



## Efeito de *Trichoderma* spp. na qualidade de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.)

*Trichoderma* spp. In the seeds quality of the cotton plant (*Gossypium hirsutum* L.)

R. V. S. Costa; H. F. Silva; E. C. Silva; M. D. M. Oliveira\*; L. C. Nascimento

Departamento de Fitotecnia e Ciências Ambientais/Laboratório de Fitopatologia, Universidade Federal da Paraíba, 58397-000, Areia-Paraíba, Brasil

\*monicadimportella@gmail.com

(Recebido em dia de mês de 2022; aceito em 29 de junho de 2022)

O algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) é infectado por uma série de patógenos que podem ser um fator limitante a sua produtividade. Destaque para a murcha vascular causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Fov). Dentre as novas alternativas ao uso de controle químico, fungos do gênero *Trichoderma* têm se destacado no controle biológico. Assim, objetivou-se avaliar o efeito de *Trichoderma* spp. no manejo da murcha de fusário no algodoeiro e sobre a qualidade das sementes. Sementes de algodoeiro da cultivar BRS 8H, com línter, foram utilizadas. Os tratamentos utilizados foram: Ecotrich®, Quality®, Trichodel®, Trichoplus JCO®, Carboxin® e Captana®, de acordo com a recomendação de cada produto. Foram avaliados: incidência de fungos, teste de germinação, teste de emergência e antagonismo. Foi constatada, nas sementes, a ocorrência de *Aspergillus* sp., *Aspergillus niger*, *Botrytis* sp., *Cercospora* sp., *Cladosporium* sp., *Chaetomium* sp., *Rhizopus* sp., *Fusarium vasinfectum* e *Penicillium* sp. Os produtos biológicos foram os mais eficientes ao controle da fusariose. O teste de antagonismo *Trichoderma* x *Fusarium vasinfectum* comprovou que produtos à base de *Trichoderma* spp. nas condições testadas, proporcionaram inibição do crescimento fúngico *in vitro*, podendo ser recomendado no manejo de sementes de algodoeiro para fusariose.

Palavras-chave: patologia de sementes, murcha de fusário, antagonismo.

Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) is infected by a series of pathogens that can be a limiting factor to its productivity. Featured to Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Fov) is worth mentioning. Among of new alternatives to the use of chemical control, fungi of the genus *Trichoderma* have been highlighted in biological control. Thus, the objective of the present work was to evaluate the effect of *Trichoderma* spp. in the management of fusarium wilt in cotton and on the quality of seeds. Cotton seeds of the BRS 8H cultivar, with linter, were used. The treatments used were: Ecotrich®, Quality®, Trichodel®, Trichoplus JCO®, Carboxin® and Captana® according to the recommendation of each product. Fungal incidence, germination test, emergence test and antagonism were evaluated. The occurrence of *Aspergillus* sp., *Aspergillus niger*, *Botrytis* sp., *Cercospora* sp., *Cladosporium* sp., *Chaetomium* sp., *Rhizopus* sp., *Fusarium vasinfectum* and *Penicillium* sp. was observed in the seeds. The biological products were more efficient in controlling fusarium. The test of antagonism *Trichoderma* x *Fusarium vasinfectum* proved that products to the base of *Trichoderma* spp. in the tested conditions, provided inhibition of the fungal growth *in vitro*, being able to be recommended in the management of cotton seeds for *Fusarium*.

Keywords: pathology of seeds, fusarium wilt, antagonism.

### 1. INTRODUÇÃO

O algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) é uma das principais culturas exploradas no Brasil, sendo a principal matéria-prima das indústrias têxteis [1]. A cadeia produtiva dessa cultura possui elevada importância socioeconômica para o país, tanto pela geração de emprego quanto pela geração de renda, movimentando anualmente cerca de US\$ 12 bilhões [2].

O algodoeiro é infectado por uma série de patógenos que podem limitar a sua produtividade, dentre estes, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* [3], causador da murcha vascular ou murcha de fusário. Muitos fatores influenciam o desenvolvimento da murcha no campo, como cultivares suscetíveis ao patógeno, condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento do patógeno, tipo e fertilidade de solo, além da interação com nematóides, os quais agravam a doença e subsequentemente, aumentam as perdas de rendimento [4].

O princípio da exclusão é uma das etapas no manejo da murcha de fusário, visando evitar a introdução do patógeno em áreas livres, tanto pelo uso de sementes saudáveis, como pelo tratamento de sementes com produtos químicos [5]. Estudos comprovam que a utilização de fungicidas nem sempre apresentam resultados satisfatórios e duradouros [4]. Os efeitos podem ser negativos através do surgimento de fitopatógenos resistentes, como também podem causar danos ao meio ambiente, contaminando o solo e os sistemas hídricos, causando prejuízos à saúde e alterações significativas nos ecossistemas [6].

Diante da necessidade de novas alternativas ao uso de produtos químicos, o uso de produtos naturais, como o uso de fungos do gênero *Trichoderma* spp., tem se destacado contra uma ampla gama de patógenos que causam doenças em várias culturas [3], incluindo *Fusarium* spp. *Trichoderma* spp. são habitantes do solo que decompõem e mineralizam material orgânico [7]. Fungos deste gênero disponibilizam nutrientes para as plantas, como também são antagonistas a diversos patógenos, reduzindo em até 100% a severidade de algumas doenças [8]. Neste sentido, objetivou-se determinar o efeito de produtos comerciais a base de *Trichoderma* spp. no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Obtenção das sementes de algodoeiro, produtos biológicos e químicos

As sementes de algodoeiro cultivar BRS 8H com a presença de línter, foram ofertadas pelos agricultores de base ecológica, no município de Remígio, estado da Paraíba (6°53'30" S; 35°49'51" W).

Os produtos biológicos Ecotrich® (Ballagro), formulação comercial (*Trichoderma harzianum*) – pó, é recomendado a proporção de (250g/100kg); Quality® (Farroupilha), formulação comercial (*Trichoderma asperellum*) – grânulos, dispersível em água na proporção de 100g para cada 600 ml de água, uso recomendado de (400g/100kg), Trichodel® (ECCB), formulação comercial (*Trichoderma* spp.) - líquido, uso recomendado na proporção de (250 ml/1Lt/100Kg), Trichoplus JCO® (JCO), formulação comercial (*Trichoderma* spp. e *T. harzianum*) – pó, recomendado na proporção(2000g/100kg). Estes produtos foram adquiridos no mercado comercial. O Carboxin – líquido, seu uso é recomendado na proporção de (700 mL/100kg) e Captana, recomendado a proporção (240g/100kg).

### 2.2 Teste de sanidade

A incidência de fungos nas sementes foi feita através da visualização dos fungos por meio do método de incubação em papel de filtro [9], com auxílio de microscópio óptico e estereoscópio, sendo comparadas às descrições constantes na literatura [10].

As sementes foram tratadas de acordo com a recomendação de cada produto, incubadas em placas de Petri, com uma camada dupla de papel de filtro esterilizado e umedecido com água destilada esterilizada (ADE), em vinte subamostras de dez sementes totalizando 200 sementes. As placas permaneceram durante sete dias sob temperatura de 25 °C ± 2 °C.

Os tratamentos aplicados nas sementes consistiram: T1 – Testemunha (sementes não tratadas); T2 – Ecotrich® (250g/100kg) espalhado de forma homogênea sobre as sementes; T3 – Quality® (400g/100kg) sementes imersas sobre a calda; T4 – Trichodel® (250mL/100kg) sementes imersas sobre a calda; T5 – Trichoplus JCO® (2000g/100kg) espalhado de forma homogênea sobre as sementes; T6 – Carboxin sementes imersas sobre o produto (700 mL/100kg); T7– Captana espalhado de forma homogênea sobre as sementes (240g/100kg).

### 2.3 Teste de germinação

A temperatura utilizada na câmara de germinação foi de  $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  e luz alternada (8 h de luz branca fluorescente/16 h de escuro). Dos 7 aos 15 dias após a semeadura foram realizadas a contagem de sementes germinadas e não germinadas [11].

Para a embebição do papel de filtro foi utilizado o volume de água destilada equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato, na forma de rolo, com quatro subamostras de cinquenta sementes. As avaliações foram efetuadas do quarto ao décimo segundo dia segundo os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes - RAS [12].

As seguintes variáveis foram avaliadas no teste de germinação: porcentagem de germinação (G), porcentagem de sementes duras (SD) e mortas (SM), comprimento da parte aérea (CPA), raiz (CPR) e plântula (CPL). No teste de germinação foram feitas contagens a partir do quarto dia até o décimo quarto dia de germinação. E as demais variáveis foram avaliadas no décimo quarto dia.

### 2.4 Teste de emergência em solo

O teste de emergência foi realizado em casa de vegetação, utilizando-se quatro subamostras de cinquenta sementes por parcela. O teste foi conduzido em bandejas de plástico com dimensões de 26,0 x 16,0 x 9,0 cm, utilizando-se como substrato solo, umedecido inicialmente até atingir 60% da sua capacidade de retenção de água e irrigada sempre que necessário. As sementes foram semeadas a 2 cm de profundidade. As bandejas foram mantidas na casa de vegetação, sob temperatura  $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ . As avaliações foram efetuadas do sexto ao décimo segundo dia segundo os critérios estabelecidos pelas RAS [12].

Foram avaliadas as seguintes variáveis no teste de emergência: Porcentagem de germinação (G), porcentagem de sementes duras (SD) e mortas (SM), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CPR) e comprimento de plântula (CPL). No teste de emergência no solo, as contagens foram realizadas a partir do quarto dia de germinação até o décimo quarto. E as demais variáveis foram avaliadas no décimo quarto dia.

### 2.5 Identificação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*

Sementes que apresentavam sintomas típicos de infecção de *Fov* foram isoladas pelo método do isolamento direto em meio BDA (batata-dextrose-ágar), que consistiu na incubação de um fragmento de tecido lesionado colocado no centro das placas e mantidas sete dias em *Biochemical Oxygen Demand* (BOD), com fotoperíodo de 12 horas a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Após esse período, os fungos foram observados sob microscopia ótica e estereoscópica para confirmação da etiologia, feita com base em três diferentes testes conforme a seguir:

Teste 1: Os isolados foram colocados em meio BDA, em escuro total a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , por três dias mensurando-se diariamente o diâmetro da colônia com auxílio de uma régua milimetrada para determinar o tamanho da colônia.

Teste 2: Os isolados foram colocados em meio BDA, em fotoperíodo de 12 h e 12h a  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 10 a 15 dias, observando a coloração (pigmentação micelial da aérea).

Teste 3: Os isolados foram colocados em meio SNA ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{KCl}$ , glicose, sacarose, ágar,  $\text{H}_2\text{O}$ ), fotoperíodo 12 h e 12 h a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  de 10 a 14 dias, observando as falsas cabeças, cadeias de conídios, clamidósporos, conidióforos do micélio aéreo, conídios do micélio aéreo, septação, esporodóquios em folhas de cravo, conídios de esporodóquios (macroconídeos) e comparação com a literatura [10].

### 2.6 Testes de antagonismo

O teste de antagonismo foi realizado através de um disco de meio BDA colonizado por *Fov*, transferido com auxílio de um tubo de Zeni e colocado a cerca de 0,5 cm da borda da placa, que depois de fechada foi mantida em estufa BOD por 48 horas com fotoperíodo de 12 horas a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Após 48 horas, foi transferido um disco colonizado por um isolado de *Trichoderma* spp. para a mesma placa, a 0,5 cm da borda da placa em ponto equidistante do inóculo do *Fov*.

As placas foram mantidas em estufa a 25 °C ( $\pm$  2 °C) e fotoperíodo de 12 horas. Após oito dias foi realizada a avaliação do crescimento dos fungos, de acordo com Bell et al. (1982) [13], utilizando-se uma escala de notas de 1 a 3 onde: (1) antagonista cresce sobrepondo-se a colônia do patógeno; (2) antagonista cresce, sobrepondo-se somente sobre a borda da colônia do patógeno; (2,5) o antagonista e o patógeno ocupam a metade da placa; (3) antagonista ocupa apenas (1/4) da placa (Figura 1).

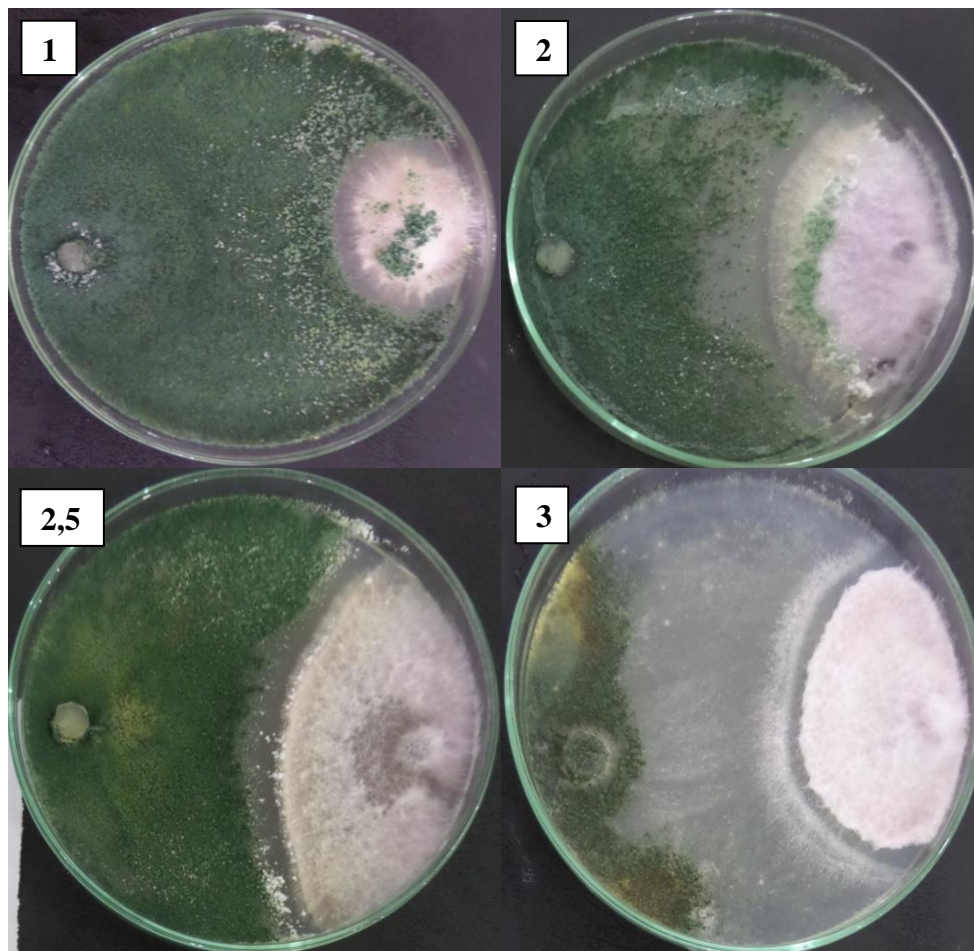


Figura 1. Representação da escala de notas de Bell (1982) modificada, utilizada nos testes de antagonismo de *Trichoderma* spp. x *Fusarium oxysporum* f. sp. vasinfectum: (1) antagonista cresce sobrepondo-se a colônia do patógeno; (2) antagonista cresce, sobrepondo-se somente sobre a borda da colônia do patógeno; (2,5) o antagonista e o patógeno ocupam a metade da placa; (3) antagonista ocupa apenas (1/4) da placa.

O crescimento das colônias de *Fov* foi medido oito dias após a inserção do inóculo de *Trichoderma* spp. nos testes de confronto direto *in vitro*. A medição das colônias foi realizada com um auxílio de régua milimétrica mensurando-se, o raio vertical e horizontal da colônia do fungo fitopatogênico confrontado com os isolados do antagonista, além da medida do grupo controle contendo apenas *Fov*.

A porcentagem de inibição de crescimento provocado pelos isolados de *Trichoderma* spp. foi calculada de acordo com a fórmula de Abdell-Fattah et al. (2007) [14]: % inibição = [crescimento controle – crescimento teste/crescimento controle] X 100, utilizando-se os resultados da medida do raio horizontal das colônias de *Fov*, confrontado com os isolados do antagonista.

## 2.7 Delineamento Experimental

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC) com sete tratamentos para o teste de sanidade, vinte repetições de dez sementes cada. Os testes de germinação e emergência foram conduzidos com quatro repetições de 50 sementes por tratamento. O teste de antagonismo consistiu-se de cinco tratamentos distribuídos em 20 repetições.

As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, usando o software ASSISTAT Versão 7.7 beta.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Teste de sanidade

Em sementes de algodoeiro da cultivar BRS 8H foram observados os seguintes fungos: *Aspergillus* sp., *Aspergillus niger*, *Botrytis* sp., *Cercospora* sp., *Cladosporium* sp., *Chaetomium* sp., *Rhizopus* sp., *Fusarium vasinfectum* e *Penicillium* sp. (Tabela 1).

Essa ocorrência pode ser atribuída a presença do línter, que retém mais umidade do ar (higroscopicidade), conseqüentemente, influenciando a ocorrência de fungos, que podem comprometer a germinação das sementes [15].

Os tratamentos com fungicidas foram eficientes quando comparados com a testemunha e demais tratamentos com *Trichoderma* spp. O controle químico com Carboxin® foi eficaz para a redução dos fitopatógenos: *Aspergillus niger*, *Botrytis* sp., *Cercospora* sp., *Cladosporium* sp., *Chaetomium* sp., *Rhizopus* sp., *F. vasinfectum*, *Penicillium* sp.

A eficiência proporcionada pelo tratamento químico já foi demonstrada por diversas pesquisas [16, 17]. Esses produtos podem ser eficazes para controlar doenças de plantas, mas também podem ter efeitos adversos, tais como o desenvolvimento de espécies resistentes ao fungicida [18].

Os tratamentos diferiram entre si quanto a ocorrência de fungos nos produtos comerciais a base de *Trichoderma* spp. Os quatro produtos testados foram mais eficientes na redução da ocorrência de *Cercospora* sp., e *Chaetomium* sp., do que para fungos que ocasionam o tombamento de plântulas. Os tratamentos Ecotrich® e Trichoplus JCO® se mostraram eficientes para a redução *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp. nas sementes de algodoeiro e, quando tratadas com Ecotrich® e Quality® houve uma redução significativa dos fungos ocorrentes (Tabela 1).

Quando comparado aos demais produtos biológicos, Ecotrich® se mostrou eficiente a quase todos os fungos detectados, apesar de não eliminar *Fov*, *Rhizopus* sp. e *Aspergillus* sp. Esse produto se destaca principalmente por controlar fungos como *A. niger*, *Cladosporium* sp. e *Penicillium* sp., que são fungos de armazenamento e podem causar apodrecimento das sementes, menor índice de germinação e de plântulas anormais e inviáveis [1]. Foi observada redução na ocorrência de *Botrytis* sp. que pode infectar em diversas fases de desenvolvimento da planta, tanto vegetativa como reprodutiva, sendo caracterizado como mofo cinzento.

Tabela 1. Efeito dos produtos comerciais à base de *Trichoderma* spp. e fungicidas químicos sobre a ocorrência de fungos em sementes de algodoeiro cultivar BRS 8H, com línter (*Gossypium hirsutum* L.)

Tratamentos	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Aspergillus</i> <i>niger</i>	<i>Botrytis</i> sp.	<i>Cercospora</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Chaetomium</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.	<i>Fusarium</i> <i>vasinfectum</i>	<i>Penicillium</i> sp.
Testemunha	21,6 a	21,4 ab	2,7 a	3,6 a	1,9 a	1,6 a	7,1 ab	1,5 a	4,1 a
Carboxin®	0,5 b	0,0 c	0,0 a	0,0 b	0,0 a	0,0 a	0,0 c	0,0 a	0,0 c
Captana®	1,7 b	1,6 c	1,1 a	0,0 b	0,0 a	0,0 a	2,3 bc	0,0 a	0,0 c
Ecotrich®	2,9 b	0,0 c	0,0 a	0,0 b	0,0 a	0,0 a	0,3 c	0,2 a	0,0 c
Quality®	20,9 a	24,9 c	2,7 a	0,0 b	0,4 a	0,0 a	8,2 a	1,7 a	0,0 c
Trichodel®	9,9 a	19,1 b	0,4 a	0,0 b	0,4 a	0,0 a	4,4 abc	0,8 a	0,2 bc
Trichoplus®	20,1 a	19,0 b	0,8 a	0,0 b	0,0 a	0,0 a	5,4 abc	1,2 a	2,1 ab
CV%	38,11	34,68	29,13	21,57	20,22	8,68	41,81	18,0	20,08
D.M.S	0,60	0,54	0,30	0,21	0,19	0,08	0,55	0,18	0,20

As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente.

### 3.2 Teste de germinação

Quanto à germinação de sementes, o tratamento com fungicida influenciou no parâmetro de sementes duras e sementes mortas quando comparados a testemunha (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios de sementes mortas (SM) e duras (SD), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CPR), comprimento de plântula (CP), em sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) tratadas com *Trichoderma* spp. e fungicida.

Tratamentos	SM	SD	CPA	CRP	CP
	.....%.....		.....cm.....		
Testemunha	55,2 a	11,3 b	4,0 a	4,2 a	8,2 b
Carboxin	40,2 b	22,2 a	5,0 a	4,2 b	9,2 ab
Captana	18,1 c	22,5 a	4,9 a	4,6 ab	9,5 ab
Ecotrich®	46,8 ab	13,0 b	2,4 c	2,3 c	4,8 c
Quality®	56,0 a	11,8 b	4,6 ab	4,5 ab	9,1 b
Trichodel®	44,16 ab	12,8 b	4,9 ab	4,5 b	9,2 ab
Trichoplus®	36,34 b	13,0 ab	5,8 a	5,9 a	11,7 a
CV %	12,46	25,14	13,49	14,48	12,53
D.M.S	1,21	0,88	1,41	1,44	8,87

As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente.

De acordo com os resultados encontrados para a porcentagem de germinação (Tabela 2), observa-se que houve diferença quanto ao percentual de sementes duras, tratadas com os fungicidas quando comparados aos demais tratamentos. O fungicida Captana diferiu estatisticamente dos demais tratamentos quanto ao parâmetro de sementes duras.

O tratamento Trichoplus® foi significativo para o parâmetro de comprimento da plântula. Apesar de não diferir estatisticamente da testemunha. Observou-se que o comprimento da parte aérea e de raiz desenvolveu melhor. O Ecotrich® apresentou as menores médias para os parâmetros CPA, CRP e CP.

Segundo Carvalho et al. (2011) [19], produtos à base de *T. harzianum* são comercializados em vários países como promotor de desenvolvimento de plantas e princípio ativo de inoculantes de efeito biofungicida. O produto Quality® reduziu em 56% o número de sementes mortas, correlacionando-se com a presença dos fungos *Aspergillus* sp., *Aspergillus niger* e *Rhizopus* sp., identificados no teste.

Benítez et al. (2004) [20] comprovaram que estirpes de *Trichoderma* spp. são agentes de controle biológico, agindo diretamente contra fungos fitopatogênicos, mas também podem ser encontrados colonizando as raízes das plantas estimulando o crescimento e protegendo contra infecções.

### 3.3 Teste de emergência em solo

Quando comparados à testemunha, houve um alto índice de sementes não germinadas em todos os tratamentos observados, podendo-se associar ao índice de fungos de armazenamento encontrados no teste de sanidade. Estes fungos podem ter causado o apodrecimento das sementes ocasionando redução do índice de germinação (Tabela 3).

O tratamento com o fungicida Captana® atingiu 42% de sementes mortas. Isso pode estar associado a presença dos fungos como *Aspergillus* sp. e *Rhizophus* sp. que foram identificados no teste de sanidade. Esses fungos se desenvolveram rapidamente colonizando a semente e impedindo sua germinação como aconteceu nos demais tratamentos.

Para o comprimento de plântula, os tratamentos à base de *Trichoderma* spp., apesar de não diferirem estatisticamente, se destacaram, proporcionando plântulas mais vigorosas e maiores. Mwangi et al. (2011) [21] destacam que *T. harzianum* pode ser usado para estimular o crescimento de mudas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*). As plântulas sofreram “damping off”, que é ocasionado principalmente por fungos fitopatogênicos como *Fusarium* sp. e

*Rhizoctonia* sp. Dessa forma, a mortalidade das plântulas pode estar associada à presença de *Fov* identificado no teste de sanidade.

Tabela 3. Sementes não germinadas (SN), plântulas mortas (PM), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CPR), comprimento de plântula (CP), em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.), tratadas com fungicidas e produtos à base de *Trichoderma* spp.

Tratamento	SN .....cm.....	PM	CPA	CPR .....%.....	CP
Testemunha	39,2 ab	1,5 a	4,1 bc	4,1 a	8,3 a
Carboxin	32,5 b	1,2 a	5,1 abc	5,2 a	10,3 a
Captana	42,2 a	1,4 a	3,6 c	4,1 a	7,8 a
Ecotrich®	40,2 a	1,3 a	7,6 a	4,7 a	12,3 a
Quality®	40,2 a	1,1 a	4,9 abc	6,6 a	11,5 a
Trichodel®	38,2 ab	1,3 a	6,8 ab	5,7 a	12,5 a
Trichoplus®	39,5 ab	1,1 a	6,5 ab	5,9 a	12,5 a
CV %	8,36	21,9	21,32	22,97	20,95
D.M.S	7,40	0,67	2,72	2,76	5,19

As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente.

Os produtos biológicos testados apresentaram resultados promissores quanto aos parâmetros sementes não germinadas (SN), plântulas mortas (PM), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CPR), comprimento de plântula (CP). Cruz et al. (2020) [3], observaram aumento dos pesos de matéria seca de raízes e parte aérea em plântulas de algodoeiro orgânico tratadas com *Trichoderma* sp. Corroborando com os dados obtidos nesta pesquisa.

O uso de microrganismos antagonistas no tratamento de sementes pode estimular o desenvolvimento de plantas, além de beneficiar a germinação, emergência e desenvolvimento de plântulas, devido ao efeito bioestimulante de fungos do gênero *Trichoderma* sp. [7].

Os mecanismos de promoção de crescimento vegetal por microrganismos habitantes do solo podem ocorrer de maneira direta ou indireta. Os diretos podem ser a produção de hormônios, ou outra substância análoga a estes, que influenciam no crescimento ou desenvolvimento da planta [22], ou ainda suprindo suas necessidades nutricionais pela solubilização de fosfatos [23]. Os benefícios indiretos podem ocorrer pela ação de microrganismos por meio da supressão de patógenos [24]. Esse mecanismo promove o desenvolvimento da planta e produção de grãos e frutos, diminuindo as adubações por meio da disponibilidade de nutrientes para a raiz [25].

### 3.4 Teste de antagonismo

Quanto ao teste de antagonismo, as menores notas foram associadas ao tratamento com Trichoplus JCO®. Foi observada diferença significativa entre os biofungicidas quando comparados com a testemunha (Tabela 4).

Tabela 4. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. x *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* submetidos a tratamentos com produtos biológicos à base de *Trichoderma* spp. e fungicidas.

Tratamentos	Notas Redução de Crescimento do <i>Fusarium vasinfectum</i>
Testemunha	4,0 a
Ecotrich® ( <i>Trichoderma harzianum</i> )	2,2 cd
Quality® ( <i>Trichoderma asperellum</i> )	2,8 b
Trichodel® ( <i>Trichoderma</i> spp.)	2,4 bc
Trichoplus JCO® ( <i>Trichoderma</i> spp. e <i>T. harzianum</i> )	2,0 d
CV %	15,44
D.M.S	0,36

As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente.

O tratamento Trichoplus JCO® condicionou o menor desenvolvimento de *Fov*, associando-se a espécie *T. harzianum* presente. Aoyagi e Doi (2021) [26] relataram o antagonismo de *Trichoderma* spp. *in vitro* em testes utilizando *T. harzianum* contra *F. oxysporum* e *Botrytis cinerea*, com 100% de inibição dos dois fungos testados. A eficiência antagonista de *Trichoderma* spp. também foi comprovada em outros estudos. Costa et al. (2019) [27], relataram a capacidade antagônica de isolados de *Trichoderma* sp. contra *Colletotrichum gloesporioides* em açaizeiro (*Euterpe precatoria*).

O Quality® (*T. asperellum*), cuja média foi de 2,8, não apresentou antagonismo eficiente ao *Fov*, quando comparado aos demais tratamentos. Alguns estudos mostraram que isolados de *T. asperellum* reduziram em até 61% o tombamento de mudas do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) causado por *Fusarium solani* [28]. Cotxarrera et al. (2002) [29] observaram menor severidade de fusariose (*F. oxysporum* f. sp. *lycopersyci*) do tomateiro (*Solanum lycopersicum*) em substrato tratado com isolados de *T. asperellum*. Esse resultado pode ser atribuído a raça do fitopatógeno e a sua severidade em determinada cultura.

O antagonismo de Trichodel® sobre *Fov* provocou uma redução de cerca de 50% no crescimento do patógeno (Figura 2). A capacidade de biocontrole de cada produto depende de vários fatores além do micoparasitismo. O método de confronto direto é uma das formas de realizar seleção de isolados com potencial uso em controle biológico. Segundo Sánchez et al. (2007) [30] o parasitismo de *T. longibrachiatum* sobre *Thielaviopsis paradoxa* é realizado através da produção de enzimas extracelulares que degradam os constituintes da parede celular e de metabólitos difusíveis não voláteis que também estão envolvidos no antagonismo por *Trichoderma* spp.



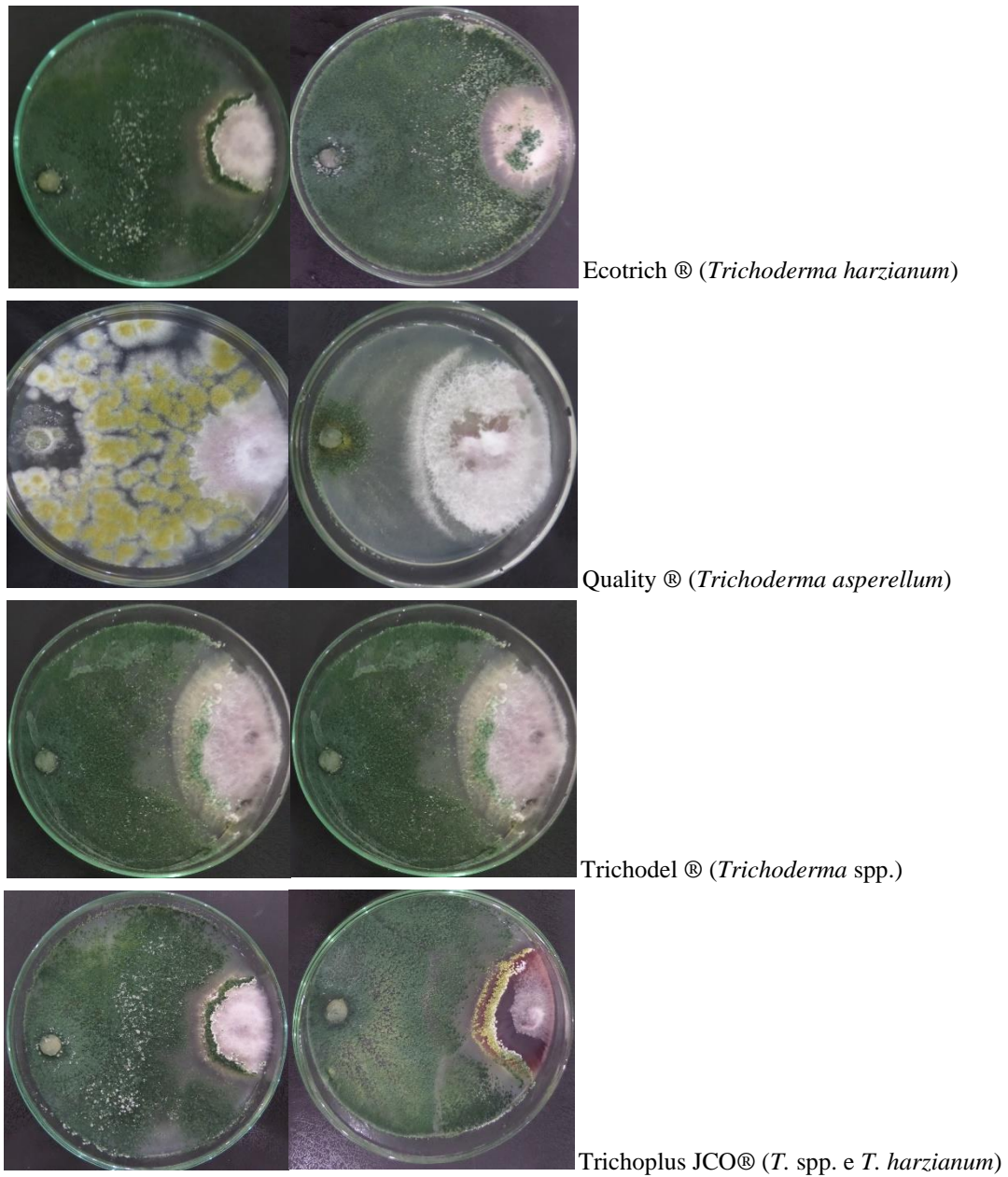


Figura 2: Testes de confronto direto in vitro entre *Trichoderma* spp. X *Fusarium oxysporum* f. sp. vasinfectum.

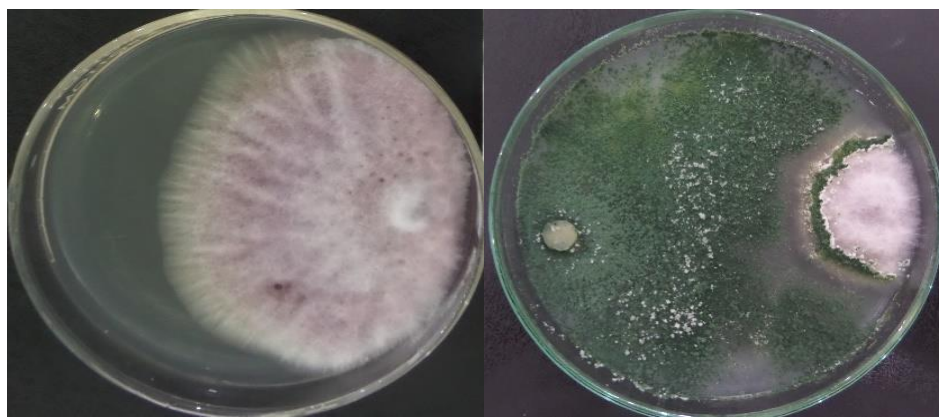


Figura 3. Testes de confronto direto in vitro entre *Trichoderma* spp. (*Trichoplus JCO*®) X *Fusarium oxysporum* f. sp. vasinfectum.

A figura 3 mostra o potencial de antagonismo do produto Trichoplus JCO® contra a colônia de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. A figura retrata claramente a sobreposição dos isolados de *Trichoderma* sp. sobrepondo o *Fov* mostrando a capacidade desses produtos biológicos no controle do patógeno.

### 3.5 Inibição de crescimento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* in vitro

As médias de inibição do crescimento micelial de *Fov* por espécies de *Trichoderma* spp. in vitro encontra-se na Tabela 5. Houve diferença estatística quando comparados a testemunha e entre os produtos à base de *Trichoderma* spp. testados.

Tabela 5. Crescimento micelial (cm) in vitro de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* sob a influência de *Trichoderma* spp. avaliado por meio da técnica de pareamento.

Tratamento	Média Micelial de Crescimento (cm)
Testemunha	14,65 a
Ecotrich® ( <i>Trichoderma harzianum</i> )	9,8 c
Quality® ( <i>Trichoderma asperellum</i> )	11,5 b
Trichodel® ( <i>Trichoderma</i> spp.)	10,2 bc
Trichoplus® ( <i>Trichoderma</i> spp. e <i>T. harzianum</i> )	9,6 c
CV%	13,09
D.M.S	1,28

As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente.

Pode-se observar que os melhores tratamentos foram Trichoplus JCO® e Ecotrich®, que obtiveram médias de 9,6 e 9,8, respectivamente, quando comparados a testemunha. Bomfim et al. (2010) [31] verificaram resultados satisfatórios no biocontrole de *Rhizopus stolonifer*.

O comportamento dos isolados de *Trichoderma* spp. no teste de pareamento serviu para dividi-los em dois grupos: (1) provoca maior inibição do fungo alvo destaque; (2) provoca menor inibição.

O grupo 1 foi formado pelo tratamento Ecotrich® (*T. harzianum*) inibiu uma média de 42% de *Fov*, apresentando o melhor resultado do teste, seguido do Trichoplus JCO® (*T. harzianum* + *Trichoderma* spp.) com 41% e, Trichordel® (*Trichoderma* spp.) com 40%. O grupo 2 foi formado pelo tratamento Quality® (*T. asperellum*) que apresentou média de 29% de inibição.

As espécies de *Trichoderma* testadas apresentaram crescimento mais rápido que os isolados de *Fov*, ocupando cerca de metade da placa mesmo sendo repicado 48 horas após o patógeno. Resultados similares foram encontrados por Abdel-Fattah et al. (2007) [14] que registraram inibição de 48% no crescimento de colônias de *Bipolaris oryzae* quando confrontado com *Trichoderma* sp.

A mesma velocidade de crescimento do antagonista após oito dias de avaliação foi mantida, sendo uma das vantagens da utilização de isolados deste gênero. O antagonismo dos isolados de *Trichoderma* spp. sobre o *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* provavelmente foi exercido por meio da antibiose, pelo fato dos Actinomicetos já apresentarem a característica de produzir substâncias antifúngicas.

A capacidade de biocontrole depende de vários fatores além do micoparasitismo. O método de confronto direto é uma das maneiras de selecionar isolados com potencial de aplicação em controle biológico. Esta hipótese pode ser reforçada pelo trabalho de Sánchez et al. (2007) [30] que observaram que o parasitismo de *T. longibrachiatum* em *Thielaviopsis paradoxa* se dá através da produção de enzimas extracelulares, envolvidas na degradação de constituintes da parede celular, e de metabólitos não voláteis que estão envolvidos no antagonismo por *Trichoderma* sp.

A maioria das cepas de *Trichoderma* sp. produzem metabólicos tóxicos voláteis e não voláteis que impedem a colonização por microrganismos antagonistas. Antibióticos e outros compostos podem estar associados a estes metabólicos [32]. Desta forma, os compostos

produzidos permitem a *Trichoderma* spp. exercer um antagonismo mais eficiente, abrangendo uma ampla gama de patógenos quando comparado a outros gêneros fúngicos utilizados em controle biológico.

#### 4. CONCLUSÃO

Nas condições em que foram conduzidos os estudos pode-se concluir que:

- Ecotrich® foi o produto mais eficiente no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, incrementando a qualidade sanitária das sementes do algodoeiro analisadas;
- Trichoplus JCO® aumentou o vigor das sementes de algodoeiro avaliadas;
- Ecotrich®, Trichoplus® e Trichordel® se destacaram por sua capacidade de biocontrole no teste *in vitro*.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Farias OR, Cruz JMFL, Gomes RSS, Nascimento LC, Bruno RLA, Arriel NHC. Occurrence of fungi and the physiological quality of cotton seeds produced in Paraíba, Brazil. *Rev Agro Ambi.* 2020;15(2):e8723. doi: 10.17765/2176-9168.2022v15n2e8723
2. Mayrinck LG, Lima JME, Guimarães GC, Nunes CA, Oliveira JA. Use of near infrared spectroscopy in cotton seeds physiological quality evaluation. *J Seed Sci.* 2020;42:e202042016. doi: 10.1590/2317-1545v42227169
3. Cruz JMFL, Medeiros EC, Farias OR, Silva EC, Nascimento LC. Microbiolization of organic cotton seeds with *Trichoderma* sp. and *Saccharomyces cerevisiae*. *J Seed Sci.* 2020 Mar;42:e202042021. doi: 10.1590/2317-1545v42229182
4. Cox Jr KL, Babilonia K, Wheeler T, He P, Shan L. Return of old foes – recurrence of bacterial blight and *Fusarium* wilt of cotton. *Curr Opin Plant Biol.* 2019 Aug;50:95-103. doi: 10.1016/j.pbi.2019.03.012
5. Silva MB, Davis RF, Doan HK, Nichols RL, Kemerait RC, Halpern HC, et al. *Fusarium* wilt of cotton may commonly result from the interaction of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* with *Belonolaimus longicaudatus*. *J Nematol.* 2019;51:1-10. doi: 10.21307/jofnem-2019-015
6. Silva LS, Medeiros TR, Silva APR, David GQ, Moya WP, Sorato AMC. Controle alternativo do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* com óleos essenciais. *Cadern Agroecol.* 2018;13(1):1-6.
7. Mello MRF, Silveira EB, Viana IO, Guerra ML, Mariano RLR. Uso de antibióticos e leveduras para controle da podridão mole em couve-chinesa. *Hort Bras.* 2011;29(1):78-83. doi: 10.1590/S0102-0536011000100013
8. Machado DFM, Parzianello FR, Silva ACF, Antonioli ZI. *Trichoderma* in Brazil: the fungus and the bioagent. *Rev Cien Agra.* 2012 Jan/Jun;35(1):274-88. doi: 10.19084/rca.16182
9. Zauza EAV, Alfenas AC, Máfia RG. Esterilização, preparo de meios de cultura e fatores associados ao cultivo de fitopatógenos. In: Alfenas AC, Máfia RG, editores. *Métodos em fitopatologia*. Viçosa (MG): Editora UFV; 2007. p. 23-52.
10. Seifert K, Morgan-Jones G, Gams W, Kendrick B. *The genera of Hyphomycetes*. Utrecht (HO): CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre; 2011.
11. Lima JD, Almeida CC, Dantas VAV, Silva BM, Moraes WS. Efeito da temperatura e do substrato na germinação de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. (Leguminosae, Caesalpinoideae). *Rev Arv.* 2006;30(4):513-8. doi: 10.1590/S0100-67622006000400003
12. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes [Internet]. Brasília (DF): MAPA; 2009 [citado em 16 abr 2022]. Disponível em: [https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946\\_regras\\_analise\\_sementes.pdf](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise_sementes.pdf)
13. Bell DK, Wells HD, Markham CR. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal pathogens. *Phytopath.* 1982;72(4):379-82. doi: 10.1094/Phyto-72-379
14. Abdell-Fattah GM, Shabana YM, Ismail AE, Rashad YM. *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent against *Bipolaris oryzae*. *Mycopath.* 2007;164:81-9. doi: 10.1007/s11046-007-9032-9
15. Martins CC, Bovi MLA, Spiering SH. Umedecimento do substrato na emergência e vigor de plântulas de pupunheira. *Rev Bras Fruticult.* 2009 Mar;31(1):224-30. doi: 10.1590/S0100-2952009000100031
16. Souza AA, Bruno RLA, Araújo E, Bruno GB. Micoflora e qualidade fisiológica de sementes do algodoeiro tratadas com fungicidas químicos e extrato de aroeira. *Rev Bras Sem.* 2003;25(1):56-64. doi: 10.1590/S0101-31222003000100010

17. Chitarra LG, Goulart ACP, Zorato MF. Tratamento de sementes de algodoeiro com fungicidas no controle de patógenos causadores de tombamento de plântulas. *Rev Bras Sem.* 2009;31(1):168-76. doi: 10.1590/S0101-31222009000100019
18. Sousa LFB, Melo A. Benefícios da *Moringa oleifera* para a saúde humana e meio ambiente. *Rev Faculd Sab.* 2019;4(07):472-84.
19. Carvalho DDC, Mello SCM, Lobo Junior M, Geraldine AM. 2011. Biocontrol of seed pathogens and growth promotion of common bean seedlings by *Trichoderma harzianum*. *Pesq Agropec Bras.* 2011;46(8):822-8. doi: 10.1590/S0100-204X2011000800006
20. Benítez T, Rincón AM, Limón MC, Codón AC. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *Internat Microbiol.* 2004;7(4):249-60.
21. Mwangi MW, Monda EO, Okoth SA, Jefwa JM. Inoculation of tomato seedlings with *Trichoderma Harzianum* and arbuscular mycorrhizal fungi and their effect on growth and control of wilt in tomato seedlings. *Brazil J Microbiol.* 2011;42(2):508-13. doi: 10.1590/S1517-838220110002000015
22. Machado RG, de Sá ELS, Damasceno RG, Hahn L, Almeida D, Morais T, et al. Promoção de crescimento de *Lotus corniculatus L.* e *Avena strigosa Schreb* pela inoculação conjunta de *Trichoderma harzianum* e rizóbio. *Cien Natura.* 2011;33(2):111-26. doi: 10.5902/2179460X9365
23. Gravel V, Antoun H, Tweddell RJ. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of índole acetic acid (IAA). *Soil Biol Biochem.* 2007;39(8):1968-77. doi: 10.1016/j.soilbio.2007.02.015
24. Gava CAT, Menezes MEL. Eficiência de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo. *Rev Ciênc Agrônôm.* 2012;43(4):633-40. doi: 10.1590/S1806-66902012000400003
25. Harman GE. Myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Dis.* 2000;84(4):377-93. doi: 10.1094/PDIS.2000.84.4.377
26. Aoyagi LN, Doi SMO. Evaluation of the antagonistic activity of *Trichoderma harzianum* on *Fusarium oxysporum* and *Botrytis cinerea*. *Braz J Anim Environ Reser.* 2021 Jul/Sep;4(3):3234-9. doi: 10.34188/bjaerv4n3-035
27. Costa KK, Rufino CPB, Macedo PEF, Nogueira SR. Antagonism of *Trichoderma* spp. about *Colletotrichum gloesporioides*, causal agent of antracnosis of *Euterpe precatoria*. *SAJEBTT.* 2019 May;6(1):391-7.
28. Akram M, Ibrahimov AS, Zafari DM, Valizadeh E. Control *Fusarium* rot of bean by combination of by *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma asperellum* in greenhouse condition. *Agricult J.* 2009;4(3):121-3.
29. Cotxarrera L, Trillas-Gay MI, Steinberg C, Alabouvette C. Use of sewage sludge compost and *Trichoderma asperellum* isolates to suppress *Fusarium* wilt of tomato. *Soil Biol Biochem.* 2002;34(4):467-76. doi: 10.1016/S0038-0717(01)00205-X
30. Sánchez V, Rebolledo O, Picaso RM, Cárdenas E, Córdova J, González O, et al. *In vitro* antagonism of *Thielaviopsis paradoxa* by *Trichoderma longibrachiatum*. *Mycopathol.* 2007;163(1):49-58. doi: 10.1007/s11046-006-0085-y
31. Bomfim MP, São José AR, Rebouças TNH, Almeida SS, Souza IVB, Dias NO. Avaliação antagônica *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. *Sum Phytopathol.* 2010;36(1):61-7. doi: 10.1590/S0100-54052010000100011
32. Isaias CO, Martins I, Silva JBT, Silva JP, Mello SCM. Ação antagônica e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp. contra os patógenos *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae*. *Sum Phytopathol.* 2014 Feb;40(1):34-41. doi: 10.1590/S0100-54052014000100005