



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS DE LARANJEIRAS DO SUL
CURSO DE AGRONOMIA – LINHA DE FORMAÇÃO EM AGROECOLOGIA**

DANILO MENDES DE LISBOA

**ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. NA INIBIÇÃO DE FITOPATÓGENOS, NA
GERMINAÇÃO DE SEMENTES E NO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE
TOMATEIRO**

LARANJEIRAS DO SUL

2018

DANILO MENDES DE LISBOA

**ISOLADOS DE *Trichoderma* NA INIBIÇÃO DE FITOPATÓGENOS, NA
GERMINAÇÃO DE SEMENTES E NO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE
TOMATEIRO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Agronomia da
Universidade Federal Fronteira Sul, como
requisito para obtenção do título de
Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr. Gilmar Franzener

LARANJEIRAS DO SUL

2018

PROGRAD/DBIB - Divisão de Bibliotecas

Lisboa, Danilo Mendes de

Isolados de Trichoderma na inibição de fitopatógenos, na germinação de sementes e no desenvolvimento de plantas de tomateiro/ Danilo Mendes de Lisboa. -- 2018.

44 f.:il.

Orientador: Gilmar Franzener .

Trabalho de conclusão de curso (graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Agronomia , Laranjeiras do Sul, PR, 2018.

1. Controle biológico . 2. Antagonismo . 3. Promoção de crescimento. 4. Tomateiro . 5. Semente . I. , Gilmar Franzener, orient. II. Universidade

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

DANILO MENDES DE LISBOA

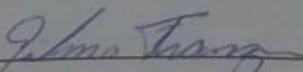
ISOLADOS DE *Trichoderma* NA INIBIÇÃO DE FITOPATÓGENOS, NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E NO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE TOMATEIRO

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Agronomia com Ênfase em Agroecologia da Universidade Federal da Fronteira Sul – *Campus Laranjeiras do Sul* (PR).

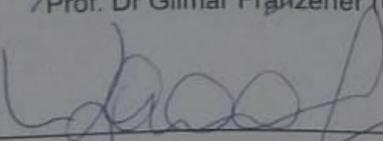
Orientador: Prof. Dr. Gilmar Franzener

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 25/062018.

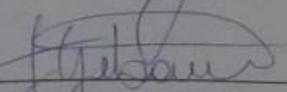
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr Gilmar Franzener (UFFS)



Prof. Dr. Lisandro Tomas da Silva Bonome (UFFS)



Eng.ª Agr.ª Jéssica Tais Gebauer

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi redigido em forma de artigo de acordo com as normas da revista Arquivos do Instituto Biológico disponíveis no anexo A.

As normas de submissão podem ainda ser consultadas diretamente através do site da revista, no link:

<http://www.scielo.br/revistas/aib/iinstruc.htm>

**Aos meus pais *Cantidio e Telma*,
pelo constante incentivo,
ensinamentos, amor e dedicação
durante toda caminhada.**

**E meu irmão *David* pelo suporte
ininterrupto.**

Dedico esse trabalho!

AGRADECIMENTO

Primeiramente a Deus.

À minha mãe Telma e meu pai Cantidio, pelo amor incondicional.

A meu irmão David e meu tio Josieno, por todo incentivo e conselhos.

Ao Silmar, pelo companheirismo e ajuda.

Ao Professor Dr. Gilmar Franzener pela orientação, ensinamentos, paciência, apoio, compreensão e amizade.

À Universidade Federal da Fronteira Sul, pela oportunidade de realização do curso.

Ao grupo de estudo GEFICED, em nome da Gabriela, por todo conhecimento transmitido.

Aos meus amigos da graduação, em especial a Dalila, Renan, Janaína, Dieni e Isis, pelo apoio, companheirismo e auxílio durante essa desafiadora trajetória.

A todo o corpo docente da graduação, pelo ensinamento e todos os momentos vividos durante esses 5 anos

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, meu sincero agradecimento.

RESUMO

ISOLADOS DE *Trichoderma* NA INIBIÇÃO DE FITOPATÓGENOS, NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E NO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE TOMATEIRO

A cultura do tomateiro é suscetível a várias doenças fitopatogênicas, e o controle biológico torna-se uma importante ferramenta para combate dessas adversidades, e assim, reduzir o controle químico que é muito empregado na cultura. Dessa forma, o trabalho teve como objetivo isolar espécies do gênero *Trichoderma*, e avaliar *in vitro* o antagonismo e o crescimento micelial por meio de exsudato de *Trichoderma*, bem como sua ação sob o desenvolvimento do tomateiro. Foram utilizados dois *Trichoderma* spp. de mata nativa, denominados TH1 e TH2. Nos ensaios *in vitro*, foi avaliado o antagonismo por meio do pareamento direto a *Alternaria solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium* sp. e também crescimento micelial dos dois últimos fungos citados, sob o efeito do exsudato dos isolados de *Trichoderma* spp. Foi verificado ainda o efeito dos exsudato na germinação e crescimento de plântulas tal como a influência da microbiolização das sementes em diferentes concentrações. Para o ensaio *in vivo* plantas de tomateiro foram tratadas com solução dos *Trichoderma* ssp. E em outro ensaio foi aplicado a solução nas mudas a fim de verificar a promoção de crescimento. Os isolados apresentaram antagonismo aos patógenos assim como a redução do crescimento micelial por meio dos exsudato. As sementes de tomate tiveram efeito positivo em relação ao exsudato dos *Trichoderma*, no entanto foi observado o oposto em relação as sementes microbiolizadas, no qual tiveram inibição da germinação e crescimento das plântulas. Não houve promoção de crescimento do tomateiro por meio dos isolados.

Palavras-chave: Controle biológico. *Solanum Lycopersicum*. Antagonismo

ABSTRACT

ISOLATES OF TRICHODERMA IN THE INHIBITION OF PHYTOPATHOGENS, IN THE GERMINATION OF SEEDS AND IN THE DEVELOPMENT OF TOMATO PLANTS

Tomato culture is susceptible to several phytopathogenic diseases, and biological control becomes an important tool to combat these adversities, and thus, reduce the chemical control that is widely used in culture. Thus, the objective of this work was to isolate species of the genus *Trichoderma*, and to evaluate the in vitro antagonism and mycelial growth by means of secondary metabolites of *Trichoderma*, as well as its action under the development of the tomato. Two *Trichoderma* spp. of native forest, termed TH1 and TH2. In the in vitro assays, antagonism was evaluated by direct pairing to *Alternaria solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Fusarium* sp. and also mycelial growth of the last two fungi mentioned under the effect of the exudate of the isolates of *Trichoderma* spp. The effect of exudates on germination and seedling growth, as well as the influence of microbiolization of seeds at different concentrations, was also verified. For the in vivo assay tomato plants were treated with *Trichoderma* ssp. And in another test the solution was applied to the seedlings in order to verify the growth promotion. The isolates presented antagonism to pathogens as well as the reduction of mycelial growth through the exudates. The tomato seeds had a positive effect in relation to the *Trichoderma* exudate, however the opposite was observed in relation to the microbiolized seeds, in which they had inhibition of the germination and growth of the seedlings. There was no promotion of tomato growth through the isolates.

Keywords: Biological control. *Solanum Lycopersicum*. Antagonism

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Classificação dos isolados de *Trichoderma* spp. quanto ao antagonismo exercido sobre *Fusarium* sp., *Alternaria solani* e *Sclerotinia sclerotiorum* segundo a escala de Bell(1982) adaptada por Rodrigues (2010)..... 22
- Tabela 2.** Crescimento micelial dos fungos *Sclerotinia sclerotiorum*. e *Fusarium* sp. submetidos ao tratamento com exsudato de isolados de *Trichoderma* spp..... 23
- Tabela 3.** Plântulas normais (PN), plântulas anormais (PAN), sementes não germinadas (NG%), Índice de velocidade de germinação (IVG), crescimento da parte aérea e das raízes, massa da matéria úmida e seca da parte aérea e das raízes de plântulas do tomateiro submetidas ao tratamento com exsudato de isolados *Trichoderma* spp..... 25
- Tabela 4.** Plântulas normais (PN), plântulas anormais (PAN), sementes não germinadas (NG%), Índice de Velocidade de Germinação (IVG), crescimento da parte aérea e das raízes, massa da matéria úmida e seca da parte aérea e das raízes de plântulas do tomateiro submetidas ao tratamento com isolados *Trichoderma* spp..... 27
- Tabela 5.** Crescimento da parte aérea e comprimento de raiz, número de folhas, matéria úmida e seca da parte aérea e raízes de mudas de tomateiro submetidas ao tratamento com isolados de *Trichoderma* spp..... 28
- Tabela 6.** Aspectos do desenvolvimento de plantas de tomateiro submetidas ao tratamento com isolados de *Trichoderma* spp..... 29
- Tabela 7.** Tamanho, número e peso de frutos de plantas de tomateiro submetidas ao tratamento com isolados de *Trichoderma* spp..... 31

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
MATERIAL E MÉTODOS	15
Preparo e obtenção do inóculo de <i>Trichoderma</i> spp.	15
Obtenção dos fitopatógenos	16
Avaliação do antagonismo em cultura pareada	16
Obtenção de exsudato do cultivo de <i>Trichoderma</i> spp.	17
Atividade antifúngica do exsudato de <i>Trichoderma</i> spp.	17
Exsudato de <i>Trichoderma</i> spp. na germinação de semente e desenvolvimento inicial de plântula.....	18
Diferentes concentrações de <i>Trichoderma</i> spp. na germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântula.....	18
Efeito de diferentes concentrações de <i>Trichoderma</i> spp. no desenvolvimento de mudas de tomateiro	19
Efeito de diferentes concentrações de <i>Trichoderma</i> spp. no desenvolvimento e produção de plantas de tomateiro.....	20
Análise estatística.....	21
RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
Avaliação do antagonismo em cultura pareada	21
Atividade antifúngica do exsudato de <i>Trichoderma</i> spp.	23
Exsudato de <i>Trichoderma</i> spp. na germinação de semente e desenvolvimento inicial de plântulas.....	24
<i>Trichoderma</i> spp. na germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas.....	26
Efeito de diferentes concentrações de <i>Trichoderma</i> spp. no desenvolvimento de mudas de tomateiro.....	28
Efeito de diferentes concentrações de <i>Trichoderma</i> spp. no desenvolvimento e produção de plantas de tomateiro.....	29
CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS	32
ANEXOS A - Instructions to authors	40

INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum*) é uma das hortaliças que diariamente se encontra na alimentação das pessoas (SCHWARZ et al., 2013), no Brasil é a segunda hortaliça mais relevante (LUZ, et al., 2007). Isso devido a ampla aceitação e também por suas características nutricionais, pois é um alimento rico em vitaminas A e C, e em sais minerais como potássio e magnésio, que são importantes à nutrição humana (MELO et al., 2014).

Apresenta características morfológicas que favorece sua ampla distribuição geográfica, sendo cultivada em praticamente todos os continentes, se desenvolve bem em climas do tipo tropical de altitude, subtropical e temperado (DOSSA; FUCHS, 2017).

Atualmente, o Brasil ocupa a oitava posição no ranking com 3% da produção mundial de tomate (IBGE, 2015). Já o Paraná, segundo dados do DERAL/SEAB (2016), a produção de tomate safra 2016/17 foi de 257,9 mil toneladas, em uma área de 4,3 mil hectares, destacando-se como o quarto estado maior produtor.

Mesmo com todo esse potencial, o sistema de produção do tomateiro tem apresentado problemas decorrentes do emprego excessivo de agrotóxicos, acarretando danos ao meio ambiente e ao homem (OLIVEIRA et al., 2010). Tratando-se de um fruto muito consumido “*in natura*”, principalmente em saladas, aumentam as preocupações com a saúde dos consumidores devido à possibilidade de conter resíduos químicos (LUZ; SHINZATO; SILVA, 2007).

Estudo realizado pela ANVISA demonstrou que em 2002, frutos de tomate apresentavam alto nível de resíduos, com valores acima dos permitidos pela legislação (MAPA 2008) e atualmente encontra-se entre os dez alimentos com maior percentual residual de agrotóxicos (ANVISA, 2017).

Diante do exposto, há grande relevância no incentivo ao desenvolvimento de pesquisas para o aperfeiçoamento de sistemas produtivos sustentáveis (VIEIRA NETO; GONÇALVES, 2016) visando métodos e produtos alternativos que possibilite o controle de pragas e doenças (PEDRO, et al., 2012; SANTIN, 2012) e que propicie aos consumidores alimentos saudáveis e seguros. Nesse sentido, o controle biológico pode contribuir para reduzir o impacto da agricultura no ambiente (GAUR; SHARMAM, 2010).

Atualmente o gênero *Trichoderma* é o mais estudado e utilizado no controle biológico de patógenos habitantes do solo (SILVA, et al., 2015; ISAIAS, et al., 2014). Esse fungo, de vida livre e altamente interativos no solo, nas superfícies radiculares e no

interior dos tecidos vegetais estabelece uma associação simbiótica (RAJENDIRAN, et al., 2010; ACOSTA, 2014). Apresenta atividades antagônicas contra fungos fitopatogênicos, sendo indiretamente, por competição por espaço e nutriente, modificação das condições ambientais, produzindo antibióticos, inativando enzimas do patógeno ou, diretamente, por meio do micoparasitismo (BENÍTEZ, et al., 2004; HARMAN, et al., 2004; VINALE, et al., 2008).

Um dos benefícios promovido pelo *Trichoderma* spp. é a promoção de crescimento de plantas cultivadas, possibilitando o aumento de produtividade, melhorando a qualidade dos frutos, o crescimento de raízes secundárias e o peso fresco das plântulas (HERMOSA et al., 2012).

Além disso, estudos identificaram espécies de *Trichoderma* capazes de produzir compostos metabólitos secundários voláteis e não-voláteis, estes possuem efeitos antimicrobianos (ISAIAS et al., 2014).

É importante salientar que o tomateiro é uma espécie altamente sujeita a ocorrência de problemas fitossanitários, sendo os agentes de natureza variada (FILGUEIRA, 2013), destacando-se o *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Alternaria solani*.

A murcha-de-fusário (*Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici*), é uma doença muito destrutiva e de ocorrência generalizada, é favorecida por temperaturas altas e solos ácidos e arenosos, sendo o principal meio de disseminação desse fungo é por semente (LOPES, 2005). Os principais métodos de controle dessa doença são introgressão de genes que expressam resistência específica às raças fisiológicas do patógeno e por meio de organismos antagonistas existentes no solo (FILHO et al., 2015).

Já a *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary é um fungo que causa danos em diversas culturas cultivadas, por exemplo a soja, girassol, canola, feijão, batata e tomate (DILDEY et al., 2014), possui 75 famílias, 278 gêneros e 408 espécies (BOLAND & HALL, 1994; LEITE, 2005). A podridão úmida coberta por um micélio branco são sintomas dessa doença, sendo encontrado na superfície do solo ou na cultura atacada (CARDOSO, 1990). Com seu avanço são formados escleródios (estrutura de resistência) que retornam ao solo dando continuidade ao ciclo, com capacidade de permanecer no solo por muito tempo (GARCIA et al., 2012).

A *Alternaria solani* (Ellis & Matim) L.R. Jones & Gront agente causador da doença conhecida como pinta-preta, é uma das mais importantes doenças do tomateiro, é transmitida por esporos (LOPES, 2005), sobrevive em restos culturais, infecta outras

hortaliças e pode ser transmitido por sementes (TOLEDO, et al., 2015). Um dos métodos de controle é a utilização de cultivares resistentes, porém há poucas cultivares no mercado resistente a essa doença, acarretando em um alto valor agregado para obtê-las, impulsionando então o controle químico para as variedades tradicionalmente cultivadas, que são suscetíveis ao patógeno (KUROZAWA e PAVAN, 2005).

O presente estudo teve por objetivo avaliar o potencial do fungo *Trichoderma* spp., *in vitro* verificando antagonismo e o crescimento micelial dos fungos *Fusarium* sp., *Alternaria solani* e *Sclerotinia sclerotiorum* por meio de exsudato de *Trichoderma*, bem como sua ação sob o desenvolvimento do tomateiro.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no laboratório de Fitopatologia e na Casa de Vegetação da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), *campus* Laranjeiras do Sul – PR, localizado a 25°26'43"S e 52°26'33"W, a uma altitude de 841 metros.

No desenvolvimento da pesquisa utilizou-se sementes de tomate variedade Santa Clara I-5300, lote 1110, com germinação de 97%, pureza de 99,9% e categoria S2.

Preparo e obtenção do inóculo de *Trichoderma* ssp.

Para isolar os antagonistas, foram coletadas 5 amostras de solo de diferentes regiões de Laranjeiras do Sul-PR, sendo duas de áreas nativas, duas de áreas cultivadas e uma na área urbana. Os solos foram armazenados em vasos e acomodados em um local escuro por 10 dias, contendo iscas feitas de arroz cozido envolvidos em gaze.

As iscas e galhos que supostamente poderiam estar contaminadas com estruturas propagativas do fungo, foram transferidas assepticamente para placas de Petri contendo meio BDA (Batata Dextrose Ágar). Conseguiu-se o isolamento dos *Trichoderma* spp. de duas áreas distintas, ambas matas de preservação, os fungos foram denominados TH1 e TH2, e respectivamente foram encontrados a 25°23'57"S 52°25'07"W e 25°26'59S 52°27'36"W. Para confirmação de que pertenciam ao gênero *Trichoderma*, observou-se as características da colônia na placa de Petri, no qual as colônias identificadas como *Trichoderma* apresentavam inicialmente micélio branco e posteriormente verde, e ainda e foram efetuadas lâminas para verificar os esporos.

Os inóculos dos isolados foram produzidos, separadamente, em placa de Petri contendo meio B.D.A., mantidos em câmara incubadora tipo B.O.D. (Demanda Bioquímica de Oxigênio) por 20 dias a 25 ± 2 °C. A suspensão aquosa foi preparada pela remoção dos conídios da superfície do meio de cultura com água destilada estéril sendo que a concentração foi ajustada com auxílio de microscópio óptico e câmara de Neubauer.

Obtenção dos fitopatógenos

Os isolados *Fusarium* sp., *Sclerotinia sclerotiorum* e *Alternaria solani* utilizados no presente trabalho estavam armazenados na micoteca pertencente ao Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal da Fronteira Sul *campus* Laranjeiras do Sul – PR.

Avaliação do antagonismo em cultura pareada

A verificação do antagonismo dos isolados de *Trichoderma* contra os patógenos *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium* sp. e *Alternaria Solani* foi realizada utilizando-se a metodologia de cultura pareada descrita por (DENNIS e WEBSTER 1971).

A multiplicação inicial, tanto dos isolados de *Trichoderma* quanto dos patógenos, foi realizada em placas contendo o meio B.D.A., acondicionadas em B.O.D a 25° C, fotoperíodo ausente, por 7 dias.

E então discos (7 mm de diâmetro) retirados das culturas puras, primeiramente dos patógenos foram depositados a uma distância de 1,0 cm da borda em placas de Petri, contendo o mesmo meio. Seguidamente, o antagonista foi posicionado no lado oposto ao patógeno.

Em outro ensaio, primeiramente foi posicionado o antagonista e 24 horas após o patógeno foi instalado ao lado oposto. E também verificou o inverso, sendo instalado o disco com o patógeno, e sucedendo 24 horas depositou-se o antagonista. Como testemunhas, utilizaram-se placas inoculadas unicamente com o patógeno e o antagonista. O esquema em fatorial conteve 23 tratamentos (TH1 e TH2 x *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium* sp. e *Alternaria Solani*, sendo inseridos juntos na placa de Petri, 1° o antagonista e depois de 24 horas o patógeno e 1° o patógeno e depois de 24 horas o antagonista) com 4 repetições cada. Os tratamentos foram armazenados em B.O.D a 25° C, sendo distribuídos ao acaso. Iniciou-se as avaliações 48 horas após a instalação,

medindo o diâmetro das colônias com uma régua milimetrada em duas direções, horizontal e vertical, as medições eram realizadas com intervalo de 24 horas até que as colônias alcançassem toda superfície da placa. Os isolados de *Trichoderma* foram ainda classificados quanto ao antagonismo 10 dias após a implantação do experimento, segundo a escala de BELL et al. (1982) e adaptado por RODRIGUES (2010) no qual é atribuído notas de 1 a 7, sendo: 1. Antagonista cresce por toda a placa de Petri e sobre o disco do patógeno; 2. Antagonista cresce por toda placa de Petri, porém não sobre o patógeno; 3. O Antagonista cresce $\frac{3}{4}$ da placa de Petri; 4. O antagonista cresce $\frac{2}{3}$ da placa de Petri; 5. O antagonista e o patógeno crescem até a metade da placa de Petri; 6. O patógeno cresce $\frac{2}{3}$ da placa de Petri; e 7. O patógeno cresce por toda placa de Petri.

Obtenção de exsudato do cultivo de *Trichoderma* spp.

As extrações dos exsudatos de cultivos foram realizadas segundo PHONGPAICHT, et al. (2007), com modificações. Os isolados de *Trichoderma* foram inicialmente crescidos em meio BDA por 7 dias. Iniciou-se com a produção do caldo de batata, para isso, foi cozido 200 g de batata em 1 L de água em micro-ondas por 5 minutos, após filtrado em gaze o caldo era completado para o mesmo volume inicial. Foi distribuído 100 mL do líquido em Erlenmeyer e adicionado 2 g de dextrose sendo levados ao autoclave por 20 min, a 121°C e 1 atm, de pressão. Os Erlenmeyer ficaram em descanso até atingir temperatura ambiente, para cada Erlenmeyer foi depositado 3 discos contendo micélio dos isolados TH1 e TH2 separadamente. A incubação ocorreu em B.O.D. em ausência de luz com temperatura ± 25 °C em deixados em crescimento por diferentes períodos, sendo 0, 3, 6, 9 e 12 dias. Posteriormente, o líquido obtido foi filtrado em papel de filtro com auxílio da bomba a vácuo.

Atividade antifúngica do exsudato de *Trichoderma* spp.

Os Erlenmeyer contendo o líquido com o exsudato de ambos os *Trichoderma* nos diferentes tempos de incubação, foram acrescidos com 2 g de Agar cada e foram autoclavados, novamente. Foram então vertidos em placa de Petri e com a solidificação, adicionado disco de 7 mm dos patógenos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium* sp. Utilizou-se o delineamento em fatorial 9 x 2: exsudato nos diferentes intervalos de tempo x patógeno (TH1 T3, TH1 T6, TH1 T9, TH1 T12, TH2 T3, TH2 T6, TH2 T9, TH2 T12 e a

testemunha x *S. sclerotiorum* e *Fusarium* sp.) com 4 repetições cada tratamento. A testemunha consistiu de cada patógeno cultivado na ausência de filtrados de culturas dos antagonistas.

As culturas assim preparadas foram incubadas a 25 °C. A avaliação do crescimento micelial ocorreu após 48 horas, através da medição da colônia em dois sentidos perpendiculares, sendo avaliado até o preenchimento de toda a placa pelos patógenos na testemunha. As culturas foram incubadas em câmaras B.O.D. a 25 °C.

Exsudato de *Trichoderma* spp. na germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas

Para verificar o efeito do exsudato sobre as sementes de tomate, o líquido obtido foi novamente filtrado com o conjunto de filtração millipore. Após esse processo, as sementes sem prévia assepsia, foram imersas por 2 min nos líquidos obtidos com exsudato. O delineamento para o ensaio foi inteiramente casualizado com 9 tratamentos (TH1 T3, TH1 T6, TH1 T9, TH1 T12, TH2 T3, TH2 T6, TH2 T9, TH2 T12 e testemunha) 4 repetições de 25 sementes por gerbox, a testemunha foi constituída de caldo de batata e dextrose. As sementes, após o tratamento, foram semeadas no gerbox sobre duas folhas de papel filtro tipo germitest e umedecidas com água destilada a 2,5 o peso do papel seco (BRASIL, 2009). Foram mantidas em B.O.D. a \pm 25 °C, sem fotoperíodo. As avaliações verificou-se a influência dos exsudatos na germinação (plântulas normais, anormais e não germinadas/mortas), no IVG, no crescimento e massa úmida e seca das plântulas do tomateiro até o sétimo dia da instalação do teste conforme descrito anteriormente.

Diferentes concentrações de *Trichoderma* spp. na germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas

As sementes foram inoculadas com a solução dos *Trichoderma* TH1 e TH2 nas concentrações 1×10^5 , 1×10^6 e 1×10^7 conídios/mL, sem prévia assepsia por 2 minutos (as testemunhas foram submersas em água destilada). Em seguida deixadas para secar à tempo sobre folhas de papel toalha. Os esporos para o preparo das suspensões foram obtidos dos meios de cultura dos fungos. As sementes, após o tratamento, foram semeadas em caixa tipo gerbox sobre duas folhas de papel-filtro tipo germitest e umedecidas com água destilada a 2,5 o peso do papel seco (BRASIL, 2009). E mantidas em B.O.D. a \pm 25 °C, sem fotoperíodo. O papel foi umedecido conforme a necessidade

hídrica. Distribuíram-se 25 sementes de tomate por gerbox. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com 7 tratamentos (TH1- 1×10^5 , TH1- 1×10^6 , TH1- 1×10^7 , TH2- 1×10^5 , TH2- 1×10^6 , TH2- 1×10^7 conídios/mL⁻¹ e testemunha) e 4 repetições por tratamento. Foi determinado Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e germinação. Para isso, considerou plântulas normais (PN), as que atingiram no mínimo de 1,0 cm de comprimento e que apresentavam todas as estruturas essenciais completas e íntegras, para o número de plântulas anormais (PAN) considerou as que não apresentavam potencial para continuar seu desenvolvimento e dar origem a plantas normais. Diariamente foram contabilizadas as sementes germinadas de forma a obter-se o IVG, calculado pela fórmula proposta por Maguire (1962), $IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$, onde G1, G2, G3,..., Gn é o número de plantas computadas de acordo com a germinação de cada contagem e N1, N2, N3,..., N é número de dias de semeadura até a contagem final.

Para verificar o crescimento das plântulas de tomate, foram preparados novos gerbox seguindo os passos descritos acima para avaliar a germinação e o IVG. Os experimentos foram mantidos e avaliados até o sétimo dia, pois observou-se que o tamanho do gerbox poderia influenciar no crescimento das plântulas caso mantidos até 14 dias como recomenda a Regra de análise de sementes (RAS). Decorrido esse período foram avaliados o comprimento do hipocótilo e da radícula e o peso da massa fresca e seca, separadamente, com auxílio de um paquímetro e balança analítica, respectivamente. E para isso, foram selecionadas 12 plântulas aleatoriamente de cada repetição. Depois, foram alocados em sacos de papel pardo e posto para secar em estufa por 24 horas a 60-65 °C.

Efeito de diferentes concentrações de *Trichoderma* spp. no desenvolvimento de mudas de tomateiro

No ensaio de promoção de crescimento em mudas, iniciou com o tratamento das sementes de tomate no qual foram emergidas em suspensão aquosa com inóculos dos *Trichoderma* ssp. TH1 e TH2. Para ambos, foram utilizados três concentrações 1×10^5 , 1×10^6 e 1×10^7 conídios/mL⁻¹, a testemunha constituiu de água destilada. As sementes foram emergidas por 2 minutos e deixada sobre papel toalha para eliminar o excesso de umidade. Após esse período, as sementes foram distribuídas em bandeja de poliestireno expandido com 200 células de capacidade, deixando de 2 a 3 sementes por célula na

profundidade de 1 cm. Utilizou substrato comercial recomendado para hortaliças HumusFertil. Após a germinação procedeu-se o desbaste, deixando 1 plântula por célula. Em intervalo de 7 em 7 dias, foram aplicados os mesmos tratamentos usados nas sementes sobre as plântulas e o solo, sendo vertido 10 mL na superfície de ambos. Após 30 dias da sementeira, as plântulas foram transferidas da casa de vegetação para o laboratório de fitopatologia, a fim de avaliar o tamanho e a massa úmida e seca. As raízes foram lavadas com água corrente, cuidadosamente para que não ocorresse perda. Foi avaliada separadamente a parte aérea da raiz, para separá-las sofreram um corte na interseção parte aérea-raiz. O comprimento foi medido com auxílio de um paquímetro. A massa foi determinada com auxílio da balança de precisão, e depois de todas as amostras úmidas pesadas, foram inseridas em sacos de papel pardo e transferidas para estufa por 24 horas com temperatura entre 65 a 70 °C. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com 7 tratamentos (TH1- 1×10^5 , TH1- 1×10^6 , TH1- 1×10^7 , TH2- 1×10^5 , TH2- 1×10^6 , TH2- 1×10^7 conídios/mL⁻¹ e testemunha) e 4 repetições, cada repetição foi representada por quatro plantas.

Efeito de diferentes concentrações de *Trichoderma* spp. no desenvolvimento e produção de plantas de tomateiro

Para verificar o efeito dos isolados na promoção de crescimento do tomateiro, as sementes foram semeadas em bandejas de poliestireno contendo substrato da empresa HumusFertil e mantida por 30 dias na casa de vegetação. Após esse período, foi realizado o transplante para vasos plásticos com capacidade de 10 L contendo húmus de minhoca, terra e areia peneirada (2:2:1). Após 10 dias foi realizado o desbaste com auxílio de uma tesoura, deixando apenas uma muda por vaso. O tutoramento foi realizado com estaca e barbante. Passando-se 24 dias do transplante, iniciou-se as aplicações, que consistiram na suspensão com inóculo dos fungos TH1 e TH2 separadamente na concentração 1×10^6 conídios mL⁻¹, na quantidade de 50 mL/planta. As aplicações foram realizadas com intervalos de 7 dias, totalizando 6 aplicações. Decorrendo-se 4 dias das aplicações, foram realizadas medições da altura das plantas e tamanho do caule e contagem do número de folhas. O presente experimento constituiu-se então de 5 tratamentos (TH1 aplicação apenas no solo; TH1 aplicação solo e folha, TH2 aplicação apenas no solo; TH2 aplicação solo e folha e a testemunha), a testemunha utilizou-se água. Aos 33 dias após o transplante, foi adicionado em cada vaso 500 g de mistura de húmus de minhoca e cinza de madeira

(2:1). Os frutos colhidos, foram pesados e medidos separadamente. O delineamento do experimento foi inteiramente casualizado com 5 repetições e cada repetição foi constituída por uma planta.

A casa de vegetação projetava irrigação por microaspersão automática e temporizada, 3 vezes ao dia, sendo às 8, 12 e 16 horas, com temperatura ± 25 °C.

Análise estatística

Todos os resultados foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e ao teste de Tukey ($P \leq 0,05$), com auxílio do programa Sisvar 5.6.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação do antagonismo em cultura pareada

Nota-se na tabela 1, que quando colocados separadamente os antagonistas quanto os patógenos, exceto a *Alternaria solani*, obtiveram nota máxima designado ao seu crescimento.

De acordo com a escala, pode-se concluir que ambos os antagonistas foram eficientes. Considerando que um isolado é antagônico ou eficiente, quando sua nota é menor ou igual a 3,0 (LOUZADA, et al. 2009). Observando a tabela 1, percebe-se que em relação aos fungos *Fusarium sp.* e a *Alternaria solani*, quando dispostos juntos ou o antagonista primeiro, obtiveram nota 1, não diferenciando significativamente de quando os *Trichoderma spp.* são colocados sozinhos na placa de Petri. Já para *S. sclerotiorum*, o isolado TH2 obteve melhor desempenho, não diferenciando significativamente quando aplicado sozinho, para os tratamentos (TH2 x Patógeno; TH2 (1°) x Patógeno).

Tabela 1. Classificação dos isolados de *Trichoderma* spp. quanto ao antagonismo exercido sobre *Fusarium* sp., *Alternaria solani* e *Sclerotinia sclerotiorum* segundo a escala de Bell(1982) adaptada por Rodrigues (2010).

Tratamento	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Alternaria solani</i>	<i>Sclerotinia</i> spp.
TH1*	1,0 a ¹	1,0 a	1,0 a
TH2*	1,0 a	1,0 a	1,0 a
Patógeno*	7,0 c	6,0 d	7,0 d
TH1 x Patógeno ²	1,0 a	1,0 a	2,0 b
TH2 x Patógeno ²	1,0 a	1,0 a	1,2 a
TH1 (1°) x Patógeno ³	1,0 a	1,0 a	1,0 a
TH2 (1°) x Patógeno ³	1,0 a	1,0 a	1,0 a
Patógeno (1°) x TH1 ⁴	5,0 b	4,5 c	6,0 c
Patógeno (1°) x TH2 ⁴	4,7 b	4,0 b	6,0 c
CV (%)	6,59	8,45	5,71

¹Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \geq 5\%$). ² Antagonista e patógeno foram inseridos na placa de Petri ao mesmo tempo ³ Antagonista foi inserido na placa de Petri, e 24 após o patógeno. ⁴ Patógeno foi inserido na placa de Petri, e 24 horas após o antagonista. * Antagonista e patógeno foram colocados sozinhos na placa de Petri.

Hoffmann et al. (2015), relatou que 80% dos *Trichoderma* spp. testados foram eficientes contra *Fusarium* sp. inibindo 81% do crescimento. Já Milanese et al. (2013), verificou antagonismo de *T. tomentosum*, sendo capaz de crescer sobre *F. oxysporum*. Corroborando com trabalho de Louzada et al. (2009), estudando 230 isolados de *Trichoderma* spp, identificaram 50 isolados capaz de inibir o crescimento micelial de *F. solani* e 111 de *S. sclerotiorum*, pelo teste de pareamento de culturas recebendo nota inferior a 3.

No entanto, no momento em que os patógenos são inseridos primeiramente, evidencia notas diferentes. Dessa forma, o antagonismo dos isolados TH1 e TH2 não foram eficientes, mas distingue-se significativamente das notas dos patógenos isoladamente. Destaca-se novamente o isolado TH2, pois obtive a menor nota com antagonismo a *Alternaria solani*, em relação aos tratamentos em que os antagonistas foram depositados posteriormente. Corroborando com o trabalho realizado por Porto (2016), seguindo os mesmos passos empregado no tratamento (Patógeno 1° x *Trichoderma* ssp.), relata que o antagonista alcançou nota máxima (4) sobre o fungo *Alternaria alternata*.

Atividade antifúngica do exsudato de *Trichoderma* spp.

O menor crescimento micelial sob o efeito dos não-voláteis foi observado para ambos os patógenos no tratamento TH1 T9 (tabela 2), no qual a *S. sclerotiorum* e o *Fusarium* sp., tiveram o tamanho colonial reduzido em 88,8% e 81,4%, respectivamente, comparado a testemunha. KHALILI et al. (2012), concluíram em seu trabalho que parecia que os efeitos de inibição dos metabolitos não voláteis foram superiores aos voláteis dos isolados de *Trichoderma* spp. testado.

Ainda pode-se destacar que o crescimento dos *Trichoderma* no tempo de 9 dias (Tabela 2), foi o que mais reduziu o crescimento das colônias em comparação a testemunha, tratando-se do TH1T9 cresceu 1 e 1,6 cm já o TH2 T9 aumentou até 2,8 e 3,6 cm, para *S. sclerotiorum* e o *Fusarium* sp., respectivamente.

De maneira geral, os dois isolados de *Trichoderma* spp. inibiram o crescimento micelial dos patógenos. Porém, nota-se que o efeito inibitório é mais influente após 6 dias dos antagonistas no meio BD.

Tabela 2. Crescimento micelial (cm) dos fungos *Sclerotinia sclerotiorum*. e *Fusarium* sp. submetidos ao tratamento com exsudato de isolados de *Trichoderma* spp.

Tratamento	<i>Sclerotinia</i> spp.	<i>Fusarium</i> spp.
Testemunha	8,9 f ¹	8,6 e
TH1 T3*	8,9 f	6,8 d
TH1 T6	4,0 c	4,9 c
TH1 T9	1,0 a	1,6 a
TH1 T12	5,5 d	4,5 bc
TH2 T3	8,9 f	7,3 d
TH2 T6	5,9 d	3,9 bc
TH2 T9	2,8 b	3,6 bc
TH2 T12	7,5 e	4,3 bc
CV (%)	3,85	9,5

¹Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \geq 5\%$). * T3, três dias os isolados ficaram no Erlenmeyer com meio BD; T6, seis dias os isolados ficaram no Erlenmeyer com meio BD; T9, nove dias os isolados ficaram no Erlenmeyer com meio BD; e T12, doze dias os isolados ficaram no Erlenmeyer com meio BD.

No trabalho realizado por Marques et al. (2018), demonstrou que os metabolitos não-voláteis produzidos por três espécies de *Trichoderma*, sendo *T. harzianum*, *T. spirale* e *T. brevicompactum* foram efetivos contra a *S. sclerotiorum*, e em relação ao *F.*

oxysporum, os extratos brutos que levaram à maior inibição do crescimento micelial foram produzidos por *T. brevicompactum* (CEN1245 e CEN1274).

Esse efeito está relacionado aos compostos produzidos pelo antagonista, há relatado que as espécies de *Trichoderma* produzem enzimas celulósicas e pectinase extracelulares que são capazes de hidrolisar as paredes celulares de outros fungos (MARCO et al., 2003).

Exsudato de *Trichoderma* spp. na germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas

Os extratos obtidos a partir dos isolados de *Trichoderma* spp. mostraram diferentes níveis de efeito sobre a germinação da semente e do crescimento radicular de tomate, provavelmente estimulados por compostos produzidos pelos isolados (Tabela 3). Nota-se em relação a porcentagem de germinação que o isolado denominado TH2 com crescimento no meio por 12 dias, afetou negativamente, diferenciando significativamente dos demais tratamentos. Sobre a porcentagem de plântulas anormais e o IVG (Tabela 5) constatou que o isolado TH2 com crescimento de 12 dias no meio BD, diferenciou significativamente dos demais, apresentando porcentagem negativa de 75,6% e 30%, respectivamente, comparada a testemunha (água).

Resultado semelhante foi observado por Acosta (2014), no qual testou diferentes concentrações de extrato de *Trichoderma* spp. em sementes de pepino e sorgo e constatou que as concentrações mais baixas apresentavam indução da germinação nas sementes enquanto as altas concentrações causavam inibição, e ainda relacionou esse efeito ao ácido desidroacético.

Tabela 3. Plântulas normais (PN), plântulas anormais (PAN), sementes não germinadas (NG%), Índice de velocidade de germinação (IVG), crescimento da parte aérea e das raízes, massa da matéria úmida e seca da parte aérea e das raízes de plântulas do tomateiro submetidas ao tratamento com exsudato de isolados *Trichoderma* spp.

Tratamento	PN(%)	PAN(%)	NG(%) ^{ns}	IVG	Crescimento (mm)		Massa úmida (g)		Massa seca (g)	
					Aérea	Radicular	Aérea ^{ns}	Radicular	Aérea	Radicular
Testemunha	80,8 ab ¹	8 a	11,2	3,0 a	26,9 c	49,8 c	0,2	0,04 abc	0,2 a	0,04 abc
TH1 T3*	84,8 a	6,4 a	8,8	3,1 a	26,1 c	50,6 bc	0,2	0,03 c	0,2 a	0,02 c
TH1 T6	87,2 a	5,6 a	7,2	3,1 a	33,4 abc	65,7 abc	0,2	0,03 abc	0,1 a	0,03 abc
TH1 T9	82,4 ab	6,4 a	11,2	3,2 a	42,6 a	67,0 abc	0,2	0,05 a	0,2 a	0,05 a
TH1 T12	81,6 ab	13,6 a	4,8	3,0 a	38,8 ab	81,1 a	0,2	0,05 ab	0,2 a	0,05 ab
TH2 T3	89,6 a	8,0 a	2,4	3,3 a	32,6 abc	78,7 a	0,2	0,04 abc	0,1 a	0,04 abc
TH2 T6	73,2 ab	8,0 a	5,6	3,1 a	37,0 abc	68,9 ab	0,2	0,04 abc	0,2 a	0,04 abc
TH2 T9	74,4 ab	16,8 a	8,8	2,7 a	29,9 bc	75,9 a	0,2	0,03 bc	0,1 a	0,03 bc
TH2 T12	60 b	32,8 b	7,2	2,1 b	33,8 abc	75,7 a	0,2	0,05 abc	0,2 a	0,04 abc
CV (%)	14,77	56,93	72,54	9,6	16,4	13,18	18,36	24,85	24,38	27,39

¹Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \geq 5\%$). ^{ns}Não significativo pelo teste F, a 5% de probabilidade. T3, três dias os isolados ficaram no Erlenmeyer com meio BD; T6, seis dias os isolados ficaram no Erlenmeyer com meio BD; T9, nove dias os isolados ficaram no Erlenmeyer com meio BD; e T12, doze dias os isolados ficaram no Erlenmeyer com meio BD.

Em relação ao crescimento da parte aérea, os dois isolados promoveram no seu aumento (Tabela 3), o tratamento TH1 T9 foi o que maior obteve média de crescimento (42,6 mm), diferenciando significativamente da testemunha (26,9 mm). A maior média observada em relação ao isolado TH2 para o crescimento da parte aérea foi de 37,0 mm, superior a testemunha porém não significativo ($p < 0,05$). Efeito semelhante foi observado no crescimento radicular, todos os tratamentos obtiveram médias superiores que da testemunha, destaque foi para o isolado TH1 T12 que promoveu o crescimento em 162,8% em relação ao controle. E observa que todos os tratamentos com o isolado TH2 diferenciaram significativamente da testemunha. Dias (2014) obteve resultados diferentes quando estudou os efeitos dos extratos de *Trichoderma*, relatou que o *T. pseudokoningii* e *T. virens* inibiram o crescimento radicular nas plântulas de sorgo nas concentrações de 250 ppm e 125 ppm, respectivamente.

Os extratos influenciaram também a massa da matéria úmida e seca, somente para fração radicular (Tabela 3). No qual analisando a massa úmida e seca radicular, percebe-se o mesmo comportamento, assim sendo, os dois tratamentos que diferenciaram significativamente da testemunha foram TH1 T9 e o TH2 T9.

No estudo realizado por Acosta (2014), no qual identificaram diversas substâncias presentes em extratos de *Trichoderma* spp., menciona que em todos os meios foram encontrados o composto 2-feniletanol e indica a possibilidade dessa substância estar relacionada com o crescimento do pepineiro, sendo que Sharma et al. (2011) relata que esse composto tem ação protetora de folhas e fruto e em baixas concentrações induz o crescimento de raiz.

Diferentes concentrações *Trichoderma* spp. na germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas

Em relação ao percentual de plântulas normais, as diferentes concentrações de ambos os isolados TH1 e TH2 inibiram significativamente quando comparado com a testemunha, nota-se que o isolado TH1 na concentração 1×10^5 e 1×10^7 conídios/mL influenciaram drasticamente na condição de plântulas normais (Tabela 4). Ainda é possível verificar que ambos os isolados aumentaram significativamente o percentual de plântulas anormais nas diferentes concentrações, destacando-se o *Trichoderma* TH1, mesmo não se diferenciando do isolado TH2, obteve as maiores porcentagem de anormalidade de plântulas nas três concentrações, no teste foi observado que as plântulas apresentavam lesões em suas estruturas ocasionadas pelos fungos. Fortificando com o resultado do IVG (tabela 4), no qual a testemunha sobressaiu aos tratamentos analisados.

Tabela 4. Plântulas normais (PN), plântulas anormais (PAN), sementes não germinadas (NG%), Índice de Velocidade de Germinação (IVG), crescimento da parte aérea e das raízes, massa da matéria úmida e seca da parte aérea e das raízes de plântulas do tomateiro submetidas ao tratamento com isolados *Trichoderma* spp.

Tratamento	PN(%)	PAN(%)	NG(%) ^{ns}	IVG	Crescimento (mm)		Massa úmida (g)		Massa seca (g)	
					Aérea	Radicular	Aérea	Radicular	Aérea	Radicular
Água	84 a ¹	9 a	7	3,6 a	58,3 a	62,1 a	0,2 a	0,03 a	0,3 a	0,02 a
TH1-10 ⁵	0 c	91 b	9	0 b	13,5 b	4,9 b	0,1 b	0,01 b	0,1 c	0,01 b
TH1-10 ⁶	1 bc	94 b	5	0 b	13,3 b	7,7 b	0,1 b	0,01 b	0,1 bc	0,01 b
TH1-10 ⁷	0 c	91 b	9	0 b	13,16 b	13,4 b	0,1 b	0,01 b	0,1 bc	0,01 b
TH2-10 ⁵	4 bc	89 b	7	0,1 b	12,7 b	13,7 b	0,1 b	0,01 b	0,1 bc	0,01 b
TH2-10 ⁶	4 bc	83 b	13	0,1 b	12,8 b	12,5 b	0,1 b	0,01 b	0,1 bc	0,01 b
TH2-10 ⁷	11 b	81 b	8	0,3 b	14,6 b	13,7 b	0,1 b	0,01 b	0,1b	0,01 b
CV (%)	30,81	9,87	77,77	30,42	21,61	27,93	14,2	12,43	10,06	21,83

¹Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \geq 5\%$). ^{ns}Não significativo pelo teste F, a 5% de probabilidade.

Com relação ao crescimento da parte aérea, a testemunha(água) obteve a maior média (58,3 mm), diferenciando significativamente dos *Trichoderma* TH1 e TH2 nas diferentes concentrações, no qual as menores médias observadas foram 12,7 mm para o TH1 na concentração de 10⁵ conídios/mL e 13,3 mm para o TH2 na concentração 10⁶ conídios/mL, sendo que não houve diferença entre as concentrações dos isolados (Tabela 4). Em relação ao crescimento radicular, não houve diferença entre os isolados nas diferentes concentrações, destacando a testemunha obtendo a maior média significativa. O pior resultado observado no crescimento radicular foi para o isolado TH1 na concentração 10⁵ conídios/mL, no qual quando a testemunha comparada a este, sobressaiu 92,1% do crescimento radicular.

Consequentemente pode-se observar que a massa da matéria seca e úmida da testemunha foi a maior significativamente em relação aos isolados, sendo constatado que não houve diferença entre as concentrações testadas dos *Trichoderma*. Montalvão (2012), aponta que espécies de *Trichoderma* podem causar apodrecimento de sementes de tomate, caso estejam em contato com o fungo sob condições de elevada umidade, provocando rápido desenvolvimento sobre o envoltório das sementes. Chamberlain e Gray (1974) reforça que *Trichoderma* spp. podem reduzir a germinação de sementes, gerando plantas jovens raquíticas e necroses em hipocótilo e raízes.

Efeito de diferentes concentrações de *Trichoderma* spp. no desenvolvimento de mudas de tomateiro

Na avaliação do desenvolvimento de mudas de tomateiro Tabela 5, a massa úmida e seca da parte aérea foi significativa pelo teste F a 5%, porém não houve diferença significativa entre as médias dos tratamentos e a testemunha(água).

Carvalho et al. (2011), verificaram que isolados de *T. harzianum* (CEN238 e CEN240) obtiveram comprimento médio das raízes inferiores ao da testemunha. E também, Patekoski e Pires-Zottarelli (2010) observaram que o produto Biotrich (a base de *Trichoderma* spp.) na concentração de 0,2 mL L⁻¹ não promoveu o crescimento das variedades de alface Vera e Elisa, em cultivo hidropônico.

Tabela 5. Crescimento da parte aérea e comprimento de raíz, número de folhas, matéria úmida e seca da parte aérea e raízes de mudas de tomateiro submetidas ao tratamento com isolados de *Trichoderma* spp.

Tratamento	Crescimento (cm)		Número de folhas ^{ns}	Massa úmida (g)		Massa seca (g)	
	Aérea ^{ns}	Radicular ^{ns}		Aérea	Radicular ^{ns}	Aérea	Radicular ^{ns}
Água	12,7	8,6	3,1	3,3	1,5	2,9	1,4
TH1-10 ⁵	12	7,6	3,5	2,2	1	2	0,9
TH1-10 ⁶	11,2	7,7	3,1	2	1,1	1,8	1
TH1-10 ⁷	11,9	8,4	2,8	1,8	0,9	1,6	0,8
TH2-10 ⁵	12,3	7,7	3,1	2,5	1,2	2,2	1,1
TH2-10 ⁶	12,6	7,7	3,3	3,3	1,1	3	1,1
TH2-10 ⁷	12	7,7	3,3	2,3	0,9	2,2	0,8
CV (%)	10,36	10,41	12,17	27,7	32,76	27,91	34,18

^{ns}Não significativo pelo teste F, a 5% de probabilidade.

Em relação aos parâmetros crescimento, número de folhas e massa úmida e seca radicular (tabela 5), não apresentaram diferenças significativas. É importante salientar, mesmo com os resultados apresentados sobre o efeito dos isolados em relação as mudas do tomateiro, a maioria dos relatos encontrados na literatura refere-se à capacidade de fungos do gênero *Trichoderma* em promover o crescimento e a produtividade das culturas (VINALE et al, 2008).

Efeito de diferentes concentrações *Trichoderma* spp. no desenvolvimento e produção de plantas de tomateiro

De acordo com a Tabela 6, os dois isolados TH1 e TH2 não diferiram significativamente da testemunha com base no teste de Tukey a 5% para todos os parâmetros analisados, altura, caule e folha. Harman et al (2011) relata que a maioria dos trabalhos utilizando o fungo *Trichoderma* têm demonstrados incrementos na promoção de crescimento de plantas cultivadas (HARMAN et al., 2011).

Tabela 6. Aspectos do desenvolvimento de plantas de tomateiro submetidas ao tratamento com isolados de *Trichoderma* spp.

Tratamento	Altura(cm) ^{ns}	Diâmetro Caule(cm) ^{ns}	Nº Folha ^{ns}
Água	134,2	4,6	12,0
TH1 Solo	134,2	4,7	10,0
TH1 Solo/aérea	133,6	4,5	11,6
TH2 Solo	131,4	4,6	9,8
TH2 Solo/aérea	134,4	4,5	10,0
CV%	4,06	6,05	14,51

^{ns}Não significativo pelo teste F, a 5% de probabilidade. ² Médias obtidas da última avaliação realizada 03 de novembro de 2017.

Brotman et al. (2010) relata que algumas espécies de *Trichoderma* apresentam potencial de promover aumento de até 300% no crescimento de plantas. O efeito benéfico desses fungos tem sido relatado no desenvolvimento de diversas culturas como pepino, milho, arroz, soja, feijão, abacaxi e eucalipto (SILVA et al., 2011; AZEVEDO et al., 2017, SABANDO-ÁVILA et al. 2017).

Diferente do presente trabalho, Roese et al. (2017), observaram que espécies nativas de *Trichoderma* spp. promoveram o crescimento da altura de plantas de soja sendo tão eficiente quanto a obtidas de produtos comerciais.

De acordo com Pedro et al. (2012) a promoção de crescimento pode variar de acordo com isolado de *Trichoderma* utilizado e a cultura, e ainda Akrami et al. (2011) completa que outros fatores influenciam na eficiência dos agentes benéficos, principalmente a temperatura e a umidade. No trabalho de Silva et al. (2011), observou variação dos resultados quando testado 60 isolados de *Trichoderma* spp. na promoção de crescimento do pepineiro sendo realizado o mesmo experimento 3 vezes no ano, no qual os isolados IB 01/03, IB 15/06, IB 31/06 e IB 34/08 que diferiram significativamente das

testemunhas em dois dos três períodos da realização do trabalho, possivelmente essa diferença é devido a resposta do *Trichoderma* a questão de clima.

É importante salientar que na casa de vegetação no qual foi conduzido o experimento, apresentou irregularidades na irrigação, dessa forma alguns vasos receberam quantidade hídrica maior do que outros, e ainda a condição que acasa de vegetação encontrou-se no decorrer do experimento, observava condições favoráveis a doenças e pragas, sendo que possivelmente essas condições tenham interferidos nos resultados dos experimentos nela implantado.

Muitos autores relacionam a promoção de crescimento de plantas cultivadas por *Trichoderma* por haver uma relação simbiótica entre planta e o fungo. Para Baugh e Escobar (2007), o estímulo desses fungos na planta é complexo, sendo relacionado por interações com fatores bioquímicos e produção de diversas enzimas e compostos benéficos. Segundo Brotman et al. (2010), a promoção do crescimento vegetal parece ser mediada pela síntese de auxina por *Trichoderma* spp.

Esse gênero também é capaz de disponibilizar nutrientes as plantas, de acordo com Altomare et al. (1999), a presença do *Trichoderma* spp. no solo torna os nutrientes solúveis, permitindo maior e mais rápida absorção. Macedo (2014), relata que algumas espécies de *Trichoderma* são capazes de solubilizar vários nutrientes presentes no solo que estava em formas insolúveis às plantas, como o fósforo, ferro, cobre, zinco e manganês.

Em estudo realizado por Bertolini et al. (2016), verificaram que o tratamento com *Trichoderma* spp. não diferenciou significativamente do controle em relação aos parâmetros peso de penca, número de frutos e produção na cultura do tomateiro variedade "Sweet Grape".

Esse mesmo resultado foi observado no presente trabalho, observando a tabela 7, nota-se que não houve diferença significativa entre a testemunha e os isolados TH1 e TH2 nas diferentes formas de aplicação. Esses resultados sugerem que a promoção de crescimento de plantas depende fortemente da interação isolado e espécie vegetal (MONTALVÃO, 2012).

Tabela 7. Tamanho, número e peso de frutos de plantas de tomateiro submetidas ao tratamento com isolados de *Trichoderma* spp.

Tratamento	Tamanho (mm)	Número ^{ns}	Peso (g)
Água	53,3 ab ¹	8	89,4 ab
TH1 Solo	49,9 b	7,6	74,6 b
TH1 Solo/aérea	58,4 a	5,8	106,4 a
TH2 Solo	52,1 ab	6,4	83,8 ab
TH2 Solo/aérea	51,1 b	7,2	86,6 ab
CV%	6,51	23,47	17,24

¹Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \geq 5\%$). ^{ns}Não significativo pelo teste F, a 5% de probabilidade.

Ainda assim, pode-se verificar que houve diferença significativa na forma de aplicação do isolado TH1 (tabela 7), no qual o método de aplicação via solo e parte aérea promoveu o aumento do tamanho e peso dos frutos em relação a aplicação apenas no solo, embora não tenham se diferenciado da testemunha.

CONCLUSÃO

Os isolados de *Trichoderma* não promoveram alterações no desenvolvimento de mudas e plantas de tomateiro, embora a aplicação concomitante no solo e parte aérea do isolado TH1 promoveu aumento no tamanho e massa de frutos em relação a aplicação apenas no solo.

Os isolados de *Trichoderma* inibiram a germinação e o desenvolvimento inicial de plantas de tomateiro, mas exsudatos do cultivo de *Trichoderma* promoveram estímulo em alguns atributos do desenvolvimento de plântulas.

Os isolados de *Trichoderma* promoveram inibição dos fungos *Sclerotinia* sp. e *Fusarium* sp. tanto em teste de pareamento em meio de cultura como pelo exsudato do cultivo de *Trichoderma*.

REFERÊNCIAS

- ACOSTA, JAM. Análise de substâncias de *Trichoderma* spp. com atividade alelopática. 2014. 68f. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, 2014. Disponível em: <<http://locus.ufv.br/handle/123456789/2169>>. Acesso em 13 de jun. de 2018.
- ALTOMARE, C; NORVELL, WA; BJÖRKMAN, T; HARMAN, GE. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 65, n.7, p. 2926–2933. 1999. Disponível em: <<http://aem.asm.org/content/65/7/2926.short>>. Acesso em: 12 de jun. de 2018.
- ANVISA, 2002. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), Brasília. Disponível em: < <http://portal.anvisa.gov.br/programa-de-analise-de-registro-de-agrotoxicos-para>>. Acesso em 01 de jun. de 2018.
- ANVISA, 2017. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), Brasília. Disponível em: < <http://portal.anvisa.gov.br/programa-de-analise-de-registro-de-agrotoxicos-para>>. Acesso em 01 de jun. de 2018.
- AZEVEDO, GB; NOVAES, QS; AZEVEDO GT; SILVA, HF; ROCHA SOBRINHO, GG NOVAES AB. Effect os *Trichoderma* spp. on *Eucalyptus camaldulensis* clonal seedlings growth. *Scientia Forestalis*, v. 45, n. 114, p343-352, 2017.
- BAUGH, CL; ESCOBAR, B. The genus *Bacillus* and genus *Trichoderma* for agricultural bio-augmentation. *Rice Farm Magazine*, Anytown, NY, v.1, n.4, p.1-4, 2007. Disponível em: <http://www.yieldboost.com/images/GP_B5_Techinfo_rice.pdf>. Acesso em: 12 de jun. de 2018.
- BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*, Saint Paul, v. 72, n. 4, p. 379-382, 1982.
- BENÍTEZ, T; RINCÓN, A; LIMÓN, C; CODÓN, A. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* stains. *International Microbiology*, v. 7, p. 249-260, 2004.
- BIANCA, LP. Avaliação do potencial de controle biológico da mancha marrom de alternaria com *Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis* e fertilizante organomineral. 2016. 62

- f.: il. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de Caxias do Sul, 2016. Disponível em: <<https://repositorio.ucs.br/handle/11338/2690>>. Acesso em 18 de ju. De 2018.
- BOLAND, GJ. Evaluating soybean cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* under field conditions. *Plant Disease*, Saint Paul, v. 71, n. 10, p. 934 - 936, 1987.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399p.
- BROTMAN, Y; GUPTA, JK; VITERBO, A. *Trichoderma*. *Current Biology*, v.20, p.390-391, 2010. Disponível em: <[http://www.cell.com/current-biology/abstract/S0960-9822\(10\)00230-7](http://www.cell.com/current-biology/abstract/S0960-9822(10)00230-7)>. Acesso em: 12 de jun. de 2018.
- CARDOSO, J. Doenças do feijoeiro causadas por patógenos de solo. EMBRAPA-CNPAC. *Documentos*, Goiânia: EMBRAPA-CNPAC, 1990. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/192388>>. Acesso em: 31 de maio de 2018.
- CARVALHO, DDC; MELLO, SCM; JÚNIOR, ML; SILVA, MC. Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *Phaseoli* in vitro e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. *Tropical Plant Pathology*, Brasília, v.36, n.1, p.028-034, 2011. Disponível em:<<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/36873/1/tp.pdf> >. Acesso em: 12 de jun. de 2018.
- CHAMBERLAIN, DW; GRAY, LE. Germination, seed treatment and microorganisms in soybean seed produced in Illinois. *Plant Disease Reporter*, Washington, 1974.
- DENNIS C, WEBSTER J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* I. Production of non-volatile antibiotics. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 57: 25-39. 1971.
- AKRAMI, M.; GOLZARY, H.; AHMADZADEH, M. Evaluation of different combinations of *Trichoderma* species for controlling *Fusarium* rot of lentil. *African Journal of Biotechnology*, v.10, p.2653-2658, 2011.

- DIAS, MCF. Extração e avaliação da atividade reguladora do crescimento de plantas por compostos produzidos por *Trichoderma spp.* 2014. 76p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2014.
- DILDEY, ODF; BARBIAN, JM; GONÇALVES, LB; ETHUR, LZ; KUHN, OJ; BONETT, LP. Inibição do crescimento in vitro de *Sclerotinia sclerotiorum*, causador de mofo branco, por isolados de *Trichoderma spp.* *Rev. Brasileira de Biociências*. Porto Alegre, v. 12, n. 3, p. 132-136, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.18378/rvads.v10i1.3040> >. Acesso em: 18 de jun. de 2018.
- DOSSA, D; FUCHS, F. Tomate: análise técnico-econômica e os principais indicadores da produção nos mercados mundial, brasileiro e paranaense. *Boletim Técnico 03*. Agosto de 2017. Disponível em: <<http://www.ceasa.pr.gov.br>>. Acesso em: 29 de maio de 2018.
- FILGUEIRA, FAR. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa, ed.3, p.216, 2013.
- FILHO, RC; DIANESE, ÉC; CUNHA, GC. Supressão da murcha de fusário em tomateiro por rizobactérias do gênero *Bacillus*. *Pesq. Agropec. Trop.*, Goiânia, v. 45, n. 3, p. 356-363, 2015.
- GAUR, RB; SHARMAM, RN. Biocontrol of root rot in cotton and compatibility of potential bioagents with fungicides. *Indian Journal of Plant Protection*, v.38, p.176-182, 2010.
- HARMAN, GE. Multifunctional fungal plant symbionts: new tools to enhance plant growth and productivity. *New Phytologist*, v.189, p. 647–649, 2011.
- HARMAN, GE; HOWELL, CR; VITERBO, A; CHET, I; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature reviews/Microbiology*, London, v. 2, n.1, p. 43–56, 2004.
- HERMOSA, R; VITERBO, A; CHET, I; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*, v. 158, p. 17-25, 2012.
- HOFFMANN, CA; CHAGAS, LFB; SILVA, DP; CHAGAS JUNIOR, AF; G SCHEIDT, GN. Potencial de antagonismo de isolados de *Trichoderma sp.* contra o isolados de *Fusarium sp.*, in vitro. *Revista Verde*, v. 10, n.1, p. 236 – 242, 2015.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento sistemático da produção agrícola, Rio de Janeiro, v. 29, n. 8, p. 1-79, ago. 2015.

ISAIAS, CO; MARTINS, I; SILVA, JBT; SILVA, JP; MARQUES de MELLO, SC. Ação antagônica e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp. contra os patógenos *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae*. *Summa phytopathol.*, vol.40, n.1, p.34-41, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-54052014000100005>> Acesso em 01 de jun. de 2018.

KHALILI, E; SADRAVI, M; NAEIMI, S; KHOSRAVI, V. Biological control of rice brown spot with native isolates of three *Trichoderma* species. *Braz. J. Microbiol.*, vol.43, n.1, p.297-305. 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822012000100035>>. Acesso em: 18 de junho de 2018.

KUROZAWA, C; PAVAN, MA. Doenças do tomateiro. Em: KIMATI, H; AMORIN, L; REZENDE, JAM; BERGAMIN FILHO, A; CAMARGO, LEA. (Ed.). Manual de Fitopatologia: *doenças das plantas cultivadas*. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2005. V.2, p.607-626.

LEITE, RMVB de C. Ocorrência de doenças causadas por *Sclerotinia sclerotiorum* em girassol e soja. Embrapa Soja, *Comunicado técnico 76*. Londrina, 2005. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/busca-de-publicacoes/-/publicacao/467525/ocorrencia-de-doencas-causadas-por-sclerotinia-sclerotiorum-em-girassol-e-soja>>. Acesso em: 31 de maio de 2018.

LOPES, CA; REIS, A; BOITEUX, LS. Doenças Fúngicas. Em: LOPES CA; ÁVILA, AC. (Orgs). *Doenças do Tomateiro*. Brasília: Embrapa Hortaliças. 48p.

LOUZADA, GAS; CARVALHO, DDC; MELLO, SCM; LOBO JÚNIOR, M; MARTINS, I; & BRAÚNA, LM. Antagonist potential of *Trichoderma* spp. from distinct agricultural ecosystems against *Sclerotinia sclerotiorum* and *Fusarium solani*. *Biota Neotrop.* Vol.9, n.3, 2009. Disponível em:<<http://www.biotaneotropica.org.br/v9n3/en/abstract?inventory+bn02509032009>>. Acesso em jun. de 2018.

LUZ, JMQ; SHINZATO, AV; SILVA, MAD. Comparação dos sistemas de produção de tomate convencional e orgânico em cultivo protegido. *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 23, n. 2, p. 7-15, 2007. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/6842/4531>>. Acesso em 05 de jul. de 2018.

MACEDO, VM. Isolados de *Trichoderma* spp. como agentes promotores de crescimento e indutores de resistência em citros. 2014. 112p. Dissertação (Mestrado em Agroecologia e desenvolvimento rural) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 2014. Disponível em: <<https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/174>>. Acesso em: 12 de jun. de 2018.

MAGUIRE, JD. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, Madison, v. 2, n. 1, jan./feb. 1962. 176-177p.

MARCO, J.L.D.; VALADARES-INGLIS, M.C.; FELIX, C.R. Production of hydrolytic enzymes by *Trichoderma* isolates with antagonistic activity against *Crinipellis pernicios*a the causal agent of witches broom of cocoa. *Braz. J. Microbiol.* v.34, n.1, p.33-38. 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1517-83822003000100008&script=sci_arttext>. Acesso em: 18 de jun. de 2018.

MARQUES, E; MARTINS, I; MELLO, SCM. Antifungal potential of crude extracts of *Trichoderma* spp. *Biota Neotrop.* Vol.18 no.1, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1676-0611-bn-2017-0418>>. Acesso em 05 de jul. de 2018.

MELO, NC.; SOUZA, LC.; SILVA, VF.; GOMES, RF.; NETO, CFO.; COSTA, LPC. Cultivo de tomate (*Solanum Lycopersicum*) hidropônico sob diferentes níveis de fósforo e potássio em solução nutritiva. *Agroecossistemas*, v.6, n.1, p.10-16, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.18542/ragros.v6i1.1845>>. Acesso em: 05 de jun. de 2018.

MILANESI, PM; BLUME, E; ANTONIOLI, ZI; MUNIZ, MFB, SANTOS, RF; FINGER, G; DURIGON, MR Biocontrole de *Fusarium* spp. com *Trichoderma* spp. e promoção de crescimento em plântulas de soja. *Revista de Ciências Agrárias*, 36(3): 347-356, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871-018X2013000300010>. Acesso em 19 de jun. de 2018.

MONTALVÃO, SCL. Potencial de *Trichoderma* spp. no biocontrole de doenças do tomateiro. 2012. 105p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia), Universidade de Brasília. Brasília. 2012. Disponível em: <<http://repositorio.unb.br/handle/10482/11223>>. Acesso em: 11 de jun. de 2018.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYŻANOWSKI, FC; VIEIRA, RD; FRANÇA NETO, JB. Vigor de sementes: *conceitos e testes*. Londrina: Abrates, 1999.

OLIVEIRA, MF. De; SILVA, MG; VAN DER SAND, ST. Anti-phytopathogen potential of endophytic actinobacteria isolated from tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) in southern Brazil, and characterization of *Streptomyces* sp. R18(6), a potential biocontrol agent. *Research in Microbiology*, v.161, ed.7, p. 565–572, 2010.

PATEKOSKI, KS; PIRES-ZOTTARELLI, CLA. Patogenicidade de *Pythium aphanidermatum* a alface cultivada em hidroponia e seu biocontrole com *Trichoderma*. *Pesq. agropec. Bras.* vol.45, n.8, pp.805-810.2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2010000800005>>. Acesso em: 12 de jun. de 2018.

PEDRO, EAS; HARAKAVA, R; LUCON, CMM; GUZZO, SD. Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. *Pesquisa agropecuária brasileira*, São Paulo, vol.47, n.11, p.1589-1595, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2012001100005>>. Acesso em: 1 de jun. de 2018.

PEDRO, EAS; HARAKAVA, R; LUCON, CMM; GUZZO, SD. Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. *Pesq. agropec. Bras.*, v.47, n.11, pp.1589-1595, 2012. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2012001100005>>. Acesso em: 13 de jun. de 2018.

PHONGPAICHIT, S; NIKOM J; RUNGJINDAMAI, N; SAKAYAROJ, J; HUTADILOKTOWATANA, N; RUKACHAISIRIKUL, V; KIRTIKARA, K. Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from *Garcinia* plants. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, v. 51, p. 517-525, 2009.

PORTO, BL. Avaliação do potencial de controle biológico da mancha marrom de alternaria com *Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis* e fertilizante organomineral. 2016. 62 f.: il. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2016.

RAJENDIRAN, R; JEGADEESHKUMAR, D; SURESHKUMAR, BT; NISHA, T. *In vitro* assessment of antagonistic activity of *Trichoderma viride* against post harvest pathogens. *Journal of Agricultural Technology*, Bangkok, v. 6, n. 1, v. 31-35, 2010.

RODRIGUES, J. *Trichoderma* spp. associado a níveis de adubação NPK no patossistema *Sclerotinia sclerotiorum*-feijoeiro. 2010. 85f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Área de Concentração Fitopatologia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

ROESE, AD; VIDAL, GS; ZIELINS, EC; MAY DE MIO, LL. Native *Trichoderma* grown on oat grains controls damping-off and enhances height in soybean. *Pesq. Agropec. Trop.*, v. 47, n. 1, p. 102-109, 2017. Disponível em: <www.agro.ufg.br/pat>. Acesso em: 11 de jun. de 2017.

SABANDO-ÁVILA, F; MOLINA-ATIENCIA, LM; GARCÉS-FIALLO, FR. *Trichoderma harzianum* en pre-transplante aumenta el potencial agronómico del cultivo de piña Freddy. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.12, n.4, p.410-414, 2017. Disponível em: <10.5039/agraria.v12i4a5468 >. Acesso em: 11 de Jun. de 2018.

SANTIN, MR. Uso de fertilizantes organo-minerais e indutores de resistência no desempenho agronômico do tomateiro estaqueado. 2012. xi, 114f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)—Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

SCHWARZ, K.; RESENDE, JTV; PRECZENHAK, AP; PAULA, JT; FARIA, MV.; DIAS, DM. Desempenho agronômico e qualidade físicoquímica de híbridos de tomateiro em cultivo rasteiro. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.31, n.3, p.410-418, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0102-05362013000300011>>. Acesso em: 05 de jun. de 2018.

SEAB/DERAL. **Olericultura – análise da conjuntura agropecuária**. 2016. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/2018/Olericultura_2017_18.pdf>. Acesso em 01 de junho de 2018.

SHARMA, V; JOSHI, R; GULATI, A. Seasonal clonal variations and effects of stresses on quality chemicals and prephenate dehydratase enzyme activity in tea (*Camellia sinensis*). *Eur Food Res Technol*, v. 232, p. 307 – 317, 2011.

SILVA, GBP; HECKLER, LI; SANTOS, RF; DURIGON, MR; BLUME, E. Identificação e utilização de *trichoderma* spp. armazenados e nativos no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum*. *Rev. Caatinga*, Mossoró, vol.28, n.4, pp.33-42, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252015v28n404rc> >. Acesso em 31 de maio de 2018.

SILVA, VN; GUZZO, SD; LUCON, CMM; HARA KAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. *Pesq. agropec. Bras.*, v.46, n.12, p.1609-1618, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2011001200005>>. Acesso em 13 de jun. de 2018.

TOLEDO, M. V.; JOSÉ RENATO STANGARLIN, J. R.; CARLOS MOACIR BONATO, C. M. Controle da pinta preta e efeito sobre variáveis de crescimento em tomateiro por preparados homeopáticos. *Summa Phytopathol.*, Botucatu, v. 41, n. 2, p. 126-132, 2015.

TOMAZONI, EZ; PAULETTI, GF; RIBEIRO, RTS.; SCHWAMBACH, J. *Atividade antifúngica in vitro dos óleos essenciais de Pinus elliottii e Pinus taeda sobre o fungo patógeno de tomateiro Alternaria solani sorauer.* *Caderno pedagógico*, Lajeado, v. 11, n. 1, p. 68-77, 2014.

VIEIRA NETO, J; GONÇALVES, PAS. Resíduos de agrotóxicos em pepinos para conserva in natura e industrializados. *Horticultura Brasileira*, v.34, p.126-129, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620160000100019>>. Acesso em: 05 de junho de 2018.

VINALE, F; SIVASITHAMPARAM, K; GHISALBERTI EL; MARRA, R, WOO SL; LORITO, M. *Trichoderma-plant-pathogen interactions.* *Soil Biology & Biochemistry*, v.40 p.1-10. 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0038071707002908>>. Acesso em 12 de jun. de 2018.

VINALE, F; SIVASITHAMPARAM, K; GHISALBERTI, E; MARRA, R; BARBETTI, M; LI, S; WOO, S. e LORITO, M. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v. 72, p.80-86, 2008.

ANEXO A

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

- Scope and editorial policy
- Form and preparation of manuscripts
- Send of the manuscripts

Scope and editorial policy

Arquivos do Instituto Biológico aims to publish in Portuguese, English or Spanish original high quality scientific articles, which contribute significantly to the development of the Agricultural Sciences, in the field of animal and vegetal sanity, related to agribusiness and its implication in the agri-environment, including quality and food safety. It is also accepted papers on urban pests. The journal supports and follows the principles and standards recommended by COPE (Committee on Publication Ethics), an international organization reference on integrity and ethics in scientific publishing. Thus, the entire process, selection criteria and journal publication follow the conduct rules and ethics in accordance with http://publicationethics.org/files/u2/New_Code.pdf.

A cover letter should come along with the manuscript describing the importance of the work in the field, qualifying it for publication in Arquivos do Instituto Biológico. In addition, a statement signed by the corresponding author on behalf of all authors, must be attached as a supplementary document in the designated area in the online system where the authors state that:

a) the data contained in the manuscript is original and authentic, so there is no fraud and/or plagiarism derivations (all received manuscripts are subjected to a software to detect plagiarism); b) the manuscript was not submitted for publication in any other printed or electronic vehicle; c) the manuscript content is authors' responsibility, who assume they have contributed significantly to research and must provide retractions or correct mistakes if necessary. In case of doubt, see the [Singapore Statement](#); d) in case of conflicts of interest, they will be manifesting, which will subsequently be examined by the Editorial Committee.

Additional information:

Studies involving: 1- animal experimentation and/or genetically modified organisms must be approved by the Ethics and Biosafety Committee, mentioning the process number in the paper and a copy of the approval provided by the correspondent responsible Committee of the author's home institution must be forwarded; 2- plants must have the prior registration and deposit of this material (vouchers) in registered collections and accessible to the public, with the inclusion of its identification number on the manuscript. 3- DNA sequences must have the accession number in enabled databases informed in the manuscript.

The manuscripts submitted to Arquivos do Instituto Biológico are preliminarily analysed by the Editorial Committee. During the pre-analysis, the Committee checks if it fits in the scope and merit for publication. The manuscripts that do not match the editorial requirements or that need to be redrafted will be rejected without a review. The preselected manuscripts will be submitted to critical analysis of at least 2 Scientific Consultants (ad hoc) chosen by specialists in the field of the submitted article. The Scientific Consultant also fills an evaluation form. The acceptance of the article is in agreement with the Editor-in-chief of the Editorial Committee. In case the article is rejected by part of the Scientific Consultants,

the Associate-Editor will issue his conclusive technical opinion. The reviews and the conclusive technical opinion will be forwarded to the authors for corrections, justifications and presentation of the new version of the draft, which is compared to the original version by the Editor-in-chief of the Editor Committee. Once it is accepted, the article is forwarded to reference, abstract and vernacular review. After the layout change, the text is submitted to final corrections by the authors and by the Editorial Committee. All articles are published following the approval order.

The fare for publication in the journal *Arquivos do Instituto Biológico* is R\$ 60,00 (sixty Brazilian reais) per diagrammed page.

After the work is accepted, as communicated by the editor-in-chief, the authors must deposit the total amount of this fee to the account Fundação de Desenvolvimento da Pesquisa do Agronegócio - FUNDEPAG (CNPJ 50.276.237/0001-78) [Banco do Brasil (001), bank branch 4328-1, bank account 30.200-7 or Banco Santander (033), bank branch 0637, bank account 13-001316-9]. A copy of the proof of deposit must be sent by fax or e-mail, mentioning the work's publication ID number, to: +(55-11) 5087-1790 or Email: arquivos@biologico.sp.gov.br

Form and preparation of manuscripts

To be considered for publication, the work must be either a scientific article or scientific communication, although the Editorial Committee will also accept review articles, at its discretion.

Scientific article: consists of the following items: title, name(s) of the author(s), address of the corresponding author and place of origin of the other authors, abstract, keywords, translated title, translated abstract, translated keywords, followed by the introduction, materials and methods, results, discussion, conclusions, acknowledgments and references.

Scientific communication: consists of the following items: title, name(s) of the author(s), address of the corresponding author and place of origin of the other authors, abstract, keywords, translated title, translated abstract, translated keywords, followed by the text without subdivisions, acknowledgments and references. Scientific publication is a brief report, its publication is immediate as this is an relevant original fact but its content is insufficient for a scientific article.

Review article: consists of the following items: title, name(s) of the author(s), address of the corresponding author and place of origin of the other authors, abstract, keywords, translated title, translated abstract, translated keywords, followed by the text without subdivisions, and references.

Presentation: the works must be submitted in Microsoft WORD format (.doc or .docx), page-size A4, margins 2.5 cm, size 12 Times New Roman font, double spaced, with continuous page numbering using the Layout tool in the Page Setup or Page Layout menu item. The maximum number of pages is 25 for review articles, 20 for scientific articles and 10 for scientific communications, including tables and figures.

Language: the work can be written in Portuguese, English or Spanish. When written in Portuguese, the translated title, abstract and keywords will be in English. When written in English or Spanish, the translated title, abstract and keywords will be in Portuguese.

Title: although brief, the title should tell precisely what the article is about, focusing on its main purpose.

Name (s) and Address (es) of the author(s): should not be included in the manuscript body because Arquivos do Instituto Biológico uses double blind peer review. This information should be inserted in the specific field of the online submission system.

Abstract: should concisely present the aim of the work, the materials and methods and conclusions, in a single paragraph. The length must not exceed 250 words.

Keywords: under the abstract and separated by a space, provide at most five keywords separated by commas. Avoid terms that appear in the title.

Translation of title, abstract and keywords: works in Portuguese must provide a translation of the title, abstract and keywords in English. Works in English or Spanish must provide a translation of the title, abstract and keywords in Portuguese. The length of the abstract must not exceed 250 words.

Introduction: describe the nature and the purpose of the work, its relation with other research studies in the context of existing knowledge, along with the reason why the present study was carried out.

Material and methods: present a description that is brief yet sufficient to allow for the repetition of the work. Previously published techniques and processes, except when modified, should be merely cited. Scientific names of species and of drugs should be cited in accordance with international standards.

Results: accompanied by tables and/or figures when necessary. The tables and figures should be inserted after the references.

Discussion: discuss the results obtained, comparing them with those of other published works (results and discussion may be combined within a single section).

Tables and figures: include a clear and concise title that allows the table or figure to be understood without consulting the text. The tables should not contain vertical lines. In the text, use the abbreviated word (e.g.: Fig. 3). The figures must be in the format jpg (photos) or gif (graphics and diagrams), of a size less than 500 Kb. The original or higher-definition figures will be requested after the submission is approved for publication. These should be sent in individual files and named according to the number of the figure, for example Fig1.gif, Fig2.jpg.

Conclusions: presented in their order of importance. They can be given in a separate section or as part of the discussion.

Acknowledgments: these may refer to people and/or institutions. In case of funding agency, the financing process number must be included.

References and citations in the text: the citations in the text and references are directly linked. It is recommended around 25 references to articles and scientific communications. All of the authors cited should be included in the references. The citation of authors should be presented in the format of author's last name and the year of the publication, and should be in small caps, for example: one author Allan (1979) or (Allan, 1979); two authors – Lopes; Macedo (1982) or (Lopes; Macedo, 1982); more than two authors – Besse et al.

(1990) or (Besse et al., 1990); coincidences of authors or year of publication – (Curi, 1998a), (Curi, 1998b) or (Curi, 1998a, 1998b). The references should be formatted according to NBR 6023/2002, of the Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), and be in alphabetical order by first author, as in the examples in the following link:

The following examples will serve as a guideline for the formatting and presentation of references:

a) Periodical article
 ANDRÉA, M.M. ; PETTINELLI JÚNIOR, A. Efeito de aplicações de pesticidas sobre a biomassa e a respiração de microrganismos de solos. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v.67, n.2, p.223-228, 2000.

b) Article in periodical published on Internet
 FELÍCIO, J.D.; SANTOS, R. da S.; GONÇALES, E. Componentes químicos de *Vitis vinifera* (Vitaceae). Arquivos do Instituto Biológico., São Paulo, v.68, n.1, p.47-50, 2001. Disponível em: <http://www.biologico.br/arquivos/v68_1/9>. Acesso em: 5 mar. 2002.

c) Dissertations and Theses
 PERES, T.B. Efeito da aplicação de pesticidas na atividade microbiológica do solo e na dissipação do ¹⁴C-Paration Metílico. 2000. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciências - Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2000.
 SIMONI, I.C. Utilização de diferentes linhagens celulares para propagação do vírus da doença infecciosa da bursa. 2001. 77f. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular - Área de Microbiologia) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

d) Dissertation/Thesis published on Internet
 BATISTA, A.S. Saccharomices cerevisiae em milho armazenado e o efeito na redução de aflatoxicoses. 2001. 96p. Dissertação (Mestrado – Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br>> Acesso em: 28 jun. 2005.

e) Entire books, brochures, etc.
 BECKMANN, N. (Ed.). Carbon-13 NMR spectroscopy of biological systems. San Diego: Academic Press, 1995. 334p.

f) Part of a book (chapter, passage, fragment, etc.)
 Chapter or part without specific authorship – author of the part is the same author as the overall work
 ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J.D. Cell junctions, cell adhesion, and the extracellular matrix. In: _____. Molecular biology of the cell. 3th.ed. New York: Garland Publications, 1994. 1294p. Chap. 19.

Part with specific authorship

BANIJAMALI, A. Thyroid function and thyroid drugs. In: FOYE, W.O.; LEMKE, T.L.; WILLIAMS, D.A. (Eds). *Principles of medicinal chemistry*. 4th. Ed. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins, 1995. chap.30, p.688-704.

Send of the manuscripts

The original should be submitted only in electronic form at the address <https://mc04.manuscriptcentral.com/aib-scielo>.

