

Regimes de luz na produção de conídios de *Trichoderma harzianum* para controle do mofo branco em feijoeiro¹

Mariany Dalila Milan², Franciely Magalhães Barroso²,
Sueli Corrêa Marques de Mello³, Márcio da Silva Araújo², Daniel Diego Costa Carvalho²

ABSTRACT

Light regimes used for producing *Trichoderma harzianum* conidia to control white mold in common bean plants

White mold has been responsible for expressive damages to the common bean crop. This study aimed at evaluating the effect of light regimes used for producing *Trichoderma harzianum* conidia and the effectiveness of these to inhibit the myceliogenic germination of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia, as well as the effect of *T. harzianum* isolates in the suppression of lesions caused by *S. sclerotiorum* on common bean leaflets. The CEN287 isolate inhibited the myceliogenic germination in 80 % of the sclerotia evaluated. Such effectiveness was indifferent, regarding the light system used to obtain the *T. harzianum* conidia. The CEN287, CEN288 and CEN316 isolates showed the lowest average values of leaf lesion at 10 days after inoculation, being respectively 4.25 mm², 2.97 mm² and 2.98 mm². Concerning the control, these values were significantly lower (72.90 mm²), what prevented the early deterioration of plant tissue.

KEY-WORDS: *Sclerotinia sclerotiorum*; biological control; sclerotia.

RESUMO

O mofo branco tem sido responsável por danos expressivos à cultura do feijoeiro. Objetivou-se avaliar o efeito de regimes de luz na produção de conídios de *Trichoderma harzianum* e na efetividade destes em inibir a germinação miceliogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, bem como de isolados de *T. harzianum* na supressão de lesões causadas por *S. sclerotiorum* sobre folíolos de feijoeiro. O isolado CEN287 inibiu a germinação miceliogênica de 80 % dos escleródios avaliados. Tal efetividade não se alterou quanto ao regime de luz empregado para a obtenção dos conídios de *T. harzianum*. Os isolados CEN287, CEN288 e CEN316 proporcionaram os menores valores médios de lesão foliar aos 10 dias após a inoculação, sendo de 4,25 mm²; 2,97 mm²; e 2,98 mm², respectivamente. Em relação à testemunha, tais valores foram significativamente inferiores (72,90 mm²), o que impediu a rápida deterioração do tecido vegetal.

PALAVRAS-CHAVE: *Sclerotinia sclerotiorum*; controle biológico; escleródios.

INTRODUÇÃO

O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, causador do mofo branco, é um dos patógenos de maior ocorrência e responsável por danos expressivos à cultura do feijoeiro, acarretando grandes prejuízos aos produtores brasileiros (Barbosa & Gonzaga 2012). O controle dessa doença pelo uso de produtos químicos, além de mostrar-se ineficaz, contraria a tendência atual de busca por sistemas agrícolas ecologicamente mais equilibrados, estáveis e livres de resíduos tóxicos (Madail et al. 2007).

Vários trabalhos vêm sendo conduzidos no Brasil e no exterior, visando ao controle do

mofo branco pelo emprego de fungos do gênero *Trichoderma/Hypocrea* (Abdullah et al. 2008, Zeng et al. 2012). O antagonismo exercido *in vitro* contra *S. sclerotiorum* por isolados pertencentes às espécies *T. harzianum* (Rifai), *T. pseudokoningii* (Rifai), *T. inhamatum* (Veerkamp & W. Gams), *T. aureoviride* (Rifai), *T. stromaticum* (Rifai) e *T. longibrachiatum* (Rifai), entre outras, tem sido amplamente demonstrado (Delgado et al. 2007, Louzada et al. 2009, Auler et al. 2013).

A inibição do crescimento micelial e da formação de novos escleródios, sob condições *in vivo*, foi comprovada por Huang et al. (2000), na cultura do feijoeiro, pela aplicação foliar de *T. roseum* (Pers.:Fr.)

1. Trabalho recebido em set./2015 e aceito para publicação em dez./2015 (<http://dx.doi.org/10.1590/1983-40632015v4537755>).

2. Universidade Estadual de Goiás, Laboratório de Fitopatologia, Ipameri, GO, Brasil. E-mails: marianydalila@hotmail.com, fran_magb@hotmail.com, marcio.araujo@ueg.br, daniel.carvalho@ueg.br.

3. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia), Brasília, DF, Brasil. E-mail: sueli.mello@embrapa.br.

Link e *T. virens* (J. H. Mill., Giddens & A. A. Foster) Arx. Muitos são os fatores ambientais que influenciam os antagonistas no campo (Eastburn & Butler 1991, Naar & Kecskés 1998, Bae & Knudsen 2005, Geraldine et al. 2013), haja visto que o seu tempo de sobrevivência é essencial para o efetivo controle de doenças *in vivo*. A espécie *T. harzianum* tem sido muito estudada, pois se estabelece no ambiente por toda uma estação de cultivo (Zeng et al. 2012).

Todos os métodos de seleção de antagonistas são baseados em evidências de que o organismo candidato interfere, de algum modo, no desenvolvimento do patógeno, reduzindo a manifestação da doença (Harman 2000). Os métodos de avaliação *in vitro* e *in vivo* possibilitam verificar essa habilidade (Andrews 1985). A capacidade de colonização de escleródios de *S. sclerotiorum* por espécies de *Trichoderma* vem também sendo explorada, uma vez que essas estruturas de resistência constituem a principal fonte de inóculo e disseminação do patógeno (Sarrocco et al. 2006).

Avaliações de *Trichoderma* sobre a germinação carpogênica de *S. sclerotiorum*, em solo infestado pelo patógeno, vêm sendo realizadas em campo (Geraldine et al. 2013). Já o efeito de aplicações foliares de *Trichoderma* sobre o desenvolvimento miceliogênico de *S. sclerotiorum* em folíolos de feijoeiro é pouco estudado.

A esporulação de fungos Hyphomycetes é estimulada quando estes são cultivados sob incidência de luz (Cruz et al. 2009). Entretanto, o efeito desse fator físico sobre a viabilidade dos conídios produzidos pelo antagonista e seu potencial de biocontrole não são conhecidos.

Objetivou-se avaliar o efeito de regimes de luz empregados na produção de conídios de *T. harzianum* e na efetividade destes em inibir a germinação miceliogênica de escleródios de *S. sclerotiorum*, bem como de isolados de *T. harzianum* na supressão de lesões causadas por *S. sclerotiorum* sobre folíolos de feijoeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Todos os experimentos foram realizados no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Goiás (UEG), em Ipameri (GO), em 2014.

Para produção de conídios de *T. harzianum* (isolados CEN287, CEN288, CEN289, CEN290 e CEN316), discos de batata-dextrose-ágar (BDA)

de 5 mm de diâmetro, retirados da zona de crescimento das colônias, foram transferidos para frascos Erlenmeyer (250 mL) contendo arroz parboilizado (15 g frasco⁻¹) previamente umedecido (60 % p v⁻¹) e autoclavado. Os frascos foram incubados a 25 °C sob três regimes de luz (0, 12 e 24 horas), empregando-se lâmpadas fluorescentes de 20 W, 75RS (marca Philips®), durante seis dias. Após esse período, foram adicionados 15 mL de água destilada esterilizada (ADE) aos frascos contendo as culturas do antagonista, formando uma suspensão de conídios, que foi filtrada em gaze esterilizada. As suspensões obtidas foram calibradas para 2,5 x 10⁸ conídios mL⁻¹, em câmara de Neubauer.

Escleródios de *S. sclerotiorum* (isolado L-08-01) foram produzidos por meio do cultivo do fungo em placas de Petri contendo meio BDA, a 21 °C e fotoperíodo de 12 horas, durante 20 dias. Tais estruturas de resistência foram mantidas submersas por 1 minuto, em suspensões de conídios de *T. harzianum* produzidas e calibradas conforme o item anterior. Como testemunha, escleródios foram submersos em ADE, por igual período. Em seguida, os escleródios tratados (20 por tratamento) foram incubados por 10 dias, a 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas, em caixas Gerbox (11 cm x 11 cm x 3,5 cm). Após o período de incubação, os escleródios foram distribuídos em placas de Petri contendo meio BDA (4 escleródios placa⁻¹). O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com 5 repetições (Gerbox) por tratamento.

Antes de serem depositados sobre o meio BDA contido nas placas, os escleródios foram submetidos a assepsia (1 minuto em álcool 70 %, 3 minutos em hipoclorito de sódio a 1 % e três lavagens de 1 minuto em ADE), a qual não interferiu na viabilidade dos escleródios e foi feita com o objetivo de remover contaminantes externos. As placas foram incubadas a 25 °C, sob fotoperíodo de 12 horas, durante 5 dias. Após este período, foi avaliado o percentual de escleródios colonizados por *T. harzianum* e a germinação miceliogênica. Cada tratamento foi acompanhado por uma testemunha, que consistiu em escleródios submersos em ADE.

Folíolos de feijoeiro cv. 'Carioquinha' foram coletados do terço médio das plantas, no estádio R6 da cultura (30 dias após o semeio). Um total de 4 mL de suspensão de esporos de *T. harzianum*, calibrada a 1,0 x 10⁵ conídios mL⁻¹, foi pulverizado sobre cada folíolo (1 folíolo gerbox⁻¹). Em seguida, 2 discos de

BDA (10 mm), contendo micélio de *S. sclerotiorum* (L-08-01), foram depositados um no lado esquerdo e outro no lado direito do limbo foliar (face adaxial), em região que recebeu 5 furos ponto¹. Após as inoculações, os folíolos foram incubados em caixas Gerbox desinfestadas com álcool 70, sobre papel-filtro esterilizado e umedecido. Foram realizadas avaliações aos 4, 6, 8 e 10 dias após a inoculação (DAI), medindo-se o diâmetro (mm) das lesões com o auxílio de um paquímetro.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com 6 repetições (Gerbox) por tratamento. A unidade experimental foi constituída por uma caixa Gerbox. A testemunha consistiu na aplicação de ADE ao papel-filtro e folíolo, antes e depois das inoculações com *S. sclerotiorum*. Para as análises estatísticas, a área (mm²) de cada lesão foliar foi mensurada. Os experimentos descritos neste item e no anterior foram realizados duas vezes.

Todos os dados foram submetidos ao teste de Kolmogorov-Smirnov, para verificar a normalidade. Posteriormente, estes foram submetidos à análise de variância e as médias (percentual de escleródios de *S. sclerotiorum* não germinados, área de lesão foliar obtida aos 10 DAI e área abaixo da curva de progresso da doença - AACPD) comparadas pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$), com o auxílio do programa Sisvar 5.3 (Ferreira 2011). Os dados referentes às lesões causadas por *S. sclerotiorum* dos 4 aos 10 DAI foram submetidos à análise de regressão. A severidade foi integralizada como AACPD, por meio da fórmula $AACPD = \Sigma [(y1 + y2)/2] * (t2 - t1)$, em que $y1$ e $y2$ são duas avaliações consecutivas realizadas nos tempos $t1$ e $t2$, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de germinação miceliogênica de escleródios tratados com esporos de diferentes isolados de *T. harzianum*, produzidos sob três regimes diferentes de luz, são mostrados na Tabela 1. O melhor resultado, quanto ao número de escleródios de *S. sclerotiorum* colonizados por *T. harzianum* e, conseqüentemente, não germinados, ocorreu com os isolados CEN287 e CEN316. O isolado CEN287 apresentou efetividade similar na colonização dos escleródios em todos os regimes de luz empregados na obtenção dos conídios.

O isolado CEN289 apresentou maior efetividade de colonização das estruturas de resistência do

patógeno quando os conídios foram produzidos em luz contínua (24 horas de luz), enquanto o CEN290 foi mais efetivo na colonização dos escleródios quando os conídios foram produzidos na ausência de luz. Esse resultado indica que o efeito da luz na efetividade da colonização dos escleródios depende do isolado de *T. harzianum*.

Após análise conjunta dos dados coletados nas duplicatas do experimento, verificou-se que os isolados CEN287, CEN288 e CEN316 foram os melhores para controlar o patógeno sobre os folíolos destacados de feijoeiro, apresentando, respectivamente, os menores valores médios de área foliar lesionada aos 10 DAI: 4,2 mm²; 3,4 mm²; e 3,4 mm² (Tabela 2). Esses valores foram estatisticamente inferiores, em relação ao tamanho das lesões em folíolos inoculados com os isolados CEN289 e CEN290 (16,5 mm² e 23,9 mm², respectivamente). De modo importante, todos os folíolos inoculados com isolados de *T. harzianum* tiveram lesões inferiores àquelas observadas na testemunha (sem aplicação de *T. harzianum*), em que se verificou maior desenvolvimento de lesões aos 10 DAI (68,1 mm²).

Os isolados CEN287, CEN288, CEN289 e CEN316 apresentaram os menores valores de AACPD (9,3; 11,8; 37,5; e 6,7, respectivamente), muito inferiores aos valores obtidos com o isolado CEN290 (71,4) e com a testemunha (339,5).

Após análise de regressão, considerando-se o conjunto de dados referentes à área de lesão foliar (mm²) dos 4 aos 10 DAI, o crescimento das lesões de todos os tratamentos foi ajustado por modelos lineares simples, significativos ($p \leq 0,01$) e com coeficiente de determinação (R^2) acima de 87% (Tabela 2). Neste experimento, verificou-se que os isolados de

Tabela 1. Germinação miceliogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* tratados com esporos de diferentes isolados de *Trichoderma harzianum* produzidos sob três regimes de luz (Ipameri, GO, 2014).

Isolados de <i>Trichoderma</i>	Inibição de germinação de escleródios (%) ⁽¹⁾		
	0 horas de luz	12 horas de luz	24 horas de luz
CEN287	85 aA	80 aA	80 aA
CEN288	62 bAB	50 bB	75 aA
CEN289	40 cB	30 cB	75 aA
CEN290	85 aA	46 bB	54 bB
CEN316	95 aA	85 aAB	75 aB
CV (%)	13,73	18,15	5,89

⁽¹⁾ Valores seguidos pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente, segundo o teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 2. Área foliar lesionada (mm²) por *Sclerotinia sclerotiorum*, em feijoeiro cv. 'Carioquinha', 10 dias após a aplicação de suspensão de conídios de *Trichoderma harzianum* sobre os folíolos destacados; modelos de regressão linear para o aumento das lesões dos 4 aos 10 dias após a inoculação (DAI); e área abaixo da curva de progresso da doença (AACDP) (Ipameri, GO, 2014).

Isolados de <i>Trichoderma harzianum</i>	Área foliar lesionada (mm ²) aos 10 DAI ⁽¹⁾	Modelo linear para área foliar lesionada dos 4 aos 10 DAI ⁽³⁾	R ² (%)	AACPD ⁽¹⁾
CEN287	4,2 a	Y = 0,6802x - 3,0630	91,4	9,3 a
CEN288	3,4 a	Y = 0,6377x - 2,5530	88,2	11,8 a
CEN289	16,5 b	Y = 2,6885x - 11,9555	90,9	37,5 a
CEN290	23,9 b	Y = 3,4963x - 12,2276	98,1	71,4 b
CEN316	3,4 a	Y = 0,3613x - 2,7096	92,7	6,7 a
Testemunha ⁽²⁾	68,1 c	Y = 5,9364x + 13,5405	89,4	339,5 c
CV (%)	21,07			22,00

⁽¹⁾ Valores seguidos pela mesma letra minúscula, em cada coluna, não diferem estatisticamente, segundo o teste Tukey ($p \leq 0,05$). ⁽²⁾ Testemunha: folíolos sem aplicação de antagonista. ⁽³⁾ Todos os modelos foram significativos ($p \leq 0,01$).

T. harzianum, principalmente o CEN287, CEN288 e CEN316, parasitaram o patógeno *S. sclerotiorum* na região do disco de micélio inoculado, retardando seu crescimento tanto no disco de micélio quanto no tecido vegetal adjacente.

O efeito colonizador dos escleródios obtido para CEN287 e CEN316 já era esperado, uma vez que estes isolados já foram citados como efetivos para o controle de *S. sclerotiorum* em sementes de feijão (Carvalho et al. 2011). Entretanto, apenas CEN287 foi indiferente quanto aos regimes de luz empregados na obtenção dos conídios. Assim, o modo de cultivo a ser recomendado para a produção de conídios depende do isolado.

Pesquisas para determinar o melhor regime de cultivo foram desenvolvidas para outros fungos Hyphomycetes, tais como *Pyricularia grisea*, o qual demonstrou maior esporulação quando em luz contínua, em comparação com outros regimes (escuro e 12 horas de luz) (Cruz et al. 2009).

É importante mencionar que CEN287 e CEN316 também foram efetivos para o controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em sementes de feijão, reduzindo em 40 % e 30 % a incidência do patógeno nas sementes, respectivamente (Carvalho et al. 2014). Esses resultados demonstram que estes isolados são importantes antagonistas de patógenos habitantes do solo.

O isolado CEN290 de *T. harzianum* apresentou maior efetividade quando produzido sob ausência de luz. Por se tratar de isolado hábil para colonização de substratos e raízes (Carvalho et al. 2011), sugere-se que este isolado tenha se adaptado à condição de escuro, inclusive para seu antagonismo.

Os isolados de *T. harzianum*, principalmente o CEN287, CEN288 e CEN316, colonizaram o patógeno *S. sclerotiorum* na região do disco de micélio inoculado, retardando seu crescimento tanto no disco quanto no tecido vegetal adjacente. O efetivo controle do patógeno nos folíolos já era esperado para CEN287 e CEN316, pois estes isolados foram relatados como efetivos no controle de *S. sclerotiorum* em sementes de feijão comum cv. 'Jalo Precoce', sendo similares ao tratamento químico (Carvalho et al. 2011), mesmo em condições de campo (Carvalho et al. 2015).

Já o isolado CEN288 apresentou resultado inesperado, visto que, nos estudos de Carvalho et al. (2011), este se mostrou menos efetivo no controle de *S. sclerotiorum* em sementes. Uma possível explicação para esse resultado poderia ser que os mecanismos de ação do antagonista são diferentes para controle de patógenos em sementes ou em tecido foliar. Para o primeiro caso, a antibiose por metabólitos voláteis e não voláteis é o mecanismo mais relacionado com o biocontrole (Agüero et al. 2008), enquanto, na filósfera, a rápida colonização (do disco de ágar inoculado e tecido vegetal adjacente), aparentemente, está entre os fatores mais importantes (Grigoletti Júnior et al. 2000).

Também é importante salientar que, durante os experimentos, os folíolos tratados com os isolados de *T. harzianum* apresentaram maior vida útil quando comparados aos folíolos da testemunha. Isso ocorreu porque os isolados de *T. harzianum* exerceram um efetivo controle do patógeno, prevenindo o tecido vegetal destacado da rápida deterioração.

Após análise de regressão, o crescimento das lesões de todos os tratamentos foi ajustado por modelos lineares simples, significativos ($p \leq 0,01$) e com coeficiente de determinação (R^2) acima de 87% (Tabela 2). Embora as regressões lineares obtidas não sejam comparáveis entre si, estes modelos podem prever a taxa de progresso da doença monocíclica e a severidade da epidemia, quando sob efeito dos isolados dos antagonistas avaliados. A partir dos modelos de regressão, foi possível o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), o que permitiu identificar diferenças entre os isolados, quanto à evolução da doença. No entanto, é importante considerar que a taxa de progresso depende, também, entre outros fatores, da virulência do isolado de patógeno utilizado (Agrios 2005, Okita et al. 2014).

Este trabalho demonstrou a importância de se avaliar isolados de *Trichoderma* em escleródios e em testes usando folíolos de feijoeiro, visando à aproximação das condições *in vivo*. A seleção de isolados de antagonistas baseando-se apenas em ensaios *in vitro* pode ser incapaz de reproduzir os mesmos resultados em condições de campo, já que esses micro-organismos estão sujeitos às reações do hospedeiro e do ambiente (Harman 1991, Kamilova et al. 2007).

CONCLUSÕES

1. A efetividade do isolado CEN287 para inibição da germinação miceliogênica *in vitro* de escleródios de *S. sclerotiorum* não se altera sob diferentes regimes de luz empregados para a obtenção dos conídios. Assim, a efetividade no controle biológico está mais ligada à natureza do isolado do que à forma em que seus conídios são obtidos (no escuro, sob 12 horas de luz ou luz contínua).
2. Os isolados CEN287, CEN288 e CEN316 inibem o desenvolvimento de lesões de *S. sclerotiorum* em folíolos destacados de feijoeiro cv. 'Carioquinha' de forma mais eficiente do que os demais isolados testados, prevenindo o tecido vegetal da rápida deterioração.

REFERÊNCIAS

ABDULLAH, M. T.; ALI, N. Y.; SULEMAN, P. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. *Crop Protection*, Oxford, v. 27, n. 10, p. 1354-1359, 2008.

AGRIOS, G. N. Control of plant diseases. In: AGRIOS, G. N. *Plant pathology*. 5. ed. San Diego: Academic Press, 2005. p. 293-353.

AGÜERO, L. E. M. et al. Inhibition of *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin b1 production in stored maize grains exposed to volatile compounds of *Trichoderma harzianum* Rifai. *Interciência*, Caracas, v. 33, n. 3, p. 219-222, 2008.

ANDREWS, J. H. Strategies for selecting antagonistic microorganisms from the phylloplane. In: WINDELS, C. L.; LINDON, S. E. *Biological control on the phylloplane*. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 1985. p. 31-44.

AULER, A. C. V.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M. Antagonismo de *Trichoderma harzianum* a *Sclerotium rolfsii* nas culturas do feijoeiro e soja. *Revista Agro@ambiente On-line*, Boa Vista, v. 7, n. 3, p. 359-365, 2013.

BAE, Y. S.; KNUDSEN, G. R.; Soil microbial biomass influence on growth and biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum*. *Biological Control*, San Diego, v. 32, n. 2, p. 236-242, 2005.

BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C. O. *Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na região central-brasileira: 2012-2014*. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2012. (Documentos, 272).

CARVALHO, D. D. C. et al. Biocontrol of seed pathogens and growth promotion of common bean seedlings by *Trichoderma harzianum*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, DF, v. 46, n. 8, p. 822-828, 2011.

CARVALHO, D. D. C. et al. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* by *Trichoderma harzianum* and its use for common bean seed treatment. *Tropical Plant Pathology*, Viçosa, v. 39, n. 5, p. 384-391, 2014.

CARVALHO, D. D. C. et al. Biological control of white mold by *Trichoderma harzianum* in common bean under field conditions. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, DF, v. 50, n. 12, p. 1220-1224, 2015.

CRUZ, M. F. A. et al. Esporulação de *Pyricularia grisea* em diferentes meios de cultura e regimes de luz. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 39, n. 5, p. 1562-1564, 2009.

DELGADO, G. V. et al. *Inibição do crescimento de Sclerotinia sclerotiorum por Trichoderma spp. in vitro*. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 214).

EASTBURN, D. M.; BUTLER, E. E. E. Effects of soil moisture and temperature on the saprophytic ability of *Trichoderma harzianum*. *Mycologia*, West Lafayette, v. 83, n. 3, p. 257-263, 1991.

- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- GERALDINE, A. M. et al. Cell wall-degrading enzymes and parasitism of sclerotia are key factors on field biocontrol of white mold by *Trichoderma* spp. *Biological Control*, San Diego, v. 67, n. 3, p. 308-316, 2013.
- GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; SANTOS, A. F.; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. *Floresta*, Curitiba, v. 30, n. 1/2, p. 155-165, 2000.
- HARMAN, G. E. Myth and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T- 22. *Plant Disease*, Saint Paul, v. 84, n. 4, p. 377-393, 2000.
- HARMAN, G. E. Seed treatment for biological control of plant disease. *Crop Protection*, Oxford, v. 10, n. 3, p. 166-171, 1991.
- HUANG, H. C. et al. Foliar application of fungal biocontrol agents for the control of white mold of dry bean caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Biological Control*, San Diego, v. 18, n. 3, p. 270-276, 2000.
- KAMILOVA, F.; LEVEAU, J. H. J.; LUGTENBERG, B. *Collimonas fungivorans*, an unpredicted *in vitro* but efficient *in vivo* biocontrol agent for the suppression of tomato foot and root rot. *Environmental Microbiology*, Hoboken, v. 9, n. 6, p. 1597-1603, 2007.
- LOUZADA, G. A. S. et al. Potencial antagonístico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes agroecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. *Biota Neotropica*, São Paulo, v. 9, n. 3, p. 145-149, 2009.
- MADAIL, J. C. M. et al. *Avaliação econômica dos sistemas de produção de morango: convencional, integrado e orgânico*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. (Comunicado técnico, 181).
- NAAR, Z.; KECSKÉS, M.; Factors influencing the competitive saprophytic ability of *Trichoderma* species. *Microbiological Research*, Jena, v. 153, n. 2, p. 119-129, 1998.
- OKITA, P. M. et al. Reação de clones de batata a *Alternaria solani* em condições de campo. *Científica*, Jaboticabal, v. 42, n. 2, p. 147-152, 2014.
- SARROCCO, S. et al. Histopathological studies of sclerotia of phytopathogenic fungi parasitized by a GFP transformed *Trichoderma virens* antagonistic strain. *Mycological Research*, Oxford, v. 110, n. 2, p. 179-187, 2006.
- ZENG, W.; KIRK, W.; HAO, J. Field management of *Sclerotinia* stem rot of soybean using biological control agents. *Biological Control*, San Diego, v. 60, n. 2, p. 141-147, 2012.