

Compostos voláteis de fungos conidiais sapróbios da Amazônia Meridional no controle *in vitro* de fitopatógenos

Silmara Aparecida Bonani de Oliveira¹; Flávia Rodrigues Barbosa²; Ednaldo Alves Andrade³;
Stella Regina Ferrarini⁴; Solange Maria Bonaldo⁵

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais (PPGCAM/ICNHS), Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT)/Campus Sinop; FASIFE. Av. Magda de Cássia Pissinatti, 69 - Residencial Florença - Sinop, MT, Brasil. CEP: 78.555-392; ²Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais (PPGCAM/ICNHS), Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT)/Campus Sinop. Av. Alexandre Ferronato, nº. 1.200 /Reserva 35 / Distrito Industrial/ Campus Sinop, CEP: 78.557-287, Sinop, MT, Brasil; ³Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT)/Campus Sinop. Av. Alexandre Ferronato, nº. 1.200 /Reserva 35 / Distrito Industrial/ Campus Sinop, CEP: 78.557-287, Sinop, MT Brasil; ⁴Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso. Av. Alexandre Ferronato, nº. 1.200 /Reserva 35 / Distrito Industrial/ Campus Sinop, CEP: 78.557-287, Sinop, MT, Brasil. ⁵Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais (PPGCAM/ICNHS), Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT)/Campus Sinop. Av. Alexandre Ferronato, nº. 1.200 / Reserva 35 / Distrito Industrial/ Campus Sinop, CEP: 78.557-287, Sinop, MT, Brasil;

Endereço para correspondência: Solange Maria Bonaldo (sbonaldo@ufmt.br)

Data de chegada: 13/10/2017. Aceito para publicação em: 04/02/2019.

10.1590/0100-5405/178478

RESUMO

Oliveira, S.A.B.; Barbosa, F.R.; Andrade, E.A.; Ferrarini, S.R.; Bonaldo, S.M. Compostos voláteis de fungos conidiais sapróbios da Amazônia Meridional no controle *in vitro* de fitopatógenos. *Summa Phytopathologica*, v.45, n.3, p.302-307, 2019.

Estudos sobre compostos orgânicos voláteis (COVs) produzidos por fungos conidiais sapróbios da Amazônia (FCSA) ainda são inexistentes. Assim, verificou-se a produção de COVs de FCSA e, seu potencial no controle de fitopatógenos *in vitro*. Utilizou-se os FCSA *Beltrania rhombica*, *Brachysporiella* sp., *Dictyochoeta* sp., *Gonytrichum* sp. e avaliou-se a produção de COVs através da germinação e viabilidade de esporos dos fitopatógenos e, crescimento micelial, conforme metodologias de (2) e (10), com adaptações. Houve redução de germinação de esporos de *Colletotrichum musae* (63,56%) frente à exposição a *B. rhombica*, *Brachysporiella* sp. (86,66%), *Dictyochoeta*

sp. (79,68%) e *Gonytrichum* sp. (85,71%). Os fitopatógenos *C. truncatum*, *C. musae* e *Fusarium* sp. quando expostos a COVs de *Brachysporiella* sp., *Dictyochoeta* sp. e *Gonytrichum* sp. apresentaram esporos inviáveis após 3 e 7 dias de exposição. Os COVs dos FCSA reduziram o índice de velocidade do crescimento micelial e inibiram o crescimento micelial de *Sclerotinia* sp. e *S. sclerotiorum*; bem como redução da produção de escleródios na exposição aos COVs de *B. rhombica*, *B. gayanae* e *D. fertilis*. Conclui-se que os FCSA estudados apresentam produção de COVs, com potencial para o controle biológico de doenças de plantas.

Palavras-chave: Fungos decompositores, controle biológico, doenças de plantas.

ABSTRACT

Oliveira, S.A.B.; Barbosa, F.R.; Andrade, E.A.; Ferrarini, S.R.; Bonaldo, S.M. Volatile compounds of saprobic conidial fungi from Southern Amazonia for *in vitro* control of phytopathogens. *Summa Phytopathologica*, v.45, n.3, p.302-307, 2019.

Studies on volatile organic compounds (VOC) produced by saprobic conidial fungi of the Amazonian region (SCFA) are still non-existent. Thus, the aim of this study was to investigate the production of VOC's from SCFA and their potential for controlling phytopathogens *in vitro*. The SCFA *Beltrania rhombica*, *Brachysporiella* sp., *Dictyochoeta* sp. and *Gonytrichum* sp. were used and their production of VOC's was evaluated through germination and viability of phytopathogen spores and their mycelial growth, following the methodologies of Botelho 2010 and Maia 2011, with modifications. There was a reduction in spore germination for *Colletotrichum musae* (63.56%) after exposure

to *B. rhombica*, *Brachysporiella* sp. (86.66%), *Dictyochoeta* sp. (79.68%) and *Gonytrichum* sp. (85.71%). When the phytopathogens *C. truncatum*, *C. musae* and *Fusarium* sp. were exposed to VOC from *Brachysporiella* sp., *Dictyochoeta* sp. and *Gonytrichum* sp., their spores were unviable after 3 and 7 days of exposure. The VOC's from SCFA reduced the mycelial growth rate index and inhibited the mycelial growth of *Sclerotinia* sp. and *S. sclerotiorum*, besides reducing sclerotia production after exposure to VOC's from *B. rhombica*, *B. gayanae* and *D. fertilis*. We concluded that the studied SCFA showed VOC production, with potential for the biological control of plant diseases.

Keywords: Decomposer fungi, biological control, plant diseases.

Fungos conidiais sapróbios podem ser obtidos a partir de matéria orgânica em decomposição, colaborando com a renovação e reciclagem de matéria orgânica em decomposição. Quanto mais hostil o ambiente de onde o fungo foi recuperado, maiores as chances de sobrevivência do agente de biocontrole no agroecossistema. Trabalhos de prospecção da biodiversidade fúngica do semiárido, identificaram diversos fungos

sapróbios de serrapilheira de diversas florestas da caatinga do Nordeste (6;7).

Estes fungos têm recebido uma atenção especial como potenciais indutores de resistência e agentes de controle biológico. A ação dos agentes de controle biológico é baseada em diferentes mecanismos envolvendo produção de antibióticos voláteis e não voláteis,

competição por espaço e nutrientes, produção de enzimas hidrolíticas e micoparasitismo. Como não produzem toxinas, não são capazes de causar doença e podem, portanto, atuar como indutores de resistência de plantas contra fitopatógenos (6).

Compostos orgânicos voláteis antimicrobianos recebem pouca atenção quando comparado ao antagonismo causado por substâncias difusíveis. No entanto, novos trabalhos tem focado atenção nestes produtos do metabolismo, que se apresentam na forma gasosa ou possuem alta pressão de vapor. Desta forma, em condições normais são liberados da célula. Esses compostos possuem baixa massa molecular e podem pertencer a diversas classes químicas tais como álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres, lactonas, terpenos e compostos de enxofre (3, 19, 20).

Estudos sobre fungos conidiais sapróbios envolvem geralmente caráter taxonômico Peitl (14) e, na região Amazônica as pesquisas estão intensificadas, por se tratar de área com ampla diversidade de espécies. Entretanto, estudos da bioprospecção de compostos orgânicos voláteis emitidos pelos FCSA no controle de doenças de plantas são escassos. Neste contexto, avaliou-se a produção de compostos orgânicos voláteis de FCSA e seu potencial no controle de fitopatógenos *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os fitopatógenos *Aspergillus clavatus* (Pier Antonio Micheli), *Colletotrichum truncatum* (Berk. & M.A. Curtis) (isolado LU2), *Colletotrichum musae* (Berk; Curtis), *Fusarium* sp. (Link ex Grey), *Rhizoctonia solani* (Ancient Greek), *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary (isolado soja) e *Sclerotinia* sp. (isolado feijão), foram obtidos da micoteca do Laboratório de Microbiologia/Fitopatologia da UFMT/ Campus Sinop.

Os FCSA foram obtidos através de cultura direta de galhos e folhas retirados de áreas de Cotriguaçu/MT e do Cristalino/MT. Os fungos conidiais sapróbios *Beltrania rhombica* (Penzig)-CNMTf40, *Brachysporiella* sp. (All Fields) CNMTf41, *Dictyochoaeta* sp. (S. Hughes & W.B. Kendr.) CNMTf42 e *Gonytrichum* sp. (Nees & T. Nees) CNMTf-43, foram preservados no Laboratório de Microbiologia/Fitopatologia da Universidade Federal de Mato Grosso, Campus Sinop.

Inicialmente, os FCSA e os fitopatógenos foram cultivados em Batata-Dextrose-Ágar (BDA) por 20 dias, a 25±2° C, em fotoperíodo 12 horas. Na produção de compostos orgânicos voláteis dos FCSA, e esporulação dos fitopatógenos, foi adotada a metodologia proposta por Botelho (2), com modificações. No frasco utilizado, com capacidade para 24 mL, colocou-se 14 mL de meio Ágar-ágar e dois mL de BDA e, um microtubo de 1,5 mL foi introduzido no meio até altura mediana. Dois discos (dois mm de diâmetro) foram retirados das bordas das culturas dos FCSA previamente cultivados, e colocados ao lado do microtubo em posições opostas. Em seguida o frasco foi tampado e vedado com Parafilm®. Como testemunha utilizou-se frasco sem a repicagem dos FCSA. Os frascos foram mantidos por sete dias, a 25 ± 2°C e, fotoperíodo de 12 horas. Um mL de suspensão de 10⁴ esporos de *A. clavatus*, *C. truncatum* (isolado LU2), *C. musae*, *Fusarium* sp., foi introduzido no microtubo, com o auxílio de uma seringa. O orifício foi vedado com fita adesiva e o frasco mantido em Demanda bioquímica de Oxigênio (BOD) a 25 ± 2°C e, fotoperíodo por 72 horas. Após este período retirou-se 500 µL da suspensão de esporos, da qual transferiu-se aproximadamente 10 µL para uma placa com meio BDA (90mm de diâmetro) a fim de verificar a viabilidade dos esporos. Posteriormente colocou-se em BOD a 25 ± 2°C com fotoperíodo, sendo avaliado diariamente o crescimento do fitopatógeno por um período de sete dias. Os resultados foram expressos em crescimento micelial positivo

(+) e negativo (-). A estes resultados atribuiu-se nota 1 (+) e nota 0 (-) sendo agrupado para análise estatística. O restante do material foi acondicionado em tubo de ensaio para contagem de esporos germinados seguindo metodologia de Maia (10), com adaptações. Para isto, contou-se 100 esporos com auxílio de uma lâmina para microscópico, considerando as quintuplicatas. Os esporos foram considerados germinados quando apresentaram tubo germinativo com 50% do seu comprimento. Após sete dias foi retirado o restante da suspensão de esporos adicionada ao microtubo, para desenvolver novos testes de viabilidade e, contagens de esporos germinados.

Para analisar o efeito dos compostos orgânicos voláteis produzidos por FCSA sobre *S. sclerotiorum*, *Sclerotinia* sp. e *R. solani*, adotou-se a metodologia de Rezende (9), com modificações. Placas de poliestireno (90 mm de diâmetro), divididas ao meio por um septo, receberam aproximadamente 10 mL de meio BDA em cada lado da placa. No centro do septo do lado da placa foi depositado o disco de micélio dos FCSA (8 mm) e as placas foram então vedadas e incubadas em BOD a 25±2°C, fotoperíodo por 72 horas. Após este período, foi aberto um orifício do lado oposto do FCSA e depositou-se um escleródio do fitopatógeno a ser analisado (*S. sclerotiorum* ou *Sclerotinia* sp.), ou microescleródio de *R. solani*, previamente produzidos em meio BDA. O orifício foi selado com fita crepe adesiva e as placas mantidas a 25±2°C em BOD fotoperíodo. Após 24h avaliou-se o crescimento micelial em cm. O tratamento controle constituiu-se de placas contendo apenas BDA e os fitopatógenos. As avaliações foram realizadas diariamente, até que as colônias da placa testemunha atingissem a borda da placa. De posse dos dados de crescimento micelial determinou-se o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) por meio da fórmula adaptada de (13). O cálculo do percentual de inibição em comparação à testemunha foi obtido através da fórmula: $I\% = [(C1-C2)/C1] \times 100$, onde I=% de inibição do patógeno; C1 = crescimento linear do patógeno na placa testemunha e C2 = crescimento linear (cm) do patógeno na placa tratamento.

Após 21 dias de incubação em BOD a 25°C, determinou-se a produção de escleródios *Sclerotinia* sp. e *S. sclerotiorum* por contagem direta e, a produção de microescleródios de *R. solani*. Para isso as placas de Petri foram divididas em quadrantes iguais partindo do disco micelial central, sendo demarcados com sinal negativo (-) para ausência de microescleródios e positivo (+) para presença dos mesmos. Uma escala para quantificação da presença de microescleródios na placa foi estabelecida sendo: (++++) nota 4, (++++) nota 3, (++) nota 2, (+) nota 1 e (-) ausente nota 0. Obteve-se a soma dos sinais positivos e realizou-se a média acrescida de arredondamento para obtenção dos resultados que foram submetidos à análise estatística. Todos os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em quintuplicata.

A análise dos dados foi realizada com auxílio do programa Sisvar versão 4.6 segundo Ferreira (5). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com transformação $\sqrt{X+1}$ e quando significativo submetido ao teste de Scott Knott (5), a 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme as avaliações de germinação dos fitopatógenos quando expostos aos COVs emitidos pelos FCSA, houve inibição de germinação dos fitopatógenos ($P \leq 0,05$) (Tabela 1). No controle negativo de *C. truncatum* no terceiro e sétimo dia de avaliação a germinação foi de 40,51 e 58,74 %, respectivamente, com redução da germinação de esporos frente aos COVs de *Brachysporiella* sp., *Dictyochoaeta* sp. e

Tabela 1. Germinação em % de esporos de fitopatógenos submetidos a compostos orgânicos voláteis produzidos por fungos conidiais sapróbios da Amazônia Meridional, após 3 e 7 dias de incubação.

Tratamentos	Dias		Média de germinação
	03 dias	07 dias	
<i>Aspergillus clavatus</i>	14,58aA	65,03bC	39,80B
<i>Beltrania rhombica</i> X <i>A. clavatus</i>	57,20 bB	58,60 bC	57,90 C
<i>Brachysporiella</i> sp. X <i>A. clavatus</i>	32,60 bA	30,40 bB	31,50 B
<i>Dictyochaeta</i> sp. X <i>A. clavatus</i>	29,60 bA	43,60 bC	36,60 B
<i>Gonytrichum</i> sp. X <i>A. clavatus</i>	49,20 bA	32,00 bB	40,60 B
<i>Colletotrichum truncatum</i>	40,51bB	58,74bC	49,62B
<i>Beltrania rhombica</i> X <i>C. truncatum</i>	47,00 bB	35,60 bB	41,30 B
<i>Brachysporiella</i> sp. X <i>C. truncatum</i>	27,60 aA	44,80 bC	36,20 B
<i>Dictyochaeta</i> sp. X <i>C. truncatum</i>	25,20 bA	31,40bB	28,30 B
<i>Gonytrichum</i> sp. X <i>C. truncatum</i>	22,80 aA	53,80 bC	38,30B
<i>Colletotrichum musae</i>	13,77bA	16,52bA	15,14A
<i>Beltrania rhombica</i> X <i>C. musae</i>	47,40 bB	14,20 aA	30,80 B
<i>Brachysporiella</i> sp. X <i>C. musae</i>	24,00 bA	03,20 aA	13,60 A
<i>Dictyochaeta</i> sp. X <i>C. musae</i>	12,80 bA	02,60 bA	10,20 A
<i>Gonytrichum</i> sp. X <i>C. musae</i>	35,00 bA	05,00 aA	20,00 A
<i>Fusarium</i> sp.	41,18bB	43,08bC	42,13B
<i>Beltrania rhombica</i> X <i>Fusarium</i> sp.	33,60 bA	20,20 bA	29,70 B
<i>Brachysporiella</i> sp. X <i>Fusarium</i> sp.	30,40 bA	29,00bB	29,70 B
<i>Dictyochaeta</i> sp. X <i>Fusarium</i> sp.	27,40 bA	36,20 bB	31,80 B
<i>Gonytrichum</i> sp. X <i>Fusarium</i> sp.	23,40 bA	13,80bA	18,60A
Médias Gerais	32,83 a	28,40 a	30,61
CV	42,38%	50,60%	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e letras maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Scott Knott (5%). Para efeito de análise estatística os dados foram transformados em raiz de $\sqrt{X+1}$. Dados são médias de cinco repetições.

Gonytrichum sp..

Visto que na literatura não é possível encontrar o efeito de COVS produzidos por FCSA sobre a germinação de esporos de fitopatógenos, os resultados encontrados neste trabalho foram interessantes, pois demonstraram o efeito destes compostos frente a *C. truncatum*, um agente causal da antracnose em soja.

Com relação ao *C. musae*, observou-se que no 7º dia de estudo todos os COVS haviam reduzido a germinação: *B. rhombica* (14,20 %), *Brachyosporiella* sp. (3,20 %), *Dictyochaeta* sp. (2,60%) e *Gonytrichum* sp. (5,00 %). Para *Fusarium* sp. em contato com os COVS de *B. Rhombica*, apenas houve 33,60 % e 20,20 % de germinação de esporos, ao 3º e 7º dias de avaliação, respectivamente; *Brachyosporiella* sp. (30,40 % e 29,00 %), *Gonytrichum* sp. (23,40 % e 13,80 %) em relação ao controle negativo houve redução frente aos tratamentos ao 3º e 7º dias de avaliação.

Estudos comprovam a eficiência de diversas substâncias voláteis produzidas por plantas, fungos, bactérias e outros no controle de fitopatógenos, reduzindo a formação de esporos (15, 19).

A germinação de esporos é umas das fases mais delicadas do ciclo de vida dos fungos fitopatogênicos, pois o patógeno está muito

vulnerável aos fatores ambientais (temperatura fora da faixa adequada, falta ou excesso de umidade), fungicidas, microrganismos antagonísticos, nutricionais. Visto que, ainda não estabeleceu a relação parasitária com o hospedeiro. É nesta fase que no geral, atuam os principais fungicidas normalmente utilizados em pulverizações foliares (8).

Observa-se nas médias gerais de germinação de esporos (Tabela 1) que os melhores tratamentos foram *Brachysporiella* sp., *Dictyochaeta* sp. frente a *C. musae* e *Gonytrichum* sp. frente *Fusarium* sp., respectivamente, onde houve redução da germinação em relação ao controle negativo.

Não houve viabilidade de esporos de *A. clavatus* confrontados com *Dictyochaeta* sp. aos 3 dias de incubação, entretanto, quando exposto por 7 dias, estes esporos apresentaram viabilidade (Tabela 2). Estes resultados demonstram que os COVs da *Dictyochaeta* sp. tem efeito sobre a viabilidade de *A. clavatus* e que esta interferência foi efetiva em um curto período de tempo. Portanto, este(s) composto(s) pode(m) ser usado(s) de forma protetiva, como algumas substâncias usadas comercialmente como Clorofenil, flurofenil, Triazol, fenil toliloximetil. Essas substâncias apresentam ação protetora ou de pré-penetração quando o fungicida inibe a germinação, impedindo a penetração do

Tabela 2. Porcentagem de viabilidade (em %) de esporos de fitopatógenos, após exposição aos compostos orgânicos voláteis produzidos por fungos conidiais sapróbios da Amazônia Meridional, após 3 e 7 dias de incubação.

Tratamentos	Dias		
	3 dias	7 dias	Média
<i>Aspergillus clavatus</i>	80b	80b	80b
<i>Beltrania rhombica</i> X <i>Aspergillus clavatus</i>	80b	100b	90b
<i>Brachysporiella</i> sp. X <i>A. clavatus</i>	100 b	100b	100b
<i>Dictyochoaeta</i> sp. X <i>A. clavatus</i>	0a	100b	50a
<i>Gonytrichum</i> sp. X <i>A. clavatus</i>	100b	100b	100b
<i>Colletotrichum truncatum</i>	80b	80b	80 b
<i>Beltrania rhombica</i> X <i>C. truncatum</i>	20a	80b	50a
<i>Brachysporiella</i> sp. X <i>C.truncatum</i>	0a	0a	0a
<i>Dictyochoaeta</i> sp. X <i>C. truncatum</i>	20a	20 ^a	20a
<i>Gonytrichum</i> sp. X <i>C. truncatum</i>	0a	0a	0a
<i>Colletotrichum musae</i>	80b	80b	80b
<i>Beltrania rhombica</i> X <i>C.musae</i>	60b	60b	60b
<i>Brachysporiella</i> sp. X <i>C. musae</i>	0a	0a	0a
<i>Dictyochoaeata</i> sp. X <i>C. musae</i>	0a	0a	0a
<i>Gonytrichum</i> sp. X <i>C. musae</i>	60b	60b	60b
<i>Fusarium</i> sp.	80b	80b	80 b
<i>Beltrania rhombica</i> X <i>Fusarium</i> sp.	60b	60b	60b
<i>Brachysporiella</i> sp. X <i>Fusarium</i> sp.	0a	100b	50a
<i>Dictyochoaeta</i> sp. X <i>Fusarium</i> sp.	100b	100b	100b
<i>Gonytrichum</i> sp. X <i>Fusarium</i> sp.	0a	0a	0a
C.V.	10,93%	10,46%	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Scott Knott (5 %). Para efeito de análise estatística os dados foram transformados em $\sqrt{X+1}$. Dados são médias de cinco repetições.

fungo nos tecidos do hospedeiro (18).

Os compostos gerados por *B. rhombica* e *Brachysporiella* sp. reduziram a viabilidade de esporos de *Fusarium* sp. (Tabela 2) aos 3 dias (60 e 0% de crescimento micelial, respectivamente). Entretanto os COVs produzidos por *Gonytrichum* sp. inviabilizaram o crescimento dos esporos nos dois períodos avaliados, mas a germinação dos esporos não foi afetada pelo COVs (Tabela 1). Assim, os resultados indicam a presença de compostos orgânicos voláteis com ação sobre a viabilidade dos esporos, mas sem alteração da germinação.

Para *C. musae*, a viabilidade dos esporos não diferiu estatisticamente entre si, frente aos COVs produzidos por *B. rhombica* e *Gonytrichum* sp.. Porém houve redução na viabilidade dos esporos frente aos COVs produzidos por *Brachysporiella* sp. e *Dictyochoaeta* sp., em ambos os períodos avaliados.

Os esporos de *C. truncatum* frente aos compostos voláteis produzidos por *Dictyochoaeta* sp. apresentaram o mesmo resultado nos dois dias analisados, porém com redução da viabilidade tanto ao 3º dia (20 %) como ao 7º dia (20 %) de incubação. Enquanto que frente a COVs de *B. rhombica* diferiu entre os dias avaliados, apresentando redução da viabilidade somente aos 3 dias (20 %) de incubação. Os COVs de *Brachysporiella* sp. e *Gonytrichum* sp., reduziram

completamente a viabilidade dos esporos nos períodos avaliados.

Os COVs produzidos por *Brachysporiella* sp., *Dictyochoaeta* sp. e *Gonytrichum* sp. que reduziram em 100% a viabilidade dos esporos de *Fusarium* sp., *C. truncatum* e *C. musae*, provavelmente apresentam ação residual ou ação protetora, sobre os esporos dos fitopatógenos.

No caso estes compostos orgânicos voláteis podem ser classificados como agentes preventivos. Apresentando ação protetora, pela inibição da germinação dos esporos e do crescimento micelial: esporos de *C. truncatum* frente aos COVs de *Brachysporiella* sp. e *Gonytrichum* sp. não apresentaram redução de germinação, porém apresentaram inviabilidade no crescimento micelial. *C. musae* frente aos compostos de *B. rhombica*, *Brachysporiella* sp., *Dictyochoaeta* sp. *Gonytrichum* sp. apresentaram germinação de esporos reduzida e inviabilidade dos esporos. E para *Fusarium* sp., os compostos voláteis de *Gonytrichum* sp. reduziram a germinação e inviabilizaram o crescimento micelial. Portanto, sem germinação de esporos e crescimento micelial há o impedimento do fungo de penetrar e colonizar nos tecidos hospedeiros.

Os COVs produzidos pelos FCSA, frente a *C. truncatum*, *C. musae* e *Fusarium* sp., apresentaram efeito fungicida pois, possivelmente, foram absorvidos por estas células através do tubo germinativo ou penetraram diretamente à célula como os de contato inviabilizando estes

Tabela 3. Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de diferentes fitopatógenos quando submetidos à exposição de compostos orgânicos voláteis produzidos por fungos conidiais sapróbios da Amazônia Meridional (FCSA)

FCSA	IVCM		
	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Sclerotinia</i> sp.	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
Controle	1,28bA	1,44cC	1,22aB
<i>Beltrania rhombica</i>	1,31 bA	1,23 aA	1,21 aB
<i>Brachysporiella</i> sp.	1,31 cA	1,21 bA	1,07 aA
<i>Dictyochaeta</i> sp.	1,23 bA	1,33 cB	1,11 aA
<i>Gonytrichum</i> sp.	1,29 aA	1,22 aA	1,27 aB
Médias	1,29 b	1,29 b	1,17 a

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e letras maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Scott Knott (5%). C.V. = 4,39%. Para efeito de análise estatística os dados foram transformados em $\sqrt{X+1}$. Dados são médias 5 repetições.

Tabela 4. Percentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de fitopatógenos submetidos aos compostos orgânicos voláteis produzidos por fungos conidiais sapróbios da Amazônia Meridional (FCSA)

FCSA	PIC (%)		
	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Sclerotinia</i> sp.	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
<i>Beltrania rhombica</i>	0,00 bA	50,37 aA	3,66 bB
<i>Brachysporiella</i> sp.	0,00 bA	56,41 aA	72,25 aA
<i>Dictyochaeta</i> sp.	20,61 aA	26,03aB	47,34aA
<i>Gonytrichum</i> sp.	0,00bA	44,81 aA	0 bB
Médias	5,15 c	44,40 a	30,81 b

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e letras maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Scott Knott (5%). C.V. = 42,37% Para efeito de análise estatística os dados foram transformados em $\sqrt{X+1}$. Dados são médias de cinco repetições.

fitopatógenos. Estes compostos são substâncias de baixa polaridade que possuem aproximadamente 20 átomos de carbono e que podem transpassar a membrana com facilidade e serem liberados na atmosfera ou no solo, na ausência de uma barreira de difusão. Além disso, podem ser espalhados rapidamente pelo movimento de solução aquosa e pelo fluxo em massa de água. Devido a estas características os COVs aumentam sua área de influencia e, então melhoram sua eficiência no controle de fitopatógenos (4, 15).

O uso de fungos no controle de doenças requer a inibição de germinação ou de algum estágio da doença ou do ciclo de vida do fitopatógeno (16). Colaborando com os resultados apresentados neste trabalho, (17) utilizou fungos sapróbios na produção de compostos orgânicos voláteis no controle de mancha manteigosa causada por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.), onde observou redução da taxa de esporulação.

No teste de produção de voláteis frente *R. solani* não houve diferença significativa no IVCM quando exposto aos COVs dos FCSA (Tabela 3), enquanto *Sclerotinia* sp. diferiu apresentando redução de IVCM, frente aos COVs dos FCSA *Brachysporiella* sp. (IVCM= 1,21), *Gonytrichum* sp. (IVCM= 1,22) e *B. rhombica* (IVCM= 1,23) em relação ao controle (IVCM= 1,44). *S. sclerotiorum* diferiu entre os tratamentos de COVs de *Dictyochaeta* sp. (IVCM= 1,11) e *Brachysporiella* sp. (IVCM=1,07) em relação ao controle (IVCM= 1,22).

O fenômeno de estímulo e/ou inibição micelial e germinação de esporos fúngicos por compostos presentes na fase gasosa parece ser um evento multifuncional. Dependente de vários eventos somados, a vulnerabilidade das estruturas fúngicas aos compostos voláteis, está diretamente relacionada com o local onde estas estruturas estão

inseridas (1).

Pesquisas indicam que compostos orgânicos voláteis ou de misturas artificiais de voláteis, apresentam promissora atividade no combate de uma ampla gama de patógenos fúngicos e bacterianos (11). Wheatley (20) estudou interações mediadas por voláteis entre uma ampla gama de fungos e bactérias de solo e demonstrou que os isolados fúngicos apresentaram o crescimento micelial estimulado em até 40% ou inibido em até 60%, dependendo do isolado bacteriano.

Os dados de PIC do crescimento micelial de *R. solani*, *Sclerotinia* sp. e *S. sclerotiorum* (Tabela 4) quando expostos aos COVs dos FCSA, foram significativos ($P \leq 0,05\%$). Com relação a *S. sclerotiorum*, as menores porcentagens de inibição de crescimento micelial foi verificado frente a *Gonytrichum* sp. (0 %) seguido de *B. rhombica* (3,66 %), porém maior PIC foi frente a *Brachysporiella* sp. (72,25 %) seguido de *Dictyochaeta* sp. (47,34%).

Melo et al. (12), observaram que *Xanthomonas vesicatoria* (Doidge) submetida a compostos orgânicos voláteis produzidas pelos fungos sapróbios *Dictyochaeta simplex* (S. Hughes & W.B. Kendr.), *Gonytrichum chlamydosporium* (Barron & Bhatt), *Stachybotrys globosa* (Misra & Srivast), *Curvularia inaequalis* (Shear) e *Volutella minima* (Höhn) apresentaram inibições do crescimento bacteriano de 53,9; 54,7; 59,5; 60,9 e 77,6 %, respectivamente.

Para *Sclerotinia* sp. os maiores valores de PIC, foram para a exposição aos COVs de *B. rhombica*, *Brachysporiella* sp. e *Gonytrichum* sp. (PIC=50,37, 56,41 e 44,81%, respectivamente) (Tabela 4). A PIC foi reduzido para *S. sclerotiorum* frente a *B. rhombica* e *Gonytrichum* sp. (PIC= 3,66 e 0 %, respectivamente), entretanto *Brachysporiella* sp. e *Dictyochaeta* sp. proporcionaram PIC de 72,25

Tabela 5. Produção de escleródios e microescleródios de fungos fitopatogênicos quando expostos aos compostos orgânicos voláteis produzidos por fungos conidiais sapróbios da Amazônia Meridional (FCSA)

Tratamentos	Número de escleródios e Microescleródios		
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	<i>Sclerotinia</i> sp.	<i>Rhizoctonia solani</i>
Controle Negativo	2,6 b	16,8a	2,0b
Beltrania rhombica	0,0a	15,2a	1,0a
<i>Brachysporiella</i> sp.	0,2a	12,6a	3,0c
<i>Dictyochaeta</i> sp.	0,0a	17,6a	2,2b
<i>Gonytrichum</i> sp.	4,0b	17,6a	0,8 a

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Scott Knott (5%). Para efeito de análise estatística os dados foram transformados em $\sqrt{X+1}$. Dados são médias de cinco repetições.

e 47,34 %, respectivamente.

A produção de escleródios de *S. sclerotiorum* e *Sclerotinia* sp., e microescleródios de *R. solani* (Tabela 5) diferiu estatisticamente entre os tratamentos ($P \leq 0,05$ %). Para *Sclerotinia* sp. não houve diferença significativa na produção de escleródios entre os tratamentos e, para *S. sclerotiorum* houve aumento da produção de escleródios frente aos COVs de *Gonytrichum* sp.

Portanto, COVs emitidos por *Brachysporiella* sp., *Dictyochaeta* sp. e *Gonytrichum* sp. reduziram a germinação de esporos de *C. musae* e *Fusarium* sp. e os compostos de *Brachysporiella* sp., *Dictyochaeta* sp. e *Gonytrichum* sp. inviabilizam os esporos de *C. musae*, *C. truncatum* e *Fusarium* sp.

Os COVs de *B. rhombica*, *Brachysporiella* sp., e *Gonytrichum* sp. proporcionaram melhor controle do crescimento micelial de *Sclerotinia* sp., enquanto que compostos produzidos por *Brachysporiella* sp. e *Dictyochaeta* sp. apresentaram maior eficiência sobre *S. sclerotiorum*.

A formação de estruturas de sobrevivência de *S. sclerotiorum* e *R. solani* foi afetada pelos COVs de *B. rhombica* e *Dictyochaeta* sp., enquanto que os compostos produzidos por *Brachysporiella* sp. reduziram a formação de escleródios somente de *S. sclerotiorum*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pelo apoio financeiro, Processo nº 445245/2014-0.

REFERÊNCIAS

- Alencar, M.S.R. **Fungos sapróbios do semiárido nordestino para o controle de *Alternaria solani* em tomateiro.** 2014. 84p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- Botelho, A.O. **Fatores envolvidos na supressividade de *Meloidogyne exigua* em caféiro:** nova técnica para análise de compostos orgânicos voláteis tóxicos a fitonematóide. 2010. 98p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Chaurasia, B.; Pandey, A.; Palni, L.M.S.; Trivedi, I.; Kumar, B.; Colvin, N.; Diffusible and volatile compounds produced by an antagonistic *Bacillus subtilis* strain cause structural deformations in pathogenic fungi in vitro. **Microbiological Research**, Amsterdam, v.160, p.75-81, 2005.
- Dudareva, N.; Negre, F.; Nagegowda, D.A.; Orlova, I. Plant volatiles: recent advances and future perspectives. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.25, n.5, p.417-440, 2006. DOI: 10.1080/07352680600899973
- Ferreira, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.
- Fialho, M.B.; Toffano, L.; Pozzobon, M.; Pedroso, F.A.; Pascholati, S.F.

- Volatile organic compounds produced by *Saccharomyces cerevisiae* inhibit the in vitro development of *Guignardia citricarpa*, the causal agent of citrus black spot. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Amsterdam, v.26, n.5, p.925-932, 2010.
- Leão-Ferreira, S.M.; Pascholati, S.F.; Gusmão, L.F.; Castañeda, R.; Rafael, F. Conidial fungi from the semi-arid Caatinga biome of Brazil: three new species and new records. **Nova Hedwigia**, Berlin, v.96, n.3/4, p.479-494, May 2013.
 - Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas.** 4.ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2005. v.2, 663p.
 - Rezende, D.C.; Fialho, M.B.; Brand, S.C.; Blumer, S.; Pascholati, S.F. Antimicrobial activity of volatile organic compounds and their effect on lipid peroxidation and electrolyte loss in *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum acutatum* mycelia. **African Journal of Microbiology Research**, Piracicaba v.9, p.1527-1535, 2015.
 - Maia, F.G.M.; Armesto, C.; Zancan, W.L.A.; Maia, J.B.; Abreu, M.S. de. Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum* spp. isolados de mangueira com sintomas de antracnose. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.27, n.2, p.205-210, 2011.
 - Mercier, J.; Smilanick, J.L. Control of green mold and sour rot of stored lemons by biofumigation with *Muscodor albus*. **Journal of Biological Control**, Orlando, v.32, p.401-407, 2005.
 - Mello, F.E.; Peitl, D.C.; Sumida, C.H.; Calvo, N.S.; Araujo, F.A.; Balbi-Peña, M.I. Inibição de *Xanthomonas vesicatoria* por compostos orgânicos voláteis produzidos por fungos sapróbios. **Tropical Plant Pathology**, Manaus, v.38, p.487, ago. 2012. Suplemento.
 - Oliveira, J.A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.).** 1991. 111p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
 - Peitl, D.C.; Grecco, C.R.M.; Balbi-Peña, M.I.; Sumida, C.H.; Oliveira, C.L.L.G.; Santiago, D.C.; Kajiwar, V. Doses de filtrados de *Myrothecium* sp. na germinação de ascósporos de *Sclerotinia sclerotiorum*. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 47^o, 2014, Londrina. Anais :Tropical Plant Pathology, 2014
 - Pimenta, L. **Compostos orgânicos voláteis produzidos por fungos associados a madeira em decomposição e tóxicos a patógenos de importância florestal e agrônômica.** 2013. 70p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
 - Punja, Z.K.; Utkhede, R.S. Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v.21, p.400-407, 2003.
 - Pinto, E.A.M.F. **Controle da mancha manteigosa com fungos sapróbios em caféiro.** 2013. 72 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
 - Santana, A.P.S. **Produtos alternativos com atividade fungitóxica sobre patógenos da videira e para quebra da dormência de gemas.** 2011. 90f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira.
 - Tarkka, M.T.; Piechulla, B. Aromatic weapons: truffles attack plants by the production of volatiles. **The New Phytologist**, London, v.175, p.381-383, 2007.
 - Wheatley, R.E. The consequences of volatile organic compound mediated bacterial and fungal interactions. **Antonie van Leeuwenhoek**, Dordrecht, v.81, p.357-364, 2002.