



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA

GUILHERME CHAVES DE HOLANDA

**CONTROLE DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* EM ALGODOEIRO COM
Trichoderma spp.**

AREIA

2022

GUILHERME CHAVES DE HOLANDA

**CONTROLE DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* EM ALGODOEIRO COM
Trichoderma spp.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal da Paraíba, como
requisito parcial à obtenção do título de
Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Prof. Dra. Luciana Cordeiro do
Nascimento.

AREIA

2022

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

H722c Holanda, Guilherme Chaves de.

Controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em
algodoeiro com *Trichoderma* spp. / Guilherme Chaves de
Holanda. - Areia:UFPB/CCA, 2022.

84 f. : il.

Orientação: Luciana Cordeiro do Nascimento.
TCC (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Agronomia. 2. Controle biológico. 3. Antagonismo.
4. Fusariose do algodoeiro. I. Nascimento, Luciana
Cordeiro do. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 631/635(02)

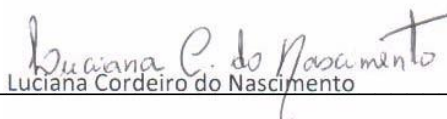
GUILHERME CHAVES DE HOLANDA

CONTROLE DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* EM ALGODOEIRO COM
Trichoderma spp.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal da Paraíba, como
requisito parcial à obtenção do título de
Engenheiro Agrônomo.

Aprovado em: 20/06/2022

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Luciana Cordeiro do Nascimento (Orientadora)

Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Dra. Otília Ricardo de Farias

Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



MS. José Manoel Ferreira de Lima Cruz

Universidade Federal da Lavras (UFLA)

A minha mãe, Sandra Regina e a minha avó, Amália Apolinario (*in memoriam*), pela criação, dedicação, amor, cuidado e apreço, **dedico**.

AGRADECIMENTOS

À Deus, criador da complexidade do universo, pela dádiva da vida, pela proteção e tantas bênçãos e oportunidades.

À Universidade Federal da Paraíba por todo suporte e ao CNPq pela concessão da bolsa. Ao Centro de Ciências Agrárias por ser esse campus tão acolhedor e de gente tão benévola e competente.

À minha mãe, Sandra Regina, por todo apoio, carinho e companheirismo durante essa caminhada. Sem ela a trajetória teria sido extremamente árdua, quiçá impossível.

Ao meu pai, José Mariozan, por mesmo distante sempre se mostrar presente e me apoiar em todas as decisões da minha vida.

Ao meu irmão, Gutierrez, pelas caronas e por ter nos agraciado com a vida de Liz Maria.

Aos meus avós, especialmente minha vó Amália (*in memoriam*) e meu avô Sebastião (Batú) por todo suporte e carinho ao longo da vida. À minha tia Catarina pelo grande apreço.

Aos meus tios/padrinhos, Solange e Hermani, por sempre estarem presente em minha vida e por terem me proporcionado tantas coisas boas. Às minhas primas Kamylla e Hortênsia por tamanha parceria. À minha prima Herllange e o agregado Hugo por tanta hospitalidade e por ter nos presenteado com a vida de Benício e Amália.

À minha amada Maria Olivia, por todo amor e carinho, por ser minha confidente, meu braço amigo e ombro consolador. À sua família, especialmente a Normanda, Francisco e Raphael por sempre terem sido tão cordiais.

À minha turma de Agronomia 2016.2 por tanta união e por tantos momentos compartilhados juntos que serão lembrados para todo o sempre, especialmente a Amanda Fernandes (Florzinha), Anne Alicia, Antônio Fernando (FBR), Aurélio Santiago (Harry), Aysla Mireli, Bruno Marinho, Edmilson Gomes (Ed), Erasmo Venâncio (Fechoso), Ilário Dantas, Jackeline Germano (Dino), Jessica Sousa (Galega), João Paulo (Menino do Acre), Jordy Marinho (Jordynho), Kagiaany (Kagi), Laura Cristina, Maria Eduarda (Duda), Raiff Ramos (Toisso), Robson Eduardo, Vaneilson da Silva e Vinicius Rodrigues (Baiano).

Ao professor Helder Farias, por ter sido minha primeira referência no curso. Profissional, cientista e pesquisador de excepcional qualidade. Graças ao seu convite a um projeto de extensão e indicação, me desdobrei em uma cascata de projetos de pesquisa.

À professora Naysa Flávia por ter sido minha primeira orientadora durante a graduação e tanto aprendizado. À todo o Laboratório de Melhoramento de Plantas, especialmente a Laís Tomaz (Txia), Adriana Pricilla (Pomonha), Gabriela Rochaforte (Biscoitão), Thamires Hana (Luci), Silvio Lisboa (Fagner) e Rubens Rangel. Os momentos junto a vocês no Cariri Paraibano serão eternos.

À professora Adriana Ferreira Martins pela orientação e companheirismo durante a condução do projeto de pesquisa. Ao professor Flávio Pereira e ao técnico Roberval pelo apoio no Laboratório de Física do Solo.

À minha orientadora Luciana Cordeiro do Nascimento por ter me aceitado no estágio e pelos dois projetos de pesquisas, onde o último resultou nesse TCC. Agradeço as oportunidades, orientação, confiança, apoio e amizade.

Aos companheiros do Laboratório de Fitopatologia, especialmente à Hilderlane Florêncio, Edcarlos Camilo, Mirelly Porcino, Valdeir Oliveira, José Manoel, Robson Monteiro, Jakeline Florêncio, Silvana Nunes, Francisca Souto, Magaly Morgana, Thamillys, Wagner Magno e Lucimere Xavier, pela boa convivência e ajuda na condução deste experimento.

Aos grandes amigos da vida, especialmente à Vitor Costa, Gabriel Victor, Isaac Santos, Vinicius Guimarães, Allan Vinicius (*in memoriam*), Valeska Leal, Heloisa Souto, Renally Souto, Clara Souza, Brenna Policarpo, Lucas Azevedo, Felipe Pê, Tályson Silva, Elvis Sangelis. À vocês meu grande carinho.

À Mário Vital por tantas conversas, conselhos, orientações, companhia de viagem e por ter me salvado no dia da matrícula indo a João Pessoa às pressas.

A todos os excelentes professores que fazem parte da grade curricular e que contribuíram fortemente para meu aprendizado. A todos os técnicos, terceirizados e demais funcionários que permitem que o CCA aconteça.

A todos aqueles que contribuem cientificamente para a evolução da humanidade e que agem como gigantes que podemos nos segurar em seus ombros.

À Banca Examinadora, Dra. Otília Ricardo de Farias e Ms. José Manoel Ferreira de Lima Cruz, por além de serem importantes referências neste trabalho, contribuíram com sugestões valiosas para a melhoria deste.

A todos aqueles mencionados aqui ou não, que contribuíram para minha formação quanto pessoa, profissional e para que fosse possível finalizar essa grande etapa.

Aqui jaz a materialização dessa memória tão incrivelmente particular.

Muito obrigado!

“Com efeito, nada é pequeno; quem quer que tenha experimentado as profundas penetrações da natureza sabe disso...

... Quem é que conhece os fluxos e refluxos recíprocos do infinitamente grande e do infinitamente pequeno, o ecoar das causas nos precipícios do ser, e as avalanches da criação? O menor ser vivo tem importância; o pequeno é grande, o grande é pequeno; tudo está em equilíbrio na necessidade; assustadora visão para o espírito. Entre os seres e as coisas há relações prodigiosas; nesse inesgotável conjunto, desde o sol até o pulgão, nada deve ser desprezado; temos necessidades um dos outros. A luz não carrega os perfumes terrestres pelo espaço sem saber o que faz deles; a noite distribui essência estelar para flores adormecidas. Todos os pássaros voadores trazem nas patas o fio do infinito. A germinação se complica com a eclosão de um meteoro e com a bicada de uma andorinha quebrando o ovo, e põe de frente o nascimento de um verme e o advento de Sócrates. Onde termina o telescópio e começa o microscópio? Qual dos dois tem maior alcance? Escolham. Uma mancha de bolor é uma plêiade de flores; uma nebulosa é um formigueiro de estrelas.”

Victor Hugo em “Os Miseráveis”, pp. 928-929, 1862.

RESUMO

O *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (*Fov*) é um fungo saprofítico que pode causar murcha, escurecimento vascular e morte de plantas de algodoeiro. O *Fov* apresenta eficientes formas de sobrevivência através de estruturas de resistência, colonização de tecido lenhoso e associação às sementes. Por sua vez, o uso de sementes de alta qualidade sanitária é indispensável para alta produtividade e manter o campo sadio. Devido o *Fov* ter capacidade de sobrevivência em condições adversas, o manejo da doença é um desafio e o uso de fungicidas sintéticos tem baixa eficiência. O manejo utilizando agentes de controle biológico é uma alternativa eficiente. Dentre os agentes, fungos do gênero *Trichoderma* são utilizados como antagonistas aos fitopatógenos e geram incremento de aspectos fisiológicos a planta. O trabalho teve como objetivo avaliar o *Trichoderma* spp. no controle de *Fov*. Realizou o isolamento de *Trichoderma* spp. em solos de áreas produtoras de algodoeiro. Para condução dos experimentos, utilizou-se os tratamentos que consistiram de sete diferentes isolados de *Trichoderma* spp., (02, 06, 11, 12, TS, TH e 729), fungicida Captana, testemunha com o patógeno e testemunha positiva. O *Fov* utilizado foi o isolado CNPA 007 oriundo da Embrapa Algodão. Efetuou, *in vitro*, teste de dupla cultura, metabólitos voláteis, não voláteis e não voláteis termoestáveis, inibição de germinação de conídios e micoparasitismo. As sementes de algodoeiro foram obtidas de produtores do município de Ingá e avaliada a qualidade sanitária e fisiológica por meio do *Blotter test*, teste de germinação e emergência. O controle biológico foi realizado em casa de vegetação e avaliado altura de planta, diâmetro do caule, comprimento de raiz, matéria seca, índice de clorofila a e b, fluorescência da clorofila (a) e trocas gasosas nas plantas de algodoeiro. No teste de dupla cultura com inoculação simultânea os tratamentos inibiram 47% do crescimento micelial do patógeno. Em metabólitos voláteis, os tratamentos inibiram 83% da esporulação do *Fov*. Nos metabólitos não voláteis termoestáveis, o isolado 02 inibiu 50% do crescimento micelial e 92% da esporulação do *Fov*. No teste de micoparasitismo todos os isolados foram eficientes. Os isolados inibiram de 65 a 100% da germinação dos conídios do *Fov*. Para o teste de sanidade, os tratamentos reduziram 98% a incidência do patógeno em sementes. Na qualidade fisiológica, os tratamentos com o *Trichoderma* apresentaram aumento de sementes mortas. No controle biológico *in vivo* o tratamento com os isolados reduziu a taxa de infecção do *Fov*, geraram incremento de altura de planta, diâmetro de caule, matéria seca da parte aérea e raiz e melhoria na fluorescência da clorofila (a). O tratamento apenas com *Fov* apresentou correlação negativa com variáveis de fotossíntese nos componentes principais. Todos os isolados de *Trichoderma* spp. apresentaram controle do *Fov in vitro*. Na qualidade fisiológica houve comprometimento na germinação e emergência, mas reduziu a incidência de patógenos associados as sementes. Os tratamentos com TH, TS e 729 possibilitaram maior desenvolvimento das plantas de algodoeiro, gerando maior rendimento de matéria seca e funcionalidade do sistema fotossintético e reduziram a taxa de infecção do *Fov* nas plantas.

Palavras-Chave: controle biológico; antagonismo; furariose do algodoeiro.

ABSTRACT

Fusarium oxysporum f. sp. *vasinfectum* (*Fov*) is a saprophytic fungus that can cause wilting, vascular browning and death of cotton plants. *Fov* presents efficient forms of survival through resistance structures, colonization of woody tissue and association with seeds. In turn, the use of high quality sanitary seeds is essential for high productivity and keeping the field healthy. Because *Fov* has the ability to survive in adverse conditions, disease management is a challenge and the use of synthetic fungicides has low efficiency. Management using biological control agents is an efficient alternative. Among the agents, fungi of the genus *Trichoderma* are used as antagonists to phytopathogens and generate an increase in the physiological aspects of the plant. The objective of this work was to evaluate *Trichoderma* spp. in control of *Fov*. He performed the isolation of *Trichoderma* spp. in soils of cotton producing areas. To conduct the experiments, treatments were used consisting of seven different isolates of *Trichoderma* spp., (02, 06, 11, 12, TS, TH and 729), fungicide Captana, control with the pathogen and absolute control. The *Fov* used was the CNPA 007 isolate from Embrapa Algodão. It carried out, *in vitro*, a double culture test, thermostable volatile, non-volatile and non-volatile metabolites, inhibition of conidia germination and mycoparasitism. Cotton seeds were obtained from producers in the municipality of Ingá and their sanitary and physiological quality was evaluated using the Blotter test, germination and emergence test. The biological control was carried out in a greenhouse and evaluated plant height, stem diameter, root length, dry matter, chlorophyll a and b index, chlorophyll a fluorescence and gas exchange in cotton plants. In the double culture test with simultaneous inoculation, the treatments inhibited 47% of the mycelial growth of the pathogen. In volatile metabolites, treatments inhibited 83% of *Fov* sporulation. In thermostable non-volatile metabolites, isolate 02 inhibited 50% of mycelial growth and 92% of *Fov* sporulation. In the mycoparasitism test, all isolates were efficient. The isolates inhibited from 65 to 100% of the germination of *Fov* conidia. For the sanity test, the treatments reduced the incidence of the pathogen in seeds by 98%. In terms of physiological quality, treatments with *Trichoderma* showed an increase in dead seeds. In the *in vivo* biological control, the treatment with the isolates reduced the rate of *Fov* infection, generated an increase in plant height, stem diameter, shoot and root dry matter and an improvement in chlorophyll (a) fluorescence. Treatment with *Fov* alone showed a negative correlation with photosynthesis variables in the main components. All isolates of *Trichoderma* spp. showed control of *Fov* *in vitro*. In terms of physiological quality, germination and emergence were compromised, but the incidence of pathogens associated with the seeds was reduced. The treatments with TH, TS and 729 allowed greater development of cotton plants, generating greater dry matter yield and functionality of the photosynthetic system and reduced the rate of *Fov* infection in plants.

Keywords: biological control; antagonism; cotton wilt

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. <i>Fusarium oxysporum</i> e suas estruturas morfológicas	18
Figura 2. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i> : sintoma em plantas de algodoeiro, crescimento e estruturas morfológicas.	20
Figura 3. Estrutura reprodutiva assexuada de <i>Trichoderma</i> sp. e crescimento micelial	23
Figura 4. Localização dos pontos de coleta de solo para isolamento de <i>Trichoderma</i> spp.....	30
Figura 5. Isolados 02 (A), 06 (B), 11 (C) e 12 (D) de <i>Trichoderma</i> spp. obtidos dos pontos de coleta.....	44
Figura 6. Sintomas de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i> (Fov) em plântulas de algodoeiro aos 21 dias após a semeadura.	45
Figura 7. Teste <i>in vitro</i> de dupla cultura confrontando isolados de <i>Trichoderma</i> spp. com o <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i> em inoculação simultânea e <i>Trichoderma</i> spp. 72 horas após o Fov.	46
Figura 8. Teste <i>in vitro</i> de metabólitos voláteis, não voláteis e não voláteis termoestáveis utilizando diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> spp. no controle de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i> após 7 dias de cultivo.	47
Figura 9. Atividade micoparasita <i>in vitro</i> de <i>Trichoderma</i> spp. sobre <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	48
Figura 10. Inibição <i>in vitro</i> da germinação de conídios de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i> utilizando diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> spp em função do tempo.	49
Figura 11. Incidência de fungos em sementes de algodoeiro BRS Verde inoculadas com <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i> e <i>Trichoderma</i> spp.....	50
Figura 12. Teste de germinação e emergência em sementes de algodoeiro BRS Verde tratadas com <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i> e <i>Trichoderma</i> spp.....	52
Figura 13. Comprimento da parte aérea e da raiz de plantas de algodoeiro tratadas com <i>Trichoderma</i> spp. e submetidas ao teste de emergência.....	53
Figura 14. Taxa de infecção de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i> em plantas de algodoeiro BRS Verde oriundas de sementes tratadas com diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> spp.....	54
Figura 15. Avaliação das plantas de algodoeiro BRS Verde em casa de vegetação após 40 dias de plantio.....	55

Figura 16. Determinação da fluorescência da clorofila (a) medida através do rendimento do fotossistema II em plantas de algodoeiro BRS Verde tratadas com diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> spp.....	57
Figura 17. Análise de componentes principais das plantas de algodoeiro submetidas aos tratamentos com diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> spp.	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização dos pontos de coleta de solo para isolamento de <i>Trichoderma</i> spp.	29
Tabela 2. Isolados de <i>Trichoderma</i> spp utilizados com sua respectiva origem.	31
Tabela 3. Escala de classificação adaptada de Bell et al. (1982).....	32
Tabela 4. Controle biológico de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i> em sementes de algodoeiro previamente inoculadas com <i>Trichoderma</i> spp.	37
Tabela 5. Controle biológico de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i> em plântulas de algodoeiro em casa de vegetação.....	40
Tabela 6. Contribuição das variáveis analisadas em cada eixo dos componentes principais..	58

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivo específico	15
3 REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1 A cultura do algodoeiro	16
3.2 Doenças do algodoeiro	17
3.3 Murcha-de-Fusarium em algodoeiro	18
3.5 Gênero <i>Trichoderma</i>	21
3.5.1 Mecanismos de controle biológico e promoção de crescimento	23
3.6 Mercado biológico e importância de <i>Trichoderma</i> no controle biológico	25
3.7 Importância da qualidade de sementes	26
4 MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1 Localização experimental	29
4.2 Isolamento de <i>Trichoderma</i> spp. em solos de áreas produtoras	29
4.3 Isolados de <i>Trichoderma</i> spp. utilizados	30
4.4 Obtenção do isolado de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i> (Fov) e patogenicidade	31
4.5 Controle in vitro de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	32
4.5.1 Teste de dupla cultura	32
4.5.2 Metabólitos voláteis	33
4.5.3 Metabólitos não voláteis	34
4.5.4 Metabólitos não voláteis termoestáveis	34
4.5.5 Micoparasitismo	35
4.5.6 Inibição da germinação de conídios	35
4.6 Teste de sanidade em sementes microbiolizadas com <i>Trichoderma</i> spp.	36
4.7 Teste de germinação e emergência em sementes tratadas com <i>Trichoderma</i> spp.	38
4.7.1 Teste de germinação	38
4.7.2 Teste de emergência	39
4.7.3 Comprimento e massa seca da parte aérea e raízes	39
4.8 Controle biológico in vivo de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	40
4.8.1 Índices foliares de clorofila e fluorescência da clorofila (a)	41
4.8.2 Trocas gasosas	42

4.8.3 Teste de colonização endofítica e Taxa de infecção.....	42
4.9 Design experimental e análise estatística.....	43
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1 Obtenção de isolados de <i>Trichoderma</i> spp.	44
5.2 Verificação de patogenicidade	45
5.3 Teste de dupla cultura	45
5.4 Metabólitos voláteis, não voláteis e não voláteis termoestáveis.....	46
5.5 Micoparasitismo.....	48
5.6 Inibição germinação de conídios	48
5.7 Teste de sanidade em sementes de algodoeiro.....	49
5.8 Teste de germinação e emergência de sementes de algodoeiro tratadas com <i>Trichoderma</i> spp.	51
5.9 Controle biológico de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i> em sementes tratadas de algodoeiro	53
5.9.1 Florescência da clorofila (a)	56
5.9.2 Análise dos Componentes Principais.....	58
6 CONCLUSÕES.....	60
REFERÊNCIAS	61
APÊNDICE A – PRANCHAS DE TESTES <i>IN VITRO</i>	80

1 INTRODUÇÃO

O algodoeiro, pertencente ao gênero *Gossypium*, é uma cultura de grande importância socioeconômica, considerada a fibra têxtil de maior importância mundial e também reconhecida como uma oleaginosa de grande potencial econômico (ZHANG et al., 2021a). A espécie *Gossypium hirsutum* L., corresponde a 95% do total da produção mundial, sendo a espécie de algodão mais cultivada no mundo (YANG et al., 2019). Atualmente o Brasil é o quarto maior produtor mundial de algodão, com área cultivada de 1,67 milhão de hectares e produção de 1,8 milhão de toneladas, representando 10,6% da produção mundial na safra 2019/2020 (USDA, 2021). A variedade BRS Verde apresenta fibra naturalmente verde clara e possui a vantagem de dispensar tingimento sintético, porém é suscetível a doenças (CARVALHO et al., 2011; COSTA et al., 2019)

O algodoeiro pode ser acometido por várias doenças bióticas, causadas por diversos patógenos, principalmente os fungos (SUSHEEL; RAJKUMAR, 2022). *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (*Fov*) é um fungo saprofítico que causa a Murcha-de-Fusarium do algodoeiro, com sintomas que podem aparecer em qualquer estágio do desenvolvimento da cultura, como escurecimento do feixe vascular, murcha e até a morte da planta (COX JR et al., 2019). A dificuldade existente em controlar esse fungo é em decorrência da sua capacidade de sobreviver no solo em estruturas de resistência, como o clamidósporo, além de ser capaz de colonizar tecido vascular lenhoso, restos culturais e sementes (GORDON, 2017).

A semente é um dos principais insumos para a produção agrícola e a sua qualidade apresenta uma imensa importância, devido principalmente estar relacionada a altos rendimentos em campo (ELMASRY et al., 2020). O uso de sementes infectadas é um sério problema no cultivo de plantas por serem fontes de disseminação de muitos patógenos, inclusive o *Fov* (KHATUN et al 2018). Dessa forma, uso de sementes de alta qualidade sanitária é indispensável para manter o campo sadio e altamente produtivo (SILVA et al., 2021).

Uma alternativa de amenizar o uso de produtos sintéticos é através do controle biológico (FERREIRA et al., 2020), uma vez que o controle de *Fov* via sementes é realizado eficientemente com fungos do gênero *Trichoderma* (FARIAS et al., 2019). Esses fungos também são saprofíticos, apresentam rápido crescimento e mecanismos contra os fitopatógenos, como: competição por nutrientes, micoparasitismo e antibiose (ZIN; BUDALUDDIN, 2020). Além da proteção contra patógenos, o tratamento de sementes com *Trichoderma* garante aumento da taxa de germinação e vigor das sementes, melhor absorção e solubilização de nutrientes, promoção de crescimento e indução de resistência (XUE et al., 2017)

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Avaliar a eficiência de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (*Fov*)

2.2 Objetivo específico

- Obter isolados de *Trichoderma* spp. de áreas produtoras de algodoeiro;
- Verificar a eficiência dos isolados de *Trichoderma* spp. no controle do *Fov in vitro*;
- Determinar a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de algodoeiro variedade BRS Verde inoculadas com *Trichoderma* spp. e com *Fov*;
- Determinar a eficiência do *Trichoderma* spp. em controlar o *Fov in vivo* através da microbiolização das sementes;
- Verificar a influência do *Trichoderma* spp. em promoção de crescimento e benefício fotossintético em algodoeiro.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A cultura do algodoeiro

O algodoeiro pertence ao gênero *Gossypium*, família Malvaceae (ZHANG et al., 2014) e as quatro espécies de interesse econômico são: *Gossypium barbadense* (Egípcio), *G. arboreum* e *G. herbaceum* (Indiano) e o *G. hirsutum* (Upland) (ARMSTRONG; ARMSTRONG, 1960; GOWDA et al., 2022), sendo este último de grande importância econômica e considerada a espécie de algodoeiro mais plantada no mundo, correspondente a 95% do total da produção (CHEN et al., 2007; MA et al., 2008; YANG et al., 2019).

O algodoeiro é uma cultura fibrosa e oleaginosa de grande importância mundial (ULLOA et al., 2020) que proporciona benefícios aos seres humanos e animais como forma de excelente matéria prima (GAO et al., 2020), produzindo cerca de 35% do total de fibras utilizadas no mundo (ZHANG et al., 2014), sendo considerada a fibra têxtil de maior importância mundial (CHEN et al., 2007; ZHANG et al., 2021a) e uma das oleaginosas de grande potencial econômico (ZHANG et al., 2015) principalmente por seus subprodutos, como o óleo e a torta, oriundos das sementes (COCCO, 2012). Os principais países produtores são Índia, China e Estados Unidos que na safra 2018/19 apresentaram produção de 5,77, 3,99 e 3,5 milhões de toneladas, respectivamente (AYDOĞDU et al., 2021).

O cultivo do algodoeiro no Brasil teve início nos primeiros anos da colonização (COSTA; BUENO, 2004). Atualmente o país é o quarto maior produtor mundial, com área cultivada de 1,67 milhão de hectares e produção 1,8 milhão de toneladas, representando 10,6% da produção mundial na safra 2019/2020 (USDA, 2021). A maior área produtora de algodoeiro no Brasil se encontra do bioma Cerrado, com produção de 95% da safra total. Inserido no bioma, os estados de Minas Gerais e Bahia apresentam destaque de produção (ABRAPA, 2021). Seguindo a tendência mundial, a espécie mais cultivada no Brasil é o algodão Upland, também denominado como algodão de fibra média, e seu uso se consolidou pela alta produtividade, qualidade de fibra e adaptação ambientes diversificados no território brasileiro (RAPHAEL et al., 2019).

Morfologicamente, o algodoeiro é uma planta ereta, anual ou perene. O fruto é do tipo cápsula deiscente, com 3 a 5 lóculos com 6 a 8 sementes por lóculo. O fruto antes de atingir a maturidade fisiológica é chamado de “maçã”, e quando alcança é denominado de “capulho”. Apresenta sistema radicular pivotante, semente piriforme, oblonga e a testa pode ser nua ou recoberta por dois tipos de fibra: a comercial e o línter (BELTRÃO; SOUZA, 1999). As fibras, que podem apresentar cor variável, são originadas das células da epiderme da semente e

possuem características agronômicas importantes, podendo citar o comprimento, finura, maturidade e resistência (VIEIRA et al., 2008).

Na história da indústria têxtil sempre foi preferível o uso de algodão de fibra branca por ser mais fácil de tingir e assim obter tecidos de qualquer cor. O algodão de fibra naturalmente colorida, de origem tão antiga quanto o branco, era tido como contaminante, uma vez que através de cruzamento entre as linhagens poderiam afetar as brancas. Entretanto, o cultivo do algodão naturalmente colorido está aumentando cada vez mais, devido ao processo de tingimento causar impacto ambiental significativo e ser prejudicial para as pessoas com problemas de alergias (LIMA et al., 2006; CARVALHO et al., 2009; CARDOSO, 2011).

No ano de 1996 foi realizado o cruzamento entre o material genético Arkansas Green de fibra verde, oriundo dos Estados Unidos, com a cultivar CNPA 7H, de fibra branca e de ampla adaptação na região do nordeste brasileiro. No ano de 2002 a Embrapa Algodão lançou a cultivar BRS Verde (*G. hirsutum*) que apresenta: fibra de coloração verde clara; resistência 25,86 gf tex⁻¹; comprimento de 29,56 (2,5% mm); produtividade em condições do Semiárido de 2.146 kg ha⁻¹; ciclo de 130 a 140 dias; altura média de 127 cm e com suscetibilidade a patógenos do solo e foliares (CARVALHO et al., 2009). Devido apresentar coloração natural e dispensar tingimento sintético, apresenta valor de mercado de 20 a 30% superior ao de fibra branca (COSTA et al., 2019)

3.2 Doenças do algodoeiro

A produção do algodoeiro pode ser acometida por várias doenças causadas por fungos, bactérias, vírus e nematoides. Quanto as de etiologia fúngica, destacam-se a ferrugem tropical (*Phakopsora gossypii*) (ARAUJO et al., 2016), mancha da alternária (*Alternaria macrospora*) (PRASAD et al., 2018), mancha de estenfílio (*Stemphylium solani*) (MEHTA, 2001), mancha de micotécio (*Myrothecium roridum*) (MEYER et al., 2006), mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) (AMSELEM et al., 2011), mancha de ramulária (*Ramularia areola*) (GIROTTI et al., 2013), ramulose (*Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*) (MORAN; FIGUEROA, 2017), murcha de verticillium (*Verticillium dahliae*) (SHABAN et al., 2018)

Outros fungos, como *Peronospora gossypina*, *Stilbum nanum* f. sp. *gossypina*, *Verticillium* sp., *Fusarium* sp., *Cercospora gossypina*, *Nectria* sp., *Giberela gossypina*, *Colletotrichum gossypinum*, *Phyllosticta gossypina*, *Sphaeroderma gossypii*, *Nematospora gossypii*, *Penicillium* sp., *Rhizophus* sp., *Cephalothecium roseum*, *Alternaria* sp., *Botryodiplodia* sp., *Cladosporium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Phomopsis* sp., *Phoma* sp., *Ascochyta* sp., *Diplodia* sp., *Neurospora* sp., *Aspergillus* spp., *Nigrospora* spp. e *Alternaria gossypina* são

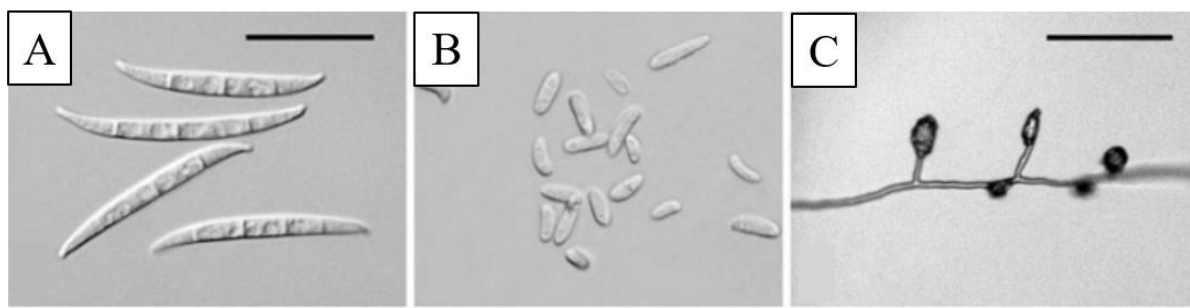
agentes causais da podridão de maçãs e *Rhizoctonia solani*, *Lasiosipodia theobromae*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Glomerella gossypii* e *Colletotrichum gossypii* formam o complexo de fungos que causam tombamento de plântulas (CIA; SALGADO, 2005) e a Murcha-de-Fusarium (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) (DAVIS et al., 2006)

3.3 Murcha-de-Fusarium em algodoeiro

Fusarium oxysporum Schlechtend. é um fungo saprófito de solo, estando presente em áreas cultivadas e não cultivadas (MANDEEL et al., 1995). O gênero *Fusarium* pertence ao filo Ascomycota, classe Sordariomycetes e ordem Hypocreales (LESLIE; SUMMERREL, 2006; MICHELSE; MARTIJN, 2009), é um fungo assexuado (MA et al., 2010) de ocorrência em solos de todo o mundo (LIEVENS et al., 2008). Este patógeno está em quinto lugar entre os dez mais importantes para as culturas de importância agrícola, devido aos danos ocasionados, resultando em grandes perdas econômicas (DEAN et al., 2012).

A taxonomia morfológica de *F. oxysporum* é baseada principalmente nas estruturas reprodutivas assexuadas, com ênfase nos microconídios não septados formados em cabeças falsas de monofiálides curtas, macroconídios septados formados a partir de monofiálides em conidiófotóramos ramificados em esporodóquios, e clamidósporos (FOURIE et al., 2011) (Figura 1).

Figura 1. *Fusarium oxysporum* e suas estruturas morfológicas



A: Macroconídios; B: Microconídios; C: Microconídios em falsas cabeças. Barras: A e B: 25 µm, C: 50 µm. Fonte: LESLIE; SUMMERELL (2006)

As espécies fitopatogênicas são divididas em *formae speciales* (f. sp.), que consiste de uma ou várias linhagens clonais que correspondem a grupos de compatibilidade vegetativa (EDEL-HERMANN; LECOMTE, 2019). Essas espécies podem causar murcha vascular ou podridão radicular em mais de 100 espécies de plantas, sendo várias culturas economicamente importantes (ARMSTRONG; ARMSTRONG, 1981; GORDON; MARTYN, 1997; HERMMAN-EDEL; LECOMTE, 2019).

F. oxysporum f. sp. *vasinfectum* WC Synder & HN Hans (*Fov*) é o agente causal da Murcha-de-Fusarium do algodoeiro ou também chamada de fusariose do algodoeiro (DAVIS et al., 2006; MACHADO et al., 2009). O patógeno foi identificado em 1892 em algodoeiro no estado do Alabama, Estados Unidos (ATKINSON, 1892). No Brasil, a primeira constatação foi em 1935, com material oriundo da Estação Experimental de Alagoinha, Paraíba. Nesse caso, as plantas pertenciam a variedade “Texas” com sementes oriundas do Estado de São Paulo (KRUG, 1936).

A Murcha-de-Fusarium representa ameaça crescente na produção de algodão em áreas produtoras em todo o mundo, principalmente por ser considerada uma das doenças mais destrutivas da cultura (CIA; SALGADO, 2005; ZHANG et al., 2015; SANOGO; ZHANG, 2016). Além da distribuição global do *Fov*, a fusariose pode acometer as quatro espécies de algodão cultivados: *Gossypium arboreum* L., *G. barbadense*, *G. herbaceum* e *G. hirsutum* L. (ARMSTRONG; ARMSTRONG, 1960; GOWDA et al., 2022)

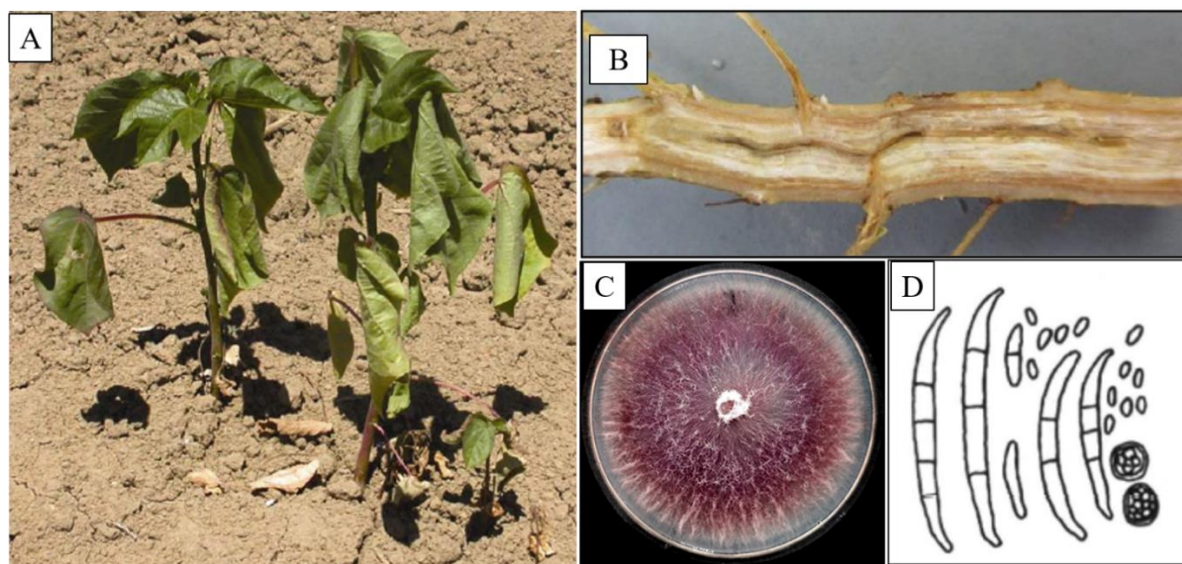
Os sintomas da Murcha-de-Fusarium podem aparecer em qualquer estágio de desenvolvimento da cultura (ZHANG et al., 2021b) (Figura 2A, B). Em plântulas, ocorre o amarelecimento, murcha dos cotilédones e até a morte. Em plantas mais velhas os sintomas incluem atrofia, murcha, clorose, necrose das folhas e morte da planta. O sintoma mais característico é a descoloração marrom-escura do sistema vascular (DAVIS et al., 2006; CIANCHETTA et al., 2015), devido ao fungo colonizar o xilema e impedir o transporte de água e nutrientes, ou através de próprios mecanismos de defesa da planta como tilose, calose ou géis, ocasionando o escurecimento do mesmo (SUASSUNA; COUTINHO, 2007; SMITH, 2007; COX JR et al., 2019). O sintoma de murcha também pode ser atribuído a fitotoxinas excretadas pelo patógeno nos vasos do xilema (SINGH et al., 2017). Entretanto, plantas infectadas podem ou não apresentar a descoloração vascular, a depender do nível de virulência (HAO et al., 2009).

Alguns fatores podem influenciar o desenvolvimento da doença no campo, como: virulência da população do *Fov*, densidade de inóculo, suscetibilidade do hospedeiro, idade da planta, temperatura entre 25 a 32 °C associada a alta umidade, tipo e fertilidade do solo, interação com microrganismos do solo, como os nematoides (BEDENDO, 1995; DAVIS et al., 2006; HAO et al., 2009; MACHADO et al., 2009)

Quando cultivado em meio de cultura, o *Fov* produz pigmento violeta característico (Figura 2C). Apresenta macroconídios fialosporos (produzidos sobre fiálides) hialinos, alongados, geralmente com 3 a 5 septos com dimensões de 3 a 5 x 25 a 35 µm, levemente curvos e acanoados (formato de foice) com célula basal característica também denominada de célula pé. Seus microconídios podem ser fialosporos (monofiálides curtas) ou blastósporos, que

são esporos produzidos por brotamento na ponta do conidióforo (chamado de falsas cabeças), são uni ou bicelulares, elípticos, hialinos, muito numerosos com dimensões médias de 3 a 5 x 5 a 12 μm (SMITH, 2007; BHANDARI et al., 2020) (Figura 2D)

Figura 2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*: sintoma em plantas de algodoeiro, crescimento e estruturas morfológicas.



A: Murcha em plantas de algodoeiro ocasionado pelo *Fov*; B: Escurecimento vascular característico do fungo em plantas de algodoeiro; C: Crescimento micelial em placa de Petri; D: Estruturas morfológicas do *Fov*. Fonte: A: DAVIS et al. (2006); B: COX JR (2019); C: HOLANDA, G. C. (2022); D: SMITH (2007)

A sobrevivência do *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* no solo está relacionado com o clamidósporo, estrutura de resistência, que permanecem em fungistase até que matéria orgânica fresca ou exsudatos e lixiviados das plantas estimulem sua germinação (GORDON, 2017). Além disso, o *Fov* apresenta a capacidade de colonizar raízes de outras plantas visando sua sobrevivência (SUBRAMANIAN, 1950). Os esporos se espalham pelo solo, restos de culturas e sementes (COX JR et al., 2019) e a junção dessas estratégias de sobrevivência em solos por longos períodos de tempo dificultam a erradicação do patógeno (DAVIS et al., 2006).

Devido o *Fov* ter capacidade de sobreviver em condições adversas, o manejo da doença é um desafio. Sementes infectadas podem anular a rotação de culturas, além de que a junção de rotação de culturas e o uso de fungicida sintético normalmente não são bem sucedidas. Outro agravante é o complexo nematóide-*Fov* que facilita a penetração do fungo, e, variedades resistentes a algumas raças de *Fov*, podem ser suscetíveis aos nematóides (DUBEY et al., 2007; COX JR et al., 2019).

3.4 Controle Biológico de Fitopatógenos

Uma alternativa de amenizar os problemas oriundos da quebra de resistência pelo uso excessivo de agrotóxicos e a contaminação do homem, animais e meio ambiente, é através do controle biológico (SILVA et al., 2019b; FERREIRA et al., 2020)

O controle biológico é conceituado como: “a redução da soma de inóculo ou das atividades determinantes da doença, provocada por um patógeno, realizada por um ou mais organismos que não o homem” (COOK; BAKER, 1983). Os agentes de controle biológico para serem eficientes devem apresentar potencial para interferir nos processos vitais dos patógenos e serem adaptados as condições edafoclimáticas (MORANDI et al., 2009; CONINCK et al., 2020)

Por este motivo, o primeiro requisito do controle biológico é a identificação e implantação de cepas eficazes (SEN, 2012). A seleção de isolados nativos oriundos do solo visa a obtenção de cepas que estejam totalmente adaptadas as condições geoclimáticas locais, se desenvolva na rizosfera da cultura alvo e controle os patógenos de solo (CONINCK et al., 2020; YOUNESI et al., 2021), como o *Fov*

3.5 Gênero *Trichoderma*

Fungos do gênero *Trichoderma* são conhecidos como agentes de biocontrole de doenças de plantas desde os anos de 1930 (WEINDLING, 1932). A partir da década de 1990 começaram a serem utilizados lucrativamente como eficientes agentes biológicos na agricultura em todo o mundo devido a sua proeminente atividade contra uma grande gama de fitopatógenos (HARMAN, 2000; KESWANI et al., 2013). Devido sua eficiência, as espécies do gênero estão entre os agentes fúngicos de biocontrole de doenças vegetais mais estudados no mundo (HARMAN et al., 2004; ISAIAS et al., 2014).

A primeira descrição do fungo *Trichoderma* foi efetuada por Persoon em 1794 com base no material coletado na Alemanha (PERSOON, 1794). Em 1865 foi proposto uma ligação reprodutiva entre *Trichoderma* (fase assexual) e *Hypocrea rufa* (fase sexual) (TULASNE; TULASNE, 1865). Entretanto, as espécies que foram atribuídas aos gêneros *Trichoderma* e *Hypocrea* eram difíceis de distinguir devido a poucos caracteres morfológicos e similaridade entre eles. Visando facilitar a identificação, foi proposto agregar tudo em uma única espécie, *Trichoderma viride* (SAMUELS, 2006). Porém, em 1969 foi iniciado o processo de identificação (RIFAI, 1969) e a partir disso diversas espécies para os dois gêneros foram descritas (DRUZHININA et al, 2006; SCHUSTER; SCHMOLL, 2010). Devido ao uso da

filogenia molecular para definir espécies, a prática da dupla nomenclatura fora abandonada em 2013 e prevaleceu o nome mais antigo: *Trichoderma* (ROSSMAN et al., 2013).

O gênero *Trichoderma* é formado por fungos filamentosos, saprófitos (SAMUELS, 1996), pertencentes a classe Sordariomycetes, ordem Hypocreales e ao filo Ascomycota. Apresenta mais de 250 espécies aceitas e identificadas através da filogenia molecular (ZHU et al., 2017). São fungos saprófitos de solo capazes de micoparasitar fungos e nematóides fitopatogênicos, além de induzir resistência e estimular o crescimento da planta, e favorecer a solubilização de nutrientes inorgânicos (DUBEY et al., 2007; DRUZHININA et al., 2011).

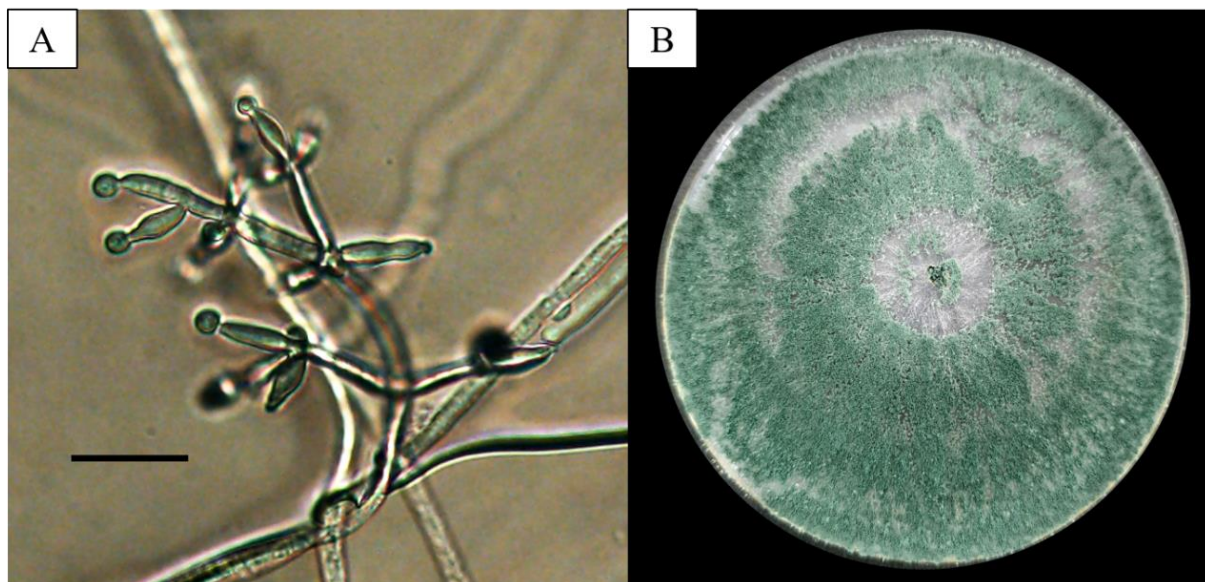
O *Trichoderma* mudou totalmente o cenário do controle biológico de plantas no Brasil, com datas importantes, como sua inserção em 1987 com grãos de sorgo colonizado por *T. viride* para o controle de *Phytophthora cactorum*, aumento da sua produção e uso a partir dos anos 2000 e primeiro registro em 2006. Produtos à base de *Trichoderma* representaram área tratada no Brasil em 2010 de 1,2 milhões de hectare, atingindo 5 milhões de hectares no ano de 2015 (BETTIOL et al., 2014; BETTIOL et al., 2019).

Nas espécies que se conhece a reprodução sexuada, essa é caracterizada pela formação de peritécio, formados por ascos cilíndricos, composto em estromas de cor verde, amarela, creme ou marrom, produzidos sobre o substrato colonizado (JAKLITSCH, 2009). Para a reprodução assexuada, no micélio vegetativo são formados conidióforos com um eixo central e ramificações laterais, que terminam em espirais divergentes de células conidiogênicas do tipo fiálide, podendo apresentar formato de garrafa ou alongada (Figura 3A). No ápice das fiálides, são formados os conídios unicelulares, esféricos, ovais ou alongados. Os conídios podem ser agregados em pústulas ou em formas de tufos. Quando cultivado em meio de cultura, a colônia pode apresentar coloração branco-amarelado e verde (Figura 3B) (MACHADO et al., 2012; ABREU; PFNNING, 2019).

As espécies do gênero são de vida livre, de rápido crescimento e que podem ser encontradas no solo, na rizosfera, na espermosfera, de forma endofítica em plantas, como decompositores de madeiras, em outros fungos e em matéria orgânica (EVANS et al., 2003; HARMAN et al., 2004; MUKHERJEE et al., 2022) sendo a maioria das espécies compostas de parasitas de fungos macroscópicos e apodrecedores de madeiras (DRUZHININA et al., 2011). Apesar de ser um gênero de distribuição cosmopolita, sendo encontrado tanto em ambientes tropicais como temperados (SUN et al., 2012; GUZMÁN-GUZMÁN et al., 2019), algumas espécies são amplamente distribuídas e outras são limitadas a determinados sítios geográficos (SAMUELS, 2006). Além da sua distribuição, espécies do gênero foram encontradas em

condições extremas como em solo Antártico (HUGHES et al., 2007), em tanques de querosene (KLEIN; EVELEIGHT, 1998) e no deserto do Saara (MONTE et al., 2019).

Figura 3. Estrutura reprodutiva assexuada de *Trichoderma* sp. e crescimento micelial



A: Estrutura reprodutiva com conidióforo, células conidiogênicas e esporos; B: Crescimento micelial de *Trichoderma* sp. em placa de Petri. Barras: 20 μm Fonte: HOLANDA, G. C. (2022)

As espécies de *Trichoderma* que agem como oportunistas ambientais, apresentam características em comum, como: ampla distribuição geográfica, rápido crescimento, colonização agressiva, eficiência de parasitar ou preda outros fungos e capacidade de estabelecer relações benéficas com as plantas (DRUZHININA et al., 2011; WOO et al., 2014). Dentro desse grupo é possível encontrar as espécies: *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. harzianum* e *T. virens*, que são utilizados para fins agrícolas como antagonistas biológicos de fitopatógenos e promotores de crescimento vegetal (WOO et al., 2014).

3.5.1 Mecanismos de controle biológico e promoção de crescimento

Espécies de *Trichoderma* spp. apresentam uma série de mecanismos que garantem a capacidade antagônica à fungos e benefício às plantas, podendo citar: micoparasitismo, metabólitos secundários, competição por espaço e nutrientes, inibição do crescimento de patógenos na rizosfera, agentes de promoção de crescimento, solubilização de nutrientes inorgânicos e indução de resistência (BENITEZ et al., 2004; WOO et al., 2007; SHARMA, 2011; ZIN; BADALUDDIN, 2020).

O micoparasitismo ocorre, resumidamente, em 4 fases distintas, sendo elas: i) sinalização da presa através de sinais obtidos em consequência de proteases liberadas; ii) momento de anexação a hifa da presa, geralmente precedida pelo crescimento lado a lado da

hifa hospedeira e pela formação de papilas, que se ligam a hifa. Esporos também podem se aderir a hifa do patógeno e vim a germinar a posteriori; iii) resposta de defesa da presa, sendo induzido genes para a resposta adversa que pode acometer, como choque térmico, estresse oxidativo e processos de desintoxicação; iv) morte da presa, onde é resultado de ações sinérgicas de metabólitos secundários antifúngicos e enzimas hidrolíticas da parede celular (DRUZHININA et al., 2011). O processo de micoparasitismo também afeta a nematoides (SAHEBANI; HADAVI, 2008).

Em relação aos metabólitos secundários, são compostos quimicamente diversos, que podem ser voláteis e não-voláteis (ISAIAS et al., 2014) e estão envolvidos em vias de sinalização, desenvolvimento, interação com outros organismos e que apresentam caráter de antibiose (GHISALBERTI; ROWLAND, 1993; RAMADA et al., 2019). O fungo *Trichoderma* apresenta milhares de compostos distribuídos em mais de 120 estruturas moleculares (REINO et al., 2008; HERMOSA et al., 2014).

A atividade antifúngica *in vitro* dos metabólitos secundários produzidos por *Trichoderma* demonstraram eficiência no controle de fungos fitopatogênicos, como *Botrytis*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Stachybotrys*, *Colletotrichum*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Gaeumannomyces* e Oomycetos *Phytophthora* e *Pythium* (HERMOSA et al., 2014).

Devido seu rápido crescimento, esporulação abundante e mecanismos para limitar o desenvolvimento de outros fungos, espécies de *Trichoderma* competem diretamente por recursos que podem ser nutrientes, oxigênio, espaço físico, luz, entre outros (DRUZHININA; KUBICEK, 2013; MONTE et al., 2019). Esse fator pode ser uma desvantagem quando se estuda a diversidade de fungos no solo, uma vez que o *Trichoderma* sobressai em relação a outros fungos de crescimento mais lento, mas de igual importância para o funcionamento do ecossistema do solo (ABREU et al., 2019).

Em relação aos benefícios a plantas, pesquisas demonstram o aumento do comprimento e número de raízes em plantas inoculadas com *Trichoderma* (NASEBY et al., 2000), incremento na matéria seca de parte aérea (BAKER et al., 1984; FARIAS et al., 2019), além de aumento de germinação de sementes, favorecimento ao crescimento de mudas (VINALE et al., 2013), promoção de crescimento, melhor arquitetura radicular (GARNICA-VERGARA et al., 2016), redução por estresses abióticos como deficiência hídrica, nutrientes e salinidade (MASTOURI et al., 2012; BROTMAN et al., 2013), além de regular positivamente processos como fotossíntese, condutância estomática, trocas gasosas e assimilação de nutrientes (SOOD et al., 2020). Estes efeitos são em função da interação do *Trichoderma* com a planta que pode provocar diminuição dos níveis de etileno (GRAVEL et al., 2007), promover síntese de ácido

indole-3-acético (AIA) ou análogos da auxina, solubilização de fosfato (OLIVEIRA et al., 2012), produção de pirona 6-PP (GARNICA-VERGARA et al., 2016) e aumento da eficiência do uso de nitrogênio nas plantas (HARMAN, 2011).

Quanto a indução de resistência em plantas, esta pode ser obtida de duas formas: resistência sistêmica adquirida (do inglês: *system acquired resistance*: SAR), em resposta a patógenos biotróficos, avirulentos ou não patogênicos, e induzida (do inglês: *induced systemic resistance*: ISR), como consequência de microrganismos rizosféricos e rizobactérias (RAMADA et al., 2019). A ativação das respostas de defesa se diferencia tanto pelo eliciador como pelas vias de sinalização, onde SAR é mediada pelo ácido salicílico e a ISR através do ácido jasmônico (HARMAN et al., 2004; PASCHOLATI et al., 2019). Estirpes de *Trichoderma* podem ativar as duas formas de indução de resistência, tanto SAR como ISR, e culminam na liberação de substâncias como hidroperóxido-liase, peroxidase e fenilalanina amônia-liase, responsáveis pela indução de lignificação, como também a planta libera compostos fenólicos que impedem a maior colonização dos patógenos (HARMAN et al., 2004; DRUZHININA et al., 2011; HERMOSA et al., 2012).

3.6 Mercado biológico e importância de *Trichoderma* no controle biológico

No cenário global atual, em função do aumento constante da população mundial e danos produzidos pelas mudanças climáticas, garantir alta produtividade e qualidade exige o uso de estratégias sustentáveis e eficientes (POVEDA, 2021a), onde muitas vezes é tida como um dos principais desafios para a produção agrícola (RAMÍREZ-VALDESPINO et al., 2019)

O uso do controle químico contra fungos muitas vezes é antieconômico, além de trazer problemas para o meio ambiente, como: poluição das águas subterrâneas, perda de flora benéfica não alvo e evolução de variantes com resistência a fungicidas (SEN, 2012). O biocontrole de fitopatógenos de solo está se tornando uma estratégia importante por apoiar a agricultura sustentável (CONINCK et al., 2020)

O mercado global de biopesticidas em 2020 foi estimado em US\$ 4,3 bilhões e está projetado com uma taxa de crescimento anual de 14,7%, podendo atingir US\$ 8,5 bilhões em 2025 (MARKETS&MARKETS, 2020). Por outro lado, a taxa para o mercado de pesticidas químicos está prevista em 2,3% até o ano de 2023 (BETTIOL et al., 2019). A Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológico, que representam 70% do mercado, demonstraram que o ano de 2018 teve receita de R\$ 464,5 milhões, ocorrendo acréscimo de 70% quando comparado ao ano de 2017, sendo o mais expressivo da história do setor no país, além de superar o índice do mercado internacional de 17% (BRASIL, 2019)

Dentro os biopesticidas que são registrados no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) as espécies de *Trichoderma*: *T. afrohazianum*, *T. asperellum*, *T. harzianum* e *T. stromaticum* pertencem a classe de fungicida microbiológico e o *T. koningiopsis* a nematicida microbiológico. Estes estão distribuídos 38 produtos registrados, sendo 47,4% tendo como princípio ativo *T. harzianum*, 26,3% *T. asperellum*, 18,4% mistura de *Trichoderma* spp. com *Bacillus* spp., 2,6% *T. koningiopsis*, 2,6% *T. afrohazianum* e 2,6% *T. stromaticum* (AGROFIT, 2022).

Diáz-Gutiérrez et al. (2021) utilizando *Trichoderma asperellum* no controle de *Fusarium* sp. que ocasiona murcha em estévia (*Stevia rebadiana*), conseguiram controlar o fungo, tanto no experimento *in vitro* como *in vivo*. Yu e Luo (2020) reduziram o tombamento de mudas de pinheiro-manso (*Pinus massoniana*) ocasionado por *Fusarium oxysporum* através da inoculação de *Trichoderma koningiopsis* em solo. Ferreira et al (2020) utilizando isolados de *Trichoderma* spp. da rizosfera de citros, conseguiram controlar cepas de *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Penicillium digitatum*, que apresentavam resistência a produto sintético. Metz e Haulsladen (2022) utilizando *Trichoderma harzianum*, *T. atroviride*, *T. hamatum* e *T. asperellum* no controle de *Alternaria solani*, patógeno de batata (*Solanum tuberosum*), todas as espécies apresentaram eficiência no controle da doença.

3.7 Importância da qualidade de sementes

Devido a semente ser o principal insumo para a produção da maioria das culturas, sua qualidade apresenta uma imensa importância agrícola, devido principalmente estar relacionada a altos rendimentos em campo e segurança alimentar, por esse motivo a qualidade física, genética, fisiológica e sanitária são indispensáveis quando se trata de cultivo de sementes (ELMASRY et al., 2020).

O uso de sementes com elevada qualidade sanitária é fundamental quando se busca plantas saudáveis em campo (VAZQUEZ; SÁ, 2015), uma vez que estas são um meio eficiente de sobrevivência e disseminação de agentes fitopatogênicos (CARVALHO et al., 2011). Os fungos fitopatogênicos que estão entre os principais microrganismos associados as sementes, podem ocasionar danos resultando em redução de germinação e vigor, morte de plântulas pré e pós emergidas e podridões radiculares (NASCIMENTO; MEDEIROS, 2015; AGRIOPOULOU et al., 2020; SOOD et al., 2020).

O algodoeiro é susceptível a um grande número de doenças, que além de reduzir a produtividade da cultura em campo, podem ser transmitidos por sementes, servindo de inóculo para contaminação de áreas isentas (SHAMSI; NAHAR, 2019). Khatun et al (2018) analisando

a diversidade de fungos associados a sementes de 14 variedades de algodoeiro (*G. hirsutum*), encontraram fungos do gênero *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Rhizoctonia*, *Rhizomucor* e *Syncephalastrum*, demonstrando como as sementes podem agir como na disseminação de patógenos.

Entre os fungos fitopatogênicos destaca-se o *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (*Fov*) (DAVIS et al., 2006). A capacidade da semente transmitir o *Fov* foi descrita pela primeira vez em 1923, o pesquisador também demonstrou que a partir do 7º mês de armazenamento da semente o fungo começou reduzir o potencial germinativo dos conídios, ficando evidente que sementes infectadas ocasionam transmissão para o campo e mantém os conídios viáveis por um considerável período de tempo (ELLIOTT, 1923).

A transmissão do *Fov* por sementes representa uma séria ameaça a produção de algodão, em função de ser uma via rápida de disseminação do patógeno entre regiões e continentes (SANOGO; ZHANG, 2016). As sementes podem ser infectadas em plantas sintomáticas e em assintomáticas, nesse caso atribuindo a penetração do tegumento das sementes em capulhos infestados, poeira de solo contaminado e através de máquinas agrícolas (DAVIS et al., 2006; BENNETT et al., 2008). Farias (2017) também demonstrou a transmissão de *Fov* por sementes de algodão.

O tratamento de sementes com uso de fungicidas químicos apresenta entraves em relação aos danos ocasionados ao meio ambiente, elevado custo (VINALE et al., 2008) e falta de eficiência para controlar o *Fov* (LAWRENCE et al., 2007). Por esse motivo, o controle biológico em sementes tem se mostrado promissor por diminuir transmissão de doenças de forma benéfica ao ecossistema e economicamente viável (CORREA et al., 2008; SANOGO; ZHANG, 2016; MOURA et al., 2018)

3.8 Controle biológico de patógenos em sementes com *Trichoderma*

Cepas do gênero *Trichoderma* spp. são utilizadas no tratamento de sementes e apresentam uma série de benefícios, como controle dos fitopatógenos, proteção a planta, aumento da taxa de germinação e vigor das sementes, aumento do crescimento e rendimento das plantas e melhor absorção de nutrientes (HARMAN, 2000; RESENDE, 2005; XUE et al., 2017)

Zhang et al (2019) tratando sementes de trigo (*Triticum aestivum*) com a cepa T6 de *Trichoderma longibrachiatum* promoveram germinação das sementes, aumentou o peso de parte aérea e das raízes da planta e ocasionaram em transcrição de enzimas sequestrantes de espécies reativas de oxigênio. Estévez-Geffriaud et al (2020) concluíram que o revestimento de

sementes de milho (*Zea mays*) com a cepa T34 de *Trichoderma asperellum* melhora o desempenho da cultura quando confrontada com estresse hídrico e melhora os parâmetros nutricionais e de grãos. Silva et al (2022) tratando sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) com *Trichoderma harzianum* verificaram a redução de *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Alternaria* nas sementes, além de não ter interferido negativamente na qualidade fisiológica, ainda proporcionou aumento nos percentuais de germinação.

Younesi et al (2021) ao tratar sementes de grão de bico (*Cicer arietinum*) com cepas de *Trichoderma longibrachiatum* e *T. harzianum*, detectaram controle em torno de 70% da murcha ocasionada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (Foc). Zaim et al (2018) também trabalhou com o grão de bico, obtiveram resultados que demonstram que plantas tratadas com *Trichoderma harzianum* apresentaram maior proteção ao Fov do que àquelas tratadas com *Bacillus subtilis*, porém a mistura de ambos possibilitou suprimir a doença em 93,67%.

Ferrigo et al (2020) ao aplicar a cepa INAT11 de *T. harzianum* nas sementes de milho, detectaram que reduziram a incidência de doenças por *Fusarium verticillioides* e *F. graminearum* em 37,1% e 30,7%, respectivamente. Kthiri et al (2020) tratando sementes de trigo duro (*Triticum durum*) com a cepa S.INAT e Triatum-T22 reduziram a incidência de *Fusarium culmorum* em 53,59 e 51,79%, respectivamente, além de terem aumentado a atividade da peroxidase, enzima de indução de resistência, em 50%. Pimentel et al (2020) utilizando isolados de *T. harzianum* e *T. asperellum* como revestimento de sementes de soja (*Glycine max*) foi eficiente para controlar o crescimento de *F. virguliforme* e reduzir a severidade e incidência da doença.

Diversos trabalhos demonstram a eficiência no tratamento de sementes com *Trichoderma*, sendo eficaz no controle de *Fusarium* spp. e trazendo benefícios as plantas, podendo citar: tratamento em sementes de pinus (*Pinus* spp.) (SILVA et al., 2019a), trigo (*Triticum aestivum*) (XUE et al., 2017), argan (*Agrania spinosa*) (SELLAL et al., 2020), milho (*Zea mays*) (CONINCK et al., 2020), tomate (*Solanum lycopersicum*) (JAMIL, 2021), feijão (*Phaseolus vulgaris*) (ISHIZUKA et al., 2020) e algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) (FARIAS et al., 2019), possibilitando ser uma forma eficiente no manejo de Fov em sementes.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Localização experimental

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fitopatologia – LAFIT, pertencente ao Departamento de Fitotecnia e Ciências Ambientais, Campus II – Centro de Ciências Agrárias (CCA), da Universidade Federal da Paraíba

4.2 Isolamento de *Trichoderma* spp. em solos de áreas produtoras

Coletou-se solo em áreas produtoras ou que foram cultivadas com algodoeiro na safra anterior (2021). Ao todo, foram coletados solos em seis localidades diferentes (Tabela 1, Figura 4). Em cada localidade, as coletas foram realizadas em zig-zag, na profundidade de 0-20 cm, para posteriormente compor uma amostra composta de 500 g. O material resultante da homogeneização foi acondicionado em sacos de polietileno e foram preservados em temperatura de -4 °C até sua utilização.

Tabela 1. Caracterização dos pontos de coleta de solo para isolamento de *Trichoderma* spp.

Ponto	Município	Descrição da área	Coordenadas geográficas
I	Remígio	Algodoeiro sob sistema agroecológico orgânico	6°52'58.93"S, 5°48'32.01"O
II	Areia	Algodoeiro na safra anterior (2021) sob sistema convencional	6°54'55.29"S, 35°45'7.30"O
III	Areia	Algodoeiro sob sistema convencional e tratamento da cultura com elicitores	6°58'13.02"S, 5°43'58.36"O
IV	Alagoinha	Algodoeiro sob sistema convencional, colheita mecanizada, após a colheita bovinos foram soltos na área	6°57'58.83"S, 35°33'7.41"O
V	Alagoinha	Algodoeiro colorido sob sistema convencional	6°58'11.70"S, 35°33'1.33"O
VI	Alagoinha	Algodoeiro com algodão sob sistema ILPF	6°58'53.89"S, 35°31'1.42"O

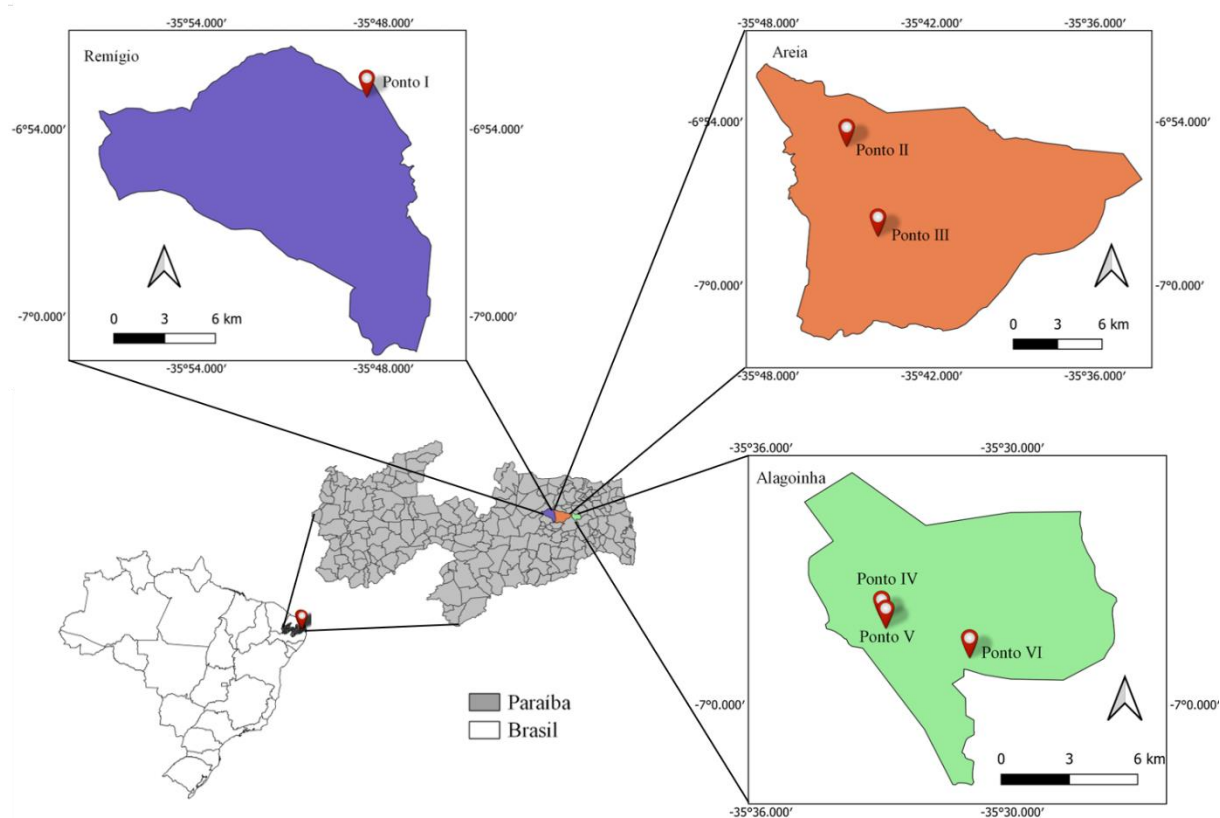
Fonte: HOLANDA, G. C. (2022).

Para o isolamento do *Trichoderma* spp. do solo, pesaram-se 10 g de solo de cada amostra, transferiu-se para um Erlenmeyer de 250 mL, adicionaram-se 90 mL de água destilada

esterilizada (ADE) e submetidas a agitação em um agitador magnético Modelo Fisatom 752 por 30 minutos a 180 rpm.

Foi retirado 1 mL da solução misturada com auxílio de uma pipeta e transferido para um tubo de ensaio contendo 9 mL de ADE para realização da diluição seriada. Foi retirado 1 mL dos tubos de 10^{-2} e 10^{-3} e transferido para placas de Petri (90 mm x 15 mm) contendo meio semi-seletivo Martin (1950). Durante 20 dias foi avaliado o crescimento de *Trichoderma* spp., sendo transferido para placa de Petri contendo meio batata-dextrose-água (BDA) e purificado para posterior utilização.

Figura 4. Localização dos pontos de coleta de solo para isolamento de *Trichoderma* spp. (Clique nos pontos para ver através do Google Maps).



Fonte: HOLANDA, G. C. (2022).

4.3 Isolados de *Trichoderma* spp. utilizados

Para a condução dos experimentos, sete isolados de *Trichoderma* spp. foram selecionados, sendo quatro oriundos dos pontos de coleta descritos na tabela 1 (02, 06, 11 e 12), escolhidos em função do rápido crescimento, esporulação e características específicas do gênero, como conidióforos em eixo central com ramificações laterais e terminação em células conidiogênicas do tipo fiálide (ABREU; PFNNING, 2019). Um isolado obtido a partir de

sementes de algodoeiro (TS), um isolado obtido a partir da produção *on farm* de *T. harzianum* (TS) e um obtido da Micoteca do LAFIT (CFF729), que teve origem de Mata Atlântica (CRUZ, 2021) (Tabela 2). Todos isolados foram depositados na coleção de fungos do LAFIT.

Tabela 2. Isolados de *Trichoderma* spp utilizados com sua respectiva origem.

Código LAFIT	Isolados	Origem
838	02	Município de Remígio – sistema agroecológico orgânico
839	06	Município de Areia – cultura tratada com elicitores
840	11	Município de Areia – sistema convencional na safra anterior
841	12	Município de Alagoinha – sistema ILPF
842	TS	Obtenção em sementes de algodão
843	TH	<i>Trichoderma harzianum</i> produção <i>on farm</i>
729	CFF729	<i>Trichoderma</i> sp. isolado de Mata Atlântica

Fonte: HOLANDA, G. C. (2022).

4.4 Obtenção do isolado de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (*Fov*) e patogenicidade

Foi utilizado o isolado CNPA 007 de *Fov*, pertencente à Coleção de Culturas de Microrganismos Fitopatogênicos da Embrapa Algodão (Campina Grande, PB). Para realização dos experimentos, o fungo foi retirado do método de conservação em Castellani (CASTELLANI, 1967) e multiplicado em meio de cultura BDA à temperatura de 25 ± 2 °C durante 7 dias.

A fim de comprovar a patogenicidade do isolado, o mesmo foi inoculado em plântulas de algodoeiro. Na casa de vegetação do LAFIT, utilizou-se dois vasos de polietileno com capacidade de 1 litro com 400 g de substrato comercial MecPlant® com quatro sementes do algodoeiro variedade BRS Verde em cada vaso. A inoculação no solo foi efetuada aos cinco dias após a semeadura, adicionando 10 mL da suspensão de *Fov* ajustada para 10^7 conídios.mL⁻¹. Após sete dias da primeira inoculação (13 dias após a semeadura), a planta foi ferida com agulha na região do colo e raiz, porção abaixo do substrato, e injetada 0,1 mL da suspensão com uma seringa (1 mL) (PASSADOR et al., 2010)

Após 21 dias da semeadura, o material foi retirado da casa de vegetação e em câmara de fluxo laminar efetuaram-se cortes de fragmentos pertencentes a região do colo e da raiz de cada plântula. Para assepsia do material, este foi imerso em álcool etílico (70%) por 30 segundos e NaClO (2,5%) por 60 segundos, com o excesso removido em água destilada por 60 segundos e secagem em papel de filtro. Os fragmentos foram depositados sobre o BDA

dispostos em placas de Petri e incubados em câmara de crescimento, sob a temperatura 25 ± 2 °C com fotoperíodo de 12 horas.

4.5 Controle in vitro de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*

4.5.1 Teste de dupla cultura

O teste foi realizado através da metodologia da dupla cultura (DENNIS; WEBSTER, 1971a) com modificações, sendo realizada de duas formas em momentos distintos: uma com inoculação simultânea dos dois fungos (*Fov* e *Trichoderma* spp.) e outra com inoculação do *Trichoderma* spp. 72 horas após inserção do *Fov*, de modo a compensar o rápido crescimento do antagonista (BUNBURY-BLANCHETTE; WALKER, 2019)

Discos ($\varnothing$ 5 mm) do patógeno e do antagonista, com 8 dias de cultivo, foram inseridos opostamente, distância de $5,5 \pm 0,5$ cm entre discos, em cada placa de Petri ($\varnothing$ 9 cm), contendo meio de cultura BDA. As placas foram incubadas a 25 ± 2 °C, com fotoperíodo de 12 horas. O tratamento testemunha consistiu em placas com o patógeno e na ausência antagonista.

Após sete dias da incubação nas condições acima descritas, foi realizada a classificação dos isolados de *Trichoderma* sp. de acordo com escala descrita por Bell et al. (1982), tabela 3

Tabela 3. Escala de classificação adaptada de Bell et al. (1982).

Classe	Ação do antagonico
1	<i>Trichoderma</i> spp. ocupa 100% de toda superfície do meio
2	<i>Trichoderma</i> spp. ocupa 75% da superfície do meio
3	<i>Trichoderma</i> spp. ocupa 50% da superfície do meio
4	<i>Trichoderma</i> spp. ocupa 25% da superfície do meio;
5	<i>Trichoderma</i> spp. não cresce e o patógeno ocupa toda a superfície da placa

Fonte: Bell et al. (1982)

No sétimo dia de avaliação, foi possível quantificar a zona de inibição (ZI) (ROYSE; RIES, 1978) e a inibição do crescimento micelial (I) (VINCENT, 1947), adotando a equação abaixo. Para a medição, foi utilizado paquímetro digital de precisão de 0.001 mm.

$$I (\%) = \left(\frac{R_1 - R_2}{R_1} \right) \times 100$$

Em que:

I: Porcentagem de inibição do crescimento micelial;

R1: Crescimento radial do patógeno (testemunha);

R2: Crescimento radial do patógeno com *Trichoderma* spp.

4.5.2 Metabólitos voláteis

A produção e ação dos metabólitos voláteis foi avaliada através da metodologia descrita por Dennis e Webster (1971b) utilizando o isolado virulento de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*.

Para execução do experimento, um disco da colônia de *Fov* e de *Trichoderma* spp. (Ø 5 mm) foram adicionados individualmente no centro da base inferior de diferentes placas de Petri contendo meio BDA, sendo as placas ajustadas e vedadas com papel filme. O tratamento testemunha consistiu pela sobreposição do patógeno na ausência do antagonista na base inferior. As placas foram ajustadas de modo que as bases superiores fossem aquelas com o patógeno. As placas foram incubadas à 25 ± 2 °C, com fotoperíodo de 12 horas

A medição do diâmetro da colônia do patógeno foi realizada com paquímetro digital de precisão 0,001 mm, em dois eixos ortogonais, descartando-se o disco (Ø 5 mm cada) repicado da colônia pura, sendo posteriormente calculado o I (VINCENT, 1947) e IVCM (OLIVEIRA, 1991). O experimento foi finalizado quando o tratamento testemunha atingiu as extremidades da placa, sendo os resultados expressos em milímetro (mm)

$$IVCM = \sum \frac{(D - Da)}{N}$$

Em que:

IVCM: índice de velocidade crescimento micelial;

D: Diâmetro médio atual da colônia;

Da: Diâmetro médio da colônia do dia anterior;

N: Número de dias após a inoculação.

Ao final do experimento, foi realizada a contagem de esporos do *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. Para a quantificação, em cada placa de Petri contendo o patógeno foram adicionados 10 mL de ADE, raspado com uma escova de cerdas macias para a liberação dos esporos e filtrado em dupla gaze esterilizada. Da solução filtrada, foi retirada alíquota de 10 µL e transferida para câmara de Neubauer para efetuar a contagem.

Com a obtenção do número de esporos foi possível calcular a porcentagem de inibição de esporulação (PIE) (BASTOS, 1997) de acordo com a equação abaixo

$$PIE = \left(\frac{E_{TC} - C}{E_{TC}} \right) \times 100$$

Em que:

PIE: Porcentagem de inibição de esporulação;

E_{TC} : Número de esporos do tratamento controle

C: Número de esporos do patógeno sobre a influência do antagonista.

4.5.3 Metabólitos não voláteis

Pare a realização do ensaio de metabólitos não voláteis de isolados de *Trichoderma* spp. sobre o patógeno foi utilizada a metodologia descrita por Dennis e Webster (1971c).

Em placas de Petri contendo meio BDA, foi adicionado papel celofane transparente (Ø 10 cm) previamente lavado e esterilizado de forma que ficasse aderido e preenchesse completamente a superfície do meio. Em seguida, adicionaram-se discos (Ø 5 mm) de *Trichoderma* spp com oito dias de cultivo, que foram acondicionados sobre o papel celofane no centro da placa e incubado por 48 horas em temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas.

Após a incubação, em câmara asséptica, o disco foi removido juntamente com o papel celofane e inverteu-se a placa, adicionando 20 mL de clorofórmio na parte inferior, visando eliminar resíduos estruturais de *Trichoderma* spp. Após evaporação do produto, as placas retornaram à posição original e discos (Ø 5 mm) de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* foram inoculados na placa.

As placas foram incubadas a temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas. A testemunha foi constituída de placas contendo apenas o patógeno sem a presença dos metabólitos não voláteis. A medição do diâmetro das colônias foi realizada diariamente até o patógeno do tratamento testemunha colonizar toda a placa de Petri, durante 7 dias. Foram realizadas as mesmas análises descritas para os metabólitos voláteis (item 3.5.2).

4.5.4 Metabólitos não voláteis termoestáveis

Para a realização dos metabólitos não voláteis termoestáveis, 5 discos (Ø 5 mm) foram retirados da margem das colônias dos isolados de *Trichoderma* com oito dias de cultivo, transferidos para frascos Erlenmeyer (250 mL), contendo 100 mL de meio Batata-Dextrose (BD). Após sete dias de cultivo em mesa agitadora orbital a 150, temperatura a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas, as culturas foram filtradas em dupla camada de gaze estéril. A fase

líquida foi incorporada ao meio BDA na proporção de 25% (v/v) e esterilizada a 121 °C por 20 minutos antes de ser transferida para as placas de Petri (Ø 9 mm) (BEZERRA et al., 2019)

O tratamento testemunha foi constituído de placas contendo o meio líquido sem inoculação do fungo e misturado ao BDA. As avaliações do crescimento micelial foram efetuadas diariamente por 7 dias, até o patógeno da testemunha colonizar toda a placa de Petri. O experimento foi submetido as análises de I, IVCm e PIE (item 3.5.2)

4.5.5 Micoparasitismo

A atividade do micoparasitismo dos isolados de *Trichoderma* spp. sobre *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* foi verificada utilizando o método de cultura em lâminas conforme Riddell (1950) com modificações.

As bases das placas de Petri (Ø 9 cm) contendo meio BDA com espessura de 3 mm foram delimitadas exteriormente em quatro quadrantes nas proporções de lamínula (20x20 mm). Fragmentos (0,1 cm) das colônias do patógeno e do antagonista foram adicionados, individualmente, nas extremidades dos quadrantes com aproximadamente 10 mm de distância entre os fragmentos.

As placas foram incubadas a 25 ± 2 °C por 24 horas até ocorrer o contato entre as hifas do patógeno e antagonista. Os quadrantes foram cortados e transferidos para lâminas que foram coradas com lactofenol, sobrepostas por lamínula e observados em microscópio ótico, modelo Olympus BX53, com fotografias registradas através de câmera Olympus DP73 utilizando o programa cellSens Dimension em aumento de 20, 40 e 100x.

4.5.6 Inibição da germinação de conídios

Para a determinação da inibição da germinação de conídios, foi utilizado a metodologia proposta por Teixeira (2018).

A inibição da germinação de conídios de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* foi avaliada na presença de suspensão de conídios e de seus filtrados livres de células dos isolados de *Trichoderma* spp.

Culturas puras do patógeno e do antagonista foram utilizados para obtenção das concentrações, ajustadas para 10^6 e 10^7 conídios mL⁻¹, respectivamente. Os filtrados foram obtidos adicionando-se 10 mL de ADE na colônia pura e realizada à raspagem com uma escova de cerdas macias, para liberação dos conídios e filtrada em dupla gaze esterilizada. Uma

alíquota de 1 mL foi transferida para a câmara de Neubauer, para realização da contagem e ajuste dos conídios.mL⁻¹.

Três gotas de 10 µL da suspensão ajustada do patógeno foram depositadas em lâminas de microscopia e alíquotas de igual volume da suspensão do antagonista foram adicionadas sobreposta às gotas do patógeno. O controle foi composto por gotas contendo 10 µL da suspensão do patógeno, com 10 µL de ADE em meio BDA. Foi adicionado uma gota de lactoglicerol sobre as gotas do patógeno e do antagonista e coberto com lamínula. As lâminas foram acondicionadas em bandejas de polietileno, forradas com papel umedecido com ADE e mantidas à temperatura de 25 ± 2 °C, sob fotoperíodo de 12 h em B.O.D (*Biochemical Oxygen Demand*).

A inibição da germinação de conídios de *Fov* foi avaliada após 4, 8, 12, 16, 20 e 24 horas a partir da incubação dos fungos. Foram utilizadas seis lâminas por isolado, sendo cada período descrito constituído por uma lâmina e avaliados em microscópio óptico em objetiva 10x. Considerou como conídio germinado quando o tubo germinativo era igual ou maior que metade do comprimento do esporo (BECKMAN; PAYNE, 1983). A porcentagem de conídios germinados foi calculada pela equação:

$$G (\%) = \left(\frac{C_G}{C_O} \right) \times 100$$

Em que:

G (%): porcentagem de conídios germinados

C_G: total de conídios germinados

C_O: total de conídios observados

4.6 Teste de sanidade em sementes microbiolizadas com *Trichoderma* spp.

As sementes de algodoeiro da variedade BRS Verde utilizadas foram obtidas junto a pequenos produtores do município de Ingá, Paraíba. Proveniente de sistema de produção orgânico, sendo as mesmas colhidas na safra 2018 e armazenadas em sacos de polietileno vedado com temperatura de 5 ± 2 °C

As sementes foram previamente submetidas ao deslincamento químico com ácido sulfúrico na proporção de 1 litro para cada 7 kg de sementes por 5 minutos, sendo as sementes imersas na solução. As sementes deslincadas foram lavadas com ADE e secas em temperatura ambiente (25 ± 2 °C) (QUEIROGA et al., 2001). As sementes secas foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 1% por 3 minutos, seguida de lavagem com ADE, secas sobre papel toalha em temperatura ambiente (25 ± 2° C) e submetidas aos tratamentos.

As sementes tratadas foram inoculadas com *Trichoderma* em suspensão com concentração de esporos ajustada em 10^7 conídios mL^{-1} , secas em temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ \text{C}$) e mantidas em câmara úmida, composta por caixas tipo gerbox com dupla camada de papel esterilizado umedecido com ADE na base e tampada por 24 horas. Posteriormente, as sementes foram tratadas em suspensão com concentração de conídios ajustada do *Fov* em 10^6 conídios mL^{-1} . Os tratamentos adotados estão descritos na Tabela 4.

Para obtenção das suspensões, adicionaram-se 10 mL de ADE em cada placa de Petri contendo a colônia pura dos fungos com sete dias de incubação. Com o auxílio de uma escova de cerdas macias, os esporos foram liberados e filtrados em dupla gaze esterilizada. Em seguida, a concentração de esporos foi ajustada em câmara de Neubauer para o *Fov* e para os isolados de *Trichoderma* spp.

Tabela 4. Controle biológico de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em sementes de algodoeiro previamente inoculadas com *Trichoderma* spp.

Tratamentos	Descrição
TP	Testemunha positiva (ausente do <i>Fov</i> e do <i>Trichoderma</i> spp.)
TN	Testemunha negativa (tratada apenas com o <i>Fov</i>)
F	Fungicida Captana® (240 g / 100 kg de sementes)
2	Isolado 02
6	Isolado 06
11	Isolado 11
12	Isolado 12
TH	<i>Trichoderma hazianum</i>
TS	<i>Trichoderma</i> sp. isolado de semente de algodão
729	<i>Trichoderma</i> sp. isolado de Mata Atlântica

Isolado 02: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto I, município de Remígio, PB. Isolado 06: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto III, município Areia, PB; Isolado 11: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto II, município de Areia, PB; Isolado 12: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto VI, município de Alagoinha, PB. Fonte: HOLANDA, G. C. (2022).

A sanidade das sementes tratadas foi avaliada pelo método de incubação em substrato de papel *Blotter Test*, que consiste em dispor as sementes igualmente espaçadas em placa de Petri (90 x 15 mm), contendo dupla camada de papel filtro esterilizado, umedecido com ADE.

Utilizam-se 200 sementes por tratamento, sendo divididas em 20 repetições de 10 sementes, mantidas à $25 \pm 2^\circ \text{C}$ por um período de sete dias. Para identificação dos fungos associados às sementes, foi utilizado microscópio óptico e comparação com literatura

especializada (SEIFERT et al., 2011). Os resultados foram expressos em percentagem de incidência de fungos.

4.7 Teste de germinação e emergência em sementes tratadas com *Trichoderma* spp.

Para quantificar a influência de *Trichoderma* spp. sobre a qualidade fisiológica em sementes de algodoeiro, cultivar BRS Verde, as sementes foram tratadas de acordo com a Tabela 4 e metodologia descrita em 4.6 para inoculação dos fungos.

4.7.1 Teste de germinação

O teste de germinação foi realizado pelo método de incubação em papel Germitest[®]. O papel foi previamente esterilizado em autoclave a 121 °C por 30 minutos, em seguida, umedecido com ADE na proporção de 2,5 vezes a sua massa seca (BRASIL, 2009)

Para avaliação da qualidade fisiológica das sementes, foram utilizadas 200 sementes de algodoeiro, previamente desinfestadas, divididas em quatro repetições de 50 sementes para cada tratamento, distribuídas sobre duas folhas de papel Germitest[®], e cobertas com uma terceira. Em seguida, as folhas foram dobradas em formato de rolo e mantidas em sacos plásticos transparente, para evitar a perda de água por evaporação, e sendo incubadas em câmara de germinação do tipo B.O.D (*Biochemical Oxygen Demand*), regulada a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas.

As avaliações foram realizadas diariamente após a instalação do teste, por um período de 12 dias, tendo a primeira contagem no quarto dia (PCG). As contagens foram realizadas considerando-se como sementes germinadas aquelas que tinham emitido a raiz primária e a parte aérea (plântulas normais) (GE). Os resultados foram expressos em porcentagem (BRASIL, 2009).

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi avaliado conjuntamente com o teste de germinação, efetuando-se contagens diárias das plântulas normais de acordo com a fórmula proposta por Maguire (1962).

$$IVG = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \dots + \frac{G_n}{N_n}$$

Em que:

G_1 , G_2 e G_n : número de plântulas normais germinadas a cada dia;

N_1 , N_2 e N_n : número de dias decorridos da semeadura a primeira e última contagem.

As sementes mortas foram classificadas como aquelas que, ao final do teste de germinação encontravam-se úmidas, com aspecto macio e, em alguns casos, atacadas por microrganismos, além de emitirem secreções com aspecto purulento. Consideraram-se sementes duras aquelas que não absorveram água e apresentaram-se ao final do teste de germinação um aspecto enrijecido (BRASIL, 2009).

4.7.2 Teste de emergência

Para esse teste foram utilizadas 4 repetições de 50 sementes previamente desinfestadas, totalizando 200 sementes por tratamento, que foram distribuídas em bandeja de polietileno (0,40 m x 0,40 m x 0,11 m) contendo substrato comercial Mecplant ®. O substrato foi umedecido diariamente com quantidade de água equivalente a 60% da sua capacidade de retenção.

A avaliação do número de plântulas emergidas (EM) foi realizada diariamente em casa de vegetação, pertencente ao LAFIT, por um período de 12 dias, sendo a primeira contagem (PCE) avaliada no quarto dia. Os resultados foram expressos em porcentagem (BRASIL, 2009).

O índice de velocidade de emergência (IVE) foi determinado mediante contagem diária do número de plântulas emersas durante doze dias e o índice determinado de acordo com a fórmula proposta por Maguire (1962).

$$IVE = \frac{E_1}{N_1} + \frac{E_2}{N_2} + \dots + \frac{E_n}{N_n}$$

Em que:

E_1 , E_2 e E_n : número de plântulas normais emergidas a cada dia;

N_1 , N_2 e N_n : número de dias decorridos desde a sementeira.

4.7.3 Comprimento e massa seca da parte aérea e raízes

As plântulas normais de cada tratamento e repetição foram divididas entre a parte aérea e a raiz, sendo cada parte medida com auxílio de uma régua graduada em centímetros e os resultados expressos centímetros (cm). As raízes e parte aérea foram acondicionadas individualmente em sacos de papel tipo Kraft e secas em estufa a 65 °C até obtenção de um peso constante (72 h). Decorrido esse período, as amostras foram pesadas em balança analítica com precisão de 0,001 g, e os resultados expressos em gramas (g) (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

4.8 Controle biológico *in vivo* de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*

O experimento foi realizado em casa de vegetação pertencente ao LAFIT. As sementes foram inoculadas com *Trichoderma* sp. em suspensão com concentração de esporos ajustada em 10^7 conídios mL^{-1} , secas em temperatura ambiente e mantidas em câmara úmida por 24 horas.

A inoculação do *Fov* foi realizada no substrato umedecido 24 horas antes da semeadura das sementes. A concentração dos conídios foi ajustada para 1×10^6 conídios mL^{-1} , de modo que ao aplicar 10 mL a quantidade de conídios por vaso fosse de 1×10^7 conídios mL^{-1} . O vaso foi preenchido com 400 g de substrato Mecplant®, sendo a proporção de $2,5 \times 10^4$ conídios por grama de solo (HAO et al., 2009)

Foram utilizados vasos de polietileno com capacidade de 1 L cuja manutenção da umidade foi realizada com uma rega diária. Utilizaram-se três sementes por vaso e após 14 dias foi realizado o desbaste deixando uma planta por vaso. Os tratamentos utilizados estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5. Controle biológico de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em plântulas de algodoeiro em casa de vegetação.

Tratamentos	Descrição
TP	Testemunha positiva (ausente do <i>Fov</i> e do <i>Trichoderma</i> spp.)
TN	Testemunha negativa (tratada apenas com o <i>Fov</i>)
F	Fungicida Captana® (240 g / 100 kg de sementes)
2	Isolado 02
6	Isolado 06
11	Isolado 11
12	Isolado 12
TH	<i>Trichoderma hazianum</i>
TS	<i>Trichoderma</i> sp. isolado de semente de algodão
729	<i>Trichoderma</i> sp. isolado de Mata Atlântica

Isolado 02: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto I, município de Remígio, PB. Isolado 06: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto III, município Areia, PB; Isolado 11: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto II, município de Areia, PB; Isolado 12: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto VI, município de Alagoinha, PB. Fonte: HOLANDA, G. C. (2022).

Passados 40 dias após o plantio, as plântulas foram retiradas do substrato para realização da quantificação do comprimento da parte aérea e sistema radicular, diâmetro do caule, incidência, escurecimento vascular e matéria seca.

Para o comprimento da parte aérea e a raiz, a planta foi dividida na região do colo, sendo cada parte medida com auxílio de uma régua graduada em centímetros. Para o escurecimento vascular, as plântulas foram cortadas no sentido vertical com um bisturi. Para quantificação da matéria seca, as raízes e parte aérea foram acondicionadas em sacos de papel tipo Kraft e secas em estufa a 65 °C até obtenção de peso constante (72 h) e decorrido esse período, as amostras foram pesadas em balança analítica com precisão de 0,001 g, e os resultados expressos em g plântula⁻¹

A incidência da Murcha-de-Fusarium nas plântulas foi realizada contabilizando a presença de plântulas doentes com escurecimento vascular, expressos em porcentagem utilizando a fórmula:

$$I(\%) = \left(\frac{N_I}{N_T} \right) \times 100$$

Em que:

I: incidência de plântulas doentes

N_I: total de plântulas doentes

N_T: total de plântulas

4.8.1 Índices foliares de clorofila e fluorescência da clorofila (a)

A quantificação dos índices de clorofila a, b, total e a relação clorofila a/clorofila b foi determinada pelo método não destrutivo com um clorofilômetro portátil (ClorfiLOG®, modelo CFL 1030). Os resultados foram expressos em Índice de Clorofila Falker, ICF

A fluorescência da clorofila (a) foi determinada pela avaliação da fluorescência inicial (Fo), fluorescência máxima (Fm), fluorescência variável (Fv = Fm-Fo) e o rendimento máximo quântico do fotossistema II (Fv/Fm), foi determinado com o auxílio de um fluorímetro modulado portátil (Sciences Inc.- Model OS-30p, Hudson, USA), utilizando pinças foliares para a adaptação das folhas ao escuro durante 30 minutos. Os resultados foram expressos em elétrons.quantum⁻¹.

Ambas as análises foram realizadas no período de 08:00 às 10:00h, com 35 dias após a semeadura, utilizando folhas recém maduras, completamente expandidas, de adequada sanidade, sob luminosidade e que se encontravam no terço médio da planta (FERRAZ, et al., 2014; ALMEIDA et al., 2020).

4.8.2 Trocas gasosas

Aos 35 dias após a semeadura, as plantas de algodoeiro foram avaliadas com base nas trocas gasosas e sua eficiência fotossintética, no período de 10 h às 11 h da manhã, utilizando quatro plantas por tratamento com folhas recém maduras, completamente expandidas, de adequada sanidade, sob luminosidade e que se encontravam no terço médio da planta (FERRAZ, et al., 2014).

Utilizou-se um analisador de gás infravermelho IRGA (LI-6400XT LI-COR®, Nebraska, USA) com câmara foliar de 6 cm² contendo sensor de luz natural acoplado, apresentando umidade do ar entre 50-60%, fluxo de ar de 300 µmol s⁻¹ e CO₂ atm de 400 µmol mol⁻¹. Foram mensuradas a assimilação líquida de CO₂ (A) (µmol CO₂.m⁻².s⁻¹), transpiração foliar (E) (mmol H₂O.m⁻².s⁻¹), concentração de carbono interna (C_i) (µmolCO₂.m⁻².s⁻¹) e condutância estomática (g_s) (mol H₂O.m⁻².s⁻¹).

Com os dados obtidos foi calculada a eficiência instantânea no uso da água (EUA), razão entre a assimilação líquida de CO₂ e transpiração foliar (A/E), a eficiência intrínseca do uso da água (EiUA), razão entre a assimilação líquida de CO₂ e condutância estomática (A/g_s) e a eficiência instantânea de carboxilação (EiC) a partir da razão entre a assimilação líquida de CO₂ e a concentração interna de carbono (A/C_i).

4.8.3 Teste de colonização endofítica e Taxa de infecção

O teste de colonização endofítica foi realizado coletando de porções da região do colo de cada planta, cortadas com bisturi em fragmentos de 0,3 ± 0,2 cm de largura e lavados em água corrente. Posteriormente, em câmara de fluxo laminar, foi realizada a assepsia do material vegetal em álcool etílico (70%) por 30 segundos, NaClO (1%) por 60 segundos, com o excesso removido em ADE por 60 segundos e secagem em papel de filtro. Os fragmentos de raízes foram depositados sobre o meio BDA disposto em placas de Petri e incubados por oito dias em câmara de crescimento, sob a temperatura 25 ± 2 °C com fotoperíodo de 12 horas. A avaliação foi realizada constatando a presença (+) ou ausência (-) dos fungos com crescimento no meio de cultura.

Para determinação da taxa de infecção (TI) de *Fov* nas plantas de algodoeiro, foi considerado o número de discos com crescimento da colônia do patógeno e o resultado expresso em porcentagem, através da equação:

$$TI = \left(\frac{\text{Nº de discos com crescimento de } Fov}{\text{Nº de discos total do tratamento}} \right) * 100$$

4.9 Design experimental e análise estatística

Os ensaios foram conduzidos em triplicata utilizando delineamento inteiramente casualizado, sendo a unidade experimental composta por quatro placas (*in vitro*) e uma planta (*in vivo*), com quatro repetições. Para analisar a influência das variáveis em função dos tratamentos e realizar agrupamento, foi realizada uma matriz de correlação e uma análise descritiva de componentes principais (ACP)

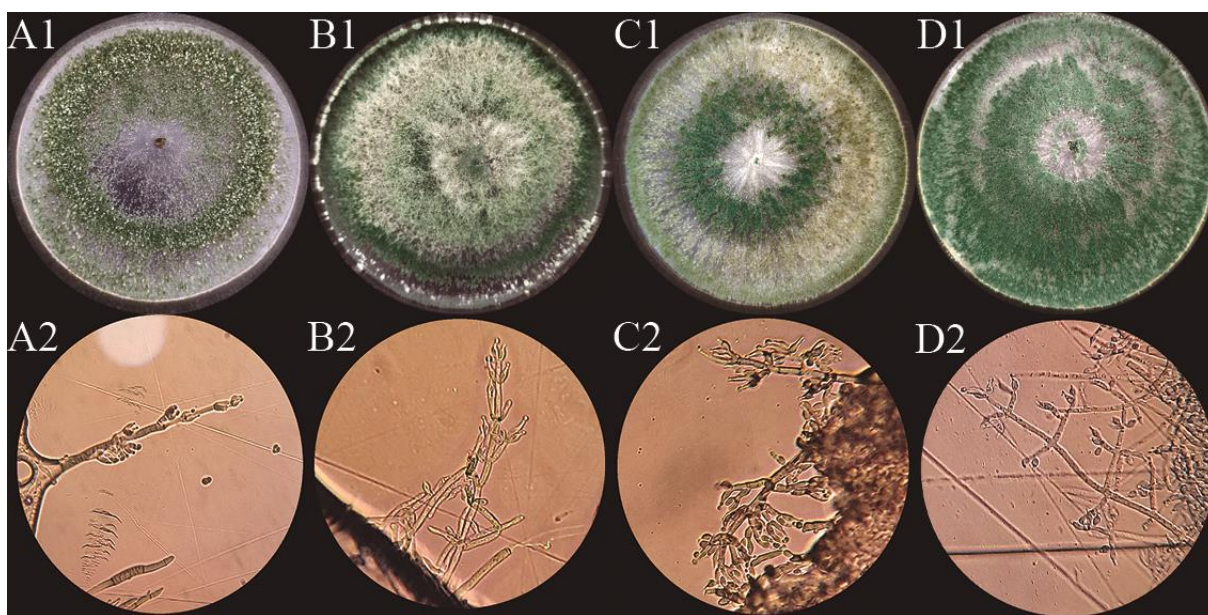
As análises estatísticas foram realizadas com o software R (R Core Team, 2021) e os resultados submetidos aos testes de normalidade dos resíduos por Shapiro-Wilk e homogeneidade das variâncias por Bartlett's. Os dados que apresentaram distribuição normal e homocedasticidade foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F ($p \leq 0.05$) com as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0.05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Obtenção de isolados de *Trichoderma* spp.

Obteve nos pontos de coleta de solo quatro isolados de *Trichoderma* spp. com rápido crescimento micelial e esporulação satisfatório, os quais foram os isolados 02, 06, 11 e 12 (Figura 5).

Figura 5. Isolados 02 (A), 06 (B), 11 (C) e 12 (D) de *Trichoderma* spp. obtidos dos pontos de coleta.



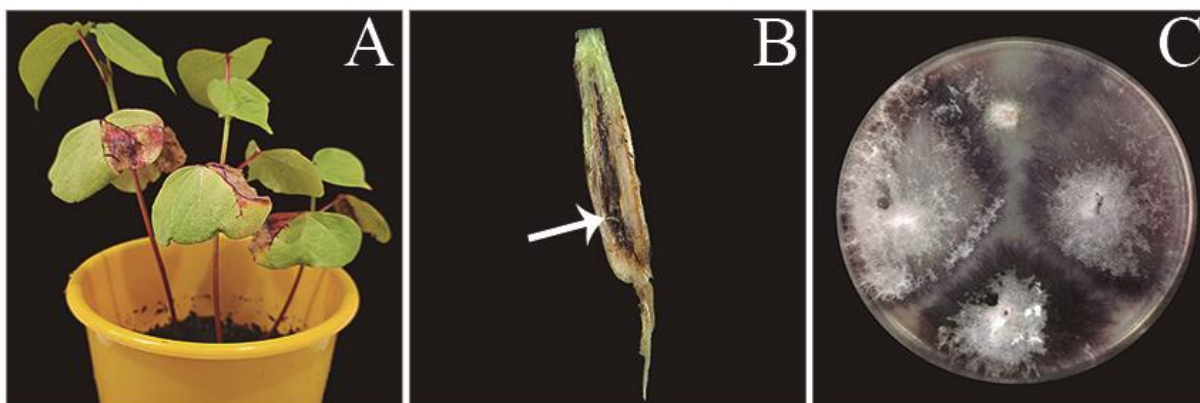
2: Isolado oriundo do ponto I, município de Remígio, PB. 6: Isolado oriundo do ponto III, município Areia, PB; 11: Isolado oriundo do ponto II, município de Areia, PB; 12: Isolado oriundo do ponto VI, município de Alagoinha, PB; TH: *Trichoderma harzianum*; TS: *Trichoderma* sp. oriundo de semente; 729: Isolado oriundo de Mata Atlântica. A1-D1: Placa de Petri com crescimento micelial com 8 dias. A2-D2: Vista do microscópio óptico na objetiva de 40x da estrutura reprodutiva com 3 dias de cultivo. Fonte: HOLANDA, G. C. (2022).

Bononi et al (2020) em 12 pontos de coleta na região da Amazônia conseguiu obter 251 isolados de *Trichoderma* spp. Essa variância pode ser atribuída a fatores ambientais como localização geográfica, estação do ano, temperatura, espécie de planta presente na área (YU et al., 2021) por determinar a quantidade e composição química dos exsudatos (JIANG et al., 2016), umidade (JAKLITSCH; VOGLMAYR, 2015), teor de matéria orgânica disponível (SCHUSTER; SCHMOLL, 2010), entre outros. Além disso, ambientes em estado natural apresentam maior diversidade de microbiota, diferente de ambientes que sofreram modificações antrópicas que tendem a ter uma menor biodiversidade de *Trichoderma* spp. (ZHOU et al., 2020), realidade encontrada nos pontos de coleta desta pesquisa.

5.2 Verificação de patogenicidade

Quanto ao teste de patogenicidade, todas as plantas apresentaram sintomas característicos de *Fov*, como necrose dos cotilédones (Figura 6A) e escurecimento vascular (Figura 6B), sintomas descritos por Cox Junior et al. (2019). Os fragmentos de todas as plantas acondicionados em meio BDA apresentaram crescimento do patógeno (Figura 6C), comprovando a presença deste na planta.

Figura 6. Sintomas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (*Fov*) em plântulas de algodoeiro aos 21 dias após a semeadura.



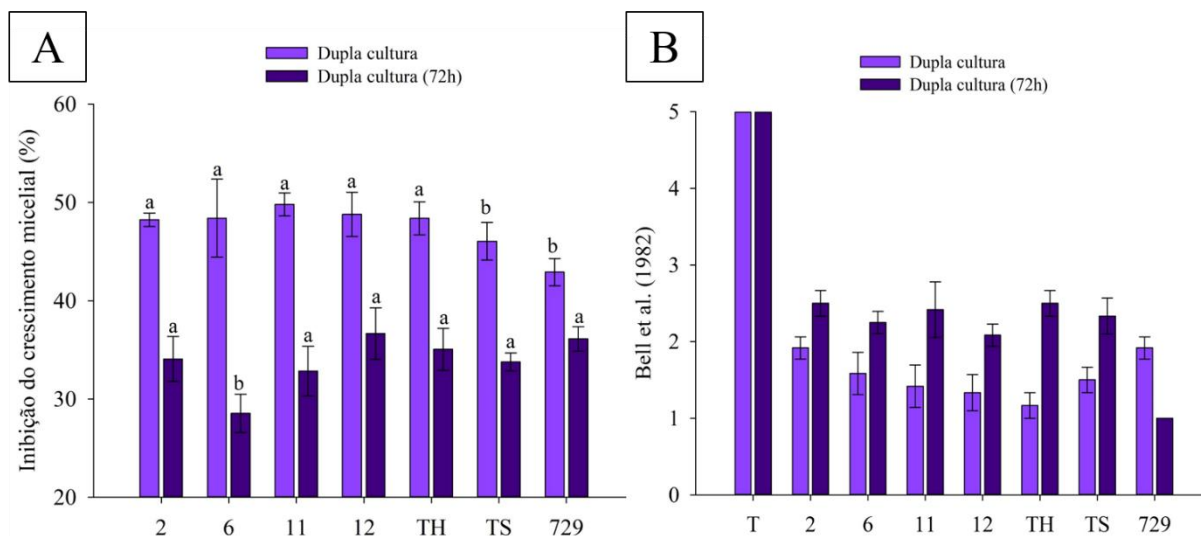
A: Plântulas com necrose cotiledonar; B: Corte longitudinal do caule mostrando escurecimento vascular; C: Placa de Petri contendo fragmentos de tecido infectado de plântulas de algodoeiro com colônia de *Fov*. Fonte: HOLANDA, G. C. (2022).

5.3 Teste de dupla cultura

Para o teste de dupla cultura de inoculação simultânea, os tratamentos com os isolados 2, 6, 11, 12 e TH apresentaram a maior inibição do crescimento micelial do *Fov*. Os tratamentos com os isolados de *Trichoderma* sp. oriundo de semente (TS) e de Mata Atlântica (729) apresentaram menor inibição do crescimento micelial, 46,05% e 42,91%, respectivamente, (Figura 7A). Em relação a inoculação do *Trichoderma* spp. 72 horas após o patógeno, apenas o tratamento 6 apresentou a menor inibição (28,52%). Os demais tratamentos foram similares entre si, com média de inibição de 34,75% (Figura 7A).

Apenas a testemunha apresentou a classe 5 (*Trichoderma* spp. não cresce e o patógeno ocupa toda a superfície). Na inoculação simultânea, devido ao menor tempo de crescimento do patógeno, os tratamentos variaram de 1 (*Trichoderma* spp. ocupa 100% da placa) a 2 (ocupa 75% da placa) (Figura 1 do Apêndice A). Para a inoculação com 72 horas, como o *Fov* apresentou maior desenvolvimento, a escala variou de 2 a 3 (ocupa 50% da placa) para a maioria dos tratamentos, exceto para o 729 que apresentou a classe 1, demonstrando sua eficiência quanto ao crescimento micelial e potencial inibitório (Figura 7B, Figura 2 do Apêndice A)

Figura 7. Teste *in vitro* de dupla cultura confrontando isolados de *Trichoderma* spp. com o *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em inoculação simultânea e *Trichoderma* spp. 72 horas após o Fov.



A: Inibição do crescimento micelial; B: Classificação de Bell et al (1982). 2: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto I, município de Remígio, PB. 6: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto III, município Areia, PB; 11: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto II, município de Areia, PB; 12: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto VI, município de Alagoinha, PB; TH: *Trichoderma harzianum*; TS: *Trichoderma* sp. oriundo de semente; 729: Isolado oriundo de Mata Atlântica. Médias seguidas por a mesma letra minúscula, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Fonte: HOLANDA, G. C.; CRUZ, J. M. F. L. (2022).

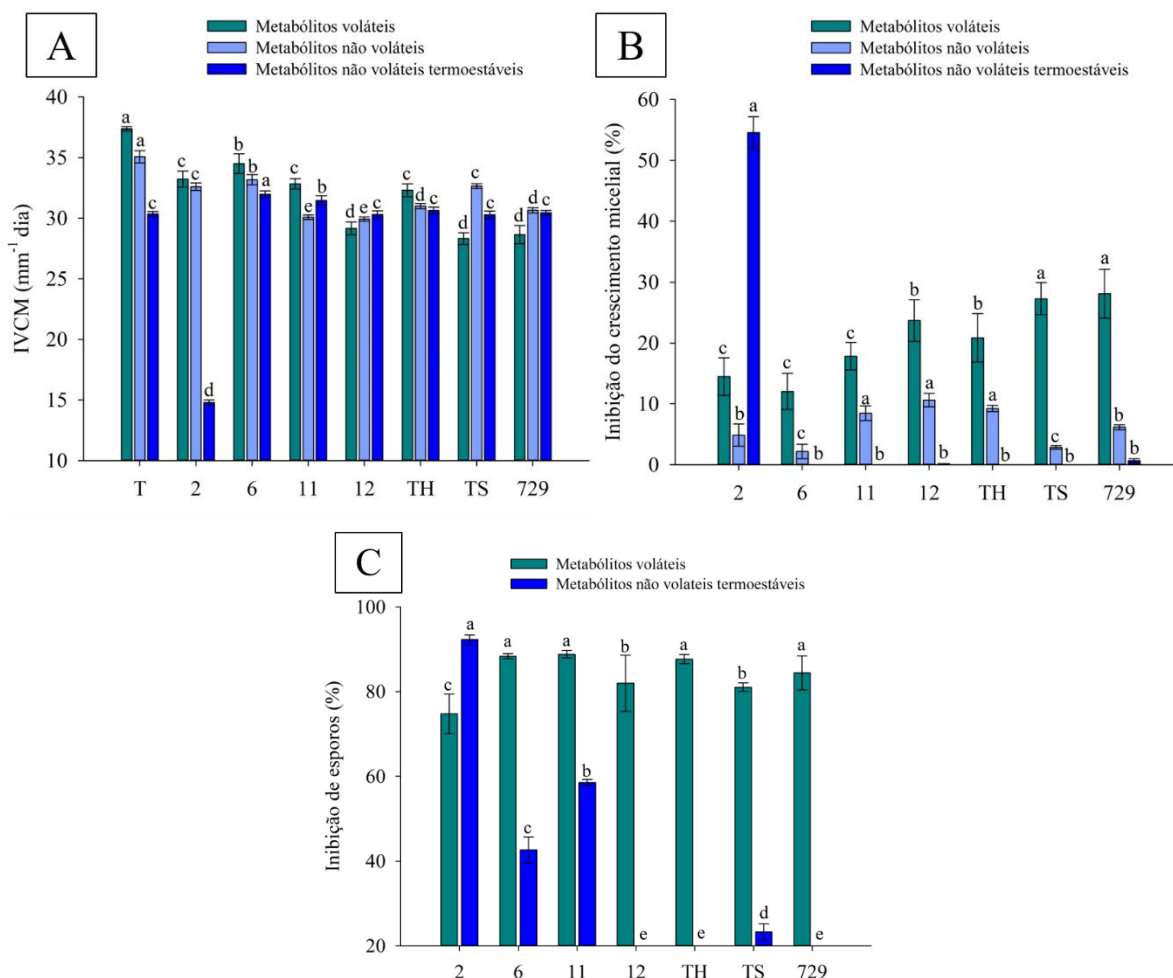
Todas as placas de dupla cultura exibiram sinais de antagonismo em diferentes intensidades. Apesar do método da dupla cultura excluir fatores ambientais que podem afetar a aplicação da prática de controle, a técnica age como um método de triagem preliminar, permitindo observar o comportamento tanto do patógeno como do antagonista *in vitro* (BUNBURY-BLANCHETTE; WALKER, 2019)

5.4 Metabólitos voláteis, não voláteis e não voláteis termoestáveis

Para os metabólitos voláteis, os tratamentos 12, TS e 729 foram os que resultaram em menor índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) do Fov, com médias de 29,16, 28,32 e 28,64 mm dia⁻¹, respectivamente (Figura 8A). Já na inibição de crescimento micelial, os tratamentos TS (27,27%) e 729 (28,09) apresentaram maior eficiência em controlar o patógeno (Figura 8B, Figura 3 do Apêndice A). Em relação a inibição de esporulação, os tratamentos 6, 11, TH e 729 foram os mais eficientes, com taxa de inibição variando de 84,43% a 88,39% (Figura 8C).

Em metabólitos não voláteis, os tratamentos 11 e 12 foram os que mais reduziram o IVCM, com velocidade de 30,08 e 29,93 mm dia⁻¹, respectivamente (Figura 8A). Para a inibição do crescimento micelial, os tratamentos de maior eficiência foram o 11 (8,44%), 12 (10,61%) e TH (9,21) (Figura 8B).

Figura 8. Teste *in vitro* de metabólitos voláteis, não voláteis e não voláteis termoestáveis utilizando diferentes isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* após 7 dias de cultivo.



A: Índice de Velocidade de Crescimento Micelial; B: Inibição do crescimento micelial; C: inibição de esporos. 2: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto I, município de Remígio, PB. 6: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto III, município Areia, PB; 11: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto II, município de Areia, PB; 12: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto VI, município de Alagoinha, PB; TH: *Trichoderma harzianum*; TS: *Trichoderma* sp. oriundo de semente; 729: Isolado oriundo de Mata Atlântica. Médias seguidas por a mesma letra minúscula, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Fonte: HOLANDA, G. C.; CRUZ, J. M. F. L. (2022).

Com relação aos metabólitos não voláteis termoestáveis, o tratamento com o isolado 2 foi destaque para as três características analisadas: IVC (14,79 mm dia⁻¹), inibição do crescimento micelial (54,57%) e da esporulação (92,64%) (Figura 8 A, B, C), controlando de forma eficiente o *Fov* (Figura 4 do Apêndice A)

Espécies do gênero *Trichoderma* secretam uma infinidade de metabólitos secundários, que podem ser voláteis ou não, e enzimas hidrolíticas, que juntos garantem o sucesso na funcionalidade antifúngicas contra fitopatógenos, devido a ação de antibiose (KHAN et al., 2020a). Dentre os diferentes grupos dos metabólitos, é possível citar terpenos, pironas, gliotoxinas, gliovirina, peptaibols, proteases, entre outros, que causam degradação das membranas e proteínas da parede celular do patógeno, afetando diretamente no metabolismo,

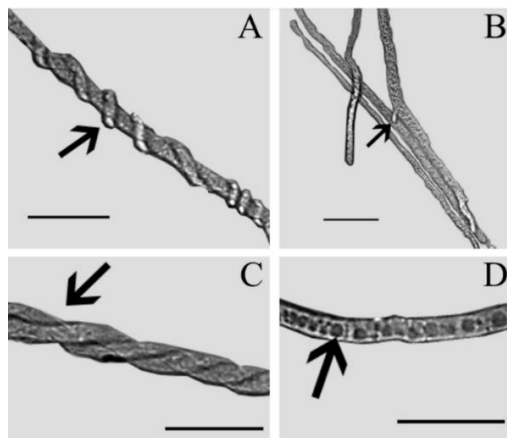
integridade e funcionalidade dos patógenos, refletindo em disfunção no crescimento micelial e esporulação (KHAN et al., 2020b)

Com relação aos metabólitos voláteis, mais de 479 compostos diferentes do gênero *Trichoderma* spp. já foram relatados (SIDDIQUEE, 2014), e aos não voláteis, cerca de 390 compostos (LI et al., 2019). Assim, a eficiência de espécies de *Trichoderma* spp. é tão facilitada nos testes de metabólitos (MOUTASSEM et al., 2020)

5.5 Micoparasitismo

Todos os isolados de *Trichoderma* spp. utilizados apresentaram atividade micoparasita ao *Fov*, sendo demonstrado através do enrolamento, penetração e vacuolização das hifas (Figura 9). O enrolamento é uma das respostas mais comuns do *Trichoderma* na presença de um patógeno invasor (RAJANI et al., 2021) e o micoparasitismo acontece quando o antagonico recebe sinais do patógeno, se adere a hifa do patógeno e causa a morte, em função da ação sinérgica de metabólitos secundários liberados durante a interação (DRUZHININA et al., 2011). Possivelmente as alterações percebidas como a vacuolização, seja devido a ação de enzimas hidrolíticas de degradação da parede celular, como quitinases, proteases e glucanases (MUKHERJEE et al., 2022).

Figura 9. Atividade micoparasita *in vitro* de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*.



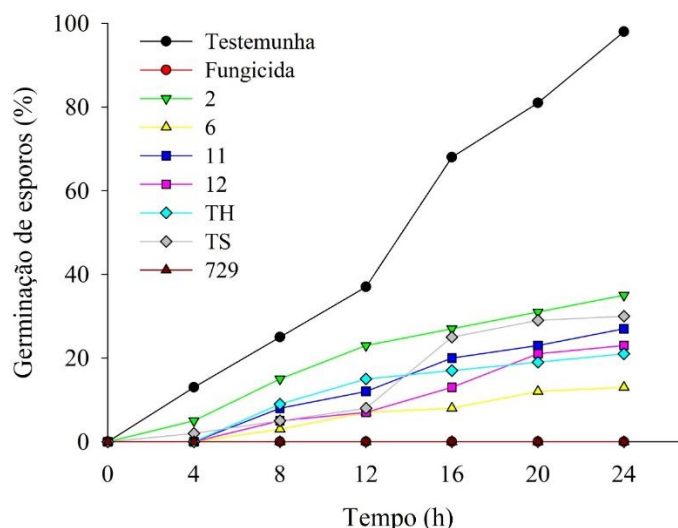
A e C: Enrolamento de hifas; B: Penetração hifal; D: Vacuolização de hifa. Barras: 20 μm. Fonte: HOLANDA, G. C. (2022).

5.6 Inibição germinação de conídios

Para a inibição de germinação de conídios, os tratamentos variaram de inibição de 65% (Isolado 2) a 100% (Isolado 729) (Figura 10), demonstrando que a concentração de *Trichoderma* spp. utilizada foi capaz de inibir totalmente ou parcialmente a germinação dos esporos de *Fov*. Além do *Trichoderma* spp. controlar o *Fov*, os tratamentos garantem maior

proteção as sementes durante a germinação, uma vez que inibe que o patógeno se prolifere mais rapidamente.

Figura 10. Inibição *in vitro* da germinação de conídios de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* utilizando diferentes isolados de *Trichoderma* spp em função do tempo.



Testemunha: ausência do antagonístico; Fungicida Captana (3 µL); 2: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto I, município de Remígio, PB; 6: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto III, município de Areia, PB; 11: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto II, município de Areia, PB; 12: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto VI, município de Alagoinha, PB; TH: *Trichoderma harzianum*; TS: *Trichoderma* sp. oriundo de semente; 729: Isolado oriundo de Mata Atlântica. Fonte: HOLANDA, G. C.; CRUZ, J. M. F. L. (2022).

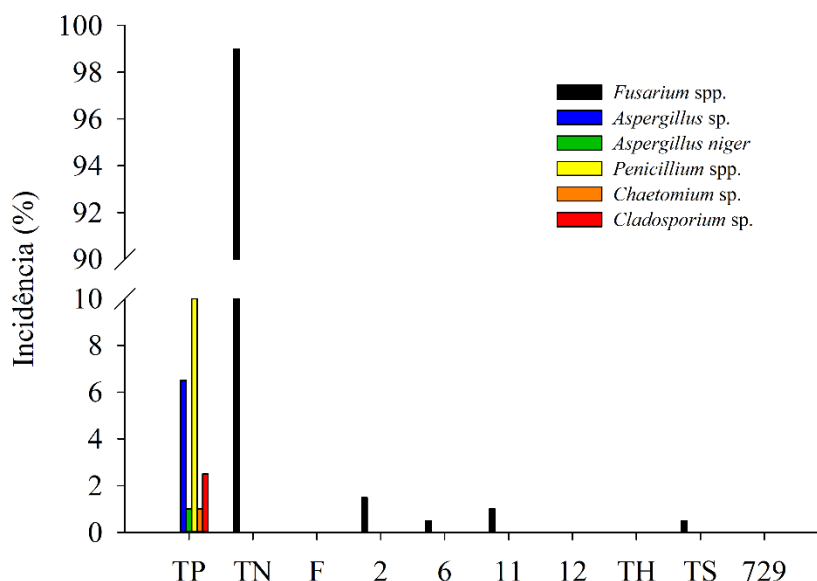
Um dos possíveis mecanismos de ação para essa inibição seja através da liberação de quitinases e glutanases (ZEPEDA-GIRAUD et al., 2020) ou até mesmo o micoparasitismo entre esporos do *Trichoderma* spp. e do *Fov* (DRUZHININA et al., 2011). You et al. (2022) analisando os compostos orgânicos voláteis de *T. koningiopsis* T-51 também demonstrou redução na germinação e alongamento do tubo germinativo de *F. oxysporum*.

5.7 Teste de sanidade em sementes de algodoeiro

Foram detectados fungos dos gêneros *Chaetomium* (1%), *Cladosporium* (2,5%), *Aspergillus* (7,5%) e *Penicillium* (10,5%) no tratamento testemunha (TP). O tratamento TN, inoculado apenas com o patógeno, apresentou incidência de *Fov* de 99%. Os tratamentos 02, 06, 11 e TS apresentaram incidência de *Fov* de 1,5%, 0,5%, 1% e 0,5%, respectivamente. Já os tratamentos F, 12, TH e 729 foram isentos de qualquer patógeno, demonstrando apenas o crescimento de *Trichoderma* spp. (Figura 11)

Além de controlar o *Fov* que também fora inoculado nas sementes, os tratamentos com *Trichoderma* spp. foram eficientes para eliminar patógenos que cresceram em sementes tratadas apenas com água destilada (TP).

Figura 11. Incidência de fungos em sementes de algodoeiro BRS Verde inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* e *Trichoderma* spp



TP: Testemunha positiva (ausência do *Fov* e *Trichoderma* spp.); TN: Testemunha negativa (presença apenas do *Fov*); F: Fungicida Captana (240 g / 100 kg de sementes); 2: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto I, município de Remígio, PB; 6: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto III, município Areia, PB; 11: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto II, município de Areia, PB; 12: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto VI, município de Alagoinha, PB; TH: *Trichoderma harzianum*; TS: *Trichoderma* sp. oriundo de semente; 729: Isolado oriundo de Mata Atlântica. Fonte: HOLANDA, G. C.; CRUZ, J. M. F. L. (2022).

Fungos do gênero *Aspergillus* e *Penicillium* são considerados patógenos de armazenamento, onde além de causar a deterioração das sementes, também são produtores de micotoxinas que são nocivas à plantas e animais. Espécies do gênero *Cladosporium* também causam danos às sementes (FARIAS et al., 2022). Quanto as espécies do gênero *Chaetomium*, há relatos que apresentam capacidade de serem agentes de biocontroles de doenças de plantas, podendo ter um efeito aditivo no controle biológico pela presença de *Trichoderma* spp. (ZHANG et al., 2021c).

A ausência ou redução, em torno de 98,5%, no crescimento do *Fov* nos demais tratamentos demonstram a eficiência dos isolados de *Trichoderma* spp., tanto quanto o tratamento fungicida (F), no controle quando inoculados nas sementes de algodão, podendo comparar com o TN na ausência do antagonista que houve incidência de 99%, vindo a corroborar com Zhang et al. (2017), que sementes colonizadas por *Trichoderma* apresentam grande capacidade de reduzir ataques de fungos fitopatogênicos

Trabalhos como o de Farias et al. (2019) ao tratarem sementes de algodão com *Trichodel*® a 1%, conseguiram controlar o crescimento do *Fov* em aproximadamente 50% para três

cultivares de algodão. Cruz et al (2020) ao tratar sementes de algodão com *Trichoderma* sp. na concentração de 10^7 conídios.ml também conseguiram reduzir a incidência de *Fusarium* spp.

5.8 Teste de germinação e emergência de sementes de algodoeiro tratadas com *Trichoderma* spp.

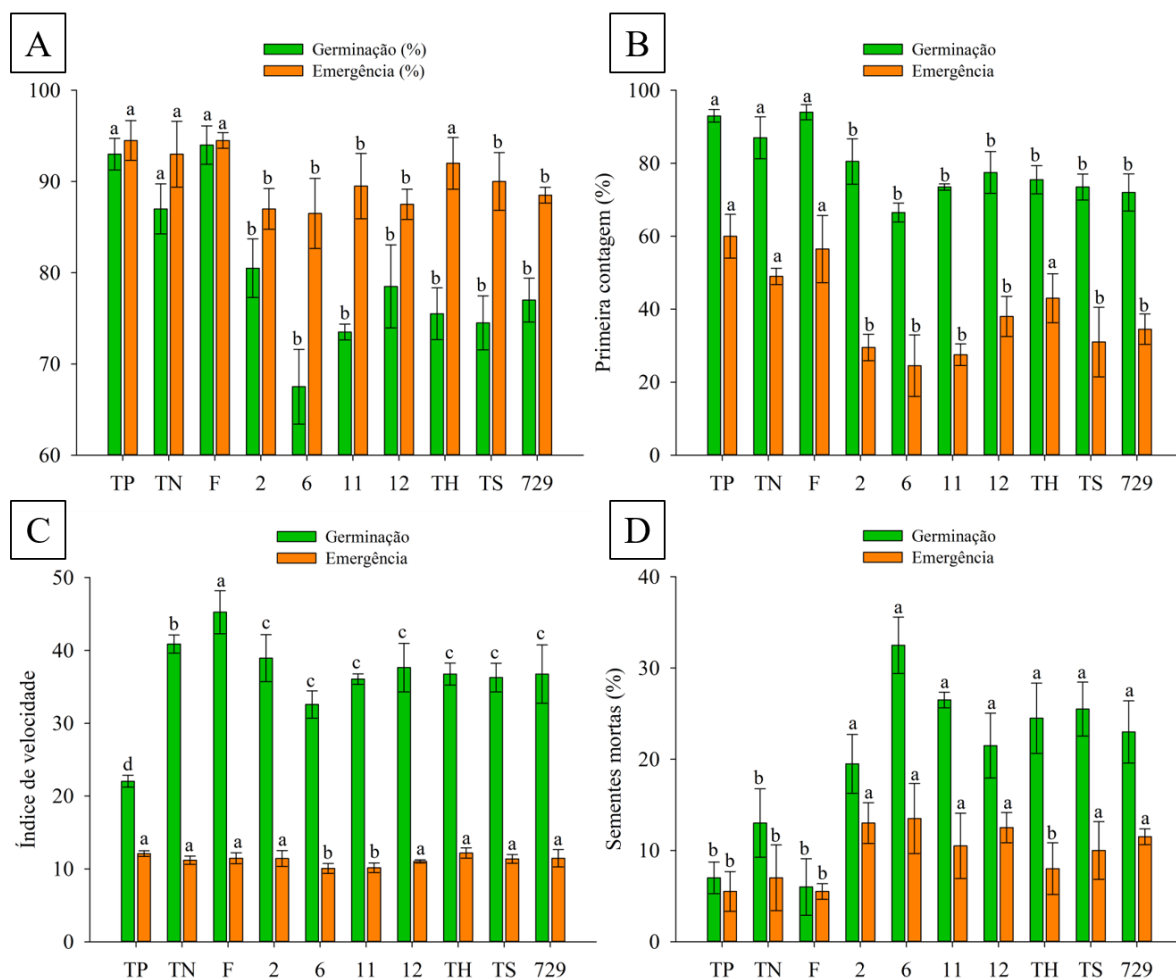
Para a porcentagem de germinação, os tratamentos TP (93%), TN (87%) e F (94%) apresentaram maior germinação das sementes, diferindo estatisticamente dos demais, que variaram de 67,5% no 06 à 80,5% no 02 (Figura 12A). Para a primeira contagem, os tratamentos se portaram de forma similar a germinação (Figura 12B). Quanto ao índice de velocidade de germinação, o F apresentou maior valor (45,25) e os tratamentos de 2 a 729 não variaram entre si estatisticamente (Figura 12C). Em porcentagem de sementes mortas, o gráfico complementa com a porcentagem de germinação, ou seja, os que apresentaram menor germinação, foram os que obtiveram o maior número de sementes mortas, sendo eles os tratamentos de 2 à 729 (Figura 12D).

Quanto ao teste de emergência, a maior porcentagem de emergência e primeira contagem foram nos tratamentos de TN, TP, F e TH, que foram estatisticamente semelhantes entre si e diferente dos demais tratamentos (Figura 12A, 12B). Na análise de índice de velocidade de emergência, apenas os tratamentos 06 (9,57) e 11 (10,16) diferiram estatisticamente dos demais (Figura 12C). Quanto as sementes mortas, seguem o mesmo padrão do teste de germinação, onde os tratamentos de menor emergência portaram a maior porcentagem de sementes mortas (Figura 12D).

Levando em consideração apenas os tratamentos em que as sementes foram tratadas com *Trichoderma* spp., do 2 ao 729, fica evidente o diferente comportamento entre a porcentagem de germinação, média dos tratamentos de 75,28% e emergência com média de 88%. Do mesmo modo para sementes mortas de 24,72% e 12% da germinação e emergência, respectivamente.

Essa diferença pode ter acontecido devido à alta concentração de *Trichoderma* spp. (10^7 conídios.mL) nas sementes, e por ser um fungo saprófito de rápido crescimento, passou a degradar a semente ao invés de protegê-la. Somado a esse fator, o teste de germinação foi conduzido em papel Germiteste®, substrato inerte que não fornece nutrientes ao fungo antagonico. Já para a emergência o dano foi menor devido à presença do substrato comercial (ABBAD, 2020).

Figura 12. Teste de germinação e emergência em sementes de algodoeiro BRS Verde tratadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* e *Trichoderma* spp



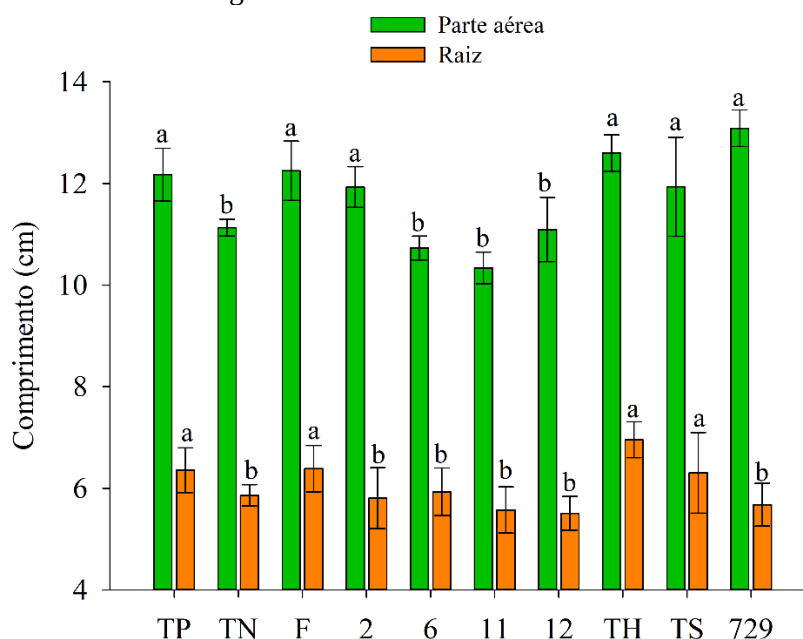
A: Porcentagem de sementes germinadas e emergidas; B: Primeira contagem de germinação e emergência; C: Índice de velocidade de germinação e emergência; D: Porcentagem de sementes mortas nos dois testes. TP: Testemunha positiva (ausência do *Fov* e *Trichoderma* spp.); TN: Testemunha negativa (presença apenas do *Fov*); F: Fungicida Captana (240 g / 100 kg de sementes); 2: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto I, município de Remígio, PB. 6: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto III, município Areia, PB; 11: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto II, município de Areia, PB; 12: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto VI, município de Alagoinha, PB; TH: *Trichoderma harzianum*; TS: *Trichoderma* sp. oriundo de semente; 729: Isolado oriundo de Mata Atlântica. Fonte: HOLANDA, G. C; CRUZ, J. M. F. L. (2022).

Além disso, metabólitos hormonais liberados pelo *Trichoderma*, como etileno, ácido indol acético e citocininas, podem afetar a divisão e alongamento celular, prejudicando a germinação e o desenvolvimento de plantas (DALZOTTO et al., 2020). Junges et al. (2016) estudando o comportamento de *Trichoderma* spp. em mudas florestais, também encontrou redução na emergência de sementes angico-branco (*Parapiptadenia rigida*) em 35%. Moura et al. (2022) ao tratar sementes de aroeira-do-sertão (*Astronium urundeuva*) com diferentes isolados de *Trichoderma*, foi observado cerca de 45% de sementes mortas para germinação e emergência.

Apesar de alguns tratamentos reduzirem o potencial germinativo e de emergência da semente, a presença do antagonista garante uma espermosfera protegida de patógenos que seriam veiculados a sementes ou até mesmo protegem a semente de patógenos do solo (BEZERRA et al., 2022).

As características de matéria seca da parte aérea e da raiz não divergiram entre os tratamentos para germinação e emergência. Quanto ao comprimento da parte aérea e da raiz, apenas o teste de emergência apresentou significância estatística (Figura 13). Para essa característica, os tratamentos TP, F, TH e TS foram similares estatisticamente para os dois parâmetros avaliados, distinguindo-se dos demais. Os testes responsáveis por analisar o desenvolvimento de plântulas, como comprimento da parte aérea e da raiz, são importantes por possibilitar relação com o vigor das sementes (LAZAROTTO et al., 2013).

Figura 13. Comprimento da parte aérea e da raiz de plantas de algodoeiro tratadas com *Trichoderma* spp. e submetidas ao teste de emergência.



TP: Testemunha positiva (ausência do *Fov* e *Trichoderma* spp.); TN: Testemunha negativa (presença apenas do *Fov*); F: Fungicida Captana (240 g / 100 kg de sementes); 2: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto I, município de Remígio, PB; 6: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto III, município Areia, PB; 11: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto II, município de Areia, PB; 12: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto VI, município de Alagoinha, PB; TH: *Trichoderma harzianum*; TS: *Trichoderma* sp. oriundo de semente; 729: Isolado oriundo de Mata Atlântica. Médias seguidas por a mesma letra minúscula, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Fonte: HOLANDA, G. C.; CRUZ, J. M. F. L. (2022).

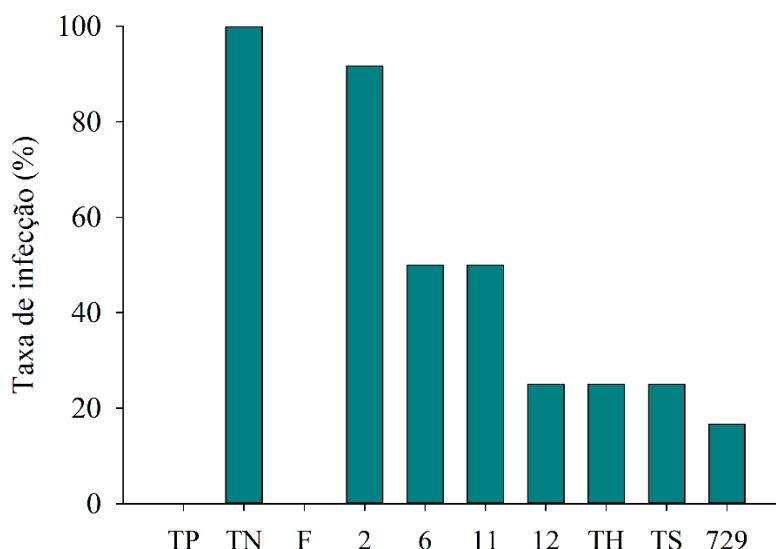
5.9 Controle biológico de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em sementes tratadas de algodoeiro

Aos 40 dias após a semeadura, as plantas que se encontravam em casa de vegetação não apresentaram sintomas visuais, como clorose, amarelecimento, murcha e escurecimento vascular. Carvalho et al. (2011) recomendam que o plantio da variedade BRS Verde deva ser

realizado em áreas isentas de doenças de solo e foliar, por apresentar suscetibilidade. O tratamento em sementes com *Trichoderma* spp. pode ter garantido a proteção inicial das plantas. Somado a eficiência do controle biológico, a variedade BRS Verde pode apresentar certa tolerância ao *Fov*, como demonstrado por Dantas (2012) que avaliando 14 genótipos de algodoeiro recomendados para a região do semiárido, a variedade BRS Verde apresentou a maior tolerância ao *Fov*. Entretanto, o problema de ter plantas tolerantes em campo é que essas não afetam o estabelecimento, colonização e reprodução do patógeno, gerando, consequentemente, aumento do inóculo no campo (CAMARGO, 2018).

Apesar de não demonstrarem sintomas, o único tratamento que apresentou 100% de taxa de infecção de *Fov* foi o tratamento TN, seguido do tratamento 2 com 91,67%, 6 e 11 com 50%, TH, TS e 12 com 25%, 729 com 16,67% e os tratamentos TP e F foram isentos (Figura 14). Entretanto, o único tratamento onde cresceu unicamente o *Trichoderma* spp. foi o TP (Figura 5 do Apêndice A), possibilidade do patógeno já se encontrar de forma endofítica na semente (KHATUN et al., 2018). Outra alternativa seria a presença do *Trichoderma* no substrato utilizado que, apesar de ser comercial, tem origem de matéria orgânica e apresenta propriedades de condicionador da microbiota do solo.

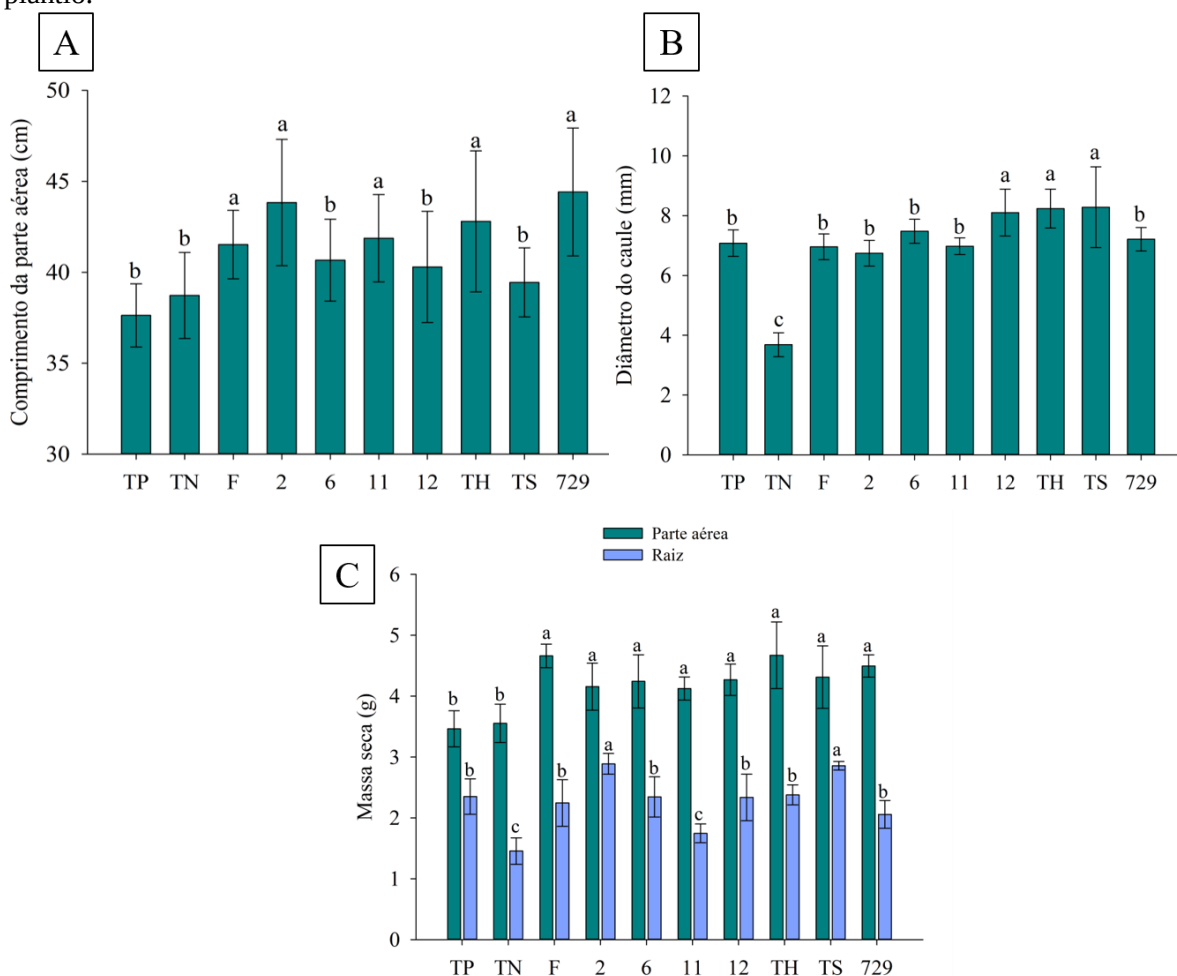
Figura 14. Taxa de infecção de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em plantas de algodoeiro BRS Verde oriundas de sementes tratadas com diferentes isolados de *Trichoderma* spp.



TP: Testemunha positiva (ausência do *Fov* e *Trichoderma* spp.); TN: Testemunha negativa (presença apenas do *Fov*); F: Fungicida Captana (240 g / 100 kg de sementes); 2: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto I, município de Remígio, PB; 6: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto III, município Areia, PB; 11: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto II, município de Areia, PB; 12: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto VI, município de Alagoinha, PB; TH: *Trichoderma harzianum*; TS: *Trichoderma* sp. oriundo de semente; 729: Isolado oriundo de Mata Atlântica. Fonte: HOLANDA, G. C; CRUZ, J. M. F. L. (2022).

Para o comprimento da parte aérea, os tratamentos F, 2, 11, TH e 729 foram estatisticamente similares entre si e apresentaram as maiores médias, variando de 41,87 cm para o tratamento 11 a 44,41 cm no 729. Os demais tratamentos variaram de 37,62 cm para o TP a 40,66 cm em 6 (Figura 15A). A característica de comprimento da raiz não apresentou diferença entre os tratamentos. Quanto ao diâmetro do caule, os tratamentos 12, TH e TS foram superiores aos demais, com média de 8 mm de diâmetro, superando o F (Figura 15B). Em relação a matéria seca da parte aérea, os tratamentos TP e TN foram inferiores e divergiram estatisticamente dos demais (Figura 15C). Já para a matéria seca da raiz, os tratamentos 2 e TS apresentaram as maiores médias quando comparado aos demais, inclusive ao tratamento com fungicida (F) (Figura 15D).

Figura 15. Avaliação das plantas de algodoeiro BRS Verde em casa de vegetação após 40 dias de plantio.



A: Comprimento da parte aérea (cm); B: Diâmetro do caule (mm); C: Matéria seca da parte aérea e da raiz (g). TP: Testemunha positiva (ausência do *Fov* e *Trichoderma* spp.); TN: Testemunha negativa (presença apenas do *Fov*); F: Fungicida Captana (240 g / 100 kg de sementes); 2: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto I, município de Remígio, PB. 6: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto III, município Areia, PB; 11: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto II, município de Areia, PB; 12: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto VI, município de Alagoinha, PB; TH: *Trichoderma harzianum*; TS: *Trichoderma* sp. oriundo de semente; 729: Isolado oriundo de Mata Atlântica. Médias seguidas

por a mesma letra minúscula, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Fonte: HOLANDA, G. C.; CRUZ, J. M. F. L. (2022).

Essas características de altura de planta, diâmetro e matéria seca, são importantes por resultar em plantas mais vigorosas e de melhor porte em campo, o que é consequência de uma melhor performance fisiológica e que apresentam maior conversão de fotoassimilados em carbono e que, conseqüentemente, serão plantas mais produtivas (LIMA et al., 2021)

Os isolados do gênero *Trichoderma* spp. além de serem eficientes agentes de biocontrole, apresentam uma série de benefícios as plantas, como promoção de crescimento, melhor arquitetura radicular e incremento de matéria seca, o que ocorre em função da interação com a planta que pode reduzir níveis de etileno, promover a síntese de ácido índole-3-acético, solubilização de fosfatos, melhor absorção de nutrientes e produção de pironas, como a 6-PP, garantindo maior aporte as plantas (ZIN et al., 2020; ABDULLAH et al., 2021).

Os resultados observados corroboram com Santos et al. (2021) que observaram, em porta enxerto de cajueiro-anão (*Anacardium occidentale* L.), com incremento de altura, diâmetro e matéria seca das plantas utilizando duas espécies de *Trichoderma*: *asperellum* e *longibrachiatum*. Pereira et al (2019) utilizando isolados de *Trichoderma harzianum* e *T. asperellum* também obtiveram incrementos em plantas de alface (*Lactuca sativa*)

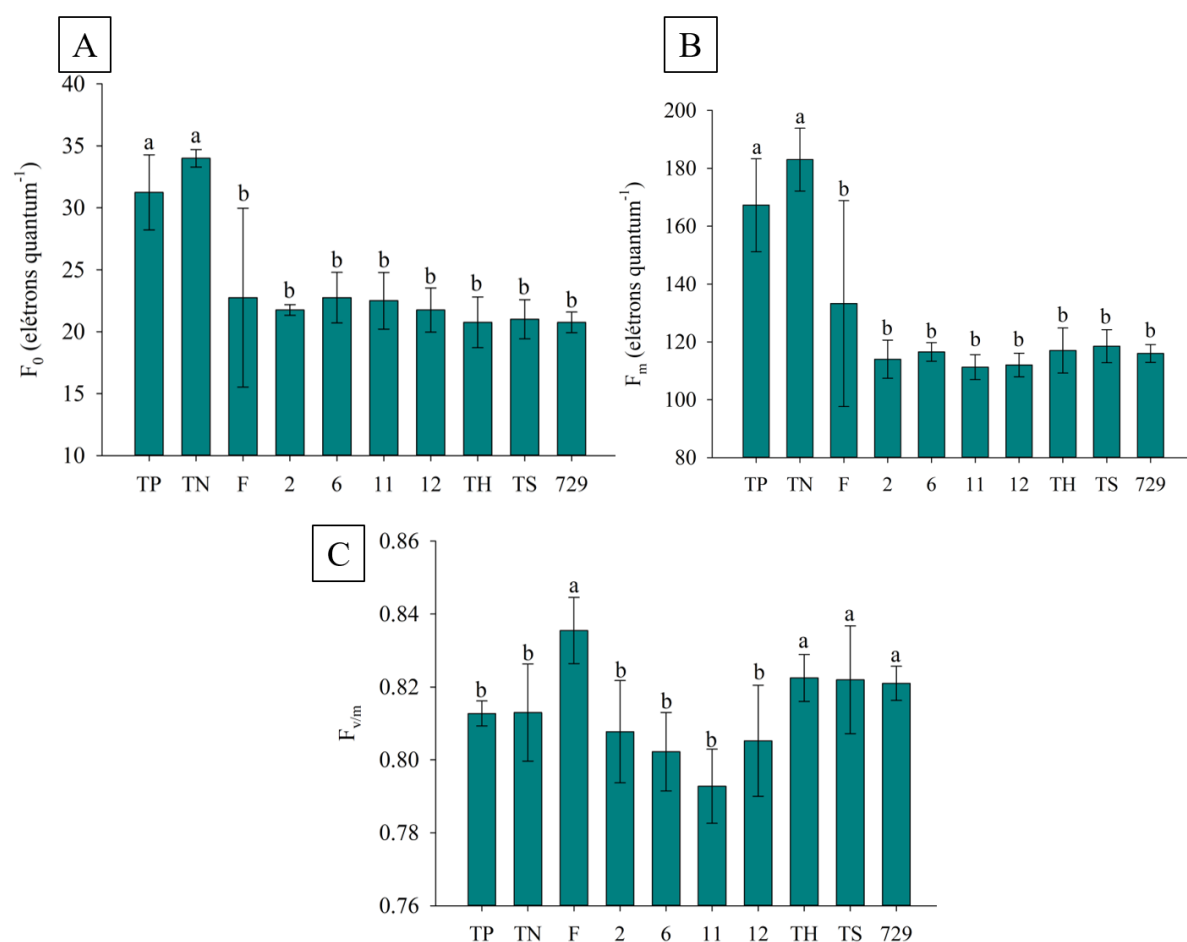
5.9.1 Florescência da clorofila (a)

Para a fluorescência inicial, os tratamentos TP (31,25 elétrons.quantum⁻¹) e TN (34,00 elétrons.quantum⁻¹) diferiram dos demais, que variaram de 20,75 a 22,75 elétrons.quantum⁻¹ (Figura 19A). Quanto fluorescência máxima, os tratamentos seguiram a mesma tendência, TP e TN com 167,25 e 183,0 elétrons.quantum⁻¹, respectivamente. Já os tratamentos de F a 729 variaram de 111,25 a 133,25 elétrons.quantum⁻¹ (Figura 19B). Com relação ao rendimento máximo quântico do fotossistema II, os tratamentos de F, TH, TS e 729 apresentaram as maiores médias, de 0,83 no F a 0,82 nos demais (Figura 16C)

A quantificação da fluorescência da clorofila (a) tem sido utilizado como parâmetro eficiente para avaliação de plantas que se encontram sob estresse (Ó et al., 2021). O aumento da fluorescência inicial pode indicar danos nos centros de reação do fotossistema II e a fluorescência máxima alta pode ser uma tentativa de compensar o processo fotossintético (OLIVEIRA et al., 2018). Por esse motivo, tanto a inicial como a máxima e a razão entre a fluorescência variável e máxima demonstram baixo rendimento fotossintético (WESTHUIZEN et al., 2020) no tratamento TN, por exemplo

Esse menor aproveitamento do processo fotossintético pode ter sido ocasionado pelo *Fov*, uma vez que o fungo pode causar redução nas clorofilas e, conseqüentemente, comprometer o processo fotossintético (BAGHBANI et al., 2019). Os tratamentos que apresentaram maior rendimento quântico no fotossistema II, pode ser em função dos isolados de *Trichoderma* spp. terem sido mais eficientes, uma vez que espécies do gênero garantem transferência e maior absorção de N pelas plantas (POVEDA et al., 2021b) além de melhorar o processo fotossintético (HARMAN et al., 2019).

Figura 16. Determinação da fluorescência da clorofila (a) medida através do rendimento do fotossistema II em plantas de algodoeiro BRS Verde tratadas com diferentes isolados de *Trichoderma* spp



A: Fluorescência inicial; B: Fluorescência máxima; C: rendimento máximo quântico (fluorescência variável / máxima). TP: Testemunha positiva (ausência do *Fov* e *Trichoderma* spp.); TN: Testemunha negativa (presença apenas do *Fov*); F: Fungicida Captana (240 g / 100 kg de sementes); 2: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto I, município de Remígio, PB; 6: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto III, município Areia, PB; 11: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto II, município de Areia, PB; 12: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto VI, município de Alagoinha, PB; TH: *Trichoderma harzianum*; TS: *Trichoderma* sp. oriundo de semente; 729: Isolado oriundo de Mata Atlântica. Médias seguidas por a mesma letra minúscula, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Fonte: HOLANDA, G. C; CRUZ, J. M. F. L. (2022).

5.9.2 Análise dos Componentes Principais

Com base nos componentes principais (CPA), foi possível identificar quais variáveis analisadas apresentaram maior importância na caracterização das plantas submetidas a diferentes tratamentos. Para as variáveis analisadas, as que apresentaram maior poder discriminatório no CP1 foram as características EUA (0,4212) e EiUA (0,4202). Já para o CP2, foram E (0,4689) e CloA/B (0,4491) (Tabela 6). Os componentes principais CP1 (43,63%) e CP2 (29,76%) quando somados explicam 73,39% da variância total (Figura 20).

Tabela 6. Contribuição das variáveis analisadas em cada eixo dos componentes principais

Variáveis	Autovetores	
	CP1	CP2
Clorofila A (CloA)	0.2895	0.2096
Clorofila B (CloB)	0.1699	-0.4740
Razão da Clorofila A e B (CloA/B)	-0.0820	0.4491
Clorofila Total (ClotT)	0.3253	-0.2634
Assimilação líquida de CO ₂ (A)	0.3562	0.2742
Condutância estomática (gs)	-0.0225	0.3909
Transpiração foliar (E)	-0.0334	0.4689
Concentração interna de CO ₂ (Ci)	-0.4225	-0.0551
Eficiência instantânea do uso da água (EUA)	0.4212	0.0843
Eficiência intrínseca do uso da água (EiUA)	0.4202	0.0422
Eficiência instantânea de carboxilação (EiC)	0.3373	-0.0218
Autovalores	4.799	3.274
Variância acumulada (%)	43.63	29.76

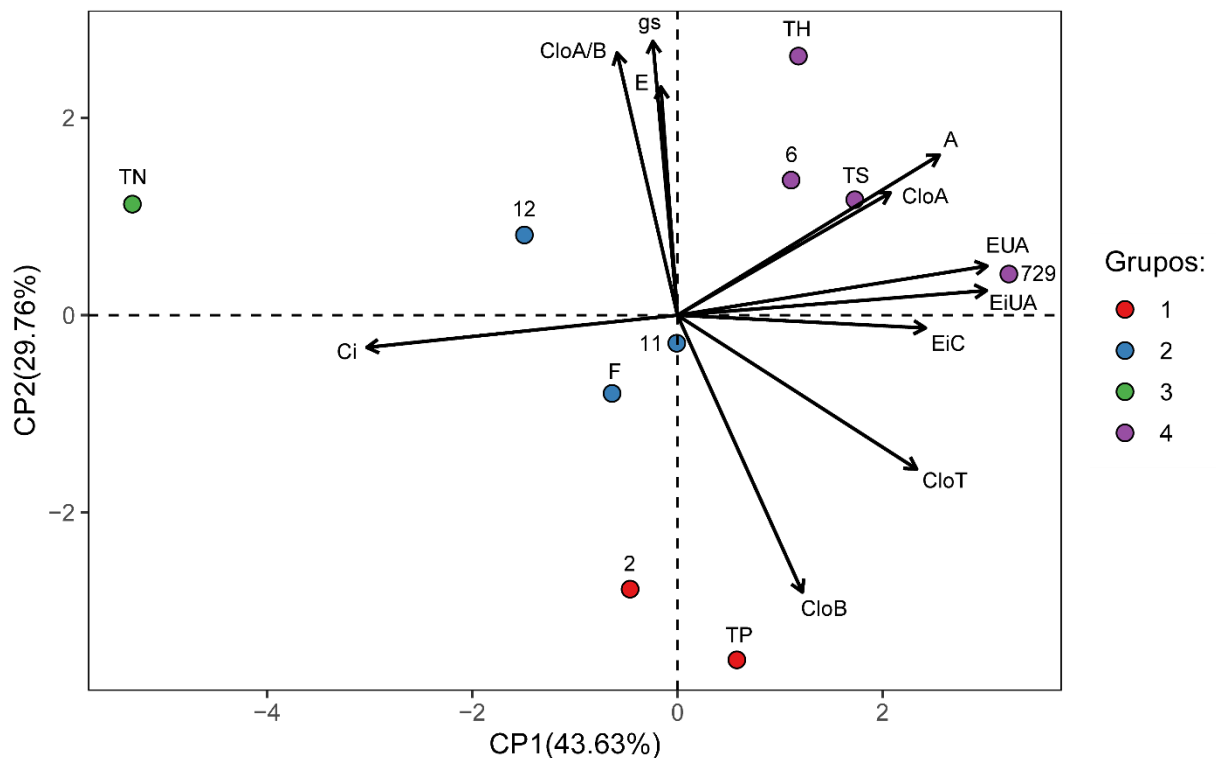
Fonte: HOLANDA, G. C.; CRUZ, J. M. F. L. (2022).

A análise dos componentes principais é uma ferramenta multivariada que visa reduzir um grande número de variáveis observadas para um menor número de fatores e identificar a correlação entre as características extraídas e os tratamentos (LOUZADA et al., 2016). De acordo com os dados obtidos, foi possível agrupar os tratamentos que apresentavam similaridade nos parâmetros avaliados em 4 grupos distintos (Figura 17)

O tratamento TN, apresentou o menor valor obtido no eixo do CP1, sendo inversamente proporcional a maioria das características, como assimilação líquida de CO₂ (A), eficiência instantânea do uso da água (EUA) e eficiência intrínseca do uso da água (EiUA), entretanto teve correlação positiva com a concentração interna de CO₂ (Ci) e condutância estomática (gs). Em função do fechamento dos estômatos e a alta concentração interna de CO₂, possibilita o influxo do CO₂ nas células do mesófilos, podendo causar fotoinativação nos centros de reação fotossintético, resultando em menor fotossíntese (SHUAI et al., 2020).

Os tratamentos com *Trichoderma* spp., especialmente o 6, TH, TS, 729 (grupo 4), apresentaram correlação positiva para a maioria das características nos dois eixos, com exceção de Ci. A proximidade de características como A, EUA e EiUA podem demonstrar maior desenvoltura das plantas, devido indicar eficiência no processo fotossintético e melhor aproveitamento do uso da água, que consequentemente, proporciona maior ganho de carbono (NEMERA et al., 2021). Os fungos do gênero *Trichoderma* são intimamente ligados ao metabolismo fotossintético da planta, como regulação positiva de genes, agindo no Ciclo de Calvin com regulação da Rubisco e rubisco ativase, além de interferir em funções fotossintéticas do NADPH, o que pode ocasionar tais melhorias (HARMAN et al., 2019)

Figura 17. Análise de componentes principais das plantas de algodoeiro submetidas aos tratamentos com diferentes isolados de *Trichoderma* spp.



Ci: concentração interna de CO₂; CloA/B: razão da clorofila A e B; E: transpiração foliar; gs: condutância estomática; A: assimilação líquida de CO₂; CloA: clorofila A; EUA: eficiência instantânea do uso da água; EiUA: eficiência intrínseca do uso da água; EiC: eficiência instantânea de carboxilação; CloT: clorofila total; CloB: clorofila B. TP: Testemunha positiva (ausência do *Fov* e *Trichoderma* spp.); TN: Testemunha negativa (presença apenas do *Fov*); F: Fungicida Captana (240 g / 100 kg de sementes); 2: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto I, município de Remígio, PB. 6: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto III, município de Areia, PB; 11: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto II, município de Areia, PB; 12: *Trichoderma* sp. oriundo do ponto VI, município de Alagoinha, PB; TH: *Trichoderma harzianum*; TS: *Trichoderma* sp. oriundo de semente; 729: Isolado oriundo de Mata Atlântica. Fonte: HOLANDA, G. C; CRUZ, J. M. F. L. (2022).

6 CONCLUSÕES

Os isolados de *Trichoderma* spp. utilizados foram eficientes no controle do *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*;

Foi possível isolar *Trichoderma* spp. oriundos de solos de áreas produtoras de algodoeiro;

Os tratamentos com *Trichoderma* spp. apresentam potencial antagônico ao *Fov in vitro*;

Os tratamentos com *Trichoderma* spp. ocasionaram o aumento de sementes mortas, porém reduziram o número de fungos fitopatogênicos associados as sementes;

Em casa de vegetação, os tratamentos TH (*Trichoderma harzianum*), TS (*Trichoderma* sp. isolado de semente de algodão) e 729 (*Trichoderma* sp. isolado de Mata Atlântica) apresentaram resultados satisfatórios quanto ao incremento de massa e funcionamento fotossintético, além de proteger a planta da infecção ao *Fov* em função da baixa taxa de infecção.

REFERÊNCIAS

- ABBAD, M. A. B. ***Trichoderma* no desenvolvimento inicial de *Luffa cylindrica* M. Roem.(Cucurbitaceae)**. 44 f. Universidade Federal de Santa Maria (Dissertação de Mestrado em Agrobiologia). Santa Maria, RS. 2020.
- ABDULLAH, N. S. DONI, F. MISPAAN, M. S.; SAIMAN, M. Z.; YUSUF, Y. M.; OKE, M. A.; SUHAIMI, N. S. M. Harnessing *Trichoderma* in agriculture for productivity and sustainability. **Agronomy**, v. 11, n. 12, p. 2559, 2021.
- ABRAPA – Associação Brasileira dos Produtores de Algodão. Disponível em: <<https://www.abrapa.com.br/Paginas/Dados/Algod%C3%A3o%20no%20Brasil.aspx>>. Acesso em: 04/02/2022
- ABREU, L. M.; PFENNING, L. H. O Gênero *Trichoderma*. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. ***Trichoderma* uso na agricultura**. Embrapa Soja- Livro científico (ALICE). Capítulo 3. p.163-179, 2019
- AGRIOPOULOU, S.; STAMATELOPOULOU, E.; VARZAKAS, T. Advances in occurrence, importance, and mycotoxin control strategies: prevention and detoxification in foods. **Foods**, v. 9, n. 2, p. 1-48, 2020.
- AGROFIT: consulta aberta. Brasília, DF: Mapa. Disponível em: <https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 09 de fevereiro de 2022
- ALMEIDA, A. S. LAUXEN, L. R.; CALAZANS, A. F. S.; HARTER, L. H.; CEOLIN, B. C.; ROSA, G. F.; TUNES, L. V. M.; VILLELA, F. A. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila de plântulas originadas de sementes tratadas com Tiametoxam. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 40804-40812, 2020.
- AMSELEM, J.; CUOMO, C. A.; KAN, J. A. L. V.; VIAUD, M.; BENITO, E. P.; COULOUX, A.; COUTINHO, P. M.; VRIES, R. P.; DYER, P. S.; FILLINGER, S.; FOURNIER, E.; GOUT, L.; HAN, M.; DICKMAN, M. Genomic analysis of the necrotrophic fungal pathogens *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis cinerea*. **PLoS genetics**, v. 7, n. 8, p. e1002230, 2011.
- ARAUJO, L.; GUERRA, A. M. N. M.; BERGER, P. G.; RODRIGUES, F. A. Infection process of *Phakopsora gossypii* in cotton leaves. **Scientia Agricola**, v. 73, p. 384-387, 2016.
- ARMSTRONG, G. M.; ARMSTRONG, J. K. Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt disease. **Fusarium: disease, biology, and taxonomy**, p. 391-399, 1981.
- ARMSTRONG, G. M.; ARMSTRONG, JOANNE K. Race 6 of the cotton-wilt *Fusarium* from Paraguay. **Plant Disease**, v. 64, p. 596, 1980.
- ARMSTRONG, G.; ARMSTRONG, J. K. **American, Egyptian, and Indian cotton-wilt fusaria: their pathogenicity and relationship to other wilt fusaria**. US Department of Agriculture, 1960.

- ARMSTRONG, J. K.; ARMSTRONG, G. M. A race of the cotton wilt *Fusarium* causing wilt of Yelredo soybean and flue-cured tobacco. **Plant Dis. Rep.**, v. 42, p. 147-151, 1958.
- ATKINSON, G. F. Some diseases of cotton. 3. Frenching. **Bull Ala Agric Exp Stn**, v. 41, p. 19-29, 1892.
- AYDOĞDU, M. H.; SEVINÇ, M. R.; CANÇELİK, M. A research on the perceptions of cotton producers to form a producers' union in Şanlıurfa-Turkey. **Journal of Ekonomi**, v. 3, n. 1, p. 5-8, 2021.
- BAAYEN, R. P.; O'DONNELL, K.; BONANTES, P. J. M.; CIGELNIK, E.; KROON, L. P. N. M.; ROEBROECK, E. J. A.; WAALWIJK, C. Gene genealogies and AFLP analyses in the *Fusarium oxysporum* complex identify monophyletic and nonmonophyletic formae speciales causing wilt and rot disease. **Phytopathology**, v. 90, n. 8, p. 891-900, 2000.
- BAGHBANI, F. LOTFI, R.; MOHARRAMNEJAD, S.; BANDEHAGH, A.; ROOSTAEI, M.; RASTOGI, A.; KALAJI, H. M. Impact of *Fusarium verticillioides* on chlorophyll fluorescence parameters of two maize lines. **European Journal of Plant Pathology**, v. 154, n. 2, p. 337-346, 2019.
- BAKER, R.; ELAD, Y.; CHET, I. The controlled experiment in the scientific method with special emphasis on biological control. **Phytopathology**, v. 74, n. 9, p. 1019-1021, 1984.
- BASTOS, C. N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipelis* e outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 22, n. 3, p. 441-443, 1997.
- BECKMAN, P. M.; PAYNE, G. A. Cultural techniques and conditions influencing growth and sporulation of *Cercosporazeae-maydis* and lesion development in corn. **Phytopathology**, Athens, v. 73, n. 2, p. 286-289, 1983.
- BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHABELL, D. K.; WELLS, C. R. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, 72, 379-382, 1982.
- BELTRÃO, N. E. M.; SOUZA, J. G.; GUERRA, J. S.; TAKIZAWA, E. **Manejo cultural do algodoeiro herbáceo na região do cerrado**, Campina Grande, 1999.
- BENÍTEZ, T. RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International microbiology**, v. 7, n. 4, p. 249-260, 2004.
- BENNETT, R. S.; HUTMACHER, R. B.; DAVIS, R. M. Seed transmission of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* race 4 in California. 2008.
- BETTIOL, W.; MAFFIA, L. A.; CASTRO, M. L. M. P. Control biológico de enfermedades de plantas en Brasil. In: BETTIOL, W.; RIVERA, M. C.; MONDINO, P.; MONTALEGUE, J. R.; COLMENAREZ, Y. Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe. [Montevideu]: Facultad de Agronomía, Universidad de la República, p. 91-137, 2014.

BETTIOL, W; SILVA, J. C.; CASTRO, M. L. M. P. Uso atual e perspectivas do *Trichoderma* no Brasil. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. ***Trichoderma* uso na agricultura**. Embrapa Soja- Livro científico (ALICE). Capítulo 1, p. 21-43, 2019.

BEZERRA, G. A. DIAS-MUSSI, V.; SANTOS, P. H. D.; AREDES, F. A. S.; SILVEIRA. Identificação e seleção de espécies de *Trichoderma* spp. endofíticos de bromélias de restingas como agentes de biocontrole da fusariose em frutos de abacaxi. **Summa Phytopathologica**, v. 45, p. 172-178, 2019.

BEZERRA, M. C. L.; GOMES, R. S. S.; CARVALHO, T. L. N.; RODRIGUES, R. M.; SILVA, T. B. M.; MEDEIROS, J. G. F. Redução de fungos e qualidade fisiológica de sementes de milho inoculadas com *Trichoderma harzianum*. **Nativa**, v. 10, n. 1, p. 69-73, 2022.

BHANDARI, S. NIRLA, D.; ADHIKARI, K. *Fusarium* And *Verticellum* Wilt In Cotton: A Review. **Environmental Contaminants Reviews (ECR)**, v. 3, n. 1, p. 48-52, 2020.

BONONI, L. CHIARAMONTE, J. B.; PANSA, C. C.; MOITINHO, M. A.; MELO, I. S. Phosphorus-solubilizing *Trichoderma* spp. from Amazon soils improve soybean plant growth. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-13, 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Mercado de biodefensivos cresce mais de 70% no Brasil em um ano. 2019. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/feffmercado-de-biodefensivos-cresce-em-mais-de-50-no-brasil>>. Acesso em: 09 de fevereiro de 2022

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: Secretaria de Defesa Agropecuária, MAPA/ACS, 2009. 398 p.

BROTMAN, Y.; LANDAU, U.; INOSTROZA-CUADROS, A.; TAKAYUKI, T.; FERNIE, A. R.; CHET, I.; VITERBO, A. WILLMITZER, L. *Trichoderma*-plant root colonization: escaping early plant defense responses and activation of the antioxidant machinery for saline stress tolerance. **PLoS pathogens**, v. 9, n. 3, p. e1003221, 2013.

BUNBURY-BLANCHETTE, A. L.; WALKER, A. K. *Trichoderma* species show biocontrol potential in dual culture and greenhouse bioassays against *Fusarium* basal rot of onion. **Biological Control**, v. 130, p. 127-135, 2019.

CAMARGO, L. E. A. Genética da interação patógeno-hospedeiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 5ª ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres Ltda. Capítulo 5, p. 85-92 2018.

CARDOSO, G. D.; ALVES, P. L. C. A.; SEVERINO, L. S.; VALE, L. S. Critical periods of weed control in naturally green colored cotton BRS Verde. *Industrial Crops and Products*, v. 34, n. 1, p. 1198-1202, 2011.

CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; JÚNIOR LOBO, M.; SILVA, M. C. 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**, v. 36, p. 28-34, 2011.

CARVALHO, L. P.; BELTRÃO, N. E. M.; COSTA, J. N.; ANDRADE, F. P.; SILVA, O. R. R. F.; ARAÚJO, G. P.; ALVES, I. BRS Verde. Campina Grande: Embrapa/Algodão PB, 2009. Folder.

CARVALHO, L. P.; ANDRADE, F. P.; SILVA FILHO, J. L. Cultivares de algodão colorido no Brasil. **Embrapa Algodão-Nota Técnica/Nota Científica (ALICE)**, 2011.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. FUNEP, Jaboticabal. 590 p. 2012.

CASTELLANI, A. Maintenance and cultivation of common pathogenic fungi of man in sterile distilled water. Further researches. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 70, n. 8, p. 181-&, 1967.

CHEN, Q.; JI, X.; SUN, W. Identification of races of cotton wilt Fusarium in China. **Agriculture Science China**, v. 6, p. 1-6, 1985.

CHEN, Z. J. et al. Toward sequencing cotton (*Gossypium*) genomes. **Plant physiology**, v. 145, n. 4, p. 1303-1310, 2007.

CIA, E.; SALGADO, C. L. Doenças do algodoeiro (*Gossypium* spp.). In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. (Ed.). Manual de Fitopatologia. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2: Doenças das plantas cultivadas, p. 33-63, 2005

CIANCHETTA, A. N.; DAVIS, R. M. Fusarium wilt of cotton: Management strategies. **Crop Protection**, v. 73, p. 40-44, 2015.

COCCO, D. L.; Desempenho fisiológico de sementes de algodão. Dissertação (Mestrado Profissionalizante) – Programa de Pós-Graduação e Ciência e Tecnologia de Sementes. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2012.

CONINCK, E. SCAUFLAIRE, K.; GOLLIER, M.; LIÉNARD, C.; FOUCART, G.; MANSSENS, G.; MUNAUT, F.; LEGRÉVE, A. *Trichoderma atroviride* as a promising biocontrol agent in seed coating for reducing Fusarium damping-off on maize. **Journal of applied microbiology**, v. 129, n. 3, p. 637-651, 2020.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. 1. Ed. SaintPaul: APS Press. 593p, 1983.

CORRÊA, B. O.; MOURA, A. B.; DENARDIN, N. A.; SOARES, V. N.; SCHÄFER, J. T.; LUDWIG, J. Influência da microbiolização de sementes de feijão sobre a transmissão de *Colletrichum Lindemuthianum* (Saac e Magn). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, p. 156-163, 2008.

COSTA, S. A. T.; ALVES, G. S.; CORDEIRO, J. A.; ALVES, J. J. A.; SÁ, G. A. S. Emergência e crescimento do algodoeiro cv. BRS verde sob níveis de salinidade na água de irrigação. **Scientia Agraria Paranaensis**, p. 259-268, 2019.

COSTA, S. R.; BUENO, M. G. A saga do algodão: das primeiras lavouras à ação na OMC. **Rio de Janeiro: Insight Engenharia**, 2004.

COX JR, K. L.; BABILONIA, K.; WHEELER, T.; HE, P. SHAN, L. Return of old foes—recurrence of bacterial blight and Fusarium wilt of cotton. **Current opinion in plant biology**, v. 50, p. 95-103, 2019.

CRUZ, J. M. F. L.; MEDEIROS, E. C.; FARIAS, O. R.; SILVA, E. C.; NASCIMENTO, L. C. Microbiolization of organic cotton seeds with *Trichoderma* sp. and *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Seed Science**, v. 42, 2020.

CRUZ, J. M. F. L. **Murcha de Fusário do caupi: caracterização do patógeno e potencial de *Trichoderma* spp. no manejo**. (Mestrado em Agronomia). Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB, 2021.

DALZOTTO, L.; TORTELLI, B.; STEFANSKI, F. S.; SACON, D.; SILVA, V. N.; MILANESI, P. M. Creole bean seeds microbiolization with doses of *Trichoderma harzianum*. **Ciência Rural**, v. 50, n. 5, 2020.

DANTAS, F. V. **REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO EM SUBSTRATO ARTIFICIALMENTE INFESTADO COM *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum***. 54 f. Universidade Estadual da Paraíba. (Dissertação de Mestrado em Ciências Agrárias). Campina Grande, PB. 2012

DAVIS, R. M.; COLYER, P. D.; ROTHROCK, C. S.; KOCHMAN, J. K. Fusarium wilt of cotton: population diversity and implications for management. **Plant Disease**, v. 90, n. 6, p. 692-703, 2006.

DEAN, R.; KAN, J. A. L. V.; PRETORIOUS, Z. A.; KOSACK-HAMMOND, K. E.; PIETRO, A.; SPANU, P. D.; RUDD, J. J.; DICKMAN, R.; KAHMANN, R.; ELLIS, J.; FOSTER, G. D. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular plant pathology**, v. 13, n. 4, p. 414-430, 2012.

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. III - Hyphal interaction. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 57, p. 368-369, 1971a

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: II. Production of volatile antibiotics. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 57, n. 1, p. 41-48, 1971b

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: I. Production of non-volatile antibiotics. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 57, n. 1, p. 25-39, 1971c

DÍAZ-GUTIÉRREZ, C.; ARROYAVE, C.; LLUGANY, M.; POSCHENRIEDER, C.; MARTOS, S.; PELÁEZ, C.. *Trichoderma asperellum* as a preventive and curative agent to control Fusarium wilt in *Stevia rebaudiana*. **Biological Control**, v. 155, p. 104537, 2021.

DRUZHININA, I. S.; KOPCHINSKIY, A. G.; KUBICEK, C. P. The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. **Mycoscience**, v. 47, n. 2, p. 55, 2006.

DRUZHININA, I. S.; SEIBOTH-SEIDL, V.; ESTRELLA-HERRERA, A.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; MUKHERJEE, P. K.; ZEILINGER, S.; GRIGORIEV, I. V.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 10, p. 749-759, 2011.

DRUZHININA, I. S.; KUBICEK, C. P. Ecological genomics of *Trichoderma*. **The Ecological Genomics of Fungi**, p. 89-116, 2013.

DUBEY, S. C.; SURESH, M.; SINGH, B. Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* for integrated management of chickpea wilt. **Biological control**, v. 40, n. 1, p. 118-127, 2007.

EDEL-HERMANN, V.; LECOMTE, C. Current status of *Fusarium oxysporum* formae speciales and races. **Phytopathology**, v. 109, n. 4, p. 512-530, 2019.

ELLIOT, J. A. Cotton wilt: a seed-borne disease. **Jour. of Agric. Research**, v. 23. p. 387-393, 1923

ELMASRY, G.; ELGAMAL, R.; MANDOUR, N.; GOU, P. AL-REJAIE, S.; BELIN, E.; ROUSSEAU, D. Emerging thermal imaging techniques for seed quality evaluation: Principles and applications. **Food Research International**, v. 131, p. 109025, 2020.

ESTÉVEZ-GEFFRIAUD, V.; VICENTE, R.; DÍAZ-VERGARA, O.; REINALDO, J. J. N.; TRILLAS, M. I.. Application of *Trichoderma asperellum* T34 on maize (*Zea mays*) seeds protects against drought stress. **Planta**, v. 252, n. 1, p. 1-12, 2020.

EVANS, H. C.; HOLMES, K. A.; THOMAS, S. E. Endophytes and mycoparasites associated with an indigenous forest tree, *Theobroma gileri*, in Ecuador and a preliminary assessment of their potential as biocontrol agents of cocoa diseases. **Mycological Progress**, v. 2, n. 2, p. 149-160, 2003.

FARIAS, O. R; NASCIMENTO, L. C.; CRUZ, J. M. F. L.; SILVA, H. A. O.; OLIVEIRA, M. D. M.; BRUNO, R. L. C.; ARRIEL, N. H. C. Biocontrol potential of *Trichoderma* and *Bacillus* species on *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. 2019. **Journal of Experimental Agriculture International**, v. 34, n. 1, p. 1-11, 2019.

FARIAS, O. R. CRUZ, J. M. F. L.; GOMES, R. S. S.; NASCIMENTO, L. C.; BRUNO, R. L. A.; ARRIEL, N. H. C. Ocorrência de fungos e qualidade fisiológica de sementes de algodoeiro produzidas na Paraíba, Brasil. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 15, n. 2, p. 1-13, 2022.

FARIAS, O. R. **Qualidade de sementes de algodoeiro (*Gossypium* spp.) submetidas ao controle biológico**. 72f. Universidade Federal da Paraíba (Dissertação de Mestrado em Agronomia). Areia, PB. 2017.

FERRAZ, R. L.; BELTRÃO, N. E. M.; MAGALHÃES, I. D.; ROCHA, M. S.; MELO, A. S. Trocas gasosas e eficiência fotoquímica de cultivares de algodoeiro herbáceo sob aplicação de silício foliar. **Semina-ciencias Agrarias**, p. 735-748, 2014.

FERREIRA, F. V. HERRMANN-ANDRADE, A. M.; CALABRESE, C. D.; BELLO, F.; VÁZQUEZ, D.; MUSUMECI, M. A. Effectiveness of *Trichoderma* strains isolated from the rhizosphere of citrus tree to control *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides* and *Penicillium digitatum* A21 resistant to pyrimethanil in post-harvest oranges (*Citrus sinensis* L.(Osbeck)). **Journal of applied microbiology**, v. 129, n. 3, p. 712-727, 2020.

FERRIGO, D; MONDIN, M.; LADURNER, E.; FIORENTINI, F.; CAUSIN, R.; RAIOLA, A. Effect of seed biopriming with *Trichoderma harzianum* strain INAT11 on *Fusarium* ear rot and *Gibberella* ear rot diseases. **Biological Control**, v. 147, p. 104286, 2020.

FOURIE, G.; STEENKAMP, E. T.; PLOETZ, R. C.; GORDON, T. R.; VILJOEN, A. Current status of the taxonomic position of *Fusarium oxysporum formae specialis cubense* within the *Fusarium oxysporum* complex. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 11, n. 3, p. 533-542, 2011.

GAO, X.; GUO, H.; ZHANG, Q.; GUO, H.; ZHANG, L.; ZHANG, C.; GUO, Z.; LIU, Y. WEI, K.; CHEN, A.; CHU, Z. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) enhanced the growth, yield, fiber quality and phosphorus regulation in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2020.

GARNICA-VERGARA, A.; ORTIZ, S. B.; MUÑOR-PARRA, E.; GONZÁLEZ-RAYA, J.; MÉNDEZ-BRAVO, A.; RODRÍGUEZ-MACÍAS, L.; RUIZ-HERRERA, L. F.; LÓPEZ-BUCIO, J. The volatile 6-pentyl-2H-pyran-2-one from *Trichoderma atroviride* regulates *Arabidopsis thaliana* root morphogenesis via auxin signaling and ETHYLENE INSENSITIVE 2 functioning. **New Phytologist**, v. 209, n. 4, p. 1496-1512, 2016.

GHISALBERTI, E. L.; ROWLAND, C. Y. Antifungal metabolites from *Trichoderma harzianum*. **Journal of Natural Products**, v. 56, n. 10, p. 1799-1804, 1993.

GIROTTI, L.; MARANGONI, M. S.; MATOS, J. N.; GALBIERI, R.; ALMEIDA, W. P.; MEHTA, Y. R. Identification of phenotypic and genotypic variability among the isolates of *Ramularia areola* of Brazilian cotton. **American Journal of Plant Sciences**, v. 4, n. 9, p. 1893, 2013.

GORDON, T. R. *Fusarium oxysporum* and the *Fusarium* wilt syndrome. **Annual review of phytopathology**, v. 55, p. 23-39, 2017.

GORDON, T. R.; MARTYN, R. D. The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. **Annual review of phytopathology**, v. 35, n. 1, p. 111-128, 1997.

GOWDA, S. A.; KATAGERI, I. S.; KUMAR, N. V. M.; PATIL, R. S. Development and evaluation of India's first intraspecific *Gossypium barbadense* cotton recombinant inbred mapping population for extra-long staple fibre traits. **Journal of Genetics**, v. 101, n. 1, p. 1-14, 2022.

GRAVEL, V.; ANTOUN, H.; TWEDDELL, R. J. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: possible role of indole acetic acid (IAA). **Soil Biology and Biochemistry**, v. 39, n. 8, p. 1968-1977, 2007.

GUZMÁN-GUZMÁN, P.; PORRAS-TRONCOSO, M. D.; MONFIL-OLMEDO, V.; ESTRELLA-HERRERA, A. *Trichoderma* species: versatile plant symbionts. **Phytopathology**, v. 109, n. 1, p. 6-16, 2019.

HAO, J. J.; YANG, M. E.; DAVIS, R. M. Effect of soil inoculum density of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* race 4 on disease development in cotton. **Plant disease**, v. 93, n. 12, p. 1324-1328, 2009.

HARMAN, G. E.; DONI, F.; KHADKA, R. B.; UPHOFF, N. Endophytic strains of *Trichoderma* increase plants' photosynthetic capability. **Journal of applied microbiology**, v. 130, n. 2, p. 529-546, 2019.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature reviews microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant disease**, v. 84, n. 4, p. 377-393, 2000.

HARMAN, G. E. *Trichoderma*—not just for biocontrol anymore. **Phytoparasitica**, v. 39, n. 2, p. 103-108, 2011.

HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 17-25, 2012.

HERMOSA, R.; CARDOZA, R. E.; RUBIO, M. B.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E. Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of *Trichoderma*. In: **Biotechnology and biology of Trichoderma**. Elsevier, p. 125-137, 2014.

HUGHES, K. A.; BRIDGE, P. I.; CLARK, M. S. Tolerance of Antarctic soil fungi to hydrocarbons. **Science of the Total Environment**, v. 372, n. 2-3, p. 539-548, 2007.

HUGO, V. Os Miseráveis. Tradução por Renina Célia de Oliveira. São Paulo: Martin Claret, [1862] 2014

ISAIAS, C. O.; MARTINS, I.; SILVA, J. B. T.; SILVA, J. P.; MELLO, S. C. M. Ação antagônica e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp. contra os patógenos *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae*. **Summa Phytopathologica**, v. 40, p. 34-41, 2014.

ISHIZUKA, M. S.; CASTRO, R. R. L.; MORAES, M. H. D.; MENTEN, J. O. M. Effect of chemical and biological seed treatments on common bean seeds inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 87, 2020.

JAKLITSCH, W. M. European species of *Hypocrea* Part I. The green-spored species. **Studies in Mycology**, v. 63, p. 1-91, 2009.

JAKLITSCH, W. M.; VOGLMAYR, H. Biodiversity of *Trichoderma* (Hypocreaceae) in Southern Europe and Macaronesia. **Studies in mycology**, v. 80, p. 1-87, 2015.

JAMIL, A. Antifungal and plant growth promoting activity of *Trichoderma* spp. against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* colonizing tomato. **Journal of Plant Protection Research**, p. 243-253-243-253, 2021.

JIANG, Y. WANG, J.L.; CHEN, J.; MAO, L. J.; FENG, X. X.; ZHAN, C. L.; LIN, F. C. *Trichoderma* biodiversity of agricultural fields in east China reveals a gradient distribution of species. **PLoS One**, v. 11, n. 8, p. e0160613, 2016.

JUNGES, E.; MUNIZ, M. F.; MEZZOMO, R.; BASTOS, B.; MACHADO, R. T. *Trichoderma* spp. na produção de mudas de espécies florestais. **Floresta e Ambiente**, v. 23, p. 237-244, 2016.

KESWANI, C.; MISHRA, S.; SARMA, B. K.; SINGH, S. P.; SINGH, H. B. Unraveling the efficient applications of secondary metabolites of various *Trichoderma* spp. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 98, n. 2, p. 533-544, 2014.

KHAN, R. A. A.; NAJEEB, S.; HUSSAIN, S.; XIE, B.; LI, Y. Bioactive secondary metabolites from *Trichoderma* spp. against phytopathogenic fungi. **Microorganisms**, v. 8, n. 6, p. 817, 2020a.

KHAN, R. A. A.; NAJEEB, S.; MAO, Z.; LING, J.; YANG, Y.; LI, Y.; XIE, B. Bioactive secondary metabolites from *Trichoderma* spp. against phytopathogenic bacteria and root-knot nematode. **Microorganisms**, v. 8, n. 3, p. 401, 2020b.

KHATUN, A.; SHAMSI, S.; BASHAR, M. A. Diversity of seed borne fungi associated with fourteen varieties of storage cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seeds. **Journal of Biodiversity Conservation and Bioresource Management**, v. 4, n. 2, p. 43-52, 2018.

KIM, Y.; HUTMACHER, R. B.; DAVIS, R. M. Characterization of California isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. **Plant Disease**, v. 89, n. 4, p. 366-372, 2005.

KLEIN, D.; EVELEIGH, D. E. Ecology of *Trichoderma*. *Trichoderma and Gliocladium*, v. 1, p. 57-74, 1998.

KRUG, H. P. *Fusarium* como causador da murcha do algodoeiro no Brasil. **Rodriguesia**, p. 319-321, 1936.

KTHIRI, Z.; JABUER, M. B.; MACHRAOUI, M.; GARGOURI, S.; HIBA, K.; HAMADA, W. Coating seeds with *Trichoderma* strains promotes plant growth and enhance the systemic resistance against *Fusarium* crown rot in durum wheat. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 30, n. 1, p. 1-10, 2020

LAWRENCE, K. S.; HATCHETT, T. B.; NIGHTENGAL, S. Evaluation of *Avicta alone* and in combination with seed treatment fungicides for protection of cotton from *Fusarium* wilt, 2006. **Research report series**, 2007.

LAZAROTTO, M.; MEZZOMO, R.; MACIEL, C. G.; BOVOLINI, M. P.; MUNIZ, M. F. B. Tratamento de sementes de canafístula via calor úmido. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 56, n. 3, p. 268-273, 2013.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. The *Fusarium* laboratory manual. Ames: Blackwell, 388 pp., 2006.

LI, M. F.; LI, G. H.; ZHANG, K. Q. Non-volatile metabolites from *Trichoderma* spp. **Metabolites**, v. 9, n. 3, p. 58, 2019.

LIEVENS, B.; REP, M.; THOMMA, B. P. H. J. Recent developments in the molecular discrimination of formae speciales of *Fusarium oxysporum*. **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 64, n. 8, p. 781-788, 2008.

LIMA, J. P. P.; SILVA, E. E.; JOSÉ, A. Análise quantitativa de crescimento em leguminosas para adubação verde na savana de Roraima. **Sociobiodiversidade Amazônica: Saberes, olhares e práticas agroecológicas (Vol I)**, v. 1, p. 32, 2021.

LIMA, M. M.; AZEVEDO, C. A. V.; BELTRÃO, N. E. M.; LIMA, V. L. A.; NASCIMENTO, M. B. H.; FIGUEIRÊDO, I. C. M. Níveis de adubação nitrogenada e bioestimulante na produção e qualidade do algodão BRS verde. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, n. 3, p. 619-623, 2006.

LOUZADA, G. A. S. BARBOSA, H. N.; CARVALHO, D. D. C.; MARTINS, I.; JUNIOR LOBO, M.; MELLO, S. C. M. Relações entre testes com metabólitos e seleção de isolados de *Trichoderma* spp. antagonísticos a *Sclerotinia sclerotiorum*. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2016.

MA, L. J.; et al. Comparative genomics reveals mobile pathogenicity chromosomes in *Fusarium*. **Nature**, v. 464, n. 7287, p. 367-373, 2010.

MA, Z. et al. Resequencing a core collection of upland cotton identifies genomic variation and loci influencing fiber quality and yield. **Nature genetics**, v. 50, n. 6, p. 803-813, 2018.

MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.

MACHADO, L. P.; MICHEREFF, S. J.; FALLEIRO, B. A. S.; OLIVEIRA, M. G.; COUTINHO, W. M.; MORELLO, C. L.; SUASSUNA, N. D. Um método simples e rápido de seleção para resistência à murcha-de-fusário em genótipos de algodoeiro. *Tropical Plant Pathology*, v. 34, p. 51-55, 2009.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation of seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

MANDEEL, Q. A.; ABBAS, J. A.; SAEED, A. M. Survey of *Fusarium* species in arid environment of Bahrain II. Spectrum of species on five isolation media. **SYDOWIA-HORN**, v. 47, p. 223-239, 1995.

MARKETS AND MARKETS. Biopesticides market by type, source, mode of application, formulation, crop application and region: global forecast to 2025. Charing: REPORT BUYER. 2020. Disponível em: <<https://www.reportbuyer.com/product/4364825>>. Acesso em: 09 de fevereiro de 2022.

MARTIN, J. P. Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. **Soil science**, v. 69, n. 3, p. 215–232, 1950.

MASTOURI, F.; BJÖRKMAN, T.; HARMAN, G. E. *Trichoderma harzianum* enhances antioxidant defense of tomato seedlings and resistance to water deficit. **Molecular plant-microbe interactions**, v. 25, n. 9, p. 1264-1271, 2012.

MEHTA, Y. R. Genetic diversity among isolates of *Stemphylium solani* from cotton. **Fitopatologia brasileira**, v. 26, n. 4, p. 703-709, 2001.

METZ, N.; HAUSLADEN, H. *Trichoderma* spp. As potential biological control agent against *Alternaria solani* in potato. **Biological Control**, v. 166, p. 104820, 2022.

MEYER, M. C.; SILVA, J. C.; MAIA, G. F.; BUENO, C. J.; SOUZA, N. L. Mancha de mirotécio em algodoeiro causada por *Myrothecium roridum*. **Summa Phytopathologica**, v. 32, p. 390-393, 2006.

MICHIELSE, C. B.; REP, M.. Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. **Molecular plant pathology**, v. 10, n. 3, p. 311, 2009.

MONTE, E.; BETTIOL, W.; HERMOSA, R. *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. **Trichoderma uso na agricultura**. Embrapa Soja- Livro científico (ALICE). Capítulo 4. p.180-199, 2019

MORANDI, M. A. B.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BETTIOL, W.; TEIXEIRA, H. Controle biológico de fungos fitopatogênicos. **Informe Agropecuário**, v. 30, p. 73-82, 2009.

MORENO-MORAN, M.; BURBANO-FIGUEROA, O. Dynamics of cotton ramulosis epidemics caused by *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* in Colombia. **European Journal of Plant Pathology**, v. 149, n. 2, p. 443-454, 2017.

MOURA, I. N. B. M.; SILVA, J. N.; SILVA, E. C.; FARIAS, O. R.; NASCIMENTO, L. C. Controle biológico com *Trichoderma* SP. sobre a qualidade de sementes de *Astronium urundeuva*. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 15, n. 1, p. 1-13, 2022.

MOURA, S. S. S.; SOARES, A. M.; URSULINO, M. M.; OLIVEIRA, R.; NASCIMENTO, L. C.; ALVES, E. U.. Physiological and sanitary quality of seeds of *Dimorphandra gardneriana* Tul. treated with essential oils. **Comunicata Scientiae**, v. 9, n. 3, p. 457-464, 2018.

MOUTASSEM, D.; BELABID, L.; BELLIK, Y. Efficiency of secondary metabolites produced by *Trichoderma* spp. in the biological control of *Fusarium* wilt in chickpea. **Journal of Crop Protection**, v. 9, n. 2, p. 217-231, 2020.

MUKHERJEE, P. K.; MENDONZA-MENDONZA, A.; ZEILINGER, S.; HORWITZ, B. A. Mycoparasitism as a mechanism of *Trichoderma*-mediated suppression of plant diseases. **Fungal Biology Reviews**, v. 39, p. 15-33, 2022.

NASCIMENTO, L.C.; MEDEIROS, J. G. F. **Patologia das sementes: noções básicas**. João Pessoa: Editora da UFPB, 2015. 196p

NASEBY, D. C.; PASCUAL, J. A.; LYNCH, J. M. Effect of biocontrol strains of *Trichoderma* on plant growth, *Pythium ultimum* populations, soil microbial communities and soil enzyme activities. *Journal of Applied Microbiology*, v. 88, n. 1, p. 161-169, 2000.

NEMERA, D. B.; BAR-TAL, A.; LEVY, G. J.; TARCHITZKY, J.; ROG, I.; KLEIN, T.; COHEN, S. Mitigating negative effects of long-term treated wastewater irrigation: Leaf gas exchange and water use efficiency response of avocado trees (*Persea americana* Mill.). **Agricultural Water Management**, v. 256, p. 107126, 2021.

NIRENBERG, H. I.; IBRAHIM, G.; MICHAIL, S. H. Race identity of three isolates of *Fusarium oxysporum* Schlecht. f. sp. *vasinfectum* (Atk.) Snyd. & Hans, from Egypt and the Sudan. **Journal of Plant Diseases and Protection**, p. 594-597, 1994.

Ó, L. M.; COVA, A. M. W.; SILVA, P. C. C.; GHEYI, H. R.; NETO, A. D. A.; RIBAS, R. F. ASPECTOS BIOQUÍMICOS E FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA A EM PLANTAS DE MINIMELANCIA HIDROPÔNICA SOB ESTRESSE SALINO. **IRRIGA**, v. 26, n. 2, p. 221-239, 2021.

OLIVEIRA, A. G.; JUNIOR CHAGAS, A. F.; SANTOS, G. R.; MILLER, L. O.; CHAGAS, L. F. B.. Potencial de solubilização de fosfato e produção de AIA por *Trichoderma* spp. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 3, p. 26, 2012.

OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum annanum* L.)**. 111 p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras/MG. 1991

OLIVEIRA, W.J.; SOUZA, E. R.; SANTOS, H. R. B.; SILVA, E. F. F.; DUARTE, H. H. F.; MELO, D. V. M. Fluorescência da clorofila como indicador de estresse salino em feijão caupi. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 12, n. 3, p. 2592, 2018.

PASCHOLATI, S. F. SOUZA, V. H. M.; FILHO CARDOSO, J. A. Indução de resistência por *Trichoderma*. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. ***Trichoderma* uso na agricultura**. Embrapa Soja- Livro científico (ALICE). Capítulo 7, p. 235-254, 2019.

PASSADOR, M. M.; PIRES, G. C. C.; FINATTI, D.; APARECIDO, C. C.; FIGUEIREDO, M. B. Manutenção da viabilidade e patogenicidade de culturas mantidas na micoteca “Mário Barreto Figueiredo”. **Biológico**, São Paulo,[online], v. 72, n. 1, p. 51-55, 2010.

PEREIRA, F. T.; OLIVEIRA, J. B.; MUNIEZ, P. H. P. C.; PEIXOTO, G. H. S.; GUIMARÃES, R. R.; CARVALHO, D. D. C. Promoção do crescimento e da produtividade de alface pelo emprego de cepas comerciais de *Trichoderma* spp. **Horticultura Brasileira**, v. 37, n. 1, p. 69-74, 2019.

PERSOON, C. H. Disposita methodical fungorum. **Romers Neues Mag Bot**, v. 1, p. 81-128, 1794.

PIMENTEL, M. F.; ARNÃO, E.; WARNER, A. J.; SUBEDI, A.; ROCHA, L. F.; SROUR, A.; BOND, J. P.; FAKHOURY, A. M.. *Trichoderma* isolates inhibit *Fusarium virguliforme* growth, reduce root rot, and induce defense-related genes on soybean seedlings. *Plant Disease*, v. 104, n. 7, p. 1949-1959, 2020.

POVEDA, J.; EUGUI, D.; ABRIL-URÍAS, P.; VELASCO, P. Endophytic fungi as direct plant growth promoters for sustainable agricultural production. **Symbiosis**, v. 85, n. 1, p. 1-19, 2021a.

POVEDA, J. *Trichoderma* as biocontrol agent against pests: New uses for a mycoparasite. **Biological Control**, v. 159, p. 104634, 2021b.

PRASAD, B. M. V. S.; BHATTIPROLU, S. L.; KUMARI, V. P.; KUMAR, P. A. *In vitro* evaluation of fungicides against *Alternaria macrospora* causing leaf spot in cotton. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**. v. 7, n. 1, p. 2551-2557, 2018.

QUEIROGA, V. P.; RIBEIRO, O. R.; BEZERRA, J. R. C.; GALDINO, P. O. Influência do tempo de deslntamento com ácido sulfúrico sobre a qualidade fisiológica da semente de algodão herbáceo. In: **Congresso Brasileiro de Algodão, Campo Grande. Resumos, EMBRAPA**. 2001. p. 1078-1080.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. 2021

RAJANI, P. RAJASEKARAN, C.; VASANTHAKUMARI, M. M.; OLSSON, S. B.; RAVIKANATH, G.; SHAANKER, R. U. Inhibition of plant pathogenic fungi by endophytic *Trichoderma* spp. through mycoparasitism and volatile organic compounds. **Microbiological research**, v. 242, p. 126595, 2021.

RAMADA, M. H. S.; LOPES, F. A. C.; ULHOA, C. J. *Trichoderma*: metabólitos secundários. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. **Trichoderma uso na agricultura**. Embrapa Soja- Livro científico (ALICE). Capítulo 5. p.201-218, 2019

RAMÍREZ-VALDESPINO, C. A.; CASAS-FLORES, S.; OLMEDO-MONFIL, V. *Trichoderma* as a model to study effector-like molecules. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 1030, 2019.

RAPHAEL, J. P. A.; ROSOLEM, C. A.; ECHER, F. R. Mapeamento da produção no algodoeiro: embasamentos e realização a campo. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*. Instituto Mato-grossense do Algodão, Cuiabá-MT, 5, 2019. p. 13

REINO, J. L.; GUERRERO, R. F.; GALÁN-HERNANDEZ, R.; COLLADO, I. G. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. **Phytochemistry Reviews**, v. 7, n. 1, p. 89-123, 2008.

RESENDE, M. L.; PEREIRA, C. E.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M. Qualidade de sementes de milho (*Zea mays*) tratadas com fungicida e inoculadas com *Trichoderma harzianum*. *Revista Ciência Agronômica*, v. 36, n. 1, p. 60-66, 2005.

RIDDELL, R. W. Mycological society of america permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. **Journal of Mycological Society of America**, v. 42, n. 2, p. 265–270, 1950.

ROSSMAN, A. Y.; SEIFERT, K. A.; SAMUELS, G. J.; MINNIS, A. M.; SCHROES, H. J.; LOMBARD, L.; CROUS, P. W.; PÖLDMAA, K.; CANNON, P. F.; SUMMERBELL, R. C.; GEISER, D. M.; ZHANG, W.; HIROOKA, Y.; HERRERA, C.; SALGADO-SALAZAR, C.; CHAVERRI, P.. Genera in *Bionectriaceae*, *Hypocreaceae*, and *Nectriaceae* (Hypocreales) proposed for acceptance or rejection. **IMA fungus**, v. 4, n. 1, p. 41-51, 2013.

ROYSE, J. D.; RIES, M. S. The influence of fungi isolated from peach twigs on the pathogenicity of *Cytospora cincta*. **Phytopathology**, v. 68, n. 4, p. 603–607, 1978.

SAHEBANI, N.; HADAVI, N. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Soil biology and biochemistry**, v. 40, n. 8, p. 2016–2020, 2008.

SAMUELS, G. J. *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. **Mycological research**, v. 100, n. 8, p. 923-935, 1996.

SAMUELS, G. J. *Trichoderma*: systematics, the sexual state, and ecology. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 195-206, 2006.

SANOGO, S.; ZHANG, J. Resistance sources, resistance screening techniques and disease management for *Fusarium* wilt in cotton. **Euphytica**, v. 207, n. 2, p. 255-271, 2016.

SANTOS, J. M. R.; TANIGUCHI, C. A. K.; SILVA, C. F. B.; NATALE, W.; ARTUR, A. G. *Trichoderma* in the promotion of growth and nutrition of dwarf cashew rootstock. **Revista Ciência Agronômica**, v. 52, 2021.

SCHUSTER, A.; SCHMOLL, M.. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 87, n. 3, p. 787-799, 2010.

SEIFERT, K.; MORGAN-JONES, G.; GAMS, W.; KENDRICK, B. **The genera of Hyphomycetes**. 1.a ed. Utrecht, The Netherlands: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 866 p, 2011

SELLAL, Z.; TOUHAMI, O.; CHLIYER, M.; MOUDEN, N.; SELMAOUI, K.; DAHMANI, J.; BENKIRANE, R.; EL MODAFAR, C. H.; DOUIRA, A. Effect of seeds treatment with *Trichoderma harzianum* on argan plants growth. **Plant Cell Biotechnol Mol Biol**, v. 21, n. 11&12, p. 69-77, 2020.

SEN, B. Jeersannidhi Award Lecture-Biological Control--A success story. **Indian Phytopathology**, 2012.

SHABAN, M.; MIAO, Y.; ULLAH, A.; KHAN, A. Q.; MENGHWAR, H.; KHAN, A. H.; AHMED, M. M.; TABASSUM, M. A.; ZHU, L. Physiological and molecular mechanism of defense in cotton against *Verticillium dahliae*. **Plant physiology and biochemistry**, v. 125, p. 193-204, 2018.

SHAMSI, S.; NAHAR, M. N. Pathogenic potentiality of fungi isolated from seeds of three hill cotton varieties (*Gossypium arboreum* L.). **Dhaka University Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 2, p. 187-193, 2019.

SHARMA, P. Complexity of *Trichoderma-fusarium* interaction and manifestation of biological control. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 8, p. 1027-1038, 2011.

SHUAI, L.; LIAO, L.; DUAN, Z.; SONG, M.; WAND, G.; WANG, Z.; ZHANG, M. Photosynthesis-related protein expression in sugarcane during sugarcane–*Fusarium verticillioides* interaction revealed by iTRAQ. **Plant Growth Regulation**, v. 91, n. 2, p. 237-248, 2020.

SIDDIQUEE, S. Recent advancements on the role and analysis of volatile compounds (VOCs) from *Trichoderma*. In: VIJAI K. GUPTA, MONIKA SCHMOLL, ALFREDO HERRERA-ESTRELLA, R.S. UPADHYAY, IRINA DRUZHININA, M. G. T. (Ed.). **Biotechnology and Biology of Trichoderma**. 1. ed. Elsevier, 2014. p. 139–175.

SILVA, J. V. B.; GOMES, R. S. S.; CARVALHO, T. K. N.; LACERDA, A. V.; RODRIGUES, R. M.; MEDEIROS, J. G. F. Controle de patógenos em sementes de algodão com o uso de *Trichoderma harzianum*. **Nativa**, v. 10, n. 2, p. 204-210, 2022.

SILVA, R. N.; MONTEIRO, V. N.; STEINDORFF, A. S.; GOMES, E. V.; NORONHA, E. F.; ULHOA, C. J. *Trichoderma*/pathogen/plant interaction in pre-harvest food security. **Fungal biology**, v. 123, n. 8, p. 565-583, 2019b

SILVA, T. P.; DEMARTELAERE, A. C. F.; PEREIRA, M. D.; TEIXEIRA, D. I. A.; LIRA, V. M.; ALVES, J. S.; NETO, D. F. S.; PRESTON, H. A. F.; LOPES, D. A.; LIMA, F. R. A.; FERREIRA, A. S. Influência do extrato de *Crassiphycus birdiae* na qualidade sanitária e fisiológica em sementes de gergelim. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 28250-28269, 2021.

SILVA, T. W. R.; SILVA, T. W. R.; SANTOS, A. F.; AUER, C. G.; TESSMANN, D. J. Pine seeds treatment with *Trichoderma* for *Fusarium* control. **Floresta e Ambiente**, v. 26, 2019a.

SINGH, V. K; SINGH, Harikesh Bahadur; UPADHYAY, Ram Sanmukh. Role of fusaric acid in the development of ‘Fusarium wilt’ symptoms in tomato: Physiological, biochemical and proteomic perspectives. **Plant physiology and biochemistry**, v. 118, p. 320-332, 2017.

SMITH, S. N. An overview of ecological and habitat aspects in the genus *Fusarium* with special emphasis on the soil-borne pathogenic forms. **Plant Pathol Bull**, v. 16, p. 97-120, 2007.

SOOD, M.; KAPOOR, D.; KUMAR, V.; SHETIWIY, M. S.; RAMAKRISHNAN, M.; LANDI, M.; ARANITI, F.; SHARMA, A. *Trichoderma*: The “secrets” of a multitasking biocontrol agent. **Plants**, v. 9, n. 6, p. 762, 2020.

SUASSUNA, N. D.; COUTINHO, W. M. Manejo das principais doenças do algodoeiro no cerrado brasileiro. **Algodão no cerrado do Brasil. ABRAPA, Brasília**, p. 479-521, 2007.

SUBRAMANIAN, C. V. Soil conditions and wilt diseases in plants with special reference to *Fusarium vasinfectum* on cotton. In: **Proceedings of the Indian Academy of Sciences-Section B**. Springer India, 1950. p. 67-102.

SUN, R.; LI, Z.; FU, K.; FAN, L.; CHEN, J. Trichoderma biodiversity in China. **Journal of applied genetics**, v. 53, n. 3, p. 343-354, 2012.

SUSHEEL, K. S.; RAJKUMAR, R. Pests And Diseases Detection Of Cotton Farm Using Artificial Intelligence Technologies: A Review. **NVEO-NATURAL VOLATILES & ESSENTIAL OILS Journal| NVEO**, p. 423-443, 2022.

SWENSON, T. L.; KARAOZ, U.; SWENSON, J. M.; BOWEN, B. P.; NORTHERN, T. R. Linking soil biology and chemistry in biological soil crust using isolate exometabolomics. **Nature communications**, v. 9, n. 1, p. 1-10, 2018.

TEIXEIRA, W. D. **Seleção de isolados de *Clonostachys* spp. para o controle da pinta preta da batateira**. (Mestrado em Fitopatologia). Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2018

TULASNE, L. R.; TULASNE, Ctt. Selecta fungorum carpologia III. **Paris Museum**, p. 1-221, 1865.

ULLOA, M.; HUTMACHER, R. B.; SCHRAMM, T.; ELLIS, M. L.; NICHOLS, R.; ROBERTS, P. A.; WRIGHT, S. D. Sources, selection and breeding of *Fusarium* wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) race 4 (FOV4) resistance in Upland (*Gossypium hirsutum* L.) cotton. **Euphytica**, v. 216, n. 7, p. 1-18, 2020.

USDA, FAS. Grain: World markets and trade. **United States Department of Agriculture Foreign Agricultural Service**, 2020.

VAZQUEZ, G. H.; SÁ, M. E. Tecnologia e produção de sementes. In: ARF, O; LEMOS, L. B.; SORATTO, R. P.; FERRARI, S. (ed.). **Aspectos gerais da cultura do feijão *Phaseolus vulgaris* L.** Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, p. 315-336, 2015.

VIEIRA, R. M.; BELTRÃO, N. E. M.; LIMA, R. L. S.; LEÃO, A. B. Produção de sementes do algodoeiro. In: BELTRÃO, N. E. de M.; AZEVEDO, D. M. P. (Ed.). **O Agronegócio do Algodão no Brasil. Brasília, DF**. Embrapa Informação Tecnológica, 2008. cap. 17, p. 509-533.

VINALE, F.; NIGRO, M.; SIVASITHAMPARAM, K.; FLEMATTI, G.; GHISALBERTI, E. L.; RUOCCO, M.; VARLESE, R.; MARRA, R.; LANZUISE, S.; EID, A.; WOO, S. L.; LORITO, M. Harzianic acid: a novel siderophore from *Trichoderma harzianum*. **FEMS microbiology letters**, v. 347, n. 2, p. 123-129, 2013.

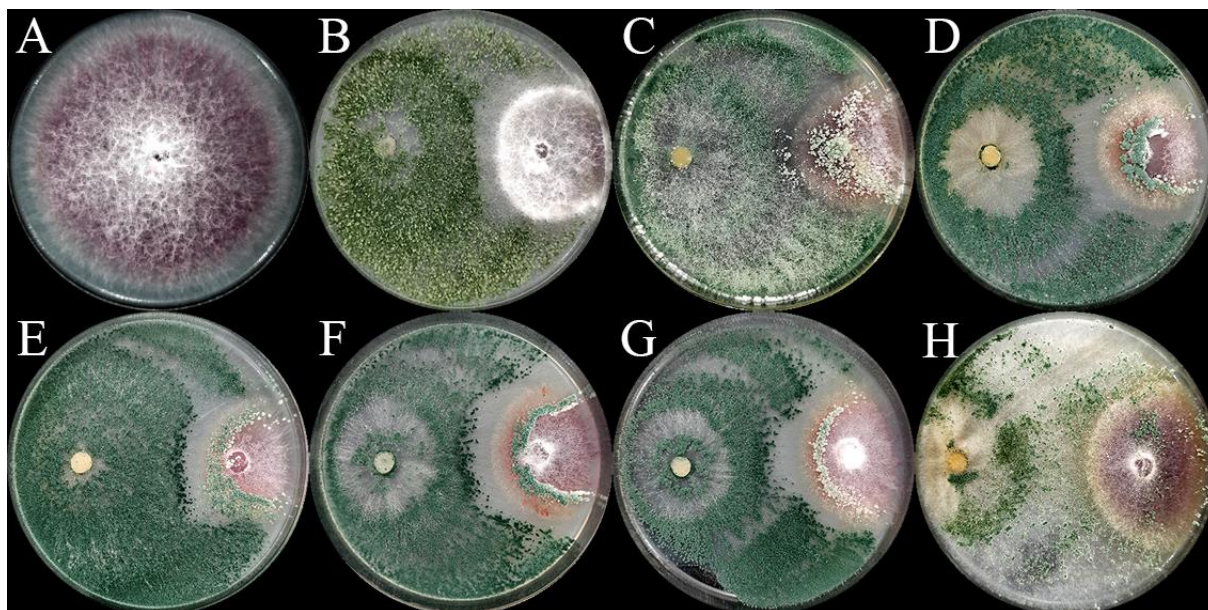
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; WOO, S. L.; LORITO, M. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 1-10, 2008.
- VINCENT, J. M. Distortion of fungal hyphae in the presence of certain inhibitors. **Nature**, v. 159, n. 4051, p. 850-850, 1947.
- WEINDLING, R. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. **Phytopathology**, v. 22, n. 8, p. 837-845, 1932.
- WESTHUIZEN, V. D. M. M.; OOSTERHUIS, D. M.; BERNER, J. M.; BOOGAERS, N. Chlorophyll a fluorescence as an indicator of heat stress in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **South African Journal of Plant and Soil**, v. 37, n. 2, p. 116-119, 2020.
- WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDIA, D.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MANGANIELLO, G.; LORITO, M. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, n. 1, 2014.
- WOO, S. L.; LORITO, M. Exploiting the interactions between fungal antagonists, pathogens and the plant for biocontrol. In: VURRO, M.; GRESSEL, J. (Eds.). **Novel biotechnologies for biocontrol agent enhancement and management**. Singapore: Springer, 2007. p. 107-130.
- XUE, A. G.; GUO, W.; CHEN, Y.; SIDDIQUI, I.; MARCHAND, G.; LIU, J.; REN, C. Effect of seed treatment with novel strains of *Trichoderma* spp. on establishment and yield of spring wheat. **Crop protection**, v. 96, p. 97-102, 2017.
- YANG, Z.; GE, X.; YANG, Z.; QIN, W.; SUN, G.; WANG, Z.; LI, Z.; LIU, J.; WE, J.; WANG, Y.; LU, L.; WANG, P.; MO, H.; ZHANG, X.; LI, F. Extensive intraspecific gene order and gene structural variations in upland cotton cultivars. **Nature communications**, v. 10, n. 1, p. 1-13, 2019.
- YOU, J.; LI, G.; LI, C.; ZHU, L.; YANG, H.; SONG, R.; GU, W. Biological Control and Plant Growth Promotion by Volatile Organic Compounds of *Trichoderma koningiopsis* T-51. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 2, p. 131, 2022.
- YOUNESI, H.; BAZGIR, E.; DARVISHNIA, M.; CHEHRI, K. Selection and control efficiency of *Trichoderma* isolates against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in Iran. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 116, p. 101731, 2021.
- YU, C.; LUO, X. *Trichoderma koningiopsis* controls *Fusarium oxysporum* causing damping-off in *Pinus massoniana* seedlings by regulating active oxygen metabolism, osmotic potential, and the rhizosphere microbiome. **Biological Control**, v. 150, p. 104352, 2020.
- YU, Z.; WANG, Z.; ZHANG, Y.; WANG, Y.; LIU, Z. Biocontrol and growth-promoting effect of *Trichoderma asperellum* TaspHu1 isolate from *Juglans mandshurica* rhizosphere soil. **Microbiological Research**, v. 242, p. 126596, 2021.

- ZAIM, S.; BEKKAR, A. A.; BELABID, Lakhdar. Efficacy of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* combination on chickpea Fusarium wilt caused by *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 51, n. 3-4, p. 217-226, 2018.
- ZEPEDA-GIRAUD, L. F.; OLICÓN-HERNÁNDEZ, D. R.; PARDO, J. P.; VILLANUEVA, M. G. A.; GUERRA-SÁNCHEZ. Biological Control of *Thielaviopsis paradoxa* and *Colletotrichum gloeosporioides* by the Extracellular Enzymes of *Wickerhamomyces anomalus*. **Agriculture**, v. 10, n. 8, p. 325, 2020.
- ZHANG, F.; CHEN, C.; ZHANG, F.; GAO, L.; LIU, J.; CHEN, L.; FAN, X.; LIU, C.; ZHANG, K.; HE, Y.; CHEN, C.; JI, X. *Trichoderma harzianum* containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase and chitinase improved growth and diminished adverse effect caused by *Fusarium oxysporum* in soybean. **Journal of plant physiology**, v. 210, p. 84-94, 2017.
- ZHANG, J.; ABDELRAHEEM, A.; ZHU, Y.; WHEELER, T. A.; DEVER, J. K.; YU, J.; SHI, Y.; YUAN, Y.; WEDEGAERTNER, T. Dynamic responses to Fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) race 4 in two introgressed populations of Upland cotton (*Gossypium hirsutum*). **Euphytica**, v. 217, n. 6, p. 1-13, 2021a.
- ZHANG, J.; FANG, H.; ZHOU, H.; SANOGO, S.; MA, Z. Genetics, breeding, and marker-assisted selection for Verticillium wilt resistance in cotton. **Crop Science**, v. 54, n. 4, p. 1289-1303, 2014.
- ZHANG, J.; ABDELRAHEEM, A.; ZHU, Y.; WHEELER, T. A.; DEVER, J. K.; NICHOLS, R.; WEDEGAERTNER T. Importance of temperature in evaluating cotton for resistance to Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* race 4. **Crop Science**, v. 61, n. 3, p. 1783-1796, 2021b.
- ZHANG, J.; SANOGO, S.; MA, Z.; QU, Y. Breeding, genetics, and quantitative trait locus mapping for Fusarium wilt resistance in cotton. **Crop Science**, v. 55, n. 6, p. 2435-2452, 2015.
- ZHANG, S.; XU, B.; GAN, Y. Seed treatment with *Trichoderma longibrachiatum* T6 promotes wheat seedling growth under NaCl stress through activating the enzymatic and nonenzymatic antioxidant defense systems. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 15, p. 3729, 2019.
- ZHANG, Y.; ZHU, H.; YE, Y.; TANG, C. Antifungal activity of chaetoviridin A from *Chaetomium globosum* CEF-082 metabolites against *Verticillium dahliae* in cotton. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 34, n. 7, p. 758-769, 2021c.
- ZHOU, C.; GUO, R.; JI, S.; FAN, H.; WANG, J.; WANG, Y.; LIU, Z.. Isolation of *Trichoderma* from forestry model base and the antifungal properties of isolate TpsT17 toward *Fusarium oxysporum*. **Microbiological research**, v. 231, p. 126371, 2020.
- ZHU, Z. X.; XU, H. X.; ZHUANG, W. Y.; LI, Y. Two new green-spored species of *Trichoderma* (Sordariomycetes, Ascomycota) and their phylogenetic positions. **MycoKeys**, v. 26, p. 61, 2017.

ZIN, N A.; BADALUDDIN, N. A. Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 65, n. 2, p. 168-178, 2020.

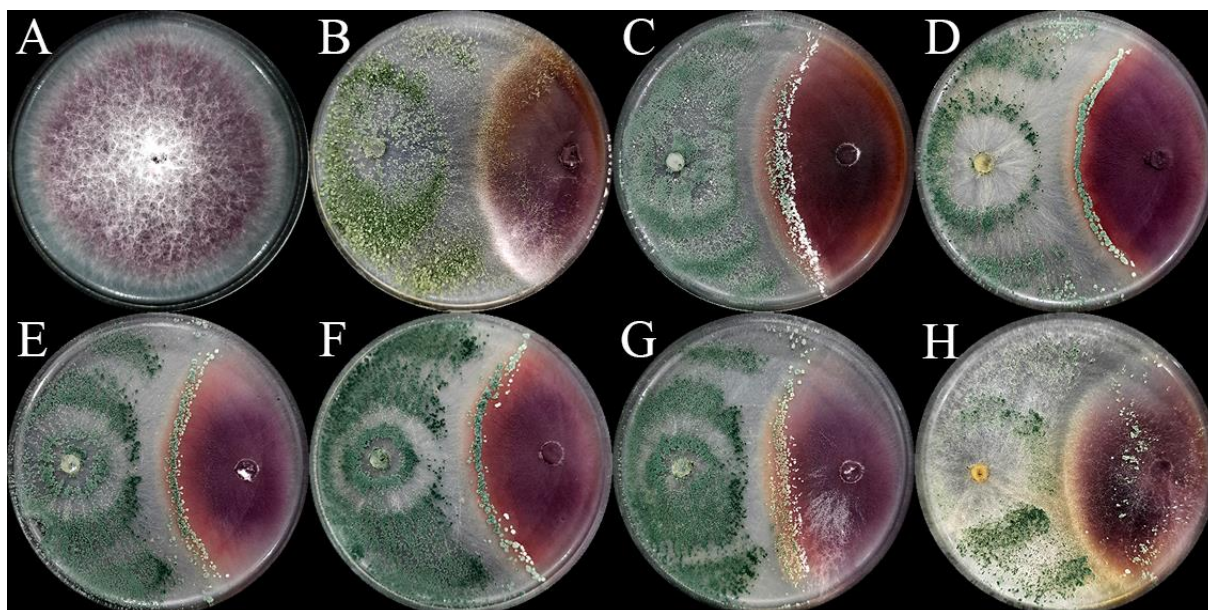
APÊNDICE A – PRANCHAS DE TESTES *IN VITRO*

Figura 1. Teste de dupla cultura com diferentes isolados de *Trichoderma* spp. inoculados simultaneamente com o *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*.



A-H: Testemunha e isolados utilizados no teste após 7 dias de inoculação. A: Testemunha ausente de antagonista; B: Isolado 02 de *Trichoderma* sp. oriundo do ponto I, município de Remígio, PB; C: Isolado 06 de *Trichoderma* sp. oriundo do ponto III, município Areia, PB; D: Isolado 11 de *Trichoderma* sp. oriundo do ponto II, município de Areia, PB; E: Isolado 12 de *Trichoderma* sp. oriundo do ponto VI, município de Alagoinha, PB; F: Isolado *Trichoderma* sp. oriundo de semente (TS); G: Isolado de *Trichoderma harzianum* (TH); H: Isolado oriundo de Mata Atlântica (729). Fonte: HOLANDA, G. C. (2022).

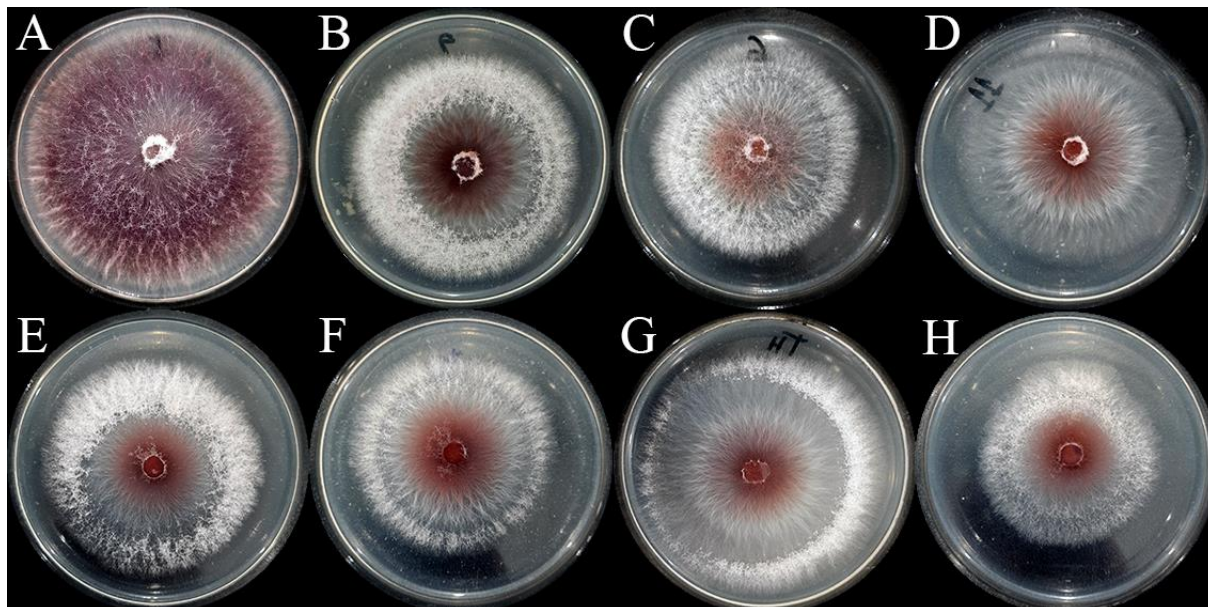
Figura 2. Teste de dupla cultura com diferentes isolados de *Trichoderma* spp. inoculados 72 horas após o *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*.



A-H: Testemunha e isolados utilizados no teste após 7 dias de inoculação. A: Testemunha ausente de antagonista; B: Isolado 02 de *Trichoderma* sp. oriundo do ponto I, município de Remígio, PB; C: Isolado 06 de *Trichoderma* sp. oriundo do ponto III, município Areia, PB; D: Isolado 11 de *Trichoderma* sp. oriundo do ponto II, município de Areia, PB; E: Isolado 12 de *Trichoderma* sp. oriundo do ponto VI, município de Alagoinha, PB; F: Isolado

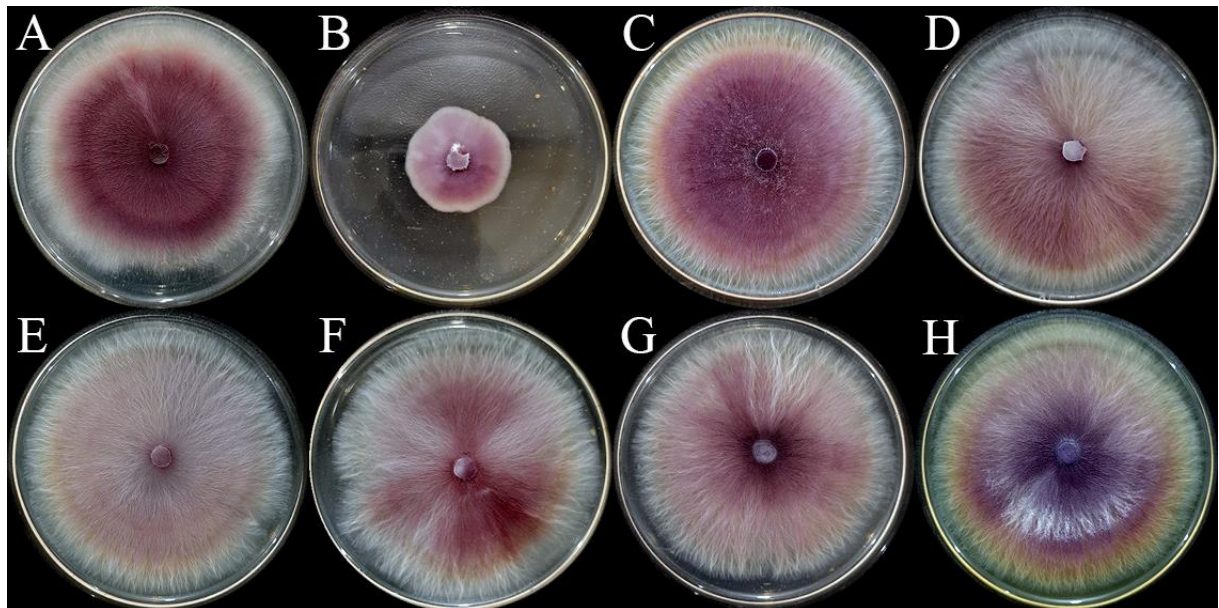
Trichoderma sp. oriundo de semente (TS); G: Isolado de *Trichoderma harzianum* (TH); H: Isolado oriundo de Mata Atlântica (729). Fonte: HOLANDA, G. C. (2022).

Figura 3. Metabólitos voláteis produzidos em cultivo *in vitro* por isolados de *Trichoderma* spp. após 7 dias de incubação.



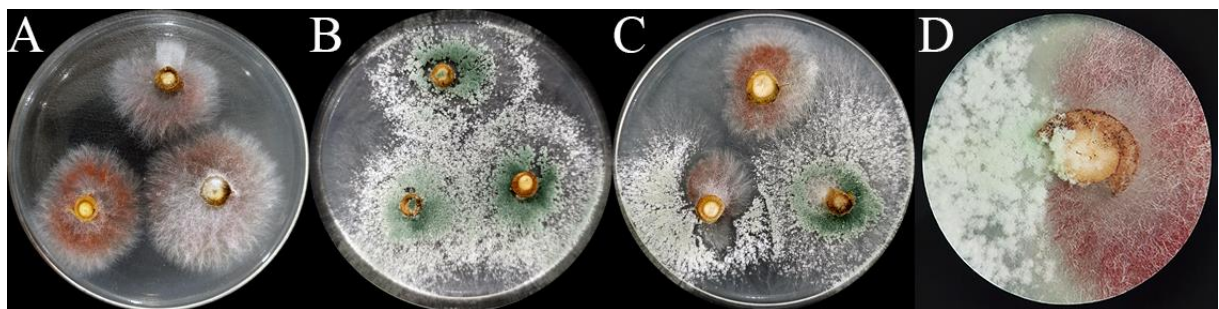
A-H: Testemunha e isolados utilizados no teste após 7 dias de inoculação. A: Testemunha ausente de antagonista; B: Isolado 02 de *Trichoderma* sp. oriundo do ponto I, município de Remígio, PB; C: Isolado 06 de *Trichoderma* sp. oriundo do ponto III, município Areia, PB; D: Isolado 11 de *Trichoderma* sp. oriundo do ponto II, município de Areia, PB; E: Isolado 12 de *Trichoderma* sp. oriundo do ponto VI, município de Alagoinha, PB; F: Isolado *Trichoderma* sp. oriundo de semente (TS); G: Isolado de *Trichoderma harzianum* (TH); H: Isolado oriundo de Mata Atlântica (729). Fonte: HOLANDA, G. C. (2022).

Figura 4. Metabólitos não voláteis termoestáveis produzidos em cultivo *in vitro* por isolados de *Trichoderma* spp. após 7 dias de incubação.



A-H: Testemunha e isolados utilizados no teste após 7 dias de inoculação. A: Testemunha ausente de antagonista; B: Isolado 02 de *Trichoderma* sp. oriundo do ponto I, município de Remígio, PB; C: Isolado 06 de *Trichoderma* sp. oriundo do ponto III, município Areia, PB; D: Isolado 11 de *Trichoderma* sp. oriundo do ponto II, município de Areia, PB; E: Isolado 12 de *Trichoderma* sp. oriundo do ponto VI, município de Alagoinha, PB; F: Isolado *Trichoderma* sp. oriundo de semente (TS); G: Isolado de *Trichoderma harzianum* (TH); H: Isolado oriundo de Mata Atlântica (729). Fonte: HOLANDA, G. C. (2022)

Figura 5. Crescimento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (coloração rosa) e *Trichoderma* spp. (cor esverdeada) em discos do colo de plantas de algodoeiro BRS Verde acondicionados em meio de cultura BDA após 5 dias de crescimento a $25 \pm 2^\circ\text{C}$.



A: Tratamento TN, apenas com o Fov; B: Tratamento TP, testemunha ausente de fungos inoculados, C: Tratamento 729, *Trichoderma* sp. obtido de Mata Atlântica; D: disco com crescimento dos dois fungos, visto em lupa com aumento de 10x. Fonte: HOLANDA, G. C. (2022)