



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO TOCANTINS
CAMPUS ARAGUATINS
CURSO BACHARELADO EM ENGENHARIA AGRONÔMICA

CLEDYSON GABRIEL BORGES DE OLIVEIRA

**BIOCONTROLE DE *Fusarium oxysporum* COM ISOLADO DE *Trichoderma spp.*
E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM MUDAS DE TOMATE**

**ARAGUATINS - TO
2023**

CLEDYSON GABRIEL BORGES DE OLIVEIRA

**BIOCONTROLE DE *Fusarium oxysporum* COM ISOLADO DE *Trichoderma spp.*
E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM MUDAS DE TOMATE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à coordenação do curso Bacharelado em Engenharia Agrônômica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins, *Campus Araguatins*, como parte das exigências à obtenção do grau de Bacharel em Engenharia Agrônômica.

Orientador: MSc. Timóteo de Sousa
Oliveira Lemes

Coorientador: Dr. Ilsamar Mendes Soares

ARAGUATINS - TO

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Bibliotecas do Instituto Federal do Tocantins

O48b Oliveira, Cledyson Gabriel Borges de
 Biocontrole de *Fusarium oxysporum* com isolado de *Trichoderma*
 spp. e promoção de crescimento em mudas de tomate / Cledyson
 Gabriel Borges de Oliveira. – Araguatins, TO, 2023.
 36 p. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia
Agrônômica) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia
do Tocantins, Campus Araguatins, Araguatins, TO, 2023.

Orientador: Me. Timóteo de Sousa Oliveira Lemes

Coorientador: Dr. Ilsamar Mendes Soares

1. Tomate. 2. *Fusarium oxysporum*. 3. *Trichoderma* spp.. I.
Lemes, Timóteo de Sousa Oliveira. II. Soares, Ilsamar Mendes. III.
Título.

CDD 630

A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio, deste documento é autorizada para fins
de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica do IFTO com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a).



Ministério da Educação
Secretaria de Educação Profissional e Tecnológica
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins
Campus Araguatins
Coordenação do Curso de Bacharelado em Engenharia Agrônoma

FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO: “BIOCONTROLE DE *Fusarium oxysporum* COM ISOLADO DE *Trichoderma spp.* E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM MUDAS DE TOMATE”.

AUTOR (A): Cledyson Gabriel Borges de Oliveira
ORIENTADOR (A): Timóteo de Sousa Oliveira Lemes

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins, *Campus Araguatins*, como parte das exigências para a conclusão do Curso de Bacharelado em Engenharia Agrônoma.

Aprovado em 27 de fevereiro de 2023.



Documento assinado eletronicamente por **Timoteo de Sousa Lemes, Servidor**, em 10/03/2023, às 13:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Decio Dias dos Reis, Servidor**, em 10/03/2023, às 13:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ilsamar Mendes Soares, Servidor**, em 10/03/2023, às 14:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ifto.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1918913** e o código CRC **1C373AA9**.

A Deus que me permitiu encontrar forças mediante tantas adversidades e aos meus pais, que nunca pouparam esforços para que eu pudesse concretizar esse tão almejado sonho, dedico esse trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela dádiva de existir e poder usufruir de todas as suas maravilhas.

Agradeço aos meus amados pais, Raimundo Tomé de Oliveira e Maria Irene Borges Ferreira, que sempre me motivaram e acreditaram em mim, obrigado por todo amor e carinho fornecido neste ciclo que precisei passar boa parte distante de seus braços.

Aos meus queridos irmãos Jusandra, Joelson e Maria Elcione, que estiveram sempre me auxiliando para que tudo fosse possível.

Agradeço ao meu orientador que em pouco tempo de trabalho se tornou um grande amigo, muito obrigado pelos ensinamentos e brincadeiras. Agradeço ao meu coorientador Ilsamar Mendes e a todos os servidores efetivos e terceirizados que contribuíram de forma relevante para obtenção de materiais, como também de boas conversas, em especial os servidores Andréa Ohanna, Edinaldo, Eraldo Carlos, Laudemir Lopes (vulgo “Potassa”) e Lindamar Pereira.

Aos meus grandes amigos que estiveram presentes ajudando de todas as formas possíveis: Brenno Alef, Carlos Guilherme, Cássia Julião, Danilo Vencio, David Aimar, Eduardo Carvalho, Jean Lucas, Kleysson Silvério, Izabel Pereira, Lorhana Mesquita, Marcos Paulo, Mateus Lucas, Mayara Luz, Rute Moreira e Wandreson Ferreira, meu imenso agradecimento.

E claro, não poderia deixar de agradecer a minha turma 2018.1 de Engenharia Agrônômica, a qual dividimos cinco anos de estudos trocando conhecimento, incentivando uns aos outros e compartilhando muita alegria.

A persistência é o caminho do êxito.
Charles Chaplin

RESUMO

O tomate (*Solanum lycopersicum*), amplamente cultivado em regiões brasileiras, ocupa lugar de destaque na mesa do consumidor por ser rico em nutrientes e componentes bioativos. No entanto, a cultura é afetada por diversos problemas fitossanitários que acarretam redução de produtividade. Uma doença que se destaca nesse contexto é a murcha de fusário, que tem como agente etiológico três raças do fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL), de ocorrência generalizada em quase todas as regiões produtoras de tomate. Dessa forma, o controle fitopatogênico à base de pesticidas biológicos se torna uma relevante alternativa para diminuir os riscos à saúde humana. Logo, o objetivo do presente trabalho foi determinar o potencial de antibiose do isolado *Trichoderma spp.* sob o fitopatógeno isolado *Fusarium oxysporum in vitro* e avaliar *in vivo* a capacidade de promoção de crescimento de mudas de tomate infectadas com o fitopatógeno sob diferentes concentrações de conídios do antagonista. Sendo assim, realizou-se dois experimentos, um *in vitro* e outro em *in vivo*. Os ensaios *in vitro* foram realizados em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), onde realizou-se 3 tratamentos com 7 repetições, onde os tratamentos 1 e 2 foram as testemunhas positiva e negativa, e o tratamento 3 foi o de pareamento de culturas. Já os experimentos em casa de vegetação (*in vivo*) foram realizados em Delineamento em Blocos Casualizados (DBC), contendo 6 blocos e 5 tratamentos, totalizando 30 parcelas, sendo que, cada parcela apresentava 4 plantas, nas quais se analisaram as seguintes variáveis: altura de planta (H), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF), comprimento radicular (CR), massa fresca total (MFT), massa seca total (MST) e incidência da doença (IC). Os resultados obtidos para o teste *in vitro* mostraram que o isolado proveniente de solo de área cultivável *Trichoderma spp.* possui grande potencial de inibição de *Fusarium oxysporum* em cultivo pareado. Ademais, os dados referentes ao teste em mudas de tomate, mostraram que isolados a base de *Trichoderma* podem além de promover o crescimento de alguns parâmetros agrônômicos, induzir resistência a problemas gerados pela murcha de fusariose.

Palavras-chave: Tomate; *Fusarium oxysporum*; *Trichoderma spp.*; controle biológico.

ABSTRACT

Tomato (*Solanum lycopersicum*), widely cultivated in Brazilian regions, occupies a prominent place on the consumer's table for being rich in nutrients and bioactive components. However, the crop is affected by several phytosanitary problems that lead to reduced productivity. A disease that stands out in this context is Fusarium wilt, which has three races of the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL), which is widespread in almost all tomato producing regions. Thus, phytopathogenic control based on biological pesticides becomes a relevant alternative to reduce risks to human health. Therefore, the objective of the present work was to determine the antibiosis potential of isolated *Trichoderma* spp. under the phytopathogen isolated *Fusarium oxysporum* *in vitro* and to evaluate *in vivo* the ability of tomato seedlings infected with the phytopathogen to promote growth under different concentrations of antagonist conidia. Therefore, two experiments were carried out, one *in vitro* and the other *in vivo*. The *in vitro* assays were carried out in a Completely Random Design (DIC), where 3 treatments were performed with 7 repetitions, where treatments 1 and 2 were the positive and negative controls, and treatment 3 was the culture pairing. The experiments in a greenhouse (*in vivo*) were carried out in a Random Block Design (DBC), containing 6 blocks and 5 treatments, totaling 30 plots, and each plot had 4 plants, in which the following variables were analyzed: plant height (H), stem diameter (DC), number of leaves (NF), root length (CR), total fresh mass (MFT), total dry mass (MST) and disease incidence (CI). The results obtained for the *in vitro* test showed that the isolate from soil in a cultivable area *Trichoderma* spp. it has great potential to inhibit *Fusarium oxysporum* in paired culture. Furthermore, the data referring to the test on tomato seedlings showed that isolates based on *Trichoderma* can, in addition to promoting the growth of some agronomic parameters, induce resistance to the problems generated by fusariosis wilt.

Keywords: Tomato; *Fusarium oxysporum*; *Trichoderma* spp.; biological control.

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Tratamentos com diferentes concentrações de conídios de <i>Trichoderma spp.</i> e <i>F. oxysporum</i> por grama de substrato.....	27
Tabela 02. Análise de variância pelo teste F para os dados obtidos com o teste in vitro de antagonismo entre <i>Trichoderma spp.</i> e <i>F. oxysporum</i>	29
Tabela 03. Teste de comparação de médias Scott e Knott a 5% de significância dos tamanhos miceliais das colônias de <i>F. oxysporum</i>	29
Tabela 04. Resumo da análise de variância em blocos ao acaso das características avaliadas.....	30
Tabela 05. Teste Scott e Knott dos dados coletados aos 30 dias pós semeadura. para as variáveis altura de planta (H), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF) e comprimento da raiz (CR).....	31
Tabela 06. Continuação. Teste Scott e Knott dos dados coletados aos 30 dias pós semeadura. para as variáveis altura de planta (H), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF) e comprimento da raiz (CR).....	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Fruto do tomateiro.....	16
Figura 02. Estruturas morfológicas reprodutivas de <i>F. oxysporum</i>	17
Figura 03. Estruturas morfológicas reprodutivas de <i>Trichoderma spp</i>	22
Figura 04. Local de coleta das amostras.....	24
Figura 05. Processo de diluição seriada (A e B) e inoculação em meio de cultura BDA (C).....	25
Figura 06. Pareamento de culturas para determinação da taxa de inibição micelial de <i>F. oxysporum</i> , utilizando como controle um isolado de <i>Trichoderma spp</i>	26
Figura 07. Pareamento de culturas para teste de antagonismo após 12 dias de inoculação.....	29
Figura 08. Mudas com Incidência de sintomas da murcha de fusariose ocasionada por <i>F. oxysporum</i> aos 25 dias após germinação.....	33

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERÊNCIAL TEÓRICO	15
2.1 Cultura do tomateiro	15
2.2 Murcha de <i>Fusarium</i> em tomateiro	17
2.2.1 Sintomatologia	18
2.2.2 Identificação de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	19
2.3 Métodos de controle	20
2.3.1 Controle Biológico: <i>Trichoderma</i> spp.	20
3 MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1 Coleta de material	23
3.2 Isolamento dos fungos	24
3.3 Teste de pareamento <i>in vitro</i>	25
3.4 Teste <i>in vivo</i>	26
4 RESULTADO E DISCUSSÕES	28
4.1 Teste <i>in vitro</i>	28
4.2 Teste <i>in vivo</i>	30
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	33
REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

A família *Solanaceae* é classificada como uma cultura de ampla relevância na agricultura, uma vez que são encontradas nas mais variadas classes que produzem alimentos, plantas de propriedades medicinais e plantas daninhas. Obtendo presente cerca de 96 gêneros e 2300 espécies (MINAMI; MELLO, 2017).

A cultura do tomate (*Solanum lycopersicum*), é intensamente produzido em regiões brasileiras, preenche um lugar de destaque nas refeições do consumidor por ser excelente fonte de nutrientes. Devido aos teores de enriquecidos de compostos bioativos como o β -caroteno e licopeno, é considerado um importante alimento funcional de amplo valor na prevenção de doenças (UPADHYAYA *et al.*, 2017).

No ano de 2016, a produção mundial foi superior a 177 milhões de toneladas, em uma área de aproximadamente 4,8 milhões de hectares e produtividade média em torno de 37 t ha⁻¹. Um levantamento entre os anos de 1996 à 2016 aponta desenvolvimento e crescimento mundial de 91,02% da produção, 40,62% da área plantada e 35,86% na produtividade do tomateiro (FAOSTAT, 2017).

O tomateiro é amplamente cultivado, mas é comprometido por múltiplas dificuldades fitossanitárias que ocasionam diminuição de produtividade, da qualidade do produto e restringem o cultivo em algumas regiões. Para a maioria dessas doenças não há parâmetros eficazes de manejo. Sendo a murcha de fusário, uma doença que possui destaque nesse contexto, na qual possui como agente etiológico três raças do fungo *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL), que ocorre de forma generalizada em quase todas as regiões produtoras de tomate, compreendendo as regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste brasileiras (ROSA *et al.*, 2022). É uma doença classificada como radicular, que se intensifica em temperaturas altas, solos arenosos e solos ácidos. O patógeno possui capacidade de disseminar a curtas extensões através de mudas contaminadas, de implementos agrícolas e da água de irrigação. Entretanto, a forma mais competente de disseminação a extensas extensões é a transmissão por sementes contaminadas (REIS; LOPES, 2012).

De acordo com Hoffmann *et al.*, (2015), o uso de controle biológico vem sendo extremamente utilizado no manejo integrado das doenças do tomateiro exibindo consequências científicas competentes. Dessa forma, entende-se que a sociedade está cada vez mais interessada em uma agricultura que possa melhorar a qualidade de vida dos consumidores, assegurando que haja alimentos com as

propriedades apropriadas à saúde humana, totalmente livre de escórias de natureza química, biológica ou física, ou de qualquer outra substância que possa gerar problemas à saúde da população e que não seja ambientalmente sustentável.

No que se refere ao controle biológico, os fungos do gênero *Trichoderma* são simbólicos do solo e nas raízes das plantas. São saprófitos e empregados como agentes de controle biológico e elaboradores de uma linha de enzimas para uso industrial. O uso inapropriado de agrotóxicos expande as taxas de doenças relacionadas a restos de produtos químicos deglutidos pelo ser humano, o controle fitopatogênico baseado em pesticidas biológicos se torna uma proeminente opção para reduzir os riscos para a saúde humana (HOFFMANN *et al.*, 2015).

Logo, o objetivo do presente trabalho foi determinar o potencial de antibiose do isolado *Trichoderma spp.* sob o fitopatógeno isolado *F. oxysporum in vitro* e avaliar *in vivo* a capacidade promoção de crescimento de mudas de tomate infectadas com o fitopatógeno sob diferentes concentrações de conídios do antagonista.

2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 Cultura do tomateiro

Conforme os estudos de Armijos Jaramillo *et al.*, (2007), o tomateiro é uma planta caracterizada como dicotiledônea, da família *Solanaceae* e gênero *Lycopersicon*. Estando presente taxonomicamente no Reino Vegetal nas seguintes características (ARMIJOS JARAMILLO *et al.*, 2007):

- Reino *Plantae*;
- Sub-reino *Tracheibionta*;
- Divisão *Magnoliophyta*;
- Classe *Magnoliopsida*;
- Subclasse *Asteridae*;
- Ordem *Solanales*;
- Família *Solanaceae*;
- Gênero *Lycopersicon* (*Solanum*);
- Espécie *Lycopersicon esculentum* (*Solanum Lycopersicum*).

O fruto do tomateiro é distinto com uma baga bastante carnosa alterando da cor vermelha ao amarelo, sendo encontrado frutos de múltiplas dimensões, de 1,5 cm a 10 cm de diâmetro, como ilustrado na figura 1. Já os tomates cereja são pequenos em relação aos tomates de mesa, onde eles possuem superfície lisa ou áspera. Exibem-se em contorno globoso, podendo ser em formatos de ameixa ou pêra. Proporciona cerca 90% de água em seus frutos, com pequeno teor de gorduras e proteínas, com cerca de 3% de carboidratos, minerais, vitaminas C, E, complexo B e caroteno (MINAMI; MELLO, 2017). Esses fatores também chamam bastante atenção dos consumidores, uma vez que buscam cada vez mais frutos saudáveis.

Figura 1. Fruto do tomateiro.



Fonte: RIBEIRO, V. Tipos de tomate. Disponível em: <https://cozinhadave.com/tipos-de-tomate/>. Acesso: 12 de fevereiro de 2023.

O local de origem do tomateiro, fica limitado ao Centro Sul-Americano (Peru – Equador – Bolívia), sendo mais precisamente localizado na região norte do Chile, Equador e litoral do Pacífico, com cerca de uma altitude de 2000 metros nos Andes, e provavelmente nas Ilhas de Galápagos e no Oceano Pacífico (MINAMI; MELLO, 2017).

Estudos corroboram que foi da espécie cultivada *Solanum lycopersicum* que se deu a genealogia a espécie silvestre andina *Solanum cerasiforme*, os quais produzem frutos do tipo cereja (PEREIRA *et al.*, 2008). Em meados do século de XIX os imigrantes italianos primários trouxeram ao Brasil, o costume de comer tomate, e de utilizá-los como temperos. Por volta do início do século XX já acontecia a importação de extrato de tomate oriundos da Itália e Argentina ao Brasil (MINAMI; MELLO, 2017).

Na metade de 1916 acontece a fundação da companhia Carlos de Brito, que então designaram a marca peixe, sendo a pioneira em produzir extratos de tomate no ano de 1920. Os elementares pequenos cultivos de tomate no Brasil foram nas cidades de São Paulo e Rio de Janeiro (RUSSIANO, 2020). O que consequentemente já deu início a grandes cultivos de tomateiro.

Uma das razões que necessitam ser consideradas no que se refere ao processo de germinação do tomate é a luz. Sementes de tomate brotam melhor em locais com deficiência de luz. A capacidade germinativa da semente de tomate

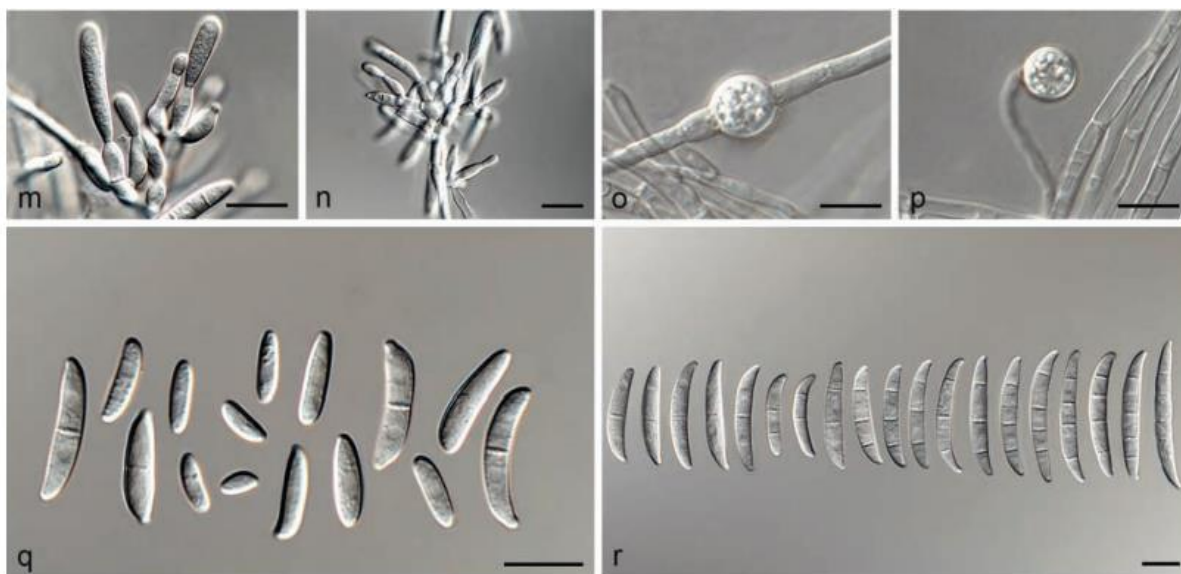
persiste de 3 a 4 anos podendo alterar em até 10 - 12 anos se bem guardadas (MINAMI; MELLO, 2017).

Sobre o tamanho ideal da semente para se alcançar uma excelente germinação, desenvolvimento do fruto, assim como a produção, opta-se por sementes pequenas, visto que possuem a competência de germinar em tempo mais reduzido, enquanto sementes de porte máximo demandam maior tempo para germinarem, possuindo uma relação negativa entre a dimensão das sementes a sua germinação (MINAMI; MELLO, 2017).

2.2 Murcha de *Fusarium* em tomateiro

O *F. oxysporum* é um fungo deuteromiceto com a capacidade de produzir macroconídeos hialinos, alantoides, com a presença de 2 a 4 septos, de paredes finas com microconídeos hialinos com uma ou duas células, como mostrado na figura 2.

Figura 2. Estruturas morfológicas reprodutivas de *F. oxysporum*.



Fonte: Lombard *et al.*, (2018).

Possui também capacidade de produção de clamidósporos com parede plana e espessa, que podem perdurar ao solo por mais de 10 anos. A infiltração do fungo acontece nas raízes através dos pelos absorvedores ou lesões, assim invadindo o sistema vascular das plantas, atingindo também os frutos e as sementes (KIMATI *et al.*, 1997).

A forma de dispersão acontece pela água, implementos agrícolas, sementes, mudas e vento que conduz este patógeno de um local para outro, o que

consequentemente o leva a contaminar múltiplos locais. Começa acontecer o adensamento e concomitantemente os sintomas passam a ficar mais sérios quando a planta se desenvolve em local com presença insuficiente de cálcio e água (ZAMBOLIM *et al.*, 2000).

Quando acontece a falta de hospedeiro, este pode permanecer no solo ou nos restos culturais em forma de clamidósporos, onde nesta forma o fungo pode permanecer por um período acima de cinco anos, o que já é preocupante, e devido a isso deve se estar bastante atento com o tipo de cultura, a fim de prevenir o ataque deste. A temperatura ideal para que possa ocorrer o ataque do fungo varia em torno de 21 a 33 °C, sendo 28 °C dado como uma excelente temperatura (ZAMBOLIM *et al.*, 2000). Em qualquer que seja a estágio de desenvolvimento da planta pode desenvolver a doença, contudo é mais comumente encontrado no momento de introdução floral e frutificação.

Os eventos conexos à colonização do sistema radicular do tomateiro por *Fusarium* são: primeiro se dá por o contato entre patógeno e hospedeiro que advém na região radicular, acompanhado pela propagação das fissuras no decorrer das junções das células epidérmicas onde não existe locais particulares de penetração ou estruturas de contaminação. Ao longo deste procedimento o patógeno secreta distintas proteínas que podem ser reconhecidas ou não pela planta hospedeira provocando intercâmbios incombináveis ou combinados (KIMATI *et al.*, 2005).

2.2.1 Sintomatologia

O patógeno possui uma capacidade de contaminar as plantas em diferentes fases de desenvolvimento, desde plântulas e mudas até as plantas já desenvolvidas. No que se refere as mudas, os sintomas exteriores são marcados com a epinastia das folhas mais velhas, murchamento e por fim a morte. No campo, o contágio pode acontecer em qualquer fase, apesar disso o aparecimento dos sintomas se torna mais manifesto no começo da fase de maturidade dos frutos, com amarelecimento das folhas inferiores que aos poucos estiolam e morrem, o que também se torna uma forma fácil de identificar o ataque (MCGOVERN, 2015).

Diversos sintomas pertinentes são a manifestação casual de raízes adventícias, estiolamento de folhas e hastes jovens, desfolha e necrose marginal das folhas restantes. Nos frutos, em menor constância, podem ser contaminados procedendo em decomposição e queda, sem exhibir manchas (AGRIOS, 2005). A

melhor maneira de visualização e reconhecimento da contaminação por murcha-de-fusário pode ser realizada por meio do corte transversal do caule do tomateiro, onde se nota uma coloração marrom intensa na região do xilema.

O estiolamento e morte das plantas é motivada pela conciliação de dois fatores: desenvolvimento do fungo no sistema vascular (abrangendo produção de toxinas) e pela produção de mecanismos de defesa da planta hospedeira, as tiloses, que dificultam o transporte de água e nutrientes nos vasos do xilema (GONZALEZ-CENDALES *et al.*, 2016). Com a consequente morte da planta, o fungo continua invadindo os restos culturais onde desenvolve os clamidósporos. Estes podem ser conduzidos para diferentes áreas por meio de sementes, solo, água, material corrompido e maquinário agrícola (AJILOGBA; BABALOZA, 2013).

Os coeficientes ambientais que mais interferem o processo de contaminação e colonização pelo patógeno e a resistência das plantas estão conexos à elementos de nutrição, temperatura (MICHEREFF *et al.*, 2005) e umidade. O acontecimento do processo de infecção é beneficiado por temperaturas entre 21°C e 33°C, com excelente desenvolvimento a 28°C. Condições como baixo pH do solo e utilização de fertilizantes a base de amônio também colaboram para o acréscimo da rigidez da doença (MCGOVERN, 2015).

2.2.2 Identificação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Sobre o fungo, é pertencente ao filo *Ascomycota*, classe *Sordariomycetes*, ordem *Hypocreales*, família *Nectriaceae* e gênero *Fusarium*. A espécie *Fusarium oxysporum* possui capacidade de causar infecção vascular e murchas em diversas espécies hospedeiras. Contudo, dentro da espécie fúngica há uma elevada especialização a nível de espécies hospedeira, distintos como *formae speciales* (abreviado f. sp.). As distintas *formae speciales* de *F. oxysporum* são morfologicamente bastante análogas e não distinguíveis exceto a nível molecular e pela virulência a superfície de espécie hospedeira (SOUZA *et al.*, 2010). A distribuição das raças é concretizada baseado em um contíguo de cultivares diferenciadoras, portadoras de genes particulares de resistência.

Na cultura do tomate são descritas duas maneiras especializadas de *F. oxysporum*: *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) ocasionador da murcha-de-fusário e *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL) que causa podridão de raiz e coroa, ainda não descrito no Brasil. FORL está na lista de pragas quarentenárias (A1) do

MAPA (MAPA, 2014). Estes dois patógenos são distinguíveis pelo tipo de sintoma que ocasionam, pelas condições de ambiente mais favorável à contaminação e por métodos moleculares (BOIX-RUIZ *et al.*, 2015).

2.3 Métodos de controle

No que diz respeito aos nutrientes, estes possuem capacidade de induzir determinada tolerância ou resistência na planta hospedeira, podem diminuir ou desenvolver a rigidez de doenças, além de afetar o ambiente beneficiando ou desfavorecendo o patógeno e até mesmo a própria planta. O bom emprego de nitrogênio na forma de nitrato pode diminuir a infecção por FOL por provocar um pH neutro a alcalino, enquanto o aproveitamento de nitrogênio na forma de amônia beneficia o contágio por provocar pH ácido. Nutrientes como K, Ca, Mg, S, Mn e B amortecem a suscetibilidade a *Fusarium* (CARVALHO, 2003). A presença de nematoides das galhas (*Meloidogyne spp.*) no solo e capinas são razões que também podem colaborar para uma maior rigidez da doença por acarretarem feridas nas raízes e promover a entrada do patógeno (AJILOGBA; BABALOLA, 2013).

Múltiplos procedimentos são utilizados para o controle da murcha-de-fusário, sendo preventivos, ou seja, em locais com a falta do patógeno como sanitização de implementos e maquinário e uso de sementes saudáveis (AJILOGBA e BABALOLA, 2013); controle químico (AMINI, 2009); biocontrole (ROCHA *et al.*, 2017); uso de variedades resistentes (REIS; LOPES, 2012); práticas culturais como irrigação, calagem, uso de matéria orgânica, adubação adequada (CARVALHO, 2003) e rotação de culturas (AJILOGBA; BABALOLA, 2013). Em meio a estas, o uso de cultivares resistentes, controle biológico e as práticas culturais estão entre as mais relevantes e aproveitadas.

2.3.1 Controle Biológico: *Trichoderma spp.*

No mundo todo existe uma crescente preocupação com as dificuldades ambientais resultantes das mais diferentes atividades humanas, com inclusão da agricultura (ANDRADE; NOGUEIRA, 2005). E isso se procede na procura por tecnologias de produção lucrativas, socialmente justas e ecologicamente adequadas (MELLO; SILVA, 2007). Para responder a esta crescente demanda, a pesquisa científica tem progredido no desenvolvimento de soluções baseadas em processos biológicos naturais (MARQUES *et al.*, 2014). O controle biológico se distingue como uma opção cada vez mais formidável, uma vez que, na agricultura convencional,

empregado de maneira complementar, coopera para a diminuição do uso dos agrotóxicos, enquanto na agricultura orgânica, introduz-se em substituição à estes produtos (BONETT *et al.*, 2013).

O grupo *Trichoderma* está entre os microrganismos que mais possuem resistência às toxinas e produtos químicos naturais e resumidos pelo homem (HARMAN *et al.*, 2004). Possuem habilidade de degradar compostos orgânicos e inorgânicos, como os hidrocarbonetos e pesticidas (BOMFIM *et al.*, 2010). Resguardam e invadem o sistema radicular proporcionando a solubilização de nutrientes para as plantas (BONFIM *et al.*, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2012). Essas pesquisas realizadas subsidiam o entendimento do papel do grupo *Trichoderma* para seu emprego na agricultura (JESUS *et al.*, 2011).

Desta forma, o controle biológico é um fenômeno que versa a regulação da quantidade de plantas ou animais pelos agentes biológicos de mortalidade, que são versados como inimigos naturais. É o principal artifício dentro do controle natural, que conserva todas as criaturas, menos o ser humano, em estado de balanceamento com seu ambiente. O controle biológico conglo mera tanto o ingresso quando a manipulação dos oponentes naturais pelo homem para o controle de doenças e pragas, bem como o controle sem a influência humana, ou seja, tudo de maneira natural. Os inimigos naturais de insetos são versados como organismos benéficos, eles são caracterizados como predadores, parasitoides e patógenos (RODRIGUES, 2015).

O método de controle de doenças fitopatogênicas, versa o emprego de microrganismos antagonistas no controle de pragas e doenças. Organismos competidores são microrganismos aproveitados no controle de doenças de plantas, intervêm na sobrevivência e nas atividades dos patógenos. Esse tipo de controle pode ser conexo às práticas culturais, harmonizando um ambiente adepto aos adversários e as plantas hospedeiras (BETTIOL; GHINI, 2009). Conforme ressalta Bettiol e Ghini (2009) a influência mútua entre microrganismos patogênicos e antagonistas podem ser divididos em antibiose, concorrência, parasitismo, hipovirulência, predação e indução de defesa do hospedeiro.

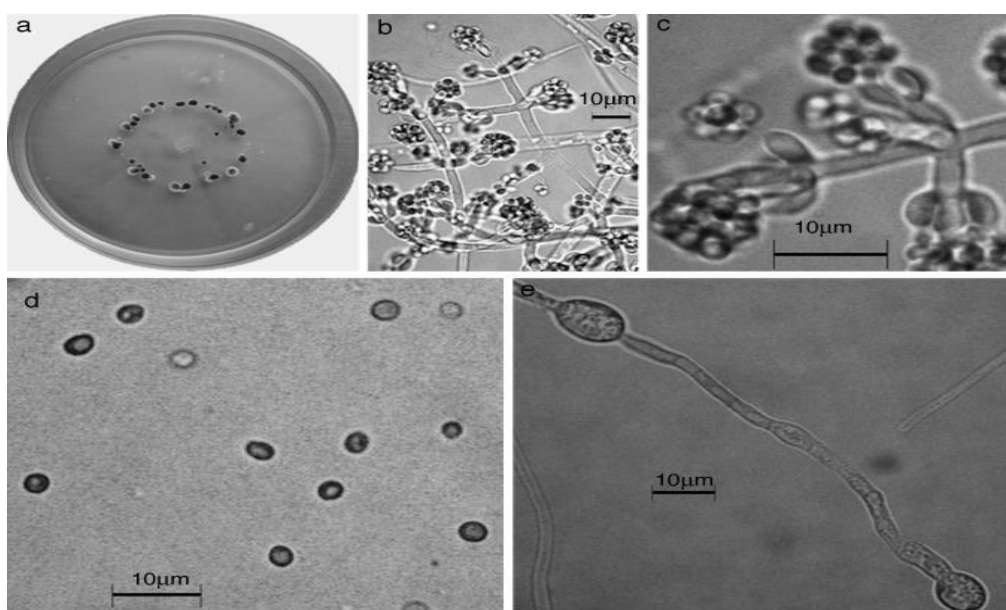
Além das Rizobactérias, fungos do gênero *Trichoderma* possuem capacidade de produzir enzimas e antibióticos para operar no controle de patógenos e em alguns casos, são vistos e utilizados como indutores de resistência, por isso,

são formidáveis agentes de controle biológico de doenças em plantas (RODRIGUES, 2015).

O gênero fúngico do tipo *Trichoderma* contém espécies antagonistas a múltiplos fitopatógenos, sendo que os mecanismos fundamentais empregados por esses fungos são o micoparasitismo e a antibiose (HERMOSA *et al.*, 2012). É um fungo hemibiotrófico extremamente eficiente no controle de inúmeros fitopatógenos.

Esse gênero é considerado como deuteromiceto, classe *Sordariomycetes*, ordem *Hypocreales*, família *Hypocreaceae* (ANVISA, 2011). Sua morfologia reprodutiva é caracterizada pela formação de conidióforos com um eixo central e presença de ramificações laterais, das quais terminam em espirais de células conidiogênicas, denominadas fiálides, com formato alongado, em sua ponta são produzidos os conídios unicelulares, esféricos, alongados ou ovais, normalmente de cor verde (MEYER *et al.*, 2019). Essas estruturas são mostradas na figura 3.

Figura 3. Estruturas morfológicas reprodutivas de *Trichoderma* spp.



Fonte: Cruz *et al.*, (2015).

As espécies de *Trichoderma* com potencialidade antagonista também têm sido aproveitadas como agentes de desenvolvimento de plantas e na melhora da germinação e sanidade de sementes (ETHUR *et al.*, 2006). Além de que, esses fungos são encarregados de extinguir o desenvolvimento de vários fungos fitopatogênicos e sua atividade como antagonista é influenciada pelo tipo de solo, condições de temperatura e umidade, além disso, pela microflora associada (HOWEL, 2003).

Apresenta uma distribuição por todo mundo, o gênero do fungo advém em quase todos os tipos de solo e ambientes naturais, principalmente naqueles contendo quantidades favoráveis de matéria orgânica (SILVA, 2015). A ocorrência das espécies de *Trichoderma* desenvolverem em múltiplos substratos justifica a relevância biotecnológica conferida a esse grupo de fungos. Os fungos desse gênero são reconhecidamente bioreguladores e concorrentes naturais de vários fitopatógenos tais como: *Rhizoctonia solani*, *F. oxysporum*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia spp.*, dentre outros. Operam como agente de controle biológico consequentemente atenuando ou até extinguindo a precisão do uso de fungicidas químicos (HARMAN, 2000), o que torna esse método de controle um dos mais eficientes e reconhecido no controle biológico.

Desta forma, os microrganismos multifuncionais com atividades de características benéficas, como as Rizobactérias e fungos do gênero *Trichoderma*, podem interagir com as plantas através de mecanismos diretos e indiretos, concebendo alternativa estratégica para a intensificação sustentável de sistemas agrícolas, favorecendo o método de controle biológico e proporcionando uma redução nos gastos com controle químico (BULGARELLI *et al.*, 2013).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

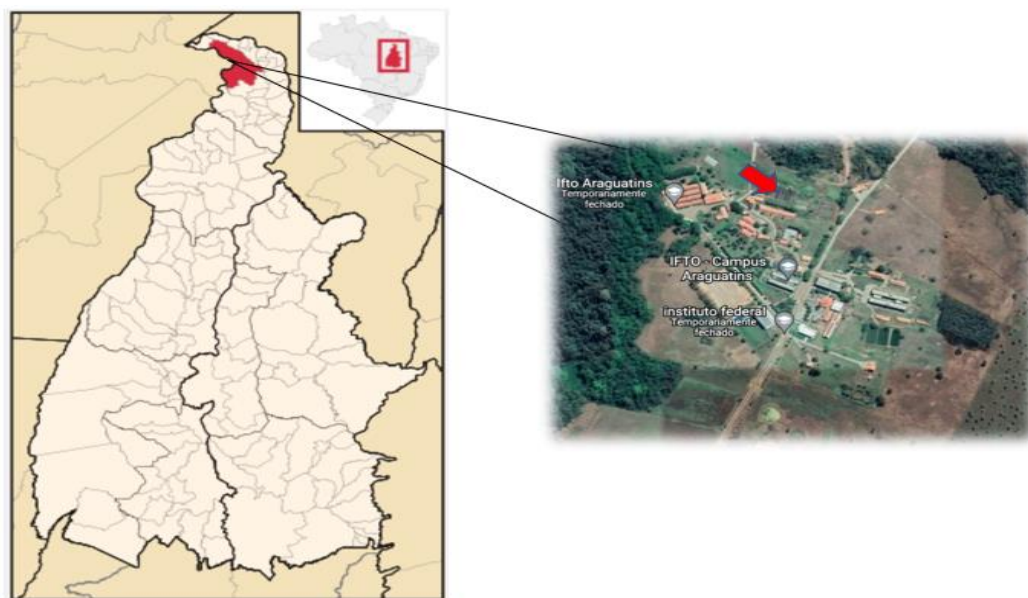
Os ensaios experimentais foram realizados no Laboratório de Biotecnologia e Bioativos do IFTO *Campus* Araguatins e em casa de vegetação localizada nas seguintes coordenadas (5°38'46"S 48°04'15"W). Os ensaios *in vitro* foram realizados em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), onde foram realizados 3 tratamentos com 7 repetições, onde os tratamentos 1 e 2 foram as testemunhas positiva e negativa, e o tratamento 3 foi o de pareamento de culturas. Já os experimentos em casa de vegetação (*in vivo*) foram realizados em Delineamento em Blocos Casualizados (DBC), contendo 6 blocos e 5 tratamentos, totalizando 30 parcelas, onde cada parcela apresentava 4 plantas, no qual ocorreram as avaliações das variáveis respostas.

3.1 Coleta de material

As coletas das amostras de solo ocorreram no mês de setembro de 2022 no IFTO - *Campus* Araguatins (5°38'33" S 48° 04' 20" W), utilizando sacos de polipropileno e trado holandês. Havendo a limpeza de folhas e detritos sobrepostos

na superfície do solo, coletando a uma profundidade de 20 cm (CANEPPELE, 2016). O local de coleta ocorreu no setor de olericultura como mostra a figura 4, onde foram coletadas 5 sub amostras para melhor representatividade do local e posteriormente houve a mistura do material e levou-se para o laboratório onde realizou-se os isolamentos dos fungos de interesse (COZENTINO, 2019).

Figura 4. Local de coleta das amostras.



Fonte: Adaptação do autor de Google Earth (2021).

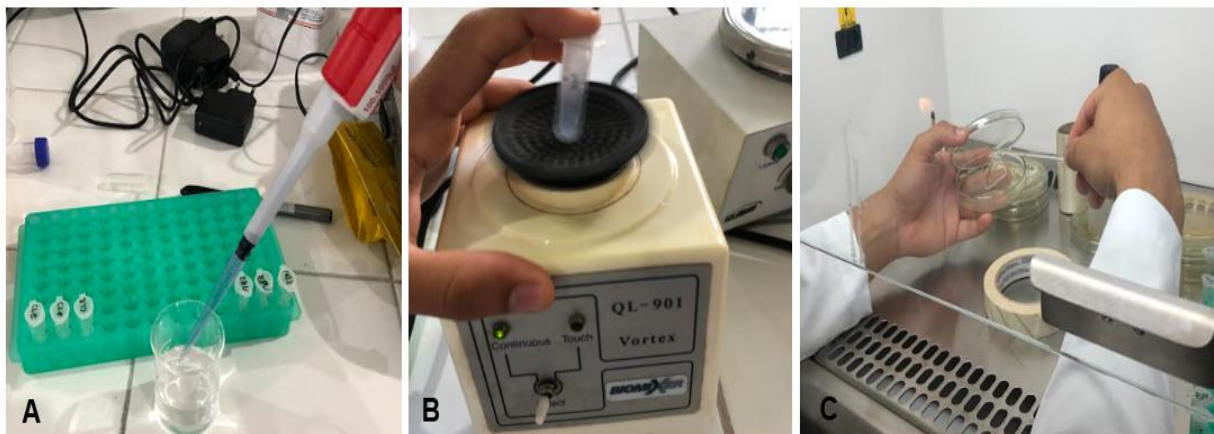
3.2 Isolamento dos fungos

A técnica de isolamento foi uma adaptação do método utilizado por Cozentino, (2019), onde empregou-se as diluições seriadas. No qual, retirou-se 10 g de solo das amostras, sendo pesadas em balança analítica e transferidas para erlenmeyers contendo 100 mL de solução tampão de cloreto de sódio na concentração de 1 g/litro. Em seguida, realizou-se a homogeneização da amostra em agitador Shaker por 40 minutos a 170 rpm, a fim de desfazer todos os agregados das partículas granulométricas de solo e expor as células microbianas à solução.

Posteriormente, com auxílio de uma pipeta de 1000µL, inseriu-se 0,9 ml de solução salina em um eppendorf e em seguida acrescentou-se 0,1 ml da solução que houve a mistura com a amostra de solo, a mesma foi solubilizada no agitador Vortex por 4 minutos, formando assim a diluição 10^{-1} , esse procedimento realizou-se por mais duas vezes, tendo assim as diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . Por meio dessas diluições realizou-se a inoculação nos meios de cultura. Sendo assim, cada diluição apresentou duas repetições (duas placas), na qual 0,1 ml da solução foi distribuída com o auxílio

de uma alça de Drigalsky, como mostrado na figura 5. Logo após, cada placa foi vedada com filme de PVC, identificada e incubada. As placas ficaram dispostas invertidas dentro da BOD (Biochemical Oxygen Demand), durante sete dias, a 28°C, com 12 horas de fotofase, para que houvesse o crescimento e desenvolvimento dos fungos.

Figura 5. Processo de diluição seriada (A e B) e inoculação em meio de cultura BDA (C).



Fonte: Autor (2022).

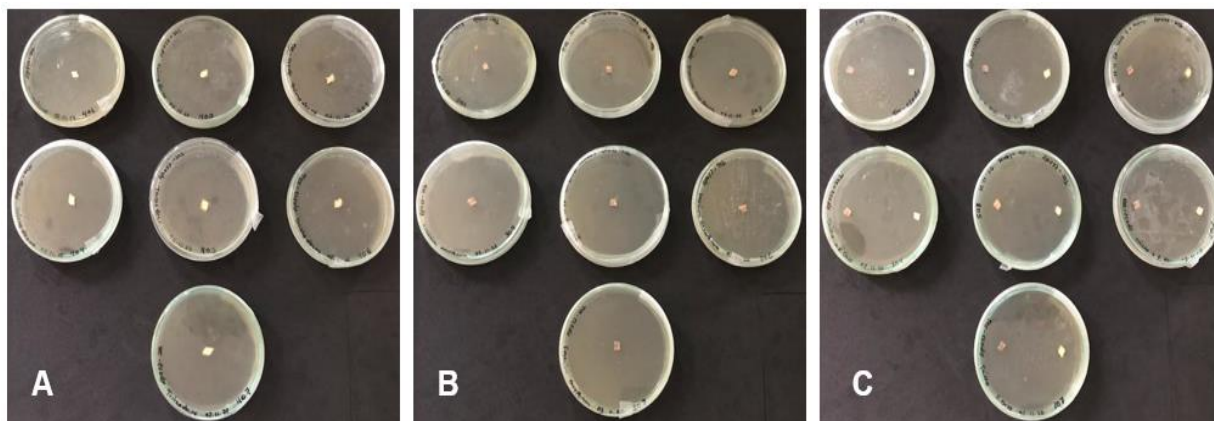
Como medida para propiciar a produção e o desenvolvimento dos fungos, foi utilizado meio de cultura BDA (batata 200 g, dextrose 20g e ágar 15g), (TEDESCO, 2015). Depois de pronto e esterilizado em autoclave por 15 minutos a 121°C, o meio de cultura foi levado para câmara de fluxo laminar onde ocorreu seu resfriamento e posterior inoculação.

3.3 Teste de pareamento *in vitro*

Para avaliar o antagonismo de *Trichoderma spp.* a *F. oxysporum* foi realizado o teste de pareamento de culturas proposto por Dennis e Webster (1971). Seguindo uma adaptação da metodologia de Milanesi *et al.*, (2013), onde discos de 0,5 cm de diâmetro do antagonista e do fitopatógeno foram inseridos em placas de Petri com meio de cultura BDA, a uma distância de 0,5 cm da borda, de maneira que ficassem opostos um ao outro como mostra a figura 6. Os discos foram obtidos a partir de culturas puras, posteriormente foram incubadas em BOD a uma temperatura de 28°C com fotofase de 12 horas por 12 dias, onde ocorreram as avaliações de crescimento micelial.

Os tratamentos positivos e negativos também foram realizados, inserindo discos de tamanho similar ao centro da placa e observados durante o mesmo intervalo de tempo.

Figura 6. Pareamento de culturas para determinação da taxa de inibição micelial de *F. oxysporum*, utilizando como controle um isolado de *Trichoderma spp.* Onde (A) se encontra o antagonista; (B) o fungo fitopatogênico e (C) o pareamento entre ambos.



Fonte: Autor (2022).

As avaliações foram realizadas seguindo uma adaptação de Teixeira, Coelho e Tebaldi, (2017), sendo assim, todas as repetições que foram inoculadas com *F. oxysporum* e das que continham o pareamento com o antagonista foram medidas o diâmetro das colônias com auxílio de um paquímetro digital e obtendo-se uma média de tamanho micelial para cada tratamento. Os dados estatísticos desse experimento foram submetidos ao teste Scott e Knott de comparação de médias a nível de significância de 5%.

Em seguida, utilizando a metodologia empregada por Silva (2011), onde calculou-se a percentagem de inibição (%I) do *F. oxysporum* em relação ao antagonista, utilizando a equação:

$$\%I = (C - T) / C \times 100$$

Onde:

%I = Percentagem de inibição;

C = Diâmetro do crescimento micelial da testemunha;

T= Diâmetro do crescimento micelial do tratamento.

3.4 Teste in vivo

O substrato utilizado foi da marca comercial Basaplant®, apresentando em sua composição: Turfa, Rocha Calcácea, Vermiculita, Carvão Vegetal, Rocha Fosfática e Casca de Pinus.

A técnica de inoculação foi a de suspensão de inóculo (ALFENAS e MAFIA, 2007). Onde, inseriu 10 ml de água destilada esterilizada nas placas com culturas puras de *Trichoderma spp.* e as raspou com o auxílio de uma alça de drigalski, posteriormente essa suspensão foi inserida em um erlemeyer de 125ml, e acrescentou mais 90 ml de água destilada esterilizada e deixou agitando por 24hrs a uma rotação de 170 rpm. O mesmo processo foi repetido para as placas com culturas puras de *F. oxysporum*.

Para a determinação da fonte de conídios inicial, utilizou-se a câmara de Neubauer como descrito por Meyer *et al.*, 2019, sendo contabilizados $1,74 \times 10^7/\text{ml}$ de *Trichoderma spp.* e $1,32 \times 10^6/\text{ml}$ de *F. oxysporum*. Logo os tratamentos se dispuseram das seguintes concentrações, como mostrado na tabela 1.

Tabela 1. Tratamentos com diferentes concentrações de conídios de *Trichoderma spp.* e *F. oxysporum* por grama de substrato.

Tratamentos	Concentrações de conídios	
	<i>Trichoderma spp.</i>	<i>F. oxysporum</i>
T1	***	***
T2	$1,9 \times 10^6$	$2,47 \times 10^5$
T3	$2,17 \times 10^6$	$2,47 \times 10^5$
T4	$3,26 \times 10^6$	$2,47 \times 10^5$
T5	***	$2,47 \times 10^5$

*** sem nenhuma fonte de inóculo.

Fonte: Autor (2023).

No plantio a variedade de tomate testada foi a Santa Cruz Kada Gigante que possui hábito de crescimento indeterminado, possuindo aptidão comercial tanto para consumo *in natura*, como para uso industrial.

Sendo assim, utilizou-se tubetes de polipropileno com capacidade para 250 cm³, contendo aproximadamente 160g de substrato comercial. Dessa forma, semeou-se 3 sementes/tubete, numa profundidade de aproximadamente 1 cm. A germinação se iniciou entre o 5° e 6° dia após semeadura, sendo realizado o desbaste após 10 dias pós emergência deixando apenas 1 planta por unidade experimental, a irrigação foi realizada por microaspersão automatizada, irrigando em dois períodos do dia com duração média de 5 minutos.

As avaliações ocorreram 25 dias após emergência, utilizando 3 plantas por parcela sendo avaliado as seguintes variáveis: altura de planta (AP), comprimento radicular (CR) sendo AP e CR medido com régua graduada, número de folhas (NF), diâmetro do caule (DC) realizado com o auxílio de um paquímetro digital, massa

fresca total (MFT), pesada em balança de precisão de duas casas decimais, incidência da doença (ID), para essa variável utilizou-se a metodologia empregada por Alfenas e Mafia (2007), onde emprega-se uma proporção (%) do número de plantas com sintomas de uma amostra.

Posteriormente feito as avaliações, as plantas foram inseridas em sacos de papel fechados e identificados, e em seguida levados para a estufa com circulação de ar, a uma temperatura de 65° C por 72h. Realizadas suas retiradas, as amostras foram pesadas, obtendo assim a massa seca total (MST).

A análise estatística dos dados *in vivo* foi realizada utilizando o software Genes (CRUZ, 2016). Onde os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste Scott e Knott a 5% de significância.

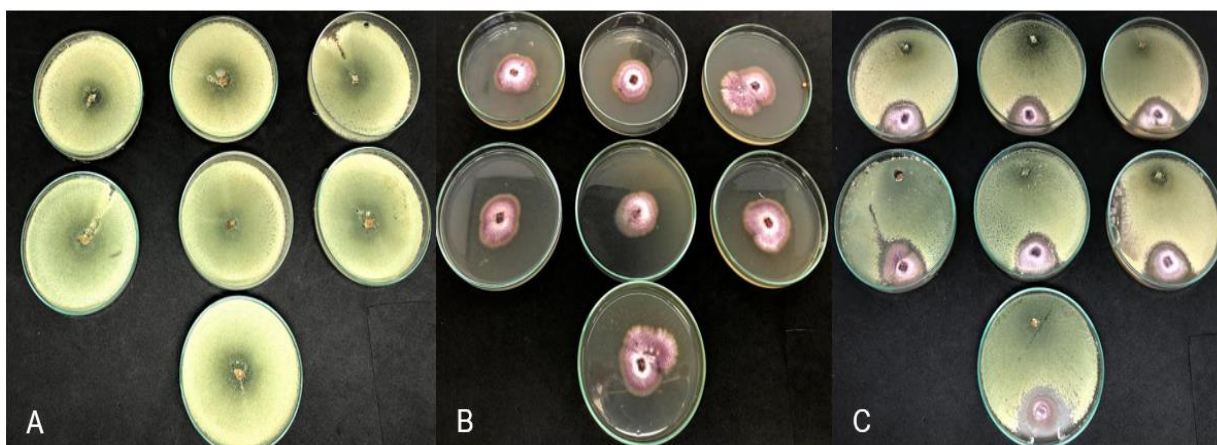
4 RESULTADO E DISCUSSÕES

4.1 Teste *in vitro*

Aos 12 dias após o pareamento de culturas, observou-se que o diâmetro micelial de *F. oxysporum* foi suprimido por *Trichoderma spp.*, onde todas as repetições do tratamento mostraram agressividade por parte do antagonista, não deixando com que o fitopatógeno conseguisse se desenvolver no meio como mostrado na figura 7. Silva (2020), ressalta que o gênero *Trichoderma* é eficiente quando usado em culturas pareadas no controle de fusariose, o autor ainda destaca que o método é imprescindível quanto a sua facilidade e rapidez de se obter resultados.

Em um estudo *in vitro*, Fernandes *et al.* (2021), utilizando diferentes isolados de *Trichoderma* no controle de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, perceberam que todos os isolados testados reduziram o crescimento micelial. O mesmo ocorrido foi presenciado por Sales (2011), que percebeu que os antagonistas quando confrontados em cultivo pareados, inibiram o crescimento micelial do isolado de *R. solani*.

Figura 7. Pareamento de culturas para teste de antagonismo após 12 dias de inoculação. Onde A encontra-se a testemunha positiva, B a testemunha negativa e C o pareamento entre ambos.



Fonte: Autor (2022).

Logo após realizada as medições utilizando paquímetro digital, os dados foram organizados e submetidos a ANOVA pelo teste F a 5% de probabilidade como mostrado pela tabela 2.

Tabela 2. Análise de variância pelo teste F para os dados obtidos com o teste in vitro de antagonismo entre *Trichoderma spp.* e *F. oxysporum*.

FV	GL	SQ	QM	F	Prob.(%)	CV (%)
TRAT.	1	705,74	705,74	15,619	0,192066 **	19,3239
RES.	12	542,2171	45,1847			
TOTAL	27	4456,134286				

** e * significativos a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente; pelo teste F ns não-significativo.

Fonte: Autor (2023).

Os dados obtidos com os testes de cultura pareada apresentaram diferença estatística significativa a 5%, o que infere que a taxa de crescimento micelial do *F. oxysporum* foi inibida pela presença do antagonista conforme mostrado na tabela 3.

Tabela 3. Teste de comparação de médias Scott e Knott a 5% de significância dos tamanhos miceliais das colônias de *F. oxysporum*. Sendo T1 o tratamento testemunha do patógeno e T2 o tratamento com antagonismo ao *Trichoderma spp.*

QMR: 45,1848		Nível: 5	GLRes: 12	N.Rep : 7
Trat	Média		Grupo	
T1	41,8857		a	
T2	27,6857		b	

* Médias seguidas da mesma letra em minúscula não diferem estatisticamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

Fonte: Autor (2023).

Logo, ao analisar o tamanho do diâmetro dos tratamentos em cultura pareada, verificou-se uma percentagem de inibição (%) de 51,3% em relação a testemunha, o

que foi superior aos valores encontrados por Fernandes *et al.* (2021), onde a porcentagem média de inibição do crescimento micelial foi de 24% para os tratamentos utilizando *F. oxysporum* com isolados de *Trichoderma spp.* Por outro lado, uma eficiência semelhante a esse experimento foi encontrada por Silva, (2011), onde as porcentagens variaram de 42,7 a 68,9% no controle de *Fusarium solani* em plântulas de maracujá.

4.2 Teste in vivo

Após realizar as aferições, os dados foram submetidos a ANOVA pelo teste F, a um nível de significância de 5% de probabilidade conforme mostrado pela tabela 4, onde possuem os quadrados médios das variáveis respostas.

Tabela 4. Resumo da análise de variância em blocos ao acaso das características avaliadas.

FV	GL	Quadrados Médios						
		H (cm)	DC (mm)	NF	CR (cm)	MFT (g)	MST (g)	ID (%)
Blocos	5	2,9780	0,0748	0,4404	6,5251	0,0190	0,0001	0,0200
Trat.	4	2,1028 ns	0,0728 *	1,9826 **	155,7665 **	0,0480 **	0,0005 **	0,1688 **
Res.	20	0,9215	0,0247	0,0820	12,2260	0,0096	0,0001	0,0200
Média		5,51	1,31	1,58	15,27	0,21	0,02	0,20
CV (%)		17,42	12,04	18,15	22,89	46,40	36,60	70,71

** e * significativos a 1 e 5% de probabilidade; respectivamente; pelo teste F ns = não-significativo. Onde respectivamente as abreviações significam: FV = fonte de variação; GL= grau de liberdade; H = altura de planta; DC = diâmetro do caule; NF = número de folhas; CR = comprimento radicular; MFT = massa fresca total; MST = massa seca total e ID = incidência da doença.

Fonte: Autor (2023).

As médias obtidas para H não divergiram entre si, logo todos os valores para essa variável foram estatisticamente iguais, como mostrado na tabela 5. Lapidus (2013), ao analisar altura de plantas em seu experimento, visando verificar o progresso da murcha de fusário em tomateiro também não encontrou diferença estatística significativa, mesmo seus dados apresentando diferença no valor absoluto para essa variável. Os dados obtidos também corroboram com os encontrados por Cadore *et al.*, (2016), onde as médias utilizando dosagens de *Trichoderma* na promoção do crescimento do arroz apresentaram certa similaridade.

Já os valores de DC observou-se que não houve diferença significativa para as diferentes concentrações de conídios de *Trichoderma*/grama de substrato, embora as médias tenham sido superiores ao tratamento T5, no qual havia somente o patógeno.

Tabela 5. Teste Scott e Knott dos dados coletados aos 30 dias pós semeadura para as variáveis altura de planta (**H**), diâmetro do caule (**DC**), número de folhas (**NF**) e comprimento radicular (**CR**).

Tratamentos	H (cm)	DC (cm)	NF	CR (cm)
T1	6,3567 a	1,4717 a	2,1667 a	18,1833 a
T2	4,9783 a	1,2567 a	0,665 c	11,8033 c
T3	5,3733 a	1,31 a	1,6117 b	15,1883 b
T4	5,8517 a	1,3183 a	1,945 a	22,0433 a
T5	4,9933 a	1,17 a	1,5017 b	9,15 c
CV%	17,42	12,04	18,15	22,89

* Médias seguidas da mesma letra em minúscula não diferem estatisticamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

Fonte: Autor (2023).

Tabela 6. Continuação – Teste Scott e Knott dos dados coletados aos 30 dias pós semeadura. para as variáveis: massa fresca total (**MFT**), massa seca total (**MST**) e incidência da doença (**ID**).

Tratamentos	MFT (g)	MST (g)	ID (%)
T1	0,3417 a	0,0362 a	0 b
T2	0,1283 b	0,0112 b	29,17 a
T3	0,1617 b	0,0183 b	16,67 b
T4	0,265 a	0,0228 b	4,1 b
T5	0,1583 b	0,0173 b	37,5 a
CV%	46,40	36,60	70,71

* Médias seguidas da mesma letra em minúscula não diferem estatisticamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

Fonte: Autor (2023).

Para a variável NF, notou-se que o tratamento que apresentou maior concentração de conídios de *Trichoderma spp.*/grama de substrato obteve média estatisticamente igual à testemunha sem fonte de inóculo, mesmo havendo a presença do fitopatógeno. Dessa forma, à medida em que as concentrações de conídios do antagonista foram aumentando, observou-se um incremento no número de folhas. Dado semelhante, foi observado por Maiada (2016), no qual utilizando substrato comercial e diferentes concentrações de uma marca comercial de *Trichoderma*, verificou que à medida que inoculou doses crescentes do fungo, ampliou-se o número de folhas de seus tratamentos.

Para CR os dois tratamentos com maiores concentrações de conídios de *Trichoderma*/grama de substrato + fitopatógeno, apresentaram resultados satisfatórios. Já o tratamento que recebeu menor concentração não houve diferença

estatística com a testemunha somente inoculada com *F. oxysporum*. Attia *et al.*, (2022), ressaltam que plantas infectadas com o patógeno apresentam perdas significativas no desenvolvimento do comprimento radicular e no número de folhas, podendo chegar a 51,16% no comprimento da raiz e 78,07% no número de folhas, em comparação com plantas saudáveis.

Estudando a capacidade de solubilização fosfato e a promoção de crescimento de plantas de tomate, Li *et al.*, (2015), observaram que houve um aumento significativo no tamanho radicular de suas mudas com tratamentos a base da inoculação de *Trichoderma*, o que corrobora com os resultados obtidos para a variável comprimento radicular. Silva (2020), em seu trabalho utilizando maiores dosagens de *Trichoderma spp.* em relação a testemunha e demais tratamentos, constatou-se um incremento de até 43% no desenvolvimento radicular de plântulas de algodão.

Com relação a MFT, os tratamentos T2, T3, que possuíam as menores concentrações de conídios de *Trichoderma*, apresentaram similaridade estatística com T5, onde possuía apenas inoculação com *F. oxysporum*. Em contrapartida, os valores de T4 e da testemunha absoluta foram estatisticamente iguais a 1 e 5% de significância.

Já para os valores obtidos de MST, mostraram que todos os tratamentos que continham concentrações de *Trichoderma spp.* + fonte de inóculo do patógeno foram diferentes da testemunha absoluta. Resultado semelhante foi encontrado por Maiada (2016), que com o aumento das doses de *Trichoderma*, não encontrou diferença significativa para massa seca de mudas de tomate cultivadas em substrato comercial.

Os dados da variável ID foram submetidos ao teste Scott e Knott para verificar possíveis contrastes entre as médias. No entanto, já era esperado que houvesse um coeficiente de variação elevado por conta da testemunha sem nenhuma fonte de inóculo. Dessa forma, os tratamentos T3 e T4 apresentaram resultados estatisticamente similares entre si e em relação a testemunha absoluta. Em contrapartida, o tratamento T2, no qual continha menor concentração de conídios de *Trichoderma*/grama de substrato, apresentou igualdade significativa com T5, a qual era a testemunha contendo apenas fonte de inóculo com *F. oxysporum*.

Vale ressaltar que foram realizadas as proporções utilizando apenas plântulas que apresentavam algum tipo de sintoma da doença (ALFENAS E MAFIA, 2007). Como mostrado na figura 8.

Figura 8. Mudanças com Incidência de sintomas da murcha de fusariose ocasionada por *F. oxysporum* aos 25 dias após germinação.



Fonte: Autor (2023).

Ethur *et al.*, (2012), em seu experimento utilizando diferentes isolados de *T. asperellum*, notaram que ocorreu uma inibição em torno de 42% da incidência contra a fusariose do pepineiro. Em outro estudo, Gava e Menezes (2012), verificaram que a aplicação de isolados de *Trichoderma* resultou na redução de maneira significativa da incidência de murchas do meloeiro.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos para o teste *in vitro* mostraram que o isolado proveniente de solo de área cultivável *Trichoderma spp.* possui grande potencial de inibição de *F. oxysporum* em cultivo pareado, mostrando assim cada vez mais sua importância na biotecnologia agrícola. Ademais, os dados referentes ao teste em mudas de tomate, mostraram que isolados a base de *Trichoderma* podem além de promover o crescimento de alguns parâmetros agrônômicos, pode induzir resistência a problemas gerados pela murcha de fusariose, gerando incentivo a estudos voltados para controle alternativos de doenças.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. Plants diseases caused by fungi: vascular wilts caused by ascomycetes and deuteromycetes (mitosporic fungi). In: **Plant Pathology**, 2005. cap. 11, p. 523-526.
- AJILOGBA, C. F., BABALOLA, O. O. Integrated management strategies for tomato fusarium wilt. **Biocontrol Science**, 18: 117-127. 2013.
- ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em fitopatologia**. – Viçosa – MG: Ed. UFV, 2007. 382p.
- AMINI, J. Physiological race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in Kurdistan Province of Iran and reaction of some tomato cultivars to race 1 of pathogen. **Plant Pathology Journal**, v. 8, n. 2, p. 68-73, 2009.
- ANDRADE, G.; NOGUEIRA, M. A. Bioindicadores para uma análise de risco ambiental. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n. 34, p. 13 – 21, 2005.
- ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Índice Monográfico – Trichoderma**. Classificação Taxonômica, 2011.
- ARMIJOS JARAMILLO, V. D. *et al.* **Clonación y caracterización de genes efectores de especies patogénicas del género Phytophthora que atacan cultivos de la familia solanaceae en los Andes del Ecuador**. [s. l.], 2007.
- ATTIA, M. S. *et al.* **Antagonistic Effect of Plant Growth-Promoting Fungi Against Fusarium Wilt Disease in Tomato: In vitro and In vivo. Study. Appl Biochem Biotechnol.** 2022; 194(11):5100-5118. doi:10.1007/s12010-022-03975-9.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. **Impactos das mudanças climáticas sobre o controle biológico de doenças de plantas**. In: Bettiol, W.; Morandi, M.A. B. 2009. Biocontrole de 65 doenças de plantas: uso e perspectiva. Editoração eletrônica, 1 p. 16-29. ISBN: 9788585771478. 2009.
- BOIX-RUÍZ, A. *et al.* Comparison of analytical techniques used to identify tomato-pathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. **Phytoparasitica**, v. 43, n. 4, p. 471-483, 2015.
- BOMFIM, M. P. *et al.* Avaliação antagônica *in vitro* e *in vivo* de *trichoderma spp.* a *rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 1, p.61 – 67, 2010.
- BONETT, L. P. *et al.* Antagonismo *in vitro* de *trichoderma spp.* contra agente causal da antracnose em feijoeiro comum. SaBios. **Rev. Saúde e Biol.**, v. 8, n. 1, p. 27 – 35, 2013.
- BULGARELLI, D. *et al.* Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 64, p. 807-838, 2013.

CADORE, L. S. *et al.* Inoculação de sementes com *Trichoderma harzianum* e *Azospirillum brasiliense* no desenvolvimento inicial de arroz. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.13, n.24, p.1725-1731, 2016. https://doi.org/10.18677/EnciBio_2016B_158.

CANEPPELE, C. R. **Instrumento De Coleta Na Amostragem De Solo Com Agricultura De Precisão** 2016. 24f. Monografia (Especialização em Manejo da Fertilidade do Solo) – Curso de Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2016.

CARVALHO, A. O. **Influência da fonte de nitrogênio sobre o pH rizosfera e sobre a colonização de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder e Hansen**. 2003. 79f. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.

COZENTINO, N. C. B. **Isolamento e caracterização de fungos de solo de interesse na promoção do crescimento de plantas** / Noemi Carla Baron Cozentino. -- Jaboticabal, 2019. 119 p.

CRUZ, C. D. **Programa Genes – Ampliado e integrado aos aplicativos R, Matlab e Selegen**. *Acta Scientiarum - AgronomyEduem* - Editora da Universidade Estadual de Maringá, 2016.

CRUZ, T. *et al.* Diversidad de *Trichoderma* en el agroecosistema cacao del estado de Tabasco, México. **Revista Mexicana de Biodiversidad**. 2015.

DENNIS, C.; WEBSTER, J. **Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*: III - Hyphal interactions**. *Transactions of the British Mycological Society*, (1971) vol.57, n.DEC, p. 363-369.

ETHUR, L. Z. *et al.* *Trichoderma asperellum* na produção de mudas contra a fusariose do pepineiro. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 11, n. 4, p. 73-84, 2012.

ETHUR, L. Z. *et al.* Sanidade de sementes e emergência de plântulas de nabo forrageiro, aveia preta e centeio submetidas a tratamentos com bioprotetor e fungicida. **Ciência e Natura**, vol.28, n.2, p. 17-27. 2006.

FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization of the United Nations Faostat**. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#home>. Acesso em 21 de jan de 2023.

FERNANDES, I. V. *et al.* Inibição do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* por isolados de *Trichoderma* spp. **Revista Agrogeoambiental**, Pouso Alegre-RS, v. 13, n. 4, p. 762-771, dez. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.18406/2316-1817v13n420211634>.

GAVA, C. A. T.; MENEZES, M. E. L. Eficiência de isolados de *Trichoderma* spp no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. Rev. Ciênc. Agron., 2012 43(4), out. 2012.

GONZALEZ-CENDALES, Y. *et al.* Identification of *I-7* expands the repertoire of genes for resistance to *Fusarium* wilt in tomato to three resistance gene classes. **Molecular Plant Pathology**, v. 17, n. 3, p. 448-463, 2016.

GOOGLE. **Google Earth website**. <http://earth.google.com/>, 2021.

HARMAN, G. E. *et al.* *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Natural Reviews. Microbiology**, v.2, p. 43 – 56, 2004.

HARMAN, G. R. Myths and dogmas of biocontrol – changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v.84, p. 377-392, 2000.

HERMOSA, R. *et al.* Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, v.158, p. 17–25, 2012.

HOFFMANN, C. A. *et al.* Potencial de antagonismo de isolados de *Fusarium sp.*, in vitro. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.18378/rvads.v10i1.3040>.

HOWEL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, vol.87, n.1, p. 4-10. 2003.

JESUS, E. P. *et al.* Avaliação do potencial de *trichoderma asperellum* como condicionador de substrato para a produção de mudas de café. **Revista do Centro Universitário de Patos de Minas**, v. 2, p. 7 – 19, 2011.

KIMATI, H. *et al.* Manual de fitopatologia volume 2, doenças das plantas cultivadas terceira edição. Editora agronômica ceres LTDA, Pg 713, 1997. MINAMI, K.; MELLO, S. da C. **Fisiologia e nutrição do tomateiro**. SENAR-PR, 2017.

KIMATI, H. *et al.* **Manual de Fitopatologia**, volume 2, doenças das plantas cultivadas. Capítulo 67, pg 620-621, 2005.

LAPIDUS, G. Á. **Progresso temporal da murcha de fusário em tomateiro sob diferentes disponibilidades de água no solo**. / Guilherme Álvares Lapidus. Brasília, 2013. Número de páginas 71: il.

LI, R. -X. *et al.* **Solubilisation of Phosphate and Micronutrients by *Trichoderma harzianum* and Its Relationship with the Promotion of Tomato Plant Growth**. *PLoS ONE*, San Francisco, v.10, n.6, p.e0130081, 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130081>

LOMBARD, L. *et al.* **Epitypification of *Fusarium oxysporum* – clearing the taxonomic chaos**. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi* 43. p.1 - 47. 2018.

MAIADA, R. N. S. **Uso de dois tipos de substratos e diferentes doses *Trichoderma* em mudas de tomate.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – IFTO – *Campus Araguatins*. Araguatins-TO, 2016. 42 f.

MAPA, **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Dispõe sobre o regulamento técnico para os sistemas orgânicos de produção animal e vegetal. Instrução normativa nº46 de 6 de outubro de 2011. Regulada em 2014.

MARQUES, H. I. P. *et al.* Inibição do crescimento micelial de *trichoderma harzianum* por fertilizantes líquidos. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 18, p. 2040, 2014.

MCGOVERN, R. J. Management of tomato diseases caused by *Fusarium oxysporum*. **Crop Protection**, v. 73, p. 78-92, 2015.

MELLO, S. C. M.; SILVA, J. B. T. Utilização de *trichoderma* no controle de fungos fitopatogênicos. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 2007.

MEYER, M. C. *et al.* **Trichoderma: uso na agricultura**. Brasília, DF : Embrapa, 2019. 538 p.

MICHEREFF, S. J. *et al.* **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**, 2005. cap. 9, p. 207-246.

MILANESI, P. M. *et al.* Biocontrole de *Fusarium* spp. com *Trichoderma* spp. e promoção de crescimento em plântulas de soja. **Revista de Ciências Agrárias**, 2013, 36(3): p. 347-356.

MINAMI, K.; MELLO, S. da C. **Fisiologia e nutrição do tomateiro**. Curitiba: SENAR AR/PR. 2017.

OLIVEIRA, A. G. *et al.* Potencial de solubilização de fosfato e produção de aia por *trichoderma* spp. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 3, 2012.

PEREIRA, R. M. *et al.* **Origem e evolução de plantas cultivadas**. EMBRAPA, 2008.

REIS, A.; LOPES, C. A. Doenças causadas por fungos e distúrbios fisiológicos. In: CLEMENTE, F. M. V. T.; BOITEUX, L. S. (Org). **Produção de tomate para processamento industrial**. Brasília: Embrapa, 2012. p. 179-202.

RIBEIRO, V. **Tipos de tomate**. Disponível em: <https://cozinhadave.com/tipos-de-tomate/>. Acesso: 12 de fevereiro de 2023.

ROCHA, F. Y. O. *et al.* Taxonomical and functional characterization of *Bacillus* strains isolated from tomato plants and their biocontrol activity against races 1, 2 and 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Applied Soil Ecology**, v. 120, p. 8-19, 2017.

RODRIGUES, J. A. S., FILHO, I. A. P. O produtor pergunta, a Embrapa Sorgo responde. **Embrapa**. Brasília DF, 2015.

ROSA, R. C. T. *et al.* Detecção de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* em sementes de tomateiro pelo método de papel de filtro com adição de restritores. Instituto Agronômico de Pernambuco. **Rev. Pesq. Agropec.** Pernambuco., Recife, 27(2), 2022.

RUSSIANO, C. G. S. **Volatilidade de óleos essenciais no controle de *Fusarium oxysporum* em sementes de tomate cereja.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Tecnológica Federal do Pará. Dois Vizinhos, 2020.

SALES, R. S. de A. **Controle biológico de *Rhizoctonia solani*, agente causal do tombamento do tomateiro, com *Trichoderma* spp.** Dissertação (Mestrado) --- INPA/Rejane Souza de Aquino Sales. --- Manaus-AM: [s.n.], 2011. 38 f.

SILVA, A. N. **Efeito de produtos químicos de *Trichoderma* spp. no controle de *Fusarium solani* do maracujazeiro.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-Graduação de Mestrado em Agronomia, Vitória da Conquista-BA, 2011.

SILVA, J. F. ***Trichoderma* sp. no controle de fusariose e promoção de crescimento na cultura do algodão/** Jefferson Feliciano Silva. – Anápolis: Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA, 2020. 40 pgs.

SILVA, O. S. **Meloidogyne incógnita na cultura do tomate: levantamento e manejo com produtos biológicos.** 2015. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

SOUZA, L. T. *et al.* Reação de genótipos de tomateiro às raças 2 e 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. 102-106, 2010.

TEDESCO, F. G. **Fungos entomopatogênicos em solo com plantio de eucalipto** / Flávia Galvan Tedesco. Dois Vizinhos-PR. 2015.

TEIXEIRA, L. M. S; COELHO, L. and TEBALDI, N. D. Characterization off *Fusarium oxysporum* isolates and resistance of passion fruit genotypes to fusariosis. **Revista Brasileira de Fruticultura** [online]. 2017, v. 39, n. 3 [Accessed 13 January 2023], e-415. Available for: <https://doi.org/10.1590/0100-29452017415>. Epub 17 Aug 2017. ISSN 1806-9967. <https://doi.org/10.1590/0100-29452017415>.

UPADHYAYA, P. *et al.* Natural variation in folate levels among tomato (*Solanum lycopersicum*) accessions. **Food Chemistry**, v.217, p. 610-619, 2017.

ZAMBOLIM, I. *et al.* **Controle de doenças de plantas hortaliças**, volume 1, Capítulo 12, pg 304 e 393, 2000.