto visando o controle de *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI

Tratamentos	% incidência da doença	Severidade da doença - lesão (cm)
Controle negativo	0,0	0,0** a ¹
Fungicida Frowncide®	0,0	0,0 a
Controle positivo (<i>R. solani</i> AG-4 HGI)	100,0	3,0 d
<i>T. endophyticum</i> (LQC99) + <i>B. velezensis</i>	75,0	1,6 c
<i>X. szentirmaii</i> (PAM25) + <i>T. endophyticum</i> (LQC99)	50,0	0,8 b
<i>X. szentirmaii</i> (PAM25) + <i>T. lentiforme</i> (IB04/08)	62,5	1,3 c

** Média de dois ensaios – 8 repetições; ¹Duas letras minúsculas iguais ou mais significa que não há diferença entre os tratamentos (controles, fungo, fungicida e interação dos agentes de controle biológico). CV= 29,1%

4.7.4 *R. solani* AG-4 HGI de crisântemo – mudas

O melhor tratamento para reduzir completamente a incidência e a severidade da doença causada por *R. solani* AG-4 HGI no colo de mudas de crisântemo foi o fungicida Frowncide® aplicado preventivamente, e esse tratamento não diferiu significativamente do tratamento controle negativo. Em seguida, todas as interações de agentes de controle biológico foram eficientes para reduzir a severidade da doença causada pelo fungo na cultura. Destas, destaca-se a mistura *X. szentirmaii* (PAM25) + *T. lentiforme* (IB04/08) que propiciou a menor incidência da doença (média de 12,5%). Todas as interações de agentes de controle biológico diferiram significativamente do controle positivo (inoculação do fungo) (Tabela 15).

Tschen *et al.* (1989) relataram o potencial antagonismo de *Trichoderma* e de *Paedlomyces* no controle de *R. solani* AG-4 em plântulas de crisântemo, quando inoculados em meio sólido (serragem, casca de arroz ou composto de serragem preparado a partir de resíduos de serragem cultivados com cogumelos).

Tabela 17 – Princípio ativo e agentes de controle biológico empregados preventivamente em pulverização na região do colo de mudas de crisântemo visando o controle de *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI

Tratamentos	% incidência da doença	Severidade da doença - lesão (cm)
Controle negativo	0,0	0,0** a ¹
Fluazinam	0,0	0,0 a
Controle positivo (<i>R. solani</i> AG-4 HGI)	87,5	6,0 b
<i>T. endophyticum</i> (LQC99) + <i>B. velezensis</i>	37,5	1,3 a
<i>X. szentirmaii</i> (PAM25) + <i>T. endophyticum</i> (LQC99)	37,5	2,8 a
<i>X. szentirmaii</i> (PAM25) + <i>T. lentiforme</i> (IB04/08)	12,5	0,9 a

** Média de dois ensaios – 8 repetições; ¹ Duas letras minúsculas iguais ou mais significa que não há diferença entre os tratamentos (controles, fungo, fungicida e interação dos agentes de controle biológico). CV= 54,2%

Figura 18 – Níveis de severidade doença causada por *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI em mudas de crisântemo tratadas preventivamente com diferentes tratamentos



A= Controle negativo; B= Controle positivo – *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI; C= Fluazinam + *R. solani* AG-4 HGI; e D= *T. endophyticum* - LQC99 + *B. velezensis* + *R. solani* AG-4 HGI

Fonte: DIOGO (2025).

No AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários) - MAPA (Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento) não há indicação de nenhum produto/ingrediente ativo para o controle de Rhizoctoniose na cultura do crisântemo. De acordo com os resultados obtidos no presente estudo (Tabela 16), o princípio ativo fluazinam inibiu completamente a incidência e a severidade da doença causada pelo fungo *R. solani* AG-4 HGI no crisântemo. Portanto, esse princípio tem potencial para ser registrado para uso nessa cultura visando o controle de Rhizoctoniose.

4.7.5 *R. solani* AG1-IA de soja – folhas

O melhor tratamento para reduzir a severidade da doença causada por *R. solani* AG-1 IA nas folhas de soja foi a aplicação preventiva dos agentes de controle biológico *T. endophyticum* - LQC99 + *B. velezensis* (média de 60% de redução da severidade da doença) (Tabela 17 e Figura 18). No entanto, essa mistura ainda assim propiciou 50,0% de incidência de doença nas folhas de soja. Este tratamento diferiu significativamente do controle positivo – inoculação do fungo (Tabela 17).

O emprego de microrganismos com potencial antagonico e não residentes no filoplano também é uma técnica comum no controle biológico de doenças da parte aérea (Amorim *et al.*, 2019). Dessa forma, através da metodologia de notas pela escala de Bell, Chagas Junior *et al.* (2018) relataram isolados de *Trichoderma* que demonstraram eficiência no controle biológico de fitopatógenos de plantas comumente encontradas no Cerrado tocantinense, como *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia rolfsii*, nos testes de antagonismo *in vitro* em cultivo pareado.

Ao avaliar o efeito de fungicidas sobre o desenvolvimento da mela da soja, Meyer (2002) observou que em relação ao efeito protetor dos fungicidas, os ingredientes ativos (i.a.) Fluazinam, Azoxystrobin, Pyraclostrobin e Pyraclostrobin + PE110F apresentaram melhor eficiência. Em relação ao efeito curativo, os melhores resultados foram obtidos com Pyraclostrobin + PE110F, Pyraclostrobin e Azoxystrobin. Portanto, o controle preventivo da doença com fungicidas é mais eficiente que o curativo. No presente estudo, o fluazinam aplicado preventivamente não propiciou o controle da mela da soja, pois o fungicida não diferenciou do controle positivo (Tabela 17).

Com base nas inoculações do fungo nas sementes e nas folhas, observou-se que *R. solani* AG-1 IA tem maior preferência para infectar a parte aérea da cultura da soja.

Tabela 18 – Princípio ativo e agentes de controle biológico empregados preventivamente em pulverização na folha de soja visando o controle de *Rhizoctonia solani* AG1-IA

Tratamentos	% incidência da doença	% severidade da doença
Controle negativo	0,0	0,0** a ¹
Fluazinam	75,0	65,6 c
Controle positivo (<i>R. solani</i> AG-4 HGI)	100,0	100,0 c
<i>T. endophyticum</i> (LQC99) + <i>B. velezensis</i>	50,0	40,6 b
<i>X. szentirmaii</i> (PAM25) + <i>T. endophyticum</i> (LQC99)	87,5	78,1 c
<i>X. szentirmaii</i> (PAM25) + <i>T. lentiforme</i> (IB04/08)	100,0	78,1 c

** Média de dois ensaios – 8 repetições; ¹ Duas letras minúsculas iguais ou mais significa que não há diferença entre os tratamentos (controles, fungo, fungicida e interação dos agentes de controle biológico). CV= 50, 1%

Figura 19 – Níveis de severidade doença causada por *Rhizoctonia solani* AG1-IA em folhas de soja tratadas com diferentes tratamentos



A= Controle negativo; B= Controle positivo – inoculado com *Rhizoctonia solani* AG-1 IA; C= Fungicida Frowncide + *R. solani* AG-1 IA; e D= *T. endophyticum* - LQC99 + *B. velezensis* + *R. solani* AG-1 IA.

Fonte: DIOGO (2025).

4.7.6 *Rhizoctonia* binucleada AG-F de feijoeiro – folhas

O melhor tratamento para reduzir a severidade da doença causada por *Rhizoctonia* binucleada AG-F nas folhas de feijoeiro foi a aplicação preventiva dos agentes de controle biológico *X. szentirmaii* - PAM25 + *T. lentiforme* - IB04/08 (redução média de 60% da severidade da doença) (Tabela 18 e Figura 19). No entanto, essa mistura ainda assim propiciou 50,0% de incidência de doença nas folhas de feijão. Este tratamento diferiu significativamente do controle positivo – inoculação do fungo (Tabela 18).

Em um estudo realizado por Otoyá-Martínez (2023) foi relatada a inibição do crescimento micelial ($\geq 85,0\%$) de *S. sclerotiorum*, *M. phaseolina*, *F. oxysporum* e *B. cinerea* pelas bactérias entomopatogênicas *X. szentirmaii*, *X. szentirmaii* – PAM 25 e *X. doucetiae* filtradas na concentração de 20%. O isolado *X. szentirmaii* – PAM 25 interagindo com *T. lentiforme* - IB04/08 explica o porquê do controle de 60% da severidade da doença causada por *Rhizoctonia* binucleada AG-F em feijoeiro, pois esse isolado da bactéria tem potencial para controlar fungos fitopatogênicos.

Com base nas inoculações do fungo nas sementes e nas folhas, observou-se que *Rhizoctonia* binucleada AG-F tem maior preferência para infectar a parte aérea da cultura do feijoeiro.

De Souza *et al.* (2017) observaram o potencial *in vitro* do isolado T41 de *Trichoderma* sp. como agente de controle biológico sobre *R. solani*, causador da mela do feijão-caupi, proporcionando menor Índice de Velocidade de Crescimento Micelial e maior Percentual de inibição do crescimento Radial do agente etiológico. Assim como a bactéria *X. szentirmaii* – PAM 25, o isolado de *T. lentiforme* - IB04/08 interagindo com a bactéria explica o porquê do controle de 60% da severidade da doença causada por *Rhizoctonia* binucleada AG-F em feijoeiro, pois esse isolado do antagonista tem potencial para controlar *Rhizoctonia* binucleada.

Em um estudo realizado em casa de vegetação por Schurt *et al.* (2017), isolados de *B. subtilis* mostraram-se eficientes no controle da mela do feijão-caupi causado por *R. solani*, proporcionando um retardo no surgimento da doença e uma diminuição na desfolha de forma preventiva. Ao serem combinadas com fungicida, as bactérias também apresentaram bom desempenho, indicando possíveis estratégias para um melhor manejo da doença.

Em um estudo realizado *in vitro*, os fungicidas de contato Captan (70,37%) e Clorotalonil (69,63%) registraram a máxima porcentagem de inibição do crescimento micelial de *R. solani* de feijão, enquanto os fungicidas sistêmicos Carbendazim, Difenconazol, Hexaconazol, Propiconazol e Tebuconazol registraram 100% de inibição do crescimento micelial. Quando os fungicidas de produtos combinados foram testados (Trifloxistrobina + Tebuconazol), (Triciclazol + Mancozeb), (Captana 70% + Hexaconazol 5%) e (Carboxina + Tirame) apresentaram uma inibição micelial do fungo de 100% em todas as concentrações (Poonacha *et al.*, 2023). O fungicida Frowncide® não apresentou eficiência no controle de *Rhizoctonia* binucleada AG-F em folhas de feijão, pois não diferenciou significativamente do controle positivo (Tabela 18).

Os resultados de um estudo demonstraram novas opções químicas para o controle da mela e o aumento da produtividade do feijoeiro-comum. Os ingredientes ativos Hidróxido de fenilestanho (Mertin 400), Trifloxistrobina + Propiconazol (Stratego 250EC) e Trifloxistrobina + Ciproconazol (Sphere) promoveram a redução de inóculo inicial e a taxa de progresso da doença, apresentando tanto efeito protetor quanto curativo. O trabalho enfatiza que até o momento vários dos i.a. investigados neste estudo testados não estão registrados para o controle da mela do feijoeiro-comum (Costa-Coelho; Lobo Júnior; Café-Filho, 2012).

Tabela 19 – Princípio ativo e agentes de controle biológico empregados preventivamente em pulverização na folha de feijão visando o controle de *Rhizoctonia* binucleada AG-F

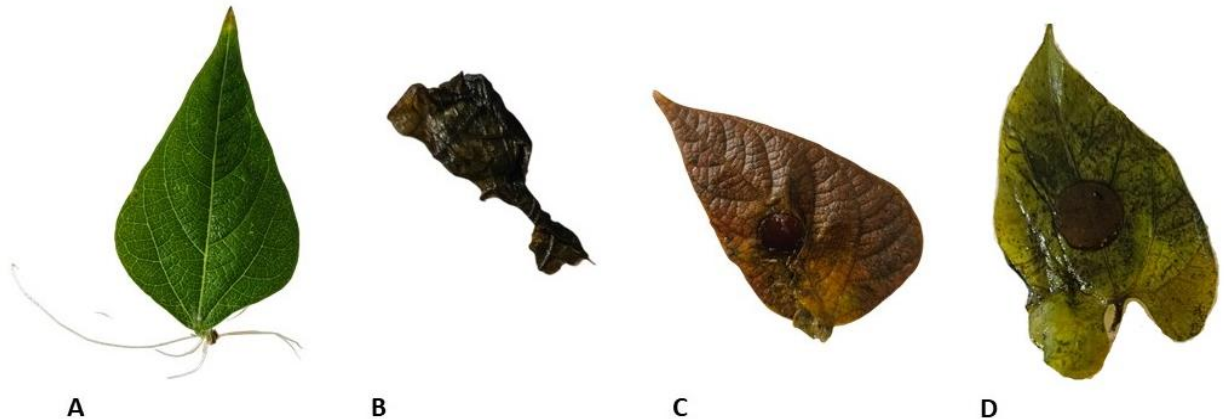
Tratamentos	% incidência da doença	% severidade da doença
Controle negativo	0,0	0,0** a ¹
Fluazinam	75,0	68,8 c
Controle positivo (<i>R. binucleada</i> AG-F)	100,0	100,0 c
<i>T. endophyticum</i> (LQC99) + <i>B. velezensis</i>	100,0	96,9 c
<i>X. szentirmaii</i> (PAM25) + <i>T. endophyticum</i> (LQC99)	87,5	84,4 c
<i>X. szentirmaii</i> (PAM25) + <i>T. lentiforme</i> (IB04/08)	50,0	40,6 b

** Média de dois ensaios – 8 repetições; ¹ Duas letras minúsculas iguais ou mais significa que não há diferença entre os tratamentos (controles, fungo, fungicida e interação dos agentes de controle biológico). CV= 48,2%

Na Figura 19 foi possível observar a severidade da doença mais intensificada no tratamento com o princípio ativo fluazinam, em C, apresentando mais sintomas na

folha de feijão, em relação ao tratamento dos agentes de controle biológico *X. szentirmaii* - PAM25 + *T. lentiforme* - IB04/08, em D.

Figura 20 – Níveis de severidade doença causada por *Rhizoctonia binucleada* AG-F em folhas de feijão tratadas com diferentes tratamentos



A= Controle negativo; B= Controle positivo – *Rhizoctonia binucleada* AG-F inoculado; C= Fluazinam + *R. binucleada* AG-F; e D= *X. szentirmaii* - PAM25 + *T. lentiforme* - IB04/08 + + *R. binucleada* AG-F.

Fonte: DIOGO (2025).

4.7.7 *R. solani* AG-4 HGI de batata – minitubérculos

De acordo com os dados da Tabela 19, os melhores tratamentos para controlar preventivamente *R. solani* AG-4 HGI em mini-tubérculos de batata foram o princípio ativo Tiofanato-Metílico+Fluazinam e a mistura *X. szentirmaii* - PAM25 + *T. lentiforme* - IB04/08, ambos propiciaram 87,5% de brotos germinados, bem como pela aplicação preventiva da mistura *X. szentirmaii* - PAM25 + *T. endophyticum* - LQC99, que propiciou 75% de brotos germinados.

No estudo realizado por Kumar *et al.* (2012), os isolados de *Bacillus* spp. foram capazes de controlar as doenças da sarna negra e do cancro do caule causadas por *R. solani* em plantas de batata em virtude da produção de sideróforos e antibióticos que inibiram o crescimento de *R. solani*, resultando no aumento do rendimento da

cultura em condições de campo e casa de vegetação por meio do aumento do comprimento e peso das raízes e da parte aérea.

Khedher *et al.* (2015) relataram a atividade antifúngica *in vitro* do isolado *B. subtilis* V26 contra *R. solani* em culturas de batata. O isolado induziu supressão significativa do cancro da raiz e da colonização do tubérculo da sarna negra, com uma diminuição da incidência da doença de 63% e 81%, respectivamente, causando deformações morfológicas consideráveis das hifas fúngicas, tais como vacuolação, fuga de protoplastos e fissuras nos micélios. Além de promover o crescimento das plantas em condições de estufa em plantas de batata.

Em um estudo foi observado a inibição *in vitro* de *R. solani* por isolados de *Trichoderma* e *in vivo* *T. harzianum* e *T. virens* reduziram a severidade da *Rhizoctoniose* em plantas de batata e conseqüentemente propiciaram o aumento do desenvolvimento da planta (Durak, 2016).

Ao tratar a variedade Asterix com Fluazinam e Fluzinam + Bioestimulante, Ferreira (2024) observou a redução da porcentagem de tubérculos infectados por *R. solani*, assim como a diminuição da severidade da doença. Os tratamentos com Tifluzamida obtiveram as maiores produtividades de classe média do tubérculo e o tratamento com Tifluzamida + Fluazinam apresentaram maior produtividade das classes pequena e grande dos tubérculos. Para a produtividade comercial, o tratamento com Tifluzamida + Fluazinam + Bioestimulante demonstrou ser o mais efetivo.

Tabela 20 – Princípio ativo e agentes de controle biológico empregados preventivamente em mini-tubérculos de batata visando o controle de *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI

Tratamentos	% brotos germinados	% ganho de germinação de tubérculos em relação ao controle positivo
Controle negativo	50,0	-
Tiofanato-Metílico+Fluazinam	87,5	37,5
Controle positivo (<i>R. solani</i> AG-4 HGI)	62,5	-
<i>T. endophyticum</i> (LQC99) + <i>B. velezensis</i>	50,0	0
<i>X. szentirmaii</i> (PAM25) + <i>T. endophyticum</i> (LQC99)	75,0	25
<i>X. szentirmaii</i> (PAM25) + <i>T. lentiforme</i> (IB04/08)	87,5	37,5

Não se observou uma mistura com os agentes biológicos com potencial para controlar Rhizoctoniose em todas as plantas hospedeiras estudadas. Houve especificidade de uma determinada mistura para controlar ou reduzir a severidade da Rhizoctoniose, destacando-se a mistura *T. endophyticum* (LQC 99) + *B. velezensis* para soja e *X. szentirmaii* (PAM 25) + *T. lentiforme* (IB 04/08) para crisântemo e batata.

Em futuros estudos, sugere-se aumentar o número de aplicações das misturas biológicas selecionadas visando o controle do fungo *Rhizoctonia* oriundo de diferentes hospedeiros. Além do número de aplicações, as misturas podem ser combinadas com metade da dose dos fungicidas testados visando potencializar o controle da Rhizoctoniose em cada planta hospedeira, pois os agentes biológicos selecionados são compatíveis com os princípios ativos dos fungicidas.

6 CONCLUSÕES

Os resultados evidenciaram que nenhuma mistura de agentes de controle biológico apresentou potencial para controlar todas as Rhizoctoniose nas plantas hospedeiras, havendo especificidade de uma mistura para controlar ou reduzir a severidade e incidência da Rhizoctoniose em uma determinada planta hospedeira.

O fungicida Certeza® (Tiofanato-Metílico+Fluazinam) foi eficiente para controlar o fungo *R. solani* AG-4 HGI de batata, facilitando a germinação dos mini-tubérculos, e o fungicida Frowncide® (Fluazinam) foi eficiente para controlar o fungo *R. solani* AG-4 HGI, quando aplicado preventivamente em mudas tanto de eucalipto quanto de crisântemo.

A mistura de *X. szentirmaii* (PAM25) + *T. endophyticum* (LQC99) foi eficiente para controlar a doença causada por *R. solani* AG-4 HGI de batata, facilitando a germinação dos mini-tubérculos, bem como a mistura *X. szentirmaii* (PAM25) + *T. lentiforme* (IB04/08) foi eficiente para reduzir a severidade e a incidência da doença causada por *R. solani* AG-4 HGI em mudas de crisântemo e em minitubérculos de batata.

A mistura *T. endophyticum* (LQC 99) + *B. velezensis* foi eficiente para reduzir a incidência e a severidade da doença causada por *R. solani* AG-1 IA em sementes de soja.

REFERÊNCIAS

- ABBA. **Situação Atual da Produção de Batata no Brasil**. Disponível em: <<https://www.abbabatatabrasileira.com.br/materias-das-revistas/situacao-atual-da-producao-de-batata-no-brasil/>>. Acesso em: 25 sep. 2024.
- ABBAS, A. et al. Antagonist effects of strains of *Bacillus* spp. against *Rhizoctonia solani* for their protection against several plant diseases: Alternatives to chemical pesticides. **Comptes rendus biologies**, v. 342, n. 5–6, p. 124–135, 2019.
- AGROFIT. Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 6 out. 2024.
- AKLADIOUS, S. A.; GOMAA, E. Z.; EL-MAHDY, O.M. Efficiency of bacterial biosurfactant for biocontrol of *Rhizoctonia solani* (AG-4) causing root rot in faba bean (*Vicia faba*) plants. **European Journal Plant Pathology**, v. 153, p.1237 - 1257, 2019.
- ALAEI, H. et al. New Anastomosis Group F (AG-F) of binucleate *Rhizoctonia* causing root and stem rot of *Pistacia vera*. **Journal of crop protection**, v. 6, n. 1, p. 1–13, 2017.
- AMÂNCIO, L. C. S. **Avaliação de iniciadores específicos para detecção de grupos de anastomose de *Rhizoctonia solani***. [s.l.] Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2018.
- AMORIM, L. et al. **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2019.
- ARAÚJO, F. F.; HENNING, A. A.; HUNGRIA, M. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, n.8, p-1639 -1645, 2005. GOMAA EL-MAHDY
- BAKER, C.J. et al. Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* on *Uromyces phaseoli* and as development of rust postules on bean leaves. **Phytopathol.**, v. 73, n. 8, p. 1148-1152, 1983.
- BAKER, C.J., STAVEL Y, J.R. & MOCK, N. Biocontrol of bean rust by *Bacillus subtilis* under field conditions. **Plant Dis.**, v. 69, p. 770-772, 1985.
- BARBOSA, R. H. et al. Controle químico e biológico de Mahanarva fimbriolata Stål, 1854 (Hemiptera: Cercopidae) para regiões produtoras de cana-de-açúcar de Mato Grosso do Sul. **Ambiência**, v. 11, n. 1, p. 247-255, 2015.

BASSETO, M. A.; CERESINI, P. C.; VALÉRIO FILHO, W. V. Severidade da mela da soja causada por *Rhizoctonia solani* AG-1 IA em função de doses de potássio. **Summa phytopathologica**, v. 33, n. 1, p. 56–62, 2007.

BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, v. 72, n. 4, p. 379, 1982.

BETTIOL, W. et al. Produtos comerciais à base de *Trichoderma*. Em: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. **Trichoderma**: uso na agricultura. Londrina: Embrapa Soja, 2019. 538 p.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Solos supressivos. Em: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G.; MENEZES, M. (Eds.). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2005. p. 125–152.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. Controle Biológico de Doenças de Plantas no Brasil. Em: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. 341 p.

BHARGAVI, G. et al. Evaluation of biocontrol efficacy of rhizosphere dwelling bacteria for management of *Fusarium* wilt and *Botrytis* gray mold of chickpea. **BMC genomic data**, v. 25, n. 1, p. 7, 2024.

BLANCO, A. J. V. **Identificação molecular e caracterização de isolados de fungos do gênero *Rhizoctonia* recuperados do cerrado agrícola do Brasil**. Universidade Federal de Goiás: Goiânia, 2016.

BOLKAN, H. A.; RIBEIRO, W. R. C. Anastomosis Groups and Pathogenicity of *Rhizoctonia solani* Isolates from Brazil. **Plant Disease**, v. 69, n. 7, p. 599 - 601, 1985.

BOYSEN, M. Identification at strain level of *Rhizoctonia solani* AG4 isolates by direct sequence of asymmetric PCR products of the ITS regions. **Current**, [s.l.], v. 29, n. 2, p. 174-181, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Exportações Brasileiras: soja em grão**. Brasília: Mapa, 2024. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/relacoes-internacionais/Sojaemgros.pdf>>.

BUENO, C. J. et al. Relato de *Rhizoctonia solani* AG-4 HG I em crisântemo (Papiro Branco e Amarelo) e *R. solani* AG-4 HG III em gipsófila no estado de São Paulo, Brasil, e sua patogenicidade cruzada. **Summa phytopathologica**, v. 39, n. 4, p. 286–289, 2013.

BUENO, C. J. et al. Relato de *Rhizoctonia solani* AG-4 HG I em crisântemo (Papiro Branco e Amarelo) e *R. solani* AG-4 HG III em gipsófila, no estado de São Paulo, Brasil, e sua patogenicidade cruzada. **Summa Phytopathologica**, v. 39, n. 4, p.286-289, 2013.

CHAGAS JUNIOR, A. F. Ação de *Trichoderma* spp. No controle de *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. **Agries**, v. 4, n. 2, 2018.

CHITARRA, L. G.; GOULART, A. C. P.; ZORATO, M. F. Tratamento de sementes de algodoeiro com fungicidas no controle de patógenos causadores de tombamento de plântulas. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p.168-176, 2008.

CIAMPI, M. B. et al. Intraspecific Evolution of *Rhizoctonia solani* AG-1 IA Associated with Soybean and Rice in Brazil based on Polymorphisms at the ITS-5.8S rDNA Operon. **European Journal of Plant Pathology**, v.113, n. 2, p. 183–196, 2005.

Como funciona o controle biológico na agricultura? Disponível em: <<https://croplifebrasil.org/conceitos/controle-biologico/>>. Acesso em: 17 sep. 2024.

CONAB. **Brasil deve produzir 299,27 milhões de toneladas de grãos na safra 2023/2024**. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/5615-brasil-deve-produzir-299-27-milhoes-de-toneladas-de-graos-na-safra-2023-2024>>. Acesso em: 25 sep. 2024.

CONAB. **Nova estimativa para a produção de grãos na safra 2023/2024 está em 297,54 milhões de toneladas**. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/5579-nova-estimativa-para-a-producao-de-graos-na-safra-2023-2024-esta-em-297-54-milhoes-de-toneladas>>. Acesso em: 26 sep. 2024.

COSTA-COELHO, G. R.; LOBO JÚNIOR, M.; CAFÉ-FILHO, A. C. Epidemiologia da mela e produtividade do feijoeiro-comum tratado com fungicidas. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 3, p. 211–215, 2012.

CROPLIFE. **Eucalipto: a floresta produtiva e rentável**. Disponível em: <<https://croplifebrasil.org/noticias/eucalipto-a-floresta-produtiva-e-rentavel/>>. Acesso em: sep. 2024.

DA SILVA, G. O.; LOPES, C. A. (EDS.). **Sistema de Produção da Batata**. Brasília: Embrapa, 2015. v. 2.

DA SILVEIRA, S. F. Characterization of *Rhizoctonia* species associated with foliar necrosis and leaf scorch of clonally-propagated *Eucalyptus* in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 106, p. 27–36, 2000.

DAWAR, S. et al. Application of *Bacillus* species in the control of root rot diseases of crop plants. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, v.43, n. 4, p. 412 - 418, 2010.

DE CAMPOS, A. P. S.; CERESINI, P. C. Incompatibilidade somática em *Rhizoctonia solani* AG-1 IA da soja. **Summa Phytopathol.**, v.32, n. 3, p. 247-254, 2006.

DE MELO, M. P. et al. *Rhizoctonia solani* AG 1-IB and AG 4 HG-I causing leaf blight and root rot in plants from the Lamiaceae family in Brazil. **Tropical plant pathology**, v. 43, n. 2, p. 152–159, 2017.

DE SOUZA, I. A. L. et al. Potencial de Biocontrole de *Rhizoctonia solani* do Feijão-Caupi. **Biota Amazônia**, v. 7, n. 1, p. 86-89, 2017.

DE SOUZA, J. M. **Produção de fitomassa de manjerona e menta em intervalos de colheita e de óleo essencial em estações do ano**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2020.

DURAK, E. D. Biological control of *Rhizoctonia solani* on potato by using indigenous *Trichoderma* spp. **AIP Conference Proceedings**, v. 1726, 2016.

DURGADEVI, D. et al. Proteomic profiling of defense/resistant genes induced during the tripartite interaction of *Oryza sativa*, *Rhizoctonia solani* AG1-1A, and *Bacillus subtilis* against rice sheath blight. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 115, p. 1-12, 2021.

DUTRA, L. S. et al. Uso de agrotóxicos e mortalidade por câncer em regiões de monoculturas. **Saúde em Debate**, v. 44, n. 127, p. 1018–1035, 2020.

EKEN, C.; DEMIRCI, E. Anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia* isolates from bean in Erzurum, TURKEY. **Journal of Plant Pathology**, v. 84, n. 1, p. 49-52, 2004.

EVONEO, B. F.; MACEDO, L. P. M. **Fundamentos de controle biológico de insetos-praga**. Natal: IFRN Editora, 2010.

FALTIN, F. et al. Strategy to select and assess antagonistic bacteria for biological control of *Rhizoctonia solani* Kühn. **Canadian journal of microbiology**, v. 50, n. 10, p. 811–820, 2004.

FENILLE, R. C. **Caracterização citomorfológica, cultural, molecular e patogênica de *Rhizoctonia solani* Kuhn associado à soja no Brasil**. Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, 2001.

FENILLE, R. C. et al. Identification of *Rhizoctonia solani* associated with soybean in Brazil by rDNA-ITS sequences. **Fitopatologia brasileira**, v. 28, n. 4, p. 413–419, 2003.

FENILLE, R. C.; DE SOUZA, N. L. Efeitos de materiais orgânicos e da umidade do solo na patogenicidade de *Rhizoctonia solani* Kühn GA-4 HGI ao feijoeiro. **Pesq. agropec. bras.**, v.34, n.10, p.1959-1967, out. 1999.

FERREIRA, V. C. **Fungicidas aplicados no plantio para controle de *Rhizoctonia solani* em batata**. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2024.

FREIRE, F. DAS C.; VIANA, F. M. P.; DE ARAÚJO LIMA, R. C. **Ocorrência da Ferrugem-Branca-do-Crisântemo no Estado do Ceará**. Fortaleza: Embrapa. Disponível em:
<<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/425149/1/ct75.pdf>>.

GONZALEZ GARCIA, V.; PORTAL ONCO, M. A.; RUBIO SUSAN, V. Review. Biology and systematics of the form genus *Rhizoctonia*. **Revista de investigacion agraria [Spanish journal of agricultural research]**, v. 4, n. 1, p. 55–79, 2006.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; DOS SANTOS, Á. F.; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, v. 30, n. 12, 2000.

HEFLISH, A. A. et al. Protective and Curative Effects of *Trichoderma asperelloides* Ta41 on Tomato Root Rot Caused by *Rhizoctonia solani* Rs33. **Agronomy**, v. 11, n. 6, p. article 1162, 2021.

HENNING, A. A. et al. **Manual de identificação de doenças de soja**. Embrapa Soja. Londrina, 2014.

IBGE. **Produção de Batata**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/batata/br>>. Acesso em: 25 sep. 2024.

JAMBHULKAR, P. P. et al. Genetic diversity and antagonistic properties of *Trichoderma* strains from the crop rhizospheres in southern Rajasthan, India. **Scientific reports**, v. 14, n. 1, p. 8610, 2024.

JIANG, S. B. et al. Occurrence of Root and Stem Rot Caused by *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI on *Torenia fournieri* in China. **Plant Disease**, v. 106, n. 8, p. 2266, 2022.

KHEDHER, S. B. et al. Efficacy of *Bacillus subtilis* V26 as a biological control agent against *Rhizoctonia solani* on potato. **Biologies**, v. 338, n. 12, p. 784-792, 2015.

KODATI, S. et al. Origin of agricultural plant pathogens: Diversity and pathogenicity of *Rhizoctonia* fungi associated with native prairie grasses in the Sandhills of Nebraska. **PLOS ONE**, v. 16, n. 4, p. 1-17, 2021.

KUENIEDA-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. **Fitopatol. bras.**, v. 30, n. 2, p. 164-168, 2005.

KUMAR, S. et al. Biocontrol by plant growth promoting rhizobacteria against black scurf and stem canker disease of potato caused by *Rhizoctonia solani*. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 46, n.4, p.487-502, 2013.

KUNINAGA, S. et al. Sequence variation of the rDNA ITS regions within and between anastomosis groups in *Rhizoctonia solani*. **Current genetics**, v. 32, n. 3, p. 237-243, 1997.

KUNINAGA, S. et al. Sequence variation of the rDNA ITS regions within and between anastomosis groups in *Rhizoctonia solani*. **Curr Genet**, v. 32, p. 237–243, 1997.

LANDAU, E. C.; MOURA, L. *et al.* Evolução da Produção de Feijão (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). In: LANDAU, E. C. (Ed.). **Dinâmica da produção agropecuária e da paisagem natural no Brasil nas últimas décadas**. Brasília: Embrapa, 2020. v. 2, p. 739-798.

LEITE, J. A. B. P. **Metodologias de avaliação e compatibilidade de produtos químicos e biológicos, visando o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em soja**. Campinas: Instituto Biológico, 2021.

LEITE, L. G.; FILHO, A. B.; ALMEIDA, J. E. M.; ALVES, S. B. Produção de fungos entomopatogênicos. ESALQ/USP: Alexandre de Sene Pinto, 2003. 53 p.

LEROUX, P. **Comptes rendus biologiques**, v. 326, n. 1, p. 9-21, 2003.

LES, N. *et al.* Controle de *Rhizoctonia solani* com produtos biológicos no tratamento de sementes na cultura da soja. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 12, p. 99919-99935, 2020.

Liberção de agrotóxicos cai no Brasil em 2023, após sete anos seguidos de alta. Disponível em:

<<https://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2024/01/10/liberacao-de-agrotoxicos-cai-no-brasil-em-2023-apos-sete-anos-seguidos-de-alta.ghtml>>. Acesso em: 17 set. 2024.

LIBERATO, J. R.; TATAGIBA, J. S. Avaliação de fungicidas *in vitro* e em pós-colheita para o controle da antracnose e da podridão peduncular em frutos de mamão. **Summa Phytopathologica**, v. 27, n. 3, p. 409-414, 2001.

MAFIA, R. G. *et al.* Encapsulamento de *Trichoderma inhamatum* para o controle biológico de *Rhizoctonia solani* na propagação clonal de Eucalyptus. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 101-105, 2003.

MANGANIELLO G. *et al.* Modulation of Tomato Response to *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* and Its Secondary Metabolite Harzianic Acid. **Front. Microbiol.**, v. 9, n. 1966, p. 1-19, 2018.

MARRASCHI, R. **Seleção de *Trichoderma* spp. para manejo de *Lasiodiplodia theobromae*, em videira Niagara Rosada**. São Paulo: Instituto Biológico, 2015.

MARTINEZ, N. O. **Atividade antifúngica de *Xenorhabdus* spp. E *Photorhabdus* sp. contra fungos fitopatogênicos**. Campinas: Instituto Biológico, 2023.

MEDEIROS, F. H. V.; SILVA, J. C. P.; PASCHOLATI, S. F. Controle biológico de doenças de plantas. Em: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia**. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2019. 573 p.

MEENA, k. R. *et al.* Benchmarking of different microbes for their biosurfactants antifungal action against plant pathogens. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 60, n. 12, p. 931-938, 2022.

MEYER, M. C. et al. Effect of doses of fungicides and plant resistance activators on the control of *Rhizoctonia* foliar blight of soybean, and on *Rhizoctonia solani* AG1-IA in vitro development. **Crop Protection**, n. 25, p. 848–854, 2006.

MEYER, M. C. **Caracterização de *Rhizoctonia solani* Kühn, agente causal da mela da soja (*Glycine max* (L.) Merrill), seleção de genótipos e controle químico**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista, 2002.

MICHEREFF, S. J. **Fundamentos de fitopatologia**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco. Disponível em: <<https://www.bibliotecaagptea.org.br/agricultura/defesa/livros/FUNDAMENTOS%20DE%20FITOPATOLOGIA.pdf>>. Acesso em: 17 set. 2024.

MONTE, E.; BETTIOL, W.; HERMOSA, R. *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. Em: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. (Eds.). **Trichoderma: uso na agricultura**. Brasília: Embrapa, 2019. p. 181-199.

NECHET, K. L.; HALFELD-VIEIRA, B. A. Caracterização de Isolados de *Rhizoctonia* spp., Associados à Mela do Feijão-Caupi (*Vigna unguiculata*), Coletados em Roraima. **Fitopatol. Bras.**, v. 31, n. 5, p. 505-508, 2006.

OLIVEIRA, A. C. C. et al. Caracterização morfológica, genética e patogenicidade de isolados de *Rhizoctonia solani* provenientes de algodoeiros no Brasil. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 30, n. 2, p. 512-524, 2014.

OLIVEIRA, M. G. **Prospecção de rizobactérias para o biocontrole da rizoctoniose do caupi**. [s.l.] Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2011.

OMARA, A. E. et al. Suppression of *Rhizoctonia solani* damping-off in soybean (*Glycine max* L.) by plant growth promoting rhizobacteria strains. **Environment, Biodiversity and Soil Security**, v.2, p.39-49, 2018.

OROZCO, J. G. C. **Avaliação de bactérias simbiotes de nematoides entomopatogênicos e seus filtrados no manejo de *Sclerotinia sclerotiorum* de soja**. São Paulo: Instituto Biológico, 2018.

OTOYA-MARTINEZ, N. **Atividade antifúngica de *Xenorhabdus* spp. e *Photorhabdus* sp. contra fungos fitopatogênicos**. São Paulo: Instituto Biológico, 2023.

PADASHT-DEHKAEI, F. et al. Population genetic evidence that basidiospores play an important role in the disease cycle of rice-infecting populations of AG-1 IA in Iran: Population genetics of *R. solani* AG-1 IA from Iran. **Plant pathology**, v. 62, n. 1, p. 49-58, 2013.

PICARELLI, M. A. S. C. **Estudo de micovírus em *Rhizoctonia solani* como estratégia para o controle biológico de rizoctoniose em gramados**. São Paulo: Instituto Biológico, 2015.

PINTO, Z. V.; LUCON, C. M. M.; BETTIOL, W. Controle de qualidade de produtos biológicos à base de *Trichoderma*. Em: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. (Eds.). **Trichoderma: uso na agricultura**. Brasília: Embrapa, 2019. p. 181-199.

PIRES, E. O. et al. Current status of genus *Impatiens*: Bioactive compounds and natural pigments with health benefits. **Trends in food science & technology**, v. 117, p. 106-124, 2021.

POLONI, N. M. et al. Evidência de que o fungo *Rhizoctonia solani* AG-1 IA adaptado à *Urochloa* na Colômbia mantém ampla gama de hospedeiros incluindo o milho. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 42, n. 3, p. 228-232, 2016.

POONACHA, T. et al. Efficacy of fungicides against *Rhizoctonia solani* (J. G. Kuhn) causing root rot of french bean. **Environment and Ecology**, v. 41, p. 1838–1843, 2023.

PORTOLAN, I. B. et al. Ação do Trichodermil 1306 no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* na cultura do tomateiro. **Plant Pathology**, v.87, p. 1-7, 2020.

REGO, J. DE L. et al. Produtividade de crisântemo em função de níveis de irrigação. **Horticultura brasileira**, v. 27, n. 1, p. 45-48, 2009.

REIS, A.; BOITEUX, L. S.; PAZ-LIMA, M. L. Powdery mildew of ornamental species caused by *Oidiopsis haplophylli* in Brazil. **Summa phytopathologica**, v. 33, n. 4, p. 405–408, 2007.

***Rhizoctonia solani* symptoms and risk in oilseed rape**. Disponível em: <<https://ahdb.org.uk/knowledge-library/rhizoctonia-solani-symptoms-and-risk-in-oilseed-rape>>. Acesso em: 17 set. 2024.

SANFUENTES, E. et al. Caracterização de isolados de *Rhizoctonia* spp. e identificação de novos grupos de anastomose em jardim clonal de eucalipto. **Fitopatologia brasileira**, v. 32, n. 3, p. 229-236, 2007.

SANTAROSA, E.; JÚNIOR, J. F. P.; DOS REIS GOULART, I. C. G. (Eds.). **Transferência de tecnologia florestal: cultivo de eucalipto em propriedades rurais: diversificação da produção e renda**. Brasília: Embrapa, 2014.

SANTOS, L. A. L. et al. Biocontrole da antracnose em frutos de mamoeiro por bactérias epifíticas formadoras de biofilme. **Summa Phytopathol.**, v. 47, n. 1, p. 45-53, 2021.

SARKAR, S. et al. The in vitro effect of certain fungicides, insecticides, and biopesticides on mycelial growth in the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. **Turk biyoloji dergisi [Turkish journal of biology]**, 2010.

SCHURT, D. A. et al. Tratamentos químicos e biológicos de semnetes para controle da mela do feijão-caupi. **Revista Agri-Environmental Sciences**, v. 3, n. 1, p. 30-36, 2017.

SEIXAS, C. D. S. et al. **Tecnologias de Produção de Soja**. Embrapa Soja. Londrina, 2020.

SILVA JUNIOR, G. J.; BEHLAU, F. Controle químico. Em: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia**. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2019. 573 p.

SILVA, E. R. L. et al. Técnicas para avaliação do efeito “in vitro” de fungicidas sobre *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 73, n. 4, p. 429-437, 2006.

SILVA, R. S. A. **Potencial de bactérias extraídas do mangue para controle biológico de *Rhizoctonia solani* em soja**. São Paulo: Instituto Biológico, 2021.

SILVA-BARRETO, F. A. DA et al. 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**, v. 36, n. 2, p. 145-154, 2010.

SILVA-BARRETO, F. A. DA et al. 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**, v. 36, n. 2, p. 145-154, 2010.

SINGH, V. P. et al. Compatibility of Different Insecticides with *Trichoderma harzianum* Under *in vitro* Condition. **Plant pathology journal**, v. 11, n. 2, p. 73-76, 2012.

SOUZA, E. C. et al. Caracterização citomorfológica, cultural, molecular e patogênica de *Rhizoctonia solani* Kühn associado ao arroz em Tocantins, Brasil. **Summa phytopathologica**, v. 33, n. 2, p. 129-136, 2007.

TAPWAL, A. et al. Compatibility of *Trichoderma viride* for Selected Fungicides and Botanicals. **International journal of plant pathology**, v. 3, n. 2, p. 89-94, 2012.

TENÓRIO, D. A. **Rhizoctoniose do feijoeiro: Caracterização molecular do patógeno e controle biológico com leveduras**. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2015.

THIRUCHCHELVAN, N. et al. Effect of Insecticides on Bio-Agent *Trichoderma harzianum* rifai Under In vitro Condition. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, p. 1357-1360, 2013.

TODA, T.; HYAKUMACHI, M.; ARORA, D. K. Genetic relatedness among and within different *Rhizoctonia solani* anastomosis groups as assessed by RAPD, ERIC and REP-PCR. **Microbiological research**, v. 154, n. 3, p. 247-258, 1999.

TÖFOLI, J.G. et al. Nogueira. Doenças fúngicas da cultura da batata: sintomas, etiologia e manejo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 74, n. 1, p. 63-73, 2012. Disponível em: <http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/bio/v74_1/tofoli.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2024.

TSCHEN, J. M. et al. Biological control of basal stem rot of chrysanthemum by antagonists. **Journal of Phytopathology**, v. 126, n. 4, p. 313-322, 1989.

WAHYUDI, A. T. et al. Characterization of *Bacillus* sp. strains isolated from rhizosphere of soybean plants for their use as potential plant growth for promoting Rhizobacteria. **Journal of Microbiology and Antimicrobials**, v. 3, n.2, p. 34-40, 2018.

YILDIRIM1, E.; ERPER, I. Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* SPP. isolated from vegetable crops grown in greenhouses in Samsun province, Turkey. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 33, n. 2, p. 257-267, 2017.

ZHANG, S. et al. Nematophin, an Antimicrobial Dipeptide Compound From *Xenorhabdus nematophila* YL001 as a Potent Biopesticide for *Rhizoctonia solani* Control. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 1765, 2019.