



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DO SEMIÁRIDO  
UNIDADE ACADÊMICA DE TECNOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO  
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM AGROECOLOGIA**

**MARIA CLAUDENICE LINS BEZERRA**

**INOCULAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO COM *Trichoderma harzianum*:  
EFEITO NA REDUÇÃO DE FUNGOS E QUALIDADE FISIOLÓGICA.**

**SUMÉ - PB  
2021**

**MARIA CLAUDENICE LINS BEZERRA**

**INOCULAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO COM *Trichoderma harzianum*:  
EFEITO NA REDUÇÃO DE FUNGOS E QUALIDADE FISIOLÓGICA.**

**Monografia apresentada ao Curso Superior de Tecnologia em Agroecologia do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnóloga em Agroecologia.**

**Orientador: Dr. José George Ferreira Medeiros.**

**SUMÉ - PB  
2021**



B574i Bezerra, Maria Claudenice Lins.  
Inoculação de semente de milho com *Trichoderma harzianum*: efeitos na redução de fungos e qualidade fisiológica. / Maria Claudenice Lins Bezerra. - 2021.

33 f.

Orientador: Professor Dr. José George Ferreira Medeiros.

Monografia - Universidade Federal de Campina Grande; Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido; Curso Superior de Tecnologia em Agroecologia.

1. Tecnologia de sementes. 2. Semente de milho - inoculação. 3. Qualidade fisiológica de sementes de milho. 4. Inoculação de semente de milho. 5. *Trichoderma harzianum*. 6. Patologia de sementes. 7. Controle alternativo de fungos. 8. Milho - qualidade de sementes. I. Medeiros, José George Ferreira. II. Título.

CDU: 582.661.56(043.1)

**Elaboração da Ficha Catalográfica:**

Johnny Rodrigues Barbosa  
Bibliotecário-Documentalista  
CRB-15/626

**MARIA CLAUDENICE LINS BEZERRA**

**INOCULAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO COM *Trichoderma harzianum*:  
EFEITO NA REDUÇÃO DE FUNGOS E QUALIDADE FISIOLÓGICA.**

**Monografia apresentada ao Curso Superior de Tecnologia em Agroecologia do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnóloga em Agroecologia.**

**BANCA EXAMINADORA:**

---

**Professor Dr. José George Ferreira Medeiros.  
Orientador - UATEC/CDSA/UFCG**

---

**Professora Dra. Carina Seixas Maia Dornelas.  
Examinadora I – UATEC/CDSA/UFCG**

---

**Professora Dra. Ana Cristina Chacon Lisboa.  
Examinador aII – UATEC/CDSA/UFCG**

**Trabalho aprovado em: 28 de maio de 2021.**

**SUMÉ - PB**

## AGRADECIMENTOS

Sair da estatística de vestibulando é um grande motivo para agradecer. Durante a caminhada universitária, a vida me exigiu paciência, sabedoria, resiliência e muita confiança em Deus, a quem sou imensamente grata.

Ao longo do tempo, muitas pessoas passaram pelo meu caminho, as quais contribuíram para minha formação acadêmica e também para meu crescimento pessoal, espero não esquecer de ninguém nas próximas linhas.

Primeiramente, a minha família, a qual fui ausente e souberam entender qual era o meu propósito. Por tudo que aprendi de mais valioso, sobre humildade, coragem e perseverança.

Em especial a meu pai, por me inspirar a crescer na vida e buscar novas oportunidades, além de todos os gastos dispensados a minha formação.

Ao meu companheiro Vinicius Siqueira, que me apoia em todos os momentos, sempre me incentiva a estudar e trouxe leveza nos dias que pareciam difíceis.

A Rejane Carvalho, que está comigo desde o ensino fundamental, sempre contribuindo com meu crescimento estudantil e pessoal. Devo muito a família Carvalho, são aprendizados que transcendem qualquer agradecimento.

Aos meus colegas de curso, em especial Gabriele Muniz, que esteve comigo nos melhores e piores momentos, que segurou minha mão quando senti medo, que me ajudou nas disciplinas de exatas, que é um exemplo de vida e coragem.

A minha colega de turma Dayany Siqueira pelo apoio e força em muitos momentos, especialmente no final do curso.

A psicóloga do campus, Lays Andrade, que me ajudou em um momento que precisei me ressignificar, me reinventar e me reaprender.

Ao meu orientador Dr. José George, que foi mais que um professor, foi um amigo que me ensinou muito sobre a vida, me deu forças quando precisei e que é um exemplo de generosidade e determinação. Me orgulho de ter sido sua orientanda e agradeço por toda confiança depositada em mim, nas monitorias e no laboratório. Tenho certeza que toda sua experiência profissional acrescentou muito na minha vida acadêmica.

A minha orientadora de estágio, Dra. Carina, que me acolheu de uma forma calorosa e me estendeu a mão quando precisei.

Ao grupo de pesquisas LAFISA, onde me encontrei na microbiologia, na fitopatologia e colecionei experiências únicas como a monitora.

A coordenadora do curso, Ana Cristina, que nasceu com o dom de ser professora, uma pessoa que mesmo sem falar ensina sobre a importância de cultivar uma postura humanista e solidária, uma lição que vou levar para a vida. Em seu nome, também agradeço a todo o corpo docente do campus.

Por fim, quero enfatizar que daquela estatística referida no início, aos poucos vou a transformando em “outro número”, o daqueles que alcançam seus objetivos por serem indesejáveis.

## RESUMO

O milho (*Zea mays L.*) é acometido por uma infinidade de doenças, que na maioria das vezes são disseminadas pelas sementes, causando grandes danos e prejuízos na produção. Sendo assim, o tratamento de sementes é imprescindível para garantir uma boa produtividade com maiores rendimentos. Objetivou-se determinar os efeitos do *Trichoderma harzianum* na qualidade fisiológica do milho de três lotes cultivados por pequenos agricultores: Lote 1 do município de Sumé – PB, lote 2 do município de Monteiro - PB e lote 3 do município da Prata – PB. Todas as sementes foram submetidas a tratamento com *Trichoderma harzianum* em diferentes concentrações. Na testemunha, todos os testes foram feitos apenas com imersão em ADE. Nos tratamentos com *Trichoderma harzianum*, o biocontrolador foi aplicado diretamente nas sementes, assim como o fungicida. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado. Foram identificados nas sementes de milho oriundas dos municípios paraibanos os seguintes fungos: *Aspergillus* sp.; *Aspergillus niger*; *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. O uso de *Trichoderma harzianum* nas concentrações de 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 e 400/100kg sementes na concentração de  $1,0 \times 10^{10}$  aplicado nas sementes de milho foram eficazes na redução de *Aspergillus* sp.; *Aspergillus niger*; *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. O *Trichoderma harzianum* não interferiu negativamente na qualidade fisiológica das sementes e proporcionou um aumento nos percentuais de germinação

**Palavras – chave:** Controle Biológico; Patologia de Sementes; Controle Alternativo.

## ABSTRACT

Corn (*Zea mays*) is affected by a multitude of diseases, which most often are spread by the seeds, causing great damage and losses in the production. Therefore, seed treatment is essential to ensure good productivity with higher yields. The objective of this study was to determine the effects of *Trichoderma harzianum* on the physiological quality of maize from three plots grown by small farmers: plot 1 in the municipality of Sumé - PB, plot 2 in the municipality of Monteiro - PB and plot 3 in the municipality of Prata - PB. All seeds were submitted to treatment with *Trichoderma harzianum* in different procedures. In the control, all tests were done only with immersion in ADE. With *Trichoderma harzianum* treatments, the biocontroller was applied directly to the seeds, as well as the fungicide. The design used was completely randomized. The following fungi were identified in corn seeds from the municipalities of Paraíba: *Aspergillus* sp .; *Aspergillus niger*; *Penicillium* sp. and *Fusarium* sp. The use of *Trichoderma harzianum* in concentrations of 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 and 400 / 100kg seeds in the concentration of  $1.0 \times 10^{10}$  applied to corn seeds was effective in reducing *Aspergillus* sp .; *Aspergillus niger*; *Penicillium* sp. and *Fusarium* sp. *Trichoderma harzianum* did not interfere negatively in the physiological quality of the seeds and provided an increase in the germination percentages.

**Keywords:** Biological Control; Seed Pathology; Alternative Control.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Incidência de fungos em sementes de *Zea mays* L. oriundas do município de Sumé-PB e tratadas com *Trichoderma harzianum* em diferentes concentrações ..... 22
- Tabela 2.** Incidência de fungos em sementes de *Zea mays* L. oriundas do município de Monteiro-PB e tratadas com *Trichoderma harzianum* em diferentes concentrações ..... 23
- Tabela 3.** Incidência de fungos em sementes de *Zea mays* L. oriundas do município de Prata-PB e tratadas com *Trichoderma harzianum* em diferentes concentrações ..... 24
- Tabela 4.** Valores médios percentuais da germinação (GER), sementes duras (SD), sementes mortas (SM), comprimento de planta (CPL) e índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de milho (*Zea mays* L.) oriundas do município de Sumé-PB e tratadas com *Trichoderma harzianum* em diferentes concentrações (Lote 1)..... 25
- Tabela 5 .** Valores médios percentuais da germinação (GER), sementes duras (SD), sementes mortas (SM), comprimento de planta (CPL) e índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de milho (*Zea mays* L.) oriundas do município de Monteiro-PB e tratadas com *Trichoderma harzianum* em diferentes concentrações (Lote 2) ..... 26
- Tabela 6 .** Valores médios percentuais da germinação (GER), sementes duras (SD), sementes mortas (SM), comprimento de planta (CPL) e índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de milho (*Zea mays* L.) oriundas do município de Prata-PB e tratadas com *Trichoderma harzianum* em diferentes concentrações (Lote 3) ..... 27

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>13</b>
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>14</b>
<b>3.1 Classificação botânica do milho .....</b>	<b>14</b>
<b>3.2 Importância econômica .....</b>	<b>14</b>
<b>3.3 Principais doenças do milho do doenças do milho .....</b>	<b>15</b>
<b>3.4 Controle alternativo de doenças do milho.....</b>	<b>16</b>
3.4.1 Uso de <i>Trichoderma</i> em sementes.....	17
<b>3.5 Fungos associados à semente do milho.....</b>	<b>18</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>19</b>
<b>4.1 Localização dos Experimentos .....</b>	<b>19</b>
<b>4.2 Obtenção das Sementes .....</b>	<b>19</b>
<b>4.3 Tratamento Biológico no Controle de Fitopatógenos em Sementes de Milho .....</b>	<b>19</b>
<b>4.4 Testes de Sanidade .....</b>	<b>20</b>
<b>4.5 Testes de Germinação .....</b>	<b>20</b>
<b>4.6 Delineamento Experimental .....</b>	<b>21</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>22</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>28</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>29</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays L.*) é uma das culturas mais produzidas em todo o mundo, sendo importante na alimentação humana e animal. As variedades crioulas de milho tendem a tolerar melhor as variações ambientais e são mais resistentes ao ataque de patógenos por serem mais adaptadas às condições locais (CATÃO *et al.*, 2017).

De acordo com o USDA (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos), a produção mundial de milho na safra 2019/20, foi projetada em 1,113,5 bilhão de toneladas e os estoques finais globais em 312,91 milhões de toneladas. No Brasil, a safra foi estimada em 101 milhões de toneladas.

O uso de sementes certificadas constitui-se em fator preponderante para o estabelecimento das lavouras, possibilitando maiores produções. A semente é um fator determinante do sucesso ou fracasso da produção, uma vez que contém todas as potencialidades produtivas da planta e é praticamente o único insumo ao alcance do pequeno agricultor (ANTONELLO *et al.*, 2014).

Os fungos são considerados um dos mais importantes microrganismos que infectam as sementes, atribuindo a eles a disseminação de doenças, apodrecimento de sementes no solo, deterioração no período de armazenamento e a produção de micotoxinas (MARTINS *et al.*, 2015). No solo, os fungos encontram condições ideais para atacar as sementes de milho, principalmente, quando a semeadura é realizada em condições de solo frio e úmido, onde há impedimento da germinação ou a velocidade de emergência é reduzida, propiciando uma maior exposição ao ataque destes fitopatógenos (VASQUEZ, *et al.*, 2014).

Apesar de existir no mercado nacional diversos produtos à base de fungos e bactérias para o biocontrole de patógenos (POMELLA; RIBEIRO, 2009), o AGROFIT, banco de dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) registra 107 produtos, a maioria deles são inseticidas, mas também existem fungicidas e nematicidas (MENTEN, 2017). A forma de uso desses produtos varia entre aplicações terrestres, aéreas e em sementes, sendo que os fungicidas biológicos registrados para o tratamento de sementes, apenas um é indicado para todas as culturas, sendo portanto também indicados para a cultura da cenoura (AGROFIT, 2017).

É relevante a importância de microrganismos bioprotetores como alternativa para o controle de patógenos. Os bioagentes podem ser importantes para a redução do uso excessivo de agrotóxicos, para o avanço da agricultura sustentável e para a proteção do meio ambiente (LUZ, 2016). O armazenamento destes produtos biológicos deve

ser cuidadosamente estudado, pois são provenientes de formulações à base de células vivas, havendo a necessidade de pesquisas relacionadas à vida útil à eficiência agrônômica destes produtos (MACHADO *et al.*, 2012).

A qualidade fisiológica constitui um fator primordial para o sucesso da produção. De acordo com Popinigis (1977), qualidade da semente é constituída pelos atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários. Este trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência de *Trichoderma harzianum* no controle biológico de fungos e a sua interferência na qualidade sanitária e fisiológica em sementes de milho.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

- Avaliar a eficiência de *Trichoderma harzianum* no controle biológico de fungos e a sua interferência na qualidade sanitária e fisiológica em sementes de milho (*Z. mays L.*).

### **2.2 Específicos**

- Detectar, identificar e quantificar os fungos associados as sementes de milho (*Z. mays*);
- Estabelecer níveis de doses de *Trichoderma harzianum* eficazes na redução de fitopatógenos em sementes de milho (*Z. mays*);
- Difundir técnicas de manejo alternativo aos agroquímicos.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Classificação botânica do milho

O milho, é uma monocotiledônea, que pertence a família *Poaceae*, subfamília Subfamília *Panicoidae*, gênero *Zea* e espécie *Zea mays L.* (UNIVAG, 2012). É uma planta herbácea, monoica, sendo assim possuem os dois sexos na mesma planta em inflorescências diferentes, o ciclo se completa entre quatro e cinco meses, o que caracteriza uma planta anual (SOUZA *et al.*, 2013). Tem origem no México, é uma espécie alógama e apresenta uma imensa variabilidade, que, atualmente existem em torno de 250 raças. (SOUZA *et al.*, 2012).

O milho é uma gramínea capaz de se desenvolver em regiões em que os índices pluviométricos variam entre 250 mm a 5000 mm por ano, classificado como clima quente e seco. A maior parte da matéria seca da cultivar pode chegar a 90%, oriundo da fixação do dióxido de carbono durante a fotossíntese. Está classificado no grupo C4, isso significa que é uma planta com grande eficiência na presença da luz solar. Nos períodos longos, onde a presença de luz é reduzida, a maturação dos grãos sofre um atraso que pode ocasionar na diminuição da produção (LANDAU *et al.*, 2019).

#### 3.2 Importância econômica

O milho é uma das principais culturas cultivadas no território brasileiro, existindo várias espécies decorrentes dos estudos em melhoramento genético. A utilização da cultura não se limita apenas a alimentação humana, podendo ser utilizada até mesmo a palha para artesanato. No Brasil, a cultura tem um elevado índice de produção, colocando o país no posto de terceiro maior produtor mundial e segundo maior exportador (CONAB, 2018).

Dentre as culturas de grande importância comercial, podemos destacar o milho como uma das principais, isso se deve ao fato de se caracterizar pelas diversas formas de utilização, que vai desde a alimentação humana e animal até a indústria de alta tecnologia. Sendo que o uso para alimentação animal representa maior parte do consumo no mundo. (MAGALHÃES *et al.*, 2002).

De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE 2017, a produtividade do milho no Brasil representa por volta de 41% da produção agrícola de grãos, onde cerca de 4% é direcionado a alimentação humana e outros 10% se destinam às indústrias alimentícias (EMBRAPA, 2016).

A importância econômica está ligada diretamente a qualidade dos grãos, levando-se em consideração que alguns microorganismos causam danos que diminuem a qualidade do rendimento na produção, conseqüentemente o valor do produto na comercialização, causando perdas econômicas devido o menor valor nas vendas (BELLO *et al.*, 2012; COSTA *et al.*, 2011).

A produção do milho tem abrangência no cenário agrícola nacional, sendo fonte de renda para agricultura familiar, levando-se em consideração que o grão compõe a maioria das rações, servindo de base para alimentação animal. (FERRÃO *et al.*, 2013; FERREIRA, *et al.*, 2018).

Nos dias atuais, algumas culturas vem sendo exploradas para o tratamento de águas residuais de granito e mármore na irrigação de solos agrícolas, entre elas está o milho (FARID *et al.*, 2020). Por isso a cultura se tornou uma das principais no mundo (HUSSAIN, *et al.*, 2013; NWANYA *et al.*, 2019). Isso se deve ao fato da cultivar apresentar eficácia na capacidade de captação de metais, especialmente os poluentes por meio das folhas (RAFIQUE *et al.*, 2020).

### 3.3 Principais doenças do milho

Nos últimos anos, houve um crescimento de doenças na cultura do milho, provavelmente relacionada com o avanço das áreas cultivadas e com o aumento da monocultura, o uso inadequado da irrigação e pela formação de campos homogêneos, fatores que proporcionam microclimas propícios para o desenvolvimento de patógenos. No Brasil, a cultura do milho vem sofrendo com doenças que chegam a ocasionar a perda na qualidade dos grãos, afetando a produtividade, e provocando assim, prejuízos econômicos (PEREIRA *et al.*, 2005; LANZA *et al.*, 2016).

Dentre as doenças que afetam a cultura, destacam-se as manchas foliares ocasionadas por fungos como a Ferrugem, a Helminthosporiose e a Cercosporiose (BRITO *et al.*, 2012; COSTA *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2012; BRITO *et al.*, 2013).

A ferrugem comum (*Puccinia sorghi*), pode ter incidência no início do desenvolvimento da cultivar, deixando a planta debilitada e favorecendo o ataque de outros patógenos (BRANDÃO *et al.*, 2003; DUARTE *et al.*, 2009).

A Helminthosporiose (*Exserohilum turcicum*) acarreta perdas que ultrapassam 40% da produção de grãos em espécies de milho suscetíveis, os primeiros sintomas da doença aparecem nas folhas mais velhas (COTA *et al.*, 2013).

A Cercosporiose (*Cercospora zae-maydis*), ocasiona redução de 20 a 60% da produção do milho, dependendo da suscetibilidade e condição climática (FANTIN *et al.*, 2008;

GONÇALVES *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2012).

As doenças foliares ocorrem devido a colonização dos patógenos em grande parte do tecido foliar, reduzindo a área fototintetizante, causando necrose e senescência precoce e, em consequência disso, reduz a produção de grãos (GONÇALVES *et al.*, 2012; FARIA *et al.*, 2015).

Além das doenças citadas, a proliferação de fungos, que geralmente acontece na pré-colheita causa podridão de espigas ou no pós-colheita, quando não armazenados na forma adequada pode mofar os grãos. A podridão também pode ocorrer por deficiência hídrica no período de enchimento ou alto nível de chuva após a maturação fisiológica do milho (MARCONDES, 2012).

A podridão rosada também é uma doença relacionada a fungos, esta, causada pelo *Fusarium verticillioides* (*F. moniliforme*), *Fusarium subglutinans* e *Fusarium proliferatum* (*F. graminearum*) (SILVA, 2001). Esses microrganismos acometem também outras culturas, o aparecimento e desenvolvimento da doença geralmente está relacionado a injúrias provocadas por pássaros ou insetos. Quando infectados, os grãos apresentam coloração avermelhada e, com o progresso da doença, uma camada cotonosa rosada. Em casos onde os grãos da espiga não apresentem sintomas, o patógeno pode estar alojado na parte interior (MARCONDES, 2012). As principais doenças do milho, que causam maiores danos são a antracnose, ferrugem, mancha branca, cercosporiose e mancha de turcicum (BORÉM *et al.*, 2015).

### **3.4 Controle alternativo de doenças do milho**

Os métodos alternativos para o controle de doenças de plantas tem como objetivo oferecer técnicas que proporcione a diminuição na dependência dos produtos químicos. Além de colaborar para que a prática da agricultura esteja mais adequada às exigências da qualidade ambiental. Portanto, o controle alternativo pode ser entendido como a integração de medidas ambientais que tem por finalidade a redução de doenças e o aumento da produtividade e melhoramento da qualidade dos produtos agrícolas. Existem inúmeros métodos de controles para reduzir a incidência de doenças em sementes, dentre eles o controle biológico, tratamento com óleos essenciais, extratos naturais e termoterapia (SOUZA, 2017; COUTINHO *et al.*, 2007).

O controle biológico ocorre basicamente com um microorganismo controlando o outro. Aos organismos capazes de interferir nos processos vitais do fitopatógeno, dar-se o nome de antagonistas. Esses agentes tem que estar adaptados ao mesmo nicho ecológico que os

patógenos, no entanto não é uma obrigatoriedade a utilização do método de forma isolada, podendo ser combinado com métodos culturais e genéticos (MORANDI *et al.*, 2009).

Os mecanismos de ação antagônicas que estão envolvidos no controle biológico são a antibiose (MARTINI *et al.*, 2014; FARIAS *et al.*, 2020), parasitismo, hiperparasitismo e micoparasitismo; competição (BENÍTEZ *et al.*, 2004) e indução de resistência (ABDELRAHMAN *et al.*, 2016). O controle de fitopatógenos com extratos naturais é um método favorável devido à presença de propriedades antifúngicas no metabolismo secundário das plantas (SILVA *et al.*, 2016).

Os óleos essenciais são produtos naturais de composição complexa, que podem ser extraídos de diferentes partes das plantas, como folhas, raízes, frutos, caule e podem ser armazenados em tricomas glandulares canais oleíferos, células epidérmicas, bolsas lisígenas ou células parenquimáticas diferenciadas (OOTANI *et al.*, 2013). A utilização desses produtos na agricultura está associado ao potencial antifúngico, reduzindo o crescimento dos micélios e a germinação de esporos.

Ainda existem muitos obstáculos a serem enfrentados pela comunidade científica e tecnológica para o desenvolvimento e comercialização de produtos biológicos eficientes, por exemplo, a busca por uma metodologia de triagem relevante, desenvolvimento de fórmulas e aplicações apropriadas, assim como o monitoramento do antagonista que foi inserido no meio ambiente (LEGRAND *et al.*, 2017).

#### 3.4.1 Uso de *Trichoderma* em sementes

O *Trichoderma* é um gênero de fungo, que promove o crescimento de plantas e está entre os microorganismos mais estudados (ALTOMARE *et al.*, 1999). A maioria destes fungos estão associados às raízes, estabelecendo uma interação interspecífica de simbiose, através de mecanismos semelhantes àqueles dos fungos micorrízicos. (BENÍTEZ, 2004). Estes microrganismos são naturais nos solos e, são capazes de viver saprofiticamente ou parasitando em outros fungos (SANTOS, 2008).

Os fungos do gênero *Trichoderma* tem muita importância econômica para agricultura, levando-se em consideração que podem atuar como agentes controladores de doenças, promotores de crescimento e indutores de resistência de plantas a doenças (MOHAMED; HAGGAG 2006, FORTES *et al.*, 2007).

Além de atuar promovendo crescimento, espécies do gênero *Trichoderma* estão

apresentando resultados positivos no controle de fitopatógenos (PEDRO *et al.*, 2012). No tratamento de sementes, o *Trichoderma* coloniza o espaço em que estas são colocadas, sendo capaz de diminuir os problemas ocasionados por fungos (SCUDLER *et al.*, 2012).

A utilização do *Trichoderma* tem se mostrado eficiente no controle de vários patógenos de solo, entre eles *Rhizoctonia solani* Kühn, *Sclerotium rolfsii* Sacc., *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, *Fusarium* spp. e *Pythium* spp. e especialmente na promoção do crescimento de plantas (FISCHER *et al.*, 2010).

O gênero *Trichoderma* pode ser apontado como um dos melhores microrganismos para o tratamento de sementes, isso se deve ao fato de ser um agente de elevada adaptabilidade ecológica, por atuar de maneira benéfica sobre as plantas, capaz de extinguir doenças devido seus efeitos sobre os patógenos com uma junção de diversos mecanismos, inclusive competindo por nutrientes, antibiose e micoparasitismo (DINESH *et al.*, 2018) ou, até mesmo a possibilidade de provocar a defesa das plantas contra microrganismos (ZEILINGER *et al.*, 2016).

### 3.5 Fungos associados às sementes de milho

Entre as causas que podem afetar a qualidade dos grãos e conseqüentemente a produtividade gerada a partir deles, os fungos merecem destaque. Os principais problemas relacionados aos fungos ocorrem na pré-colheita, onde é possível identificar podridões, por exemplo. Já na fase pós-colheita os grãos podem mofar ou embolorar devido o armazenamento e o transporte, quando feito em condições ambientais inadequadas (EMBRAPA, 2006).

Existe uma grande variedade de fungos que podem causar podridões em espigas de milho, porém, os que mais se destacam são *Aspergillus flavus*, *Fusarium verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. proliferatum*, *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora* (MARCONDES, 2012; BENEDIT, 2016).

O *Aspergillus flavus* é um patógeno que pode causar podridão e está associado ao clima quente e seco, encontrados em plantas com deficiência hídrica e de nutrientes. Estes tem capacidade de se desenvolver em umidades relativamente baixas e se apresentam mais na fase madura do cultivo, onde há maior incidência de ataques de insetos no plantio. O *Aspergillus* pode causar a morte da cultura, no entanto sua presença é normalmente encontrada em grãos mais oleaginosos e, com menos frequência são encontrados em substratos ricos em amido (WOLOSHUK; WISE, 2011).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Localização dos Experimentos

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitossanidade do Semiárido (LAFISA) do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido Ciências Agrárias (CDSA), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Sumé, Paraíba.

### 4.2 Obtenção das Sementes

As sementes de milho foram adquiridas através de doação por pequenos produtores que residem e cultivam nos municípios de Sumé-PB (S7°40'18" W36°52'54"), Monteiro-PB (S7°53'29" W37°6'33") e Prata-PB (S7°42'4" W37°7'1").

A coleta foi realizada na safra 2019, sendo repassadas de imediato, após a colheita. Além disso, não passaram por nenhum tratamento, e ficaram armazenadas em garrafas Pet apenas durante o período que permaneceram no laboratório, antes da realização do experimento.

As sementes foram divididas em lotes de acordo com o local de origem, sendo assim: Lote 1 (sementes oriundas do município de Sumé), Lote 2 (sementes oriundas do município de Monteiro), Lote 3 (sementes oriundas do município da Prata).

### 4.3 Tratamento Biológico no Controle de Fitopatógenos em Sementes de Milho:

**Quadro 1 - Tratamentos**

T1	Testemunha: água destilada esterilizada (ADE) por 3 minutos
T2	Fungicida dicarboximida (240 g.100 kg <sup>-1</sup> de sementes)
T3	50g de <i>Trichoderma harzianum</i> / 100kg Sementes na concentração de 1,0 x 10 <sup>10</sup>
T4	100g de <i>Trichoderma harzianum</i> / 100kg Sementes na concentração de 1,0 x 10 <sup>10</sup>
T5	150g <i>Trichoderma harzianum</i> / 100kg Sementes na concentração de 1,0 x 10 <sup>10</sup>
T6	200g <i>Trichoderma harzianum</i> / 100kg Sementes na concentração de 1,0 x 10 <sup>10</sup>
T7	250g <i>Trichoderma harzianum</i> / 100kg Sementes na concentração de 1,0 x 10 <sup>10</sup>
T8	300g <i>Trichoderma harzianum</i> / 100kg Sementes na concentração de 1,0 x 10 <sup>10</sup>
T9	350g <i>Trichoderma harzianum</i> / 100kg Sementes na concentração de 1,0 x 10 <sup>10</sup>
T10	400g <i>Trichoderma harzianum</i> / 100kg Sementes na concentração de 1,0 x 10 <sup>10</sup>

**Fonte:** Dados da pesquisa

O biocontrolador foi diluído em ADE e as sementes foram imersas, em seguida foram colocadas em placas de Petri com papel filtro umedecido. O fungicida foi aplicado diretamente sobre a superfície das sementes e também foram colocadas em placas de Petri com papel filtro umedecido. Foi utilizado nos tratamentos os conídios do fungo *Trichoderma harzianum* linhagem ESALQ 1306/Koppert. A testemunha correspondeu somente na imersão das sementes em ADE.

#### 4.4 Testes de Sanidade

Foram utilizadas 200 sementes por tratamento, distribuídas em vinte repetições de dez sementes cada. Em seguida as sementes foram incubadas em placas de petri contendo dupla camada de papel filtro “*Blotter Test*”, esterilizado e umedecido com ADE. As placas permaneceram em incubação durante sete dias sob temperatura de 25  $\pm$  2 °C e fotoperíodo de 12 h (BRASIL, 2009).

A identificação dos fungos associados às sementes foi realizada com o auxílio de microscópio óptico e estereoscópico, após sete dias de incubação (SEIFERT *et al.*, 2011). O percentual de fungos foi determinado pela fórmula de incidência, e os resultados expressos em porcentagem de sementes infectadas (BRASIL, 2009).

#### 4.5 Testes de Germinação

No teste de germinação, foram utilizadas 200 sementes por tratamento, divididas em quatro repetições de 50 sementes cada. As mesmas foram semeadas em papel *germitest* previamente esterilizado e umedecido com ADE na proporção de 2,5 vezes o seu peso seco, mantidos em sacos plásticos transparentes, com o objetivo de evitar a perda de água por evaporação e incubados em germinador B.O.D (*Biochemical Oxygen Demand*) regulado à temperatura de 30 °C e fotoperíodo de 12 horas.

As avaliações foram realizadas do 4º ao 12º dia após a semeadura, considerando sementes germinadas aquelas que apresentaram sistema radicular com pelo menos 2 mm de comprimento, e os resultados expressos em porcentagem (BRASIL, 2009). A qualidade fisiológica foi avaliada pelos seguintes testes: percentual de germinação (G), percentual de sementes duras (SD) e mortas (SM), plântula (CPL) e índice de velocidade de germinação (IVG). Para o IVG foram realizadas contagens diárias a partir da germinação da primeira semente até a data em que o estande permaneceu constante, e o índice determinado de acordo com a fórmula proposta por Maguire (1962).

#### **4.6 Delineamento Experimental**

O delineamento experimental utilizado para os testes de sanidade e germinação foi o inteiramente casualizado, consistindo em dez tratamentos. O teste de sanidade foi constituído de vinte repetições de dez sementes cada, enquanto que o teste degerminação foi realizado em quatro repetições de cinquenta sementes por tratamento. Os dados foram transformados para  $\sqrt{X+1}$  quando necessário, e submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott até o nível de 1% de significância, por meio do software estatístico SISVAR®.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas sementes de *Zea mays*, Lote 1 (Sumé-PB), foi observada uma microflora constituída pelos seguintes fungos: *Aspergillus* sp. (51%), *Aspergillus niger* (22%), *Penicillium* sp. (18%) e *Fusarium* sp. (28%) (Tabela 1).

**Tabela 1** - Incidência de fungos em sementes de *Zea mays* L. oriundas do município de Sumé-PB e tratadas com *Trichoderma harzianum* em diferentes concentrações

Tratamentos	Incidência de Fungos (%)			
	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Aspergillus</i> <i>niger</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.
T1- Testemunha	51,0 a	22,0 a	18,0 a	28,0 a
T2 – Dicarboximida	0,0 d	0,0 c	0,0 c	0,0 d
T3 – TH (50g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	12,0 b	4,0 b	10,0 b	15,0 b
T4 – TH (100g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	14,0 b	1,0 c	2,0 c	10,0 c
T5 – TH (150g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	5,0 c	0,0 c	1,0 c	10,0 c
T6 – TH (200g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	5,0 c	0,0 c	0,0 c	2,0 d
T7 – TH (250g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	0,0 d	0,0 c	0,0 c	0,0 d
T8 – TH (300g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	0,0 d	0,0 c	0,0 c	0,0 d
T9 – TH (350g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	0,0 d	0,0 c	0,0 c	0,0 d
T10 – TH (400g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	0,0 d	0,0 c	0,0 c	0,0 d
CV (%)	21,2	19,6	30,8	18,1

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 1% de probabilidade. Onde: CV = Coeficiente de variação. TH= *Trichoderma harzianum*.

Em relação a eficiência de *T. harzianum* na redução dos fungos, constatou-se que, todos os tratamentos foram eficazes quando comparados com a testemunha. Entretanto, ao analisar as concentrações entre si, observou-se que para o controle de *Aspergillus* sp., *A. niger*, *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. que as concentrações de 250, 300, 350 e 400/100kg 1,0 x 10<sup>10</sup> apresentaram uma maior eficiência (Tabela 1). Medeiros e Bonaldo (2016)

avaliando o uso de *Trichoderma* sp., isolado do fruto do abacaxizeiro, no controle de fitopatógenos obtiveram um isolado de *Trichoderma* sp. com capacidade de inibição do crescimento micelial de *Aspergillus* sp. e *Sclerotium rofsii*.

Nas sementes de *Zea mays*, Lote 2 (Monteiro-PB), foi observada uma microflora constituída pelos seguintes fungos: *Aspergillus* sp., *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. (Tabela 2). Em comparação com a testemunha, todas as concentrações de *T. harzianum* foram eficientes, exceto 50 e 100/100 kg  $1,0 \times 10^{10}$  para *Fusarium* sp. Analisando os tratamentos entre si, as concentrações de 250, 300, 350 e 400/100 kg  $1,0 \times 10^{10}$  apresentaram maior eficiência para o controle de *Aspergillus* sp., *A. niger*, *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. que (Tabela 2).

**Tabela 2** - Incidência de fungos em sementes de *Zea mays* L. oriundas do município de Monteiro-PB e tratadas com *Trichoderma harzianum* em diferentes concentrações.

Tratamentos	Incidência de Fungos (%)			
	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Aspergillus</i> <i>niger</i>	<i>Penicilliu</i> <i>m</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.
T1- Testemunha	28,0 a	21,0 a	9,0 a	14,0 a
T2 – Dicarboximida	0,0 d	0,0 d	0,0 b	0,0 c
T3 – TH (50g/100 kg $1,0 \times 10^{10}$ )	21,0 b	14,0 b	1,0 b	13,0 a
T4 – TH (100g/100 kg $1,0 \times 10^{10}$ )	18,0 b	10,0 b	0,0 b	13,0 a
T5 – TH (150g/100 kg $1,0 \times 10^{10}$ )	10,0 c	5,0 c	0,0 b	6,0 b
T6 – TH (200g/100 kg $1,0 \times 10^{10}$ )	10,0 c	0,0 d	0,0 b	0,0 c
T7 – TH (250g/100 kg $1,0 \times 10^{10}$ )	1,0 d	0,0 d	0,0 b	0,0 c
T8 – TH (300g/100 kg $1,0 \times 10^{10}$ )	0,0 d	0,0 d	0,0 b	0,0 c
T9 – TH (350g/100 kg $1,0 \times 10^{10}$ )	0,0 d	0,0 d	0,0 b	0,0 c
T10 – TH (400g/100 kg $1,0 \times 10^{10}$ )	0,0 d	0,0 d	0,0 b	0,0 c
CV (%)	34,1	25,4	32,2	20,5

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott- Knott a 1% de probabilidade. Onde: CV = Coeficiente de variação. TH= *Trichoderma harzianum*.

**Fonte:** Dados da pesquisa

Nas sementes de *Zea mays*, Lote 3 (Prata-PB), foi observada uma microflora constituída pelos seguintes fungos: *Aspergillus* sp. (40%), *Aspergillus niger* (32%), *Penicillium* sp. (9%) e *Fusarium* sp. (21%) (Tabela 3).

Verificou-se para *Aspergillus* sp. que as concentrações de 350 e 400/100 kg  $1,0 \times 10^{10}$  quando comparadas entre si foram as mais eficientes.

**Tabela 3** - Incidência de fungos em sementes de *Zea mays* L. oriundas do município de Prata-PB e tratadas com *Trichoderma harzianum* em diferentes concentrações.

Tratamentos	Incidência de Fungos (%)			
	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Aspergillus</i> <i>niger</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.
T1- Testemunha	40,0 a	32,0 a	9,0 a	21,0 a
T2 – Dicarboximida	0,0 e	0,0 d	0,0 c	0,0 d
T3 – TH (50g/100 kg $1,0 \times 10^{10}$ )	34,0 b	20,0 b	3,0 b	18,0 b
T4 – TH (100g/100 kg $1,0 \times 10^{10}$ )	31,0 b	11,0 c	0,0 c	18,0 b
T5 – TH (150g/100 kg $1,0 \times 10^{10}$ )	31,0 b	1,0 d	0,0 c	11,0 c
T6 – TH (200g/100 kg $1,0 \times 10^{10}$ )	30,0 b	0,0 d	0,0 c	2,0 d
T7 – TH (250g/100 kg $1,0 \times 10^{10}$ )	23,0 c	0,0 d	0,0 c	1,0 d
T8 – TH (300g/100 kg $1,0 \times 10^{10}$ )	12,0 d	0,0 d	0,0 c	1,0 d
T9 – TH (350g/100 kg $1,0 \times 10^{10}$ )	2,0 e	0,0 d	0,0 c	0,0 d
T10 – TH (400g/100 kg $1,0 \times 10^{10}$ )	2,0 e	0,0 d	0,0 c	0,0 d
CV (%)	12,7	19,1	28,5	15,2

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 1% de probabilidade. Onde: CV = Coeficiente de variação. TH= *Trichoderma harzianum*.

**Fonte:** Dados da pesquisa

Ao comparar entre si das concentrações de *T. harzianum* no controle de *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. observou-se que a concentraçõesa partir de 200/100 kg  $1,0 \times 10^{10}$  foram eficientes na redução. Para todos os lotes analisados o tratamento químico foi eficiente.

Em estudo realizado por Carvalho *et al.* (2011) analisando o controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli in vitro* de seis isolados de *Trichoderma harzianum*, mostraram que todos apresentaram antagonismo contra o patógeno. Broetto *et al.* (2012) avaliando *in vitro* isolados de *Trichoderma* sp. no controle de *Fusarium* sp. do milho, verificaram que todos apresentaram rápido crescimento micelial, desenvolvendo-se em cinco dias de incubação e inibindo o desenvolvimento do patógeno.

Em relação a qualidade fisiológica das sementes de milho coletadas no município de Sumé-PB (Lote 1), verificou -se que o uso de *T. harzianum* proporcionou um aumento no percentual de germinação e redução de sementes mortas e duras, havendo assim um efeito positivo sobre a qualidade do stand (Tabela 4).

**Tabela 4-** Valores médios percentuais da germinação (GER), sementes duras (SD), sementes mortas (SM), comprimento de planta (CPL) e índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de milho (*Zea mays* L.) oriundas do município de Sumé-PB e tratadas com *Trichoderma harzianum* em diferentes concentrações (Lote 1).

Tratamentos	GER	SD	SM	IVG
	..... (%) .....			
T1- Testemunha	88,0 b	2,0 a	10 a	4,0 a
T2 – Dicarboximida	96,0 a	0,0 b	4 b	4,8 a
T3 – TH (50g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	95,0 a	0,0 b	5 b	4,5 a
T4 – TH (100g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	94,0 a	0,0 b	6 b	4,5 a
T5 – TH (150g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	94,0 a	0,0 b	6 b	4,8 a
T6 – TH (200g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	94,0 a	0,0 b	6 b	4,3 a
T7 – TH (250g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	94,0 a	0,0 b	6 b	4,2 a
T8 – TH (300g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	96,0 a	0,0 b	4 b	4,5 a
T9 – TH (350g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	95,0 a	0,0 b	5 b	4,1 a
T10 – TH (400g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	95,0 a	0,0 b	5 b	4,4 a
CV (%)	10,6	12,4	9,2	8,1

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott- Knott a 1% de probabilidade. Onde: CV = Coeficiente de variação; TH = *Trichoderma harzianum*.

**Fonte:** Dados da pesquisa

O efeito de *T. harzianum* no desenvolvimento e rendimento de plantas a partir do tratamento de sementes. Possivelmente, a produção de fitohormônios produzido pelo *Trichoderma* favorece as atividades metabólicas que envolvem, inclusive, o processo germinatório.

Para as sementes oriundas do município de Monteiro-PB (Lote 2), observou-se um efeito semelhante ao lote anterior, onde as sementes tratadas com *T. harzianum* apresentaram os maiores percentuais de germinação e menores valores de sementes mortas e duras (Tabela 5).

**Tabela 5** - Valores médios percentuais da germinação (GER), sementes duras (SD), sementes mortas (SM), comprimento de planta (CPL) e índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de milho (*Zea mays* L.) oriundas do município de Monteiro-PB e tratadas com *Trichoderma harzianum* em diferentes concentrações (Lote 2).

Tratamentos	GER	SD	SM	IVG
	..... (%) .....			
T1- Testemunha	94,0 b	0,0 a	6,0 a	6,2 a
T2 – Dicarboximida	100,0 a	0,0 a	0,0 b	6,8 a
T3 – TH (50g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	99,0 a	0,0 a	1,0 b	6,4 a
T4 – TH (100g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	99,0 a	0,0 a	1,0 b	6,1 a
T5 – TH (150g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	100,0 a	0,0 a	0,0 b	6,8 a
T6 – TH (200g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	100,0 a	0,0 a	0,0 b	6,7 a
T7 – TH (250g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	98,0 a	0,0 a	2,0 b	6,4 a
T8 – TH (300g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	98,0 a	0,0 a	2,0 b	6,5 a
T9 – TH (350g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	100,0 a	0,0 a	0,0 b	6,7 a
T10 – TH (400g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	100,0 a	0,0 a	0,0 b	6,7 a
CV (%)	14,2	10,4	8,5	12,2

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott- Knott a 1% de probabilidade. Onde: CV = Coeficiente de variação; TH = *Trichoderma harzianum*.

**Fonte:** Dados da pesquisa

Ao analisar os dados referentes a qualidade fisiológica das sementes coletadas no município da Prata-PB (lote 3), constatou-se para a variável germinação que os maiores valores percentuais foram identificados nas sementes tratadas com o fungicida com as concentrações de 300, 350 e 400/100 kg 1,0 x 10<sup>10</sup> de *T. harzianum*, observando os valores de 98%, 97%, 97% e 97% respectivamente (Tabela 6).

Possivelmente, os resultados obtidos estão associados diretamente a eficiência do controle biológico na redução dos fungos que, são responsáveis por causarem danos às sementes e causarem a perda do potencial germinatório das mesmas. De acordo com Luz *et al.* (2016) o conhecimento das estruturas do processo germinativo e das plântulas é importante para uma correta interpretação do teste, bem como, os fatores básicos como temperatura e água.

**Tabela 6** - Valores médios percentuais da germinação (GER), sementes duras (SD), sementes mortas (SM), comprimento de planta (CPL) e índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de milho (*Zea mays* L.) oriundas do município de Prata-PB e tratadas com *Trichoderma harzianum* em diferentes concentrações (Lote 3).

Tratamentos	GER	SD	SM	IVG
	..... (%) .. .....			
T1- Testemunha	86,0 c	2,0 a	12,0 a	4,3 a
T2 – Dicarboximida	98,0 a	0,0 b	0,0 d	4,8 a
T3 – TH (50g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	92,0 b	0,0 b	8,0 b	4,3 a
T4 – TH (100g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	91,0 b	0,0 b	9,0 b	4,3 a
T5 – TH (150g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	93,0 b	0,0 b	7,0 b	4,0 a
T6 – TH (200g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	92,0 b	0,0 b	8,0 b	4,1 a
T7 – TH (250g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	92,0 b	0,0 b	8,0 b	4,2 a
T8 – TH (300g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	97,0 a	0,0 b	3,0 c	4,6 a
T9 – TH (350g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	97,0 a	0,0 b	3,0 c	4,8 a
T10 – TH (400g/100 kg 1,0 x 10 <sup>10</sup> )	97,0 a	0,0 b	3,0 c	4,6 a
CV (%)				

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott- Knott a 1% de probabilidade. Onde: CV = Coeficiente de variação; TH = *Trichoderma harzianum*.

**Fonte:** Dados da pesquisa

## 6 CONCLUSÃO

Foram identificados nas sementes de milho oriundas dos municípios Sumé –PB, Monteiro- PB e Prata - PB os seguintes fungos: *Aspergillus* sp.; *Aspergillus niger*; *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp.

O uso de *Trichoderma harzianum* nas concentrações de 50g, 100g, 150g, 200g, 250g, 300g, 350g e 400g/100kg sementes na concentração de  $1,0 \times 10^{10}$  aplicado nas sementes de milho foram eficazes na redução de *Aspergillus* sp.; *Aspergillus niger*; *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp.

O *Trichoderma harzianum* trouxe efeitos positivos na qualidade fisiológica das sementes e proporcionou um aumento nos percentuais de germinação.

## REFERÊNCIAS

ABDELRAHMAN, M.; ABDEL-MOTAAL, F.; EL-SAYED, M.; JOGAIHAH, S.; SHIGYO, M.; ITO, S. I.; TRAN, L. S. P. Dissection of *Trichoderma longibrachiatum*-induced defense in onion (*Allium cepa* L.) against *Fusarium oxysporum* f. sp. cepa by target metabolite profiling. **Plant Science**, 246, 128-138, 2016.

AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 08 abr. 2017.

ALTOMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJÖRKMAN, T.; HARMAN, G. E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 65, n. 7, p. 2926-2933, July 1999.

ANTONELLO, L.M. *et al.* Influência do tipo de embalagem na qualidade fisiológica de sementes de milho crioulo. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.4, p.75-86, 2014.

BELLO, O.B.; GANIYU, O.T.; WAHAB, M.K.A.; AZEEZ, M.A.; ABDULMALIQ, S.Y.; IGE, S.A.; MAHMOOD, J.; OLULEYE, F.; AFOLABI, M.S. 2012. Yield and Disease Reactions of Quality Protein Maize Varieties in the Southern Guinea Savanna Agro-Ecology of Nigeria. **International Journal of Agriculture and Forestry** 2(5): 203-209

BENEDIT, P. Impacto Económico de la Infección con *Fusarium verticillioides* y Acumulación de Fumonisinas em Maíz. Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales. Universidad Nacional del Nor-oeste de la Provincia de Buenos Aires. Pergamino. 2016

BENITEZ, 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.

BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. Biocontrol, Mechanisms of *Trichoderma* Strains. **International Microbiology**, Madrid, v. 7, p. 249-260. 2004.

BORÉM, A; GALVÃO, J.C.C.; PIMENTEL, M, A. Milho do plantio à colheita. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2015. cap.1, p 9-23.

BRANDÃO, A.M.; JULIATTI, F.C.; BRITO, C.H.; GOMES, L.S.; VALE, F.X.R.; HAMAWAKI, O.T. Fungicidas e épocas de aplicação no controle da Ferrugem Comum (*Puccinia sorghi*Schw.) em diferentes híbridos de milho. **Bioscience Journal**, v.19, n.1, p.43-52, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 399 p. 2009.

BRITO, A.H.; PEREIRA, J.L.A.R.; PINHO, R.G. VON; BALESTRE, M. Controle químico de doenças foliares e grãos ardidos em milho (*Zea mays*L.). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.11, n.1, p.49-59, 2012.

BRITO, A.H.; VON PINHO, R.G.; PEREIRA, J.L.A.R.; BALESTRE, M. Controle químico da Cercosporiose, Mancha-Branca e dos Grãos Ardidos em milho. **Revista**

*Ceres*, v.60, n.5, p.629-635, 2013.

BROETTO, L.; PAZDIORA, P. C.; RAVAGNANI, L. K.; MEINERZ, C.C.; COLTRO, S.; KUHN, O. J. Avaliação in vitro de isolados de *Trichoderma* sp. no controle de *Fusarium* sp. do Milho, XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO Águas de Lindóia, Agosto de 2012

CARVALHO, D. D. C.; MELO, S. C. M.; LOBO JÚNIOR, M.; SILVA, M. C. (2011). 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**, 36(1), 28- 34.

CATÃO, H.C.R.M.; MAGALHÃES, H.M.; SALES, N.L.P.; BRANDÃO JÚNIOR. Incidência e viabilidade de sementes crioulas de milho naturalmente infestadas com fungos em pré e pós-armazenamento. **Ciência Rural**, Santa Maria v.43, n.5, maio, 2017.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Décimo primeiro levantamento para safra 2018/19. Disponível em: . Acesso em: 02 Abr. 2021.

COSTA, D.F.; VIEIRA, B.S.; LOPES, E.A.; MOREIRA, L.C.B. Aplicação de fungicidas no controle de doenças foliares na cultura do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.11, n.1, p.95-105, 2012.

Costa, R.V.; Cota, L.V.; Cruz, J.C.; Silva, D.D.; Queiroz, V.A. V.; Guimarães, L.J.M.; Mendes, S.M. 2011. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 38**. Recomendações para a Redução da Incidência de Grãos Ardidos em Milho. Sete Lagoas - MG, Embrapa Milho e Sorgo

COTA, L. V.; SILVA, D. D.; COSTA, R. V. Helminthosporiose causada por *Exserohilum turcicum* na cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2013.

COUTINHO, W.M., SILVA-MANN, R., VIEIRA, M.G.G.C., MACHADO, C.F., MACHADO, J.C. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho submetidas a termoterapia e condicionamento fisiológico. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p.458-464. 2007.

DINESH, K.; SINH, B.; BAI, A. T. In vitro studies on efficacy of various *Trichoderma* spp. Against collar rot of tomato caused by *Sclerotium rolfsii* Sacc. in Manipur. **International Journal of Chemical Studies**, v. 6, n. 6, p. 1654-1656, 2018.

DUARTE, R.P.; JULIATTI, F.C; FREITAS, P.T. Eficácia de diferentes fungicidas na cultura do milho. **Bioscience Journal**, v.25, n. 4, p. 101-111, 2009.

Embrapa. Dezembro, 2015. Micotoxinas em Cadeias Produtivas do Milho: Riscos à Saúde Animal e Humana. **Documentos**, 193. ISSN 1518-4277. Sete Lagoas – MG.

FANTIN, G.M.; DUARTE, A.P.; DUDIENAS, C.; GALLO, P.B.; RAMOS JÚNIOR, E.U.; CRUZ, F.A.; RAMOS, V.J.; FREITAS, R.S.; DENUCCI, S.; TICELLI, M. Efeito da mancha de cercospora na produtividade do milho safrinha, no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.7, n.3, p. 231-250, 2008.

FARIA, M.V.; MENDES, M.C.; ROSSI, E.S.; POSSATTO JUNIOR, O.; RIZZARDI, D.A.; GRALAK, E.; SILVA, C.A.; FARIA, C.M.D.R. Análise dialéctica

da produtividade e do progresso da severidade de doenças foliares em híbridos de milho em duas densidades populacionais. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, n.1, p.123-134, 2015.

FARIAS, O. R.; NASCIMENTO, L. C.; CRUZ, J. M. F. L.; SILVA, H. A. O.; OLIVEIRA, M. D. M.; BRUNO, R. L. A.; ARRIEL, N. H. C. Biocontrol Potential of Trichoderma and Bacillus Species on Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum. **Journal of Experimental Agriculture International**, v. 34, n. 2, p. 1-11, 2020.

FARID, M. *et al.* Eficácia de Zeamays L. no manejo de solo contaminado com efluente de mármore sob alteração de ácido cítrico; resposta morfo-fisiológica e bioquímica. **Chemosphere**, v. 240, p. 124930, fev. 2020.

FERRÃO, R. G. *et al.* ‘**Capixaba Incaper 203**’: Nova Variedade de Milho para a Agricultura Familiar do Estado do Espírito Santo. Vitória: Incaper, 2013.

FERREIRA, T. DE A. *et al.* Balanço energético da silagem de milho irrigado. *Ciência Rural*, v. 48, n. 5, 10 de maio de 2018.

FISCHER, I. H. *et al.* **Avaliação de Passifloraceas, fungicidas e Trichoderma para o manejo da podridão-do-colo do maracujazeiro, causada por Nectria haematococca.** APTA. Bauru, 2010.

FORTES, F.O.; SILVA, A.C.F.; ALMANÇA, M.A.K.; TEDESCO, S.B. Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de Eucalyptus sp. por Trichoderma spp. **Rev. Árvore**, v. 31, n.2, p.221-228, 2007.

GONÇALVES, M.E.M.P.; GONÇALVES JUNIOR, D.; SILVA, A.G.; CAMPOS, H.D.; SIMON, G.A.; SANTOS, C.J.L.; SOUSA, M.A. Viabilidade do controle químico de doenças foliares em híbridos de milho no plantio de safrinha. **Nucleus**, v.9, n.1, p.49-62, 2012.

HUSSAIN, A. *et al.* Efeitos de diversas doses de chumbo (Pb) em diferentes atributos de crescimento de Zea-Mays L. **Ciências Agrícolas**, v. 04, n. 05, p. 262-265, 2013.

Hyphomycetes. 1ª ed. Utrecht, CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre. 866 p. 2011.

LANDAU, E. C.; GUIMARÃES, D. P.; PERREIRA, C. M. Relações com o clima. Disponível em: <[https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/milho/arvore/contag01\\_17\\_168200511157.html](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/milho/arvore/contag01_17_168200511157.html)> Acesso em: 2 de abr. de 2021.

LANZA, F. E.; ZAMBOLIM, L.; COSTA, R. V.; SILVA, D. D.; QUEIROZ, V. A. V.; PARREIRA, D. F.; MENDES, S. M.; SOUZA, A. G. C.; COTA, L. V. Aplicação foliar de fungicidas e incidência de grãos ardidos e fumonisinas totais em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.51, n.5, p.638-646, 2016.

LEGRAND, F.; PICOT, A.; COBO-DÍAZ, J. F.; CHEN, W.; LE FLOCH, G. Desafios das estratégias de controle biológico para o manejo da giberela de cereais causada por *F. graminearum*. **Biological Control**, v. 113, p. 26-38, 2017.

LUZ, WC. 2016. Efeito de bioprotetores em patógenos de sementes e na emergência e rendimento de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira** 26: 16- 20.

- 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, 2012.
- MAGALHÃES, P. C. Fisiologia do milho. CEP, v. 35701, 2002, p. 970
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.
- MARCONDES, M.M. . **Incidência de podridão de colmo e grão ardidos em híbridos de milho sob diferentes densidades de plantas e épocas de colheita**. Universidade Estadual do Centro-Oeste. Guarapuava – PR. 2012.
- MARTINI, L. B.; ETHUR, L. Z.; DORNELES, K. R. Influência de metabólitos secundários de *Trichoderma* sp. no desenvolvimento de fungos veiculados pelas sementes e na germinação de sementes de arroz. **Ciência e Natura**, v. 36, n. 2, p. 86-91, 2014
- MARTINS, A.L., Santana, E.V.P., Silva Junior, J.L., Carvalho, J.J. and Silva, E.S. 2015. Fitopatógenos associados às sementes de mucuna-preta do banco de germoplasma da universidade do Tocantins armazenadas em diferentes condições. **Tecn. e Ciência Agrop.** 9:1-3.
- MARTINS, A.L.L.; SANT'ANA, E.V.P.; SILVA JÚNIOR, J.L.C.; CARVALHO, J.J.; SILVA, E.S. Fitopatógenos associados às sementes de mucuna-preta do banco de germoplasma da Universidade do Tocantins armazenadas em diferentes condições. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.9, n.2, p.1-3, 2015
- MEDEIROS, K. A. S; BONALDO, S. M. Avaliação de *Trichoderma* sp., isolado de fruto de abacaxi, no controle de fitopatógenos in vitro. 2016. 34.
- MENTEN, JOM. **As tecnologias do controle biológico de pragas e doenças evoluiu, esse uso vai crescer muito na agricultura de grãos**. 2017. Disponível em <http://www.abcbio.org.br/conteudo/noticias/fitossanitarios- biologicos/>
- MOHAMED, H.A.L.A.; HAGGAG, W.M. Biocontrol potential of salinity tolerant mutants of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum*. **Braz. J. Microbiol.** v. 37, n. 2, p. 181- 191, 2006.
- 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.
- NWANYA, A. C *et al.* Tratamento de efluentes têxteis industriais e eficácia antibacteriana de *Zopromays* L. Nanopartículas de óxido de cobre bio-sintetizadas mediadas por casca seca. **JournalofHazardousMaterials** , v. 375, p. 281–289, atrás. 2019.
- OOTANI, M. A. *et al.* Utilização de óleos essenciais na agricultura. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, Gurupi, v. 4, n. 2, p.162-175, 2013.
- PEDRO, E. A. S.; HAKAKAVA, R.; LUCON, C. M. M.; GUZZO, S. D. Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, 2012. v.47, n.11, p.1589-1595.
- PEREIRA, O. A. P.; CARVALHO, R. V.; CAMARGO, L. E. A. Doenças do milho. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 4.ed. São Paulo:

Agronômica Ceres, 2005. v.2, 666p.

POMELLA, A.W.V.; RIBEIRO, R.T.S. 2009. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas – uma visão empresarial. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. (Ed.). Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, p. 238– 244.

POPINIGIS, F. Fisiologia da semente. Brasília, DF: AGIPLAN, 1977.

RAFIQUE, M. *et al.* Efeitos residuais de biochar e fósforo no crescimento e acúmulo de nutrientes pelo milho (*Zeamays L.*) alterados com micróbios em solos com textura diferente. **Chemosphere**, v. 238, p. 124710, jan. 2020.

SANTOS, H. A. *Trichoderma* spp. como promotores de crescimento em plantas e como antagonistas a *Fusarium oxysporum*. Dissertação de Mestrado - Faculdade de agronomia e medicina veterinária. Brasília, 2008.

SCUDLER, F.; VENEGAS, F. *Trichoderma harzanium* associado ou não a fungicidas em tratamento de sementes na cultura do milho. Ensaios e Ciência. Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde. São Paulo, 2012. vol. 6 nº 5.

SEIFERT, K.; MORGAN-JONES, G.; GAMS, W.; KENDRICK, B. The genera of Hyphomycetes. CBS Biodiversity Series no. 9. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht. 997p.

SILVA, R.R.; THEODORO, G.F.; LIBÓRIO, C.B.; PESSOA, L.G.A. Influência da densidade de cultivo de genótipos de milho na severidade da mancha de cercospora e no rendimento de grãos na ‘safrinha’. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.4, p.1449- 1454, 2012.

SILVA, R.R.; THEODORO, G.F.; LIBÓRIO, C.B.; PESSOA, L.G.A. Influência da densidade de cultivo de genótipos de milho na severidade da mancha de cercospora e no rendimento de grãos na ‘safrinha’. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.4, p.1449- 1454, 2012.

SILVA, H. FANTIN, G.M.; RESENDE, I.C.; PINTO, N.F.J.A.; CARVALHO, R.V. 2001. Manejo Integrado de Doenças na Cultura do Milho de Safrinha In: Seminário Nacional De Milho Safrinha. 2001, Londrina: Iapar. 113-144.

SILVA, Suênio Anderson Feliciano. **Análise multicritério espacial no gerenciamento dos recursos hídricos no perímetro irrigado de Sumé-PB**. 2016. 149f. Dissertação (PósGraduação em Engenharia Civil e Ambiental), Centro de Tecnologia e Recursos Naturais, Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba – Brasil, 2016. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/271>

SOUZA, A.W.A.; PIRES, G.A. **Revisão de literatura: milho**. 2013. Rio Branco, Acre.

SOUZA, N. G. M. Controle Alternativo de *Fusarium verticillioides* em sementes de milho. 2017. 52 f. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia), Ciências Agrárias, UEPB, 2017

SOUZA, T. de; ALMEIDA, J. S. de; PIO, A. T.; BUSCARIOLI, A. L.; ROCHA, R. M.; POSSA, J.; TRINDADE, D. V. 2012. Melhoramento Genético do Milho

UNIVAG-AGRONOMIA. Botânica do milho. Disponível em:<

<https://pt.scribd.com/doc/93479433/MILHO-Botanica>>. Acesso em: 28 de agosto de 2017.

USDA REVISAR PARA CIMA SAFRAS MUNDIAIS 2020/21 DE SOJA E MILHO, MAS REDUZ ESTOQUES FINAIS. **Notícias Agrícolas**, [S.L.], 11 de jun. de 2020. Disponível em: <[https://www.noticiasagricolas.com.br/noticias/usda/261428-usda-revisa-para-cima-safras-mundiais-202021-de-soja-e-milho-mas-reduz-estoques-finais.html#.YLZZDr\\_PzIX](https://www.noticiasagricolas.com.br/noticias/usda/261428-usda-revisa-para-cima-safras-mundiais-202021-de-soja-e-milho-mas-reduz-estoques-finais.html#.YLZZDr_PzIX)>. Acesso em: 01 de jun. de 2021.

VAZQUEZ, G. H.; CARDOSO, R. D., PERES A. R. Tratamento Químico de sementes de milho e o teste de condutividade elétrica. **Bioscience. Journal.**, Uberlândia, v. 30, n. 3, p. 773-781, Maio/Junho, 2014.

WOLOSHUK, C.; WISE, K. 2011. Diseases of corn: Aspergillus ear rot. Purdue University, 3 pp

ZEILINGER, S.; GRUBERA, S.; BANSALB, R.; MUKHERJEE, P. K. Secondary metabolism in *Trichoderma* e Chemistry meets genomics. **Fungal Biology Reviews**, v. 30, n. 1, p. 74-90, 2016.