

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MESTRADO**

**SOBREVIVÊNCIA DE *TRICHODERMA* SPP. EM SOLOS
DO SEMIÁRIDO BAIANO E O SEU POTENCIAL COMO
AGENTE DE BIOCONTROLE E PROMOTOR DE
CRESCIMENTO NO SISAL**

Sândila Barbosa Rocha

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
JULHO – 2023**

**SOBREVIVÊNCIA DE *TRICHODERMA* SPP. EM SOLOS
DO SEMIÁRIDO BAIANO E O SEU POTENCIAL COMO
AGENTE DE BIOCONTROLE E PROMOTOR DE
CRESCIMENTO NO SISAL**

Sândila Barbosa Rocha
Bacharela em Engenharia Florestal, UFRB, 2020

Dissertação apresentada ao
Colegiado do Programa de Pós-
Graduação em Ciências Agrárias da
Universidade Federal do
Recôncavo da Bahia, como
requisito parcial para a obtenção do
Título de Mestre em Ciências
Agrárias (Área de Concentração:
Agricultura Tropical).

Orientadora: Profa. Dra. Ana Cristina Fermino Soares

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
JULHO – 2023**

FICHA CATALOGRÁFICA

R672s	<p>Rocha, Sândila Barbosa. Sobrevivência de <i>Trichoderma</i> spp. em solos do Semiárido Baiano e o seu potencial como agente de biocontrole e promotor de crescimento no sisal / Sândila Barbosa Rocha._ Cruz das Almas, BA, 2023. 61f.; il.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Mestrado em Ciências Agrárias.</p> <p>Orientadora: Prof. Dra. Ana Cristina Fermino Soares.</p> <p>1.Sisal – Cultivo – Doenças e pragas. 2.Sisal – Controle biológico. 3.Trichoderma – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p>CDD: 633.59</p>
-------	---

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MESTRADO**

**SOBREVIVÊNCIA DE *TRICHODERMA* SPP. EM SOLOS
DO SEMIÁRIDO BAIANO E O SEU POTENCIAL COMO
AGENTE DE BIOCONTROLE E PROMOTOR DE
CRESCIMENTO NO SISAL**

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de
Sândila Barbosa Rocha

Aprovada em 18 de julho de 2023

Documento assinado digitalmente
 ANA CRISTINA FERMINO SOARES
Data: 05/03/2024 12:30:14-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Ana Cristina Fermino Soares
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Orientadora

Prof. Dr. Carlos A. D. Bragança
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Examinador Interno

Dr. Juan Manuel Anda Rocabado
Universidade Estadual de Feira de Santa - UEFS
Examinador Externo

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB/Brasil), Termo de Outorga de Bolsa Nº BOL0518/2021, e da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

SOBREVIVÊNCIA DE *TRICHODERMA* SPP. EM SOLOS DO SEMIÁRIDO BAIANO E O SEU POTENCIAL COMO AGENTE DE BIOCONTROLE E PROMOTOR DE CRESCIMENTO NO SISAL

RESUMO GERAL

Os estudos com fungos do gênero *Trichoderma* tem estimulado o interesse nas pesquisas com produção agrícola no semiárido devido ao seu potencial em promover a tolerância das plantas a estresses bióticos e abióticos. O presente estudo visou avaliar a sobrevivência de isolados de *Trichoderma* spp. em diferentes solos do semiárido da Bahia, Brasil, e o potencial do *Trichoderma asperellum* no controle da podridão vermelha e na promoção de crescimento no sisal, com diferentes métodos de inoculação. Para avaliar a sobrevivência dos isolados de *Trichoderma* spp., amostras de solo esterilizado (SE) e solo natural (SN), de seis áreas produtivas de sisal da região semiárida da Bahia, foram inoculadas com *Trichoderma asperellum* e *T. harzianum*, e incubadas em incubadora com temperatura de $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ por até 36 dias. A sobrevivência dos isolados foi avaliada por meio da contagem das unidades formadoras de colônias (UFCs) em meio seletivo para *Trichoderma* (TSM), aos 12 e 36 dias de incubação. Para avaliar o potencial do *T. asperellum* no controle da podridão vermelha e na promoção de crescimento de mudas de sisal, as plantas foram inoculadas com *T. asperellum* (isolado F12), por três métodos de inoculação, em SE e SN. Foram avaliadas a incidência e severidade da doença, e a altura, massa seca da parte aérea e das raízes e número de folhas das plantas de sisal, em casa de vegetação. O solo que apresentou maior valor de pH (6,6), teor de matéria orgânica (26 g/dm^3), elevada CTC (307mmolc/dm^3) e elevada porcentagem de saturação por bases (93%), quando inoculado com *T. asperellum* apresentou o maior número de UFC's. A população dos fungos aumentou ao longo dos 36 dias em todos os solos, e as características físico-químicas das amostras de solo não apresentaram correlação significativa com os números de UFC's, para ambos os isolados de *Trichoderma*. A população dos isolados de *Trichoderma* foi maior em solo esterilizado e o *T. asperellum* se desenvolveu melhor que o *T. harzianum*. O *T. asperellum* foi eficiente no controle da doença e também na promoção do crescimento da parte aérea e da raiz, mas apenas quando inoculado nos ferimentos no pseudocaule do sisal e nas plantas cultivadas em solo natural. As plantas desse tratamento apresentaram apenas 14% de incidência da doença, e houve um aumento na massa seca da parte aérea de 41,89% e de 33,09% da massa seca da raiz, quando comparado com o tratamento controle. Com a inoculação no solo ou por pulverização das plantas, a incidência da doença foi de 100% em todas as plantas. O *T. asperellum* F12 é um isolado promissor, apresentando um efeito sinérgico com o microbioma do solo, pois sua resposta foi mais eficiente nas plantas cultivadas em solo natural. A incidência e severidade da podridão vermelha foi maior e com sintomas mais precoces nas mudas cultivadas em solo esterilizado, sugerindo a importância do microbioma do solo e da planta na tolerância do sisal à podridão vermelha.

Palavras chave: Biocontrole, Promoção de crescimento, Semiárido, Sisal

SURVIVAL OF *TRICHODERMA* SPP. IN SOILS OF THE SEMI-ARID REGION OF BAHIA AND ITS POTENTIAL AS A BIOCONTROL AND GROWTH PROMOTER AGENT IN SISAL

ABSTRACT

Studies with fungi of the genus *Trichoderma* have stimulated the interest in research with agricultural production in the semi-arid region due to their potential to promote plant tolerance to biotic and abiotic stresses. The present study aimed to evaluate the survival of isolates of *Trichoderma* spp. in different soils in the semi-arid region of Bahia, Brazil, and the potential of *Trichoderma asperellum* in controlling sisal bole rot disease and promoting growth of sisal plants, with different inoculation methods. To evaluate the survival of *Trichoderma* spp. isolates, samples of sterilized soil (SE) and natural soil (SN), from six sisal productive areas in the semi-arid region of Bahia, were inoculated with *Trichoderma asperellum* and *T. harzianum* and incubated in an incubator with a temperature of $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ for up to 36 days. The survival of the isolates was evaluated by counting the colony forming units (CFUs) in *Trichoderma* selective medium (TSM), at 12 and 36 days of incubation. To evaluate the potential of *T. asperellum* in controlling sisal bole rot and in promoting growth of sisal, plants were inoculated with *T. asperellum* (isolate F12), by using three inoculation methods, in SE and SN. The incidence and severity of the disease, and the height, dry mass of the aerial parts and roots and number of leaves of sisal plants were evaluated after growth under greenhouse conditions. The soil that presented the highest pH value (6.6), organic matter content (26 g/dm^3), high CTC (307 mmolc/dm^3) and high percentage of base saturation (93%), when inoculated with *T. asperellum*, presented the highest numbers of CFU's. The fungal population increased over the 36 days of incubation, in all soil samples, and the physicochemical characteristics of the different soils did not show a significant correlation with the numbers of CFU's for both *Trichoderma* isolates. The population of *Trichoderma* was higher in sterilized soil and *T. asperellum* developed better than *T. harzianum*. *T. asperellum* was efficient in controlling the disease and in promoting shoot and root growth, but only when inoculated in the wounded sisal stem and in plants grown in natural soil. The plants in this treatment showed only a 14% incidence of the disease, and there was an increase in the dry mass of the aerial part of 41.89% and of 33.09% for root dry mass, when compared to the control treatment. With inoculation in the soil or by spraying plants aerial parts, the incidence of the disease was 100% in all plants. *T. asperellum* F12 is a promising isolate, presenting a synergistic effect with the soil microbiome, as observed through the efficient control only in plants grown in natural soil. The incidence and severity of bole rot was higher and with earlier symptoms in plants grown in sterilized soil, suggesting the importance of the soil and plant microbiome in the tolerance of sisal to bole rot disease.

Keywords: Biocontrol, Growth promotion, Semiarid, Sisal

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 - Sobrevivência de *Trichoderma asperellum* e *T. harzianum* em solos de plantios de sisal no semiárido da Bahia

Tabela 1 - Locais da amostragem de solo no semiárido da Bahia.....37

Tabela 2 - Descrição do ensaio com amostras de solo e *Trichoderma*.....40

Tabela 3 - Características químicas dos solos.....42

Tabela 4 - Classificação textural dos solos.....43

Tabela 5 - Análise de componentes principais.....47

CAPÍTULO 2 - *Trichoderma* no controle da podridão vermelha e promoção decrescimento do sisal

Tabela 1 - Variáveis analisadas em mudas de sisal para avaliação da promoção de crescimento.....70

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1** - Isolados de *Trichoderma harzianum* (TCS 35) e *Trichoderma asperellum* (F12).....38
- Figura 2** - Incubação das amostras de solo tratadas com os isolados de *Trichoderma*, a temperatura de $28\pm 2^{\circ}\text{C}$40
- Figura 3** - Análise do desdobramento dos fatores solo e inóculo.....43
- Figura 4** - Análise do desdobramento dos fatores solo e esterilização..... 44
- Figura 5** - Desdobramento dos fatores inóculo e esterilização..... 45
- Figura 6** - Desdobramento dos fatores esterilização e tempo de incubação.....45
- Figura 7** - Análise do desdobramento dos fatores solo e tempo de incubação.....46
- Figura 8** - Desdobramento dos fatores inoculação e tempo de incubação.....46
- Figura 9** - Análise de componentes principais.....48
- Figura 10** - Correlação entre as características dos solos e o número de unidades formadoras de colônias de *Trichoderma*.....49

CAPÍTULO 2

- Figura 1** - Inoculação de *Trichoderma* nas plantas de sisal.....60
- Figura 2** - Escala diagramática para quantificação da severidade da podridão vermelha do sisal.....61
- Figura 3** - Plantas para avaliação do controle biológico.....62
- Figura 4** - Plantas para avaliação da promoção de crescimento.....62
- Figura 5** - Incidência da doença nas mudas de sisal.....63
- Figura 6** - Índice de severidade da doença nas mudas de sisal.....63
- Figura 7** - Mudas dos tratamentos com *T. asperellum* e *A. welwitschiae*, em solo esterilizado (A) e em solo natural (B) com podridão no pseudocaule.....64
- Figura 8** - Plantas assintomáticas do tratamento T1SN.....66
- Figura 9** - Plantas dos tratamentos T1SN, T2SN, T3SN e T0SN após 25 dias de inoculação com *A. welwitschiae*.....66

Figura 10 - Planta do T1SN com lesão inicial indicada com a seta.....67

Figura 11 - Plantas do T1SE, T2SE, T3SE e T0SE.....68

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1. <i>Trichoderma</i> spp. e seus benefícios para a agricultura	16
2.2. Sobrevivência do <i>Trichoderma</i> em solos do semiárido	19
2.3. A cultura do sisal e as limitações na produção	21
3. REFERÊNCIAS	26
CAPÍTULO 1 - Sobrevivência de <i>Trichoderma asperellum</i> e <i>T. harzianum</i> em solos de plantios de sisal do semiárido da Bahia	33
1. INTRODUÇÃO	35
2. METODOLOGIA	36
2.1. Amostragem do solo	36
2.2. Análises físico-química dos solos	37
2.3. Isolados de <i>Trichoderma</i>	38
2.4. Preparo da suspensão de esporos	38
2.5. Ensaio com amostras de solo e <i>Trichoderma</i>	39
2.6. Quantificação do <i>Trichoderma</i> no solo	40
2.7. Delineamento experimental	41
2.8. Análise estatística	42
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4. CONCLUSÕES	50
5. REFERÊNCIAS	51
CAPÍTULO 2 - <i>Trichoderma</i> no controle da podridão vermelha e promoção de crescimento do sisal	54
1. INTRODUÇÃO	56
2. METODOLOGIA	58
2.1. Coleta e cultivo dos bulbilhos	58
2.2. Isolados de <i>Trichoderma</i> e <i>Aspergillus</i>	58
2.3. Preparo da suspensão de esporos	58
2.4. Inoculação de mudas de sisal	59
2.5. Avaliação da severidade da doença	60
2.6. Avaliação da promoção de crescimento	61
2.7. Delineamento experimental	61
2.8. Análise estatística	62
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
3.1. Controle da podridão vermelha	62
3.2. Promoção de crescimento	69

4. CONCLUSÕES	71
5. REFERÊNCIAS	71

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os estudos e o uso de inoculantes com fungos do gênero *Trichoderma* na agricultura vem se intensificando ao longo dos anos (SOLANKI e NALLANCHAKRAVARTHULA, 2017; YU et al., 2014; CARDOZA et al., 2015). Isso ocorre devido aos efeitos benéficos deste fungo observados em diversas culturas, promovendo o crescimento de plantas (ROLIM et al., 2017; CHAGAS et al., 2017) e a proteção contra diversos patógenos (SILVA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2021). Estes fungos surgem como uma opção de controle e/ou uma alternativa ao uso intensivo de agrotóxicos e outros insumos agrícolas, promovendo assim uma produção agrícola com menor impacto ambiental (HERMOSA et al., 2012). O grande interesse nesse grupo de fungos se dá por serem organismos amplamente distribuídos em todos os ambientes terrestres (MONTE et al., 2019), capazes de colonizar o solo, substratos e o sistema radicular de plantas, podendo também ser endofíticos, e produzirem metabólitos secundários, incluindo enzimas degradadoras da parede celular de outros fungos e outros compostos que interferem de forma positiva no crescimento e na defesa das plantas contra fitopatógenos (NASCIMENTO et al., 2022).

O mercado de defensivos agrícolas biológicos cresceu na ordem de 15% no Brasil (EMBRAPA, 2019) e há uma perspectiva do aumento do uso de produtos de base biológica na agricultura (MATTOS, 2020). Concomitante a isso, estudos que visam compreender o desenvolvimento do *Trichoderma* em diferentes tipos de solo, sua interação com as plantas, e os métodos de inoculação são de extrema importância para garantir a sustentabilidade do uso desse produtos biológicos nos sistemas agrícolas.

O interesse em pesquisas com espécies de *Trichoderma* com potencial de controle de fitopatógenos, que sejam adaptadas às condições desafiadoras da agricultura no semiárido e com capacidade de promover o crescimento por meio da tolerância das plantas aos estresses abióticos, surge com o objetivo de aumentar a produção agrícola, e garantir que o controle de patógenos seja realizado de forma sustentável (ABRANTES, 2021). No entanto, existem poucos estudos na literatura científica que avaliam como as diferentes características dos solos do semiárido influenciam a sobrevivência de cepas de *Trichoderma*. Portanto, é necessário

investigar os efeitos das condições edáficas dessas regiões na sobrevivência de espécies e isolados de *Trichoderma*, no sentido de maximizar os seus possíveis efeitos benéficos, visto que, o sucesso no uso de agentes de biocontrole depende do seu crescimento, colonização e sobrevivência nos ambientes onde são aplicados, e isso está diretamente relacionado às características como teor de matéria orgânica, pH, microrganismos presentes, disponibilidade de nutrientes, umidade, entre outros fatores (LUCON, 2016).

Em relação à produção agrícola, o cultivo do sisal (*Agave sisalana* Perrine) se tornou a principal atividade agrícola na região semiárida da Bahia, devido à sua adaptação às condições edafoclimáticas extremas, como déficit hídrico e altas temperaturas, e à comercialização da fibra extraída das folhas do sisal em mercados nacionais e internacionais (SILVA et al., 2008). A cultura do sisal tem importância socioeconômica significativa em vários municípios do semiárido da Bahia, contribuindo para a geração de emprego e renda (SUINAGA et al., 2006). Apesar de ser a principal atividade agrícola nessa região, a produção de sisal vem caindo nos últimos anos (FAO, 2022), devido a diversos fatores inerentes a falta de modernização na produção agrícola, problemas com a comercialização da fibra, elevado custo inicial empregado, e a podridão vermelha do sisal (SOARES et al., 2020).

A podridão vermelha do pseudocaule, causada pelo fungo *Aspergillus*, é o principal problema fitossanitário da cultura do sisal no Brasil (DUARTE et al., 2018). Os sintomas vão desde clorose e murcha das folhas ao apodrecimento do pseudocaule, levando à morte e tombamento da planta (BARBOSA, 2019). O controle químico ainda não é um método disponível para o controle desta doença, por não existirem produtos registrados (AGROFIT, 2023). Além da utilização de material propagativo sadio e a adequação de tratos culturais (SILVA et al., 2008; BATISTA et al., 2010), tem sido estudadas outras estratégias de manejo da doença no campo (LIMA, 2021), como o uso do resíduo oriundo do desfibramento das folhas de sisal, fermentado em condições naturais de campo para o controle de *A. welwitschiae* (SILVIA et al., 2019), além de estudos avaliando o uso de agentes de biocontrole (BARBOSA, 2019; SOUZA et al., 2021; MAGALHÃES et al., 2017).

Avaliar também as formas de inoculação dos agentes de biocontrole é de extrema importância, visto que, as culturas apresentam diferentes características e o método que se demonstra eficaz para uma cultura nem sempre será para outra,

além de que, as formas de contaminação e desenvolvimento dos patógenos também variam entre culturas. Com isso, se faz essencial avaliar tais métodos afim de otimizar o processo de inoculação e garantir a eficiência dos microrganismos.

Sendo assim, os principais objetivos desse estudo foram: 1) avaliar a sobrevivência de isolados de *Trichoderma* spp. em diferentes solos do semiárido baiano, e 2) avaliar o potencial do *Trichoderma* spp. no controle da podridão vermelha e na promoção de crescimento no sisal, através de diferentes métodos de inoculação.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. *Trichoderma* spp. e seus benefícios para a agricultura

Fungos do gênero *Trichoderma* pertencem ao filo Ascomycota, classe Sordariomycetes e família Hypocreaceae (ABREU e PFENNING, 2019). Esse gênero compreende fungos filamentosos de vida livre, que se reproduzem assexuadamente no solo, principalmente em regiões de clima tropical e temperado, na rizosfera e como endofíticos nos tecidos das plantas (MACHADO et al., 2012). Aproximadamente 375 espécies de *Trichoderma* são reconhecidas e podem ser identificadas por filogenia molecular (CAI e DRUZHININA, 2021). Estes fungos apresentam uma típica esporulação verde e algumas espécies produzem um odor característico devido a um composto volátil biologicamente ativo (6-pentil- α -pirona) (BROTMAN et al, 2010; MACHADO et al., 2012).

O *Trichoderma* apresenta rápido crescimento, sendo considerado um simbiote oportunista e não virulento (DRUZHININA et al., 2011). Ao colonizar a superfície da raiz, este fungo tem o potencial de causar mudanças no metabolismo da planta, promover a melhor absorção de nutrientes e o crescimento vegetal, podendo também induzir a expressão de genes envolvidos na resposta de defesa da planta contra patógenos (HARMAN et al., 2004; LUCON et al., 2014). Espécies de *Trichoderma* como *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. harzianum* e *T. virens* apresentam ampla distribuição no solo e capacidade de hiperparasitar fungos fitopatogênicos e/ou estabelecer interações benéficas na rizosfera de plantas (WOO et al., 2014). Por esses motivos, este fungo tem despertado o interesse científico, sendo alvo de diversos estudos avaliando o seu potencial como agente de controle biológico, de promoção do crescimento vegetal e como produtor de enzimas para uso industrial (POMELLA e RIBEIRO, 2009; MAYO-PRIETO, 2021).

O controle biológico busca eliminar patógenos de forma natural, utilizando organismos vivos denominados Agentes de Controle Biológico (*Biological Control Agents* - BCA), que podem ser fungos, bactérias, insetos ou outros. Os BCAs devem ser inofensivos à saúde humana e ao meio ambiente, podendo ter uma influência positiva nas lavouras e na produtividade de culturas de importância econômica (NASCIMENTO et al., 2022). Nos últimos anos, a popularidade do biocontrole e a busca por produtos biocompatíveis, alternativos ao uso convencional de agrotóxicos, tem aumentado em diferentes segmentos da

sociedade brasileira, devido à maior conscientização do impacto negativo dos agroquímicos na saúde humana, dos animais e no meio ambiente (MAPA, 2020). Associado a isto, o desenvolvimento desses produtos é prioridade em diversas agências de fomento de pesquisa e desenvolvimento, bem como em diversas instituições de pesquisa e ensino e nas empresas de pesticidas. Técnicas alternativas ao controle químico, para o controle fitossanitário, podem reduzir custos e atender à demanda da sociedade por alimentos livres de pesticidas químicos (MEYER et al., 2019). Atualmente, os fungos do gênero *Trichoderma* estão entre os BCAs mais utilizados na agricultura, apresentando o potencial de promover o crescimento vegetal e a tolerância de plantas ao parasitismo de fitopatógenos, representando assim uma solução promissora e sustentável para melhorar a produção agrícola (NASCIMENTO et al., 2022).

A eficácia do *Trichoderma* no biocontrole ocorre devido a seus mecanismos de ação, como o micoparasitismo, que permite ao fungo uma nutrição biotrófica e saprofítica. As enzimas secretadas pelo *Trichoderma* podem agir inibindo a germinação de esporos, o crescimento micelial e o desenvolvimento de escleródios e clamidósporos (estruturas de resistência) de outros fungos, inclusive patógenos (DRUZHININA et al., 2018; MONTE et al., 2019). O *Trichoderma* atua também por competição, que é um processo relacionado à interação entre dois ou mais organismos envolvidos no mesmo recurso, como nutrientes, água, luz, espaço, fatores de crescimento, oxigênio, entre outros (MACHADO et al., 2012). Destaca-se também como mecanismos de ação, a produção de metabólitos secundários que interferem no desenvolvimento de patógenos através de atividade antifúngica, frente a *Botrytis*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Stachybotrys*, *Colletotrichum*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Gaeumannomyces* entre outros fungos (HERMOSA et al., 2014).

Guo et al. (2022), abordam em seu estudo a importância do *Trichoderma harzianum* frente ao controle biológico e ao desenvolvimento de plantas, devido a produção de metabólitos secundários, onde os mesmos apresentam atividade, citotoxicidade e atividade antimicrobiana. Os metabólitos secundários de *T. harzianum* incluem terpenóides, policetídeos, peptídeos, alcalóides e lactonas. De acordo com Consolo et al. (2017), o *T. harzianum* é o principal micoparasita utilizado contra fitopatógenos.

Geng et al. (2022), avaliaram em seu trabalho o potencial de biocontrole do

T. harzianum contra *Botrytis cinerea* em tomateiro. A inoculação com o agente de biocontrole causou picos bifásicos na expressão de metabolismo e genes relacionados à defesa e aumentaram as concentrações de flavonóides, fenóis e lignina nas folhas de tomate. Além disso, aliviou o fechamento estomático e aumentou a taxa líquida de fotossíntese e a atividade de RuBisCO e FBPase em comparação apenas com a inoculação *Botrytis cinerea*.

Trichoderma asperellum também tem seus efeitos benéficos comprovados devido a produção de metabólitos secundários, além de dispor de diferentes mecanismos fisiológicos que são responsáveis por garantir o incremento no crescimento de plantas (PIO-GONÇALVES et al., 2022). Stracquadanio et al. (2020), avaliaram em seu trabalho a atividade antifúngica de metabólitos bioativos produzidos por *T. asperellum*, e concluiu que as cepas apresentam atividades antimicrobianas e são potenciais fontes naturais de compostos com atividade biológica.

Chagas et al. (2017), avaliaram a eficiência da inoculação de *Trichoderma asperellum* como promotor de crescimento vegetal nas culturas da soja, feijão caupi, arroz e milho, e concluiu que nas diferentes culturas estudadas, a inoculação de *T. asperellum* foi superior para as características de biomassa, mostrando o potencial como promotor de crescimento, com aumento acima de 60% em relação à testemunha, para todas as culturas.

T. asperellum e *T. harzianum* são espécies amplamente comercializadas e fazem parte de produtos que combinam diversos isolados, afim de proporcionar maior bioatividade e superar a limitação de compatibilidade ou relação de eficiência em função das condições ambientais (MEDEIROS et al., 2019), como o Binab®, Bio Fit® e BioTraz®. Portanto, é de extrema importância estudos que avaliam a eficiência de tais isolados em diferentes culturas, como o sisal, que ainda não possui nenhum método químico de controle da podridão vermelha do sisal.

A aplicação do *Trichoderma* na agricultura pode ser feita de diversas maneiras, dependendo da cultura e do objetivo que se deseja alcançar (PEREIRA, 2012). Lima et al. (2023) avaliaram a eficiência do uso de *Trichoderma* spp. para a promoção de crescimento na cultura do arroz, testando dois métodos de aplicação, o tratamento de sementes e a pulverização da planta. Esses autores obtiveram melhores resultados no tratamento de sementes juntamente com pulverização foliar, concluindo que é recomendável a junção de diferentes métodos de

inoculação do fungo. Pereira (2012) obteve melhor resultado com a aplicação de *Trichoderma* spp. em mudas de maracujá via tratamento de sementes, em comparação com a aplicação foliar, e concluíram que o tratamento de sementes é mais viável economicamente. Ribeiro et al. (2023) com o objetivo de avaliar a eficiência de inoculantes de *Trichoderma* spp. como promotores de crescimento vegetal em Paricá (*Shizolobium amazonicum*), Fava-tamboril (*Entererolobium maximun*) e Amarelão (*Apuleia leiocarpa*), utilizaram o método de inoculação do fungo em substrato, com isolados de *T. asperelloides* e *T. virens*. Estes isolados apresentaram desempenho positivo na produção de todas essas espécies vegetais, evidenciado pelo aumento de biomassa tanto no sistema radicular quanto na parte aérea. Moura et al. (2022) avaliaram a influência de *Trichoderma* spp. sobre a sanidade e aspectos fisiológicos de sementes de *Myracrodruon urundeuva*. Os tratamentos foram aplicados por contato direto das sementes com o fungo, em seguida, as sementes inoculadas com *Trichoderma* sp. foram colocadas sobre colônias de *Aspergillus* sp., e, após a aplicação dos tratamentos, as sementes foram submetidas aos testes de sanidade, germinação e emergência. A utilização de *Trichoderma* spp. foi eficiente na redução da incidência de *Aspergillus niger* em sementes de *A. urundeuva* e incrementou a germinação das sementes e vigor das plântulas.

Em resumo, existem diferentes formas de aplicação do *Trichoderma*, com cada método apresentando suas vantagens e este deve ser selecionado de acordo com as características específicas do sistema de cultivo e dos objetivos de controle biológico e/ou promoção de crescimento. Estudos adicionais são necessários para aprimorar e desenvolver técnicas de aplicação de *Trichoderma* spp. mais eficientes, em diferentes contextos agrícolas.

2.2. Sobrevivência do *Trichoderma* em solos do semiárido

Apesar de ser um microrganismo que ocorre em diferentes ecossistemas, e em uma ampla gama de zonas climáticas (KUBICEK et al., 2008), a sobrevivência das espécies de *Trichoderma* é modulada por vários fatores, incluindo o microclima, a disponibilidade de substratos, bem como interações ecológicas complexas (HOYOS-CARVAJAL e BISSETT, 2011). A maioria das pesquisas que envolvem o isolamento e identificação das cepas em diferentes zonas agroclimáticas, tem sido

realizada a fim de avaliá-las quanto ao potencial de controle biológico contra vários fitopatógenos. Entretanto, apenas um número limitado de estudos lida com a população, abundância, diversidade, e os fatores que afetam o desenvolvimento e sobrevivência do *Trichoderma* (KREDICS et al., 2014).

O fator sobrevivência está atrelado a uma das principais características das espécies de *Trichoderma*, sendo estas oportunistas, apresentando boa capacidade de colonizar muitos substratos com diferentes características, em ambientes tão distintos como os da Antártida, do Caribe, da Amazônia ou do Saara (MONTE et al., 2019). A maioria das cepas de *Trichoderma* vive em climas temperados e solos ácidos, entretanto, podem produzir estruturas de resistência, como clamidósporos e microescleródios, e com isto são capazes de sobreviver em condições muito adversas (MONTE et al., 2019; KREDICS et al., 2014). Atualmente há um interesse crescente em pesquisas que visam obter cepas de *Trichoderma* com potencial de controle de fitopatógenos, adaptadas a condições desafiadoras dos ambientes de cultivo e com potencial de promoção de crescimento de plantas sob condições de estresses abióticos, como altas temperaturas, solos salinos ou alcalinos e baixa umidade em regiões semiáridas (SILVA FILHO, 2019; ABRANTES, 2021).

Existem diversos estudos avaliando a influência das características dos solos na comunidade microbiana (ZHONG et al., 2010; BROCKETT, 2012; BACH, 2010). Tais estudos relatam que as variações nas características dos solos, como pH, teores de macro e micronutrientes, teor de umidade, matéria orgânica, podem afetar o desenvolvimento de qualquer microrganismo (MAYO-PIETRO et al, 2021). Porém, pesquisas avaliando como as diferentes características dos solos do semiárido influenciam na sobrevivência das cepas de *Trichoderma* são escassas na literatura, se tornando assim importante investigar os efeitos das condições edáficas dessa região na sobrevivência e atividade do *Trichoderma*.

Uma das principais características do semiárido no Nordeste é a escassez de água. Essa região tem 70% da superfície localizada sobre uma fundação conhecida na geologia, como escudo cristalino, sendo caracterizada por solos na maioria das vezes rasos, pois o material de origem está localizado próximo à superfície, acarretando uma drenagem ineficiente, influenciando assim juntamente com outros aspectos, problemas de armazenamento de água (FUNDAJ, 2019). A escassez de água representa uma grande preocupação, não só em termos de quantidade, mas também em qualidade, com impactos diretos no bem-estar dos

povos, como no funcionamento dos ecossistemas e no desenvolvimento socioeconômico (ABRANTES, 2021). Com a necessidade de desenvolver alternativas para a escassez de água nessas regiões com zonas áridas e semiáridas, a utilização de águas salobras e salinas na agricultura tem sido frequente (AMBRIZZI e ARAÚJO, 2014).

O uso de cultivares resistentes a essas condições adversas do semiárido tem sido aliado a algumas práticas alternativas como a utilização de microrganismos benéficos. Diniz et al. (2022) avaliaram a influência de *Trichoderma* spp. no desenvolvimento de mudas de melancia, que é bastante explorada no Brasil, em áreas semiáridas e irrigadas com água salina, devido a escassez de chuvas e água de boa qualidade. Os autores observaram que o uso de água salina promoveu redução no crescimento e biomassa de mudas de melancia em todas as cultivares estudadas. Entretanto, a utilização do *Trichoderma longibrachiatum* foi atenuante ao efeito deletério do estresse salino. Silva Filho (2019) avaliou os efeitos combinados da salinidade e do fungo *Trichoderma harzianum* no crescimento e desenvolvimento do pepino cultivado na região semiárida do Nordeste. Este autor reportou que a salinidade afetou negativamente o desenvolvimento do pepino, enquanto que as plantas tratadas com *T. harzianum* apresentaram bons resultados, reduzindo os efeitos negativos causados pela salinidade. Os efeitos positivos do *Trichoderma* no desenvolvimento de plantas em condições adversas vem sendo comprovados através desses estudos. Compreender os fatores que afetam a sobrevivência desse fungo em solos do semiárido poderá contribuir para otimizar as estratégias de aplicação do *Trichoderma* na agricultura com reflexos positivos na produção agrícola nas regiões semiáridas.

2.3. A cultura do sisal e as limitações na produção

O sisal (*Agave sisalana* Perrine) é uma planta nativa do México, pertence à classe das monocotiledôneas, série Liliflórea, família Asparagaceae, subfamília Agavoidea (MEDINA, 1954). É uma planta perene, com metabolismo ácido das crassuláceas (MAC) e características fisiológicas e morfológicas que permitem a sua sobrevivência em regiões áridas e semiáridas, em condições de temperatura e déficit hídrico que poucas culturas de importância agrícola suportam (NAVA-CRUZ,

2015; ABRAHAM et al., 2016).

Esta espécie de Agave é conhecida pela fibra presente em suas folhas e que tem valor comercial, sendo produzida na África Oriental, Brasil, Índia e vários países da Ásia (FAO, 2022). O sisal fornece cerca de 75% das fibras vegetais duras e longas do mundo (ROUSSO, 2010). As fibras percorrem todo o comprimento das folhas do sisal, podendo atingir até um metro e meio de comprimento, e são comercializadas para a produção de cordas, barbantes, artesanato, dentre diversas outras finalidades (BROWN, 2002; BASU et al., 2012; FAO, 2022). O Brasil é o maior produtor e exportador de fibras de sisal, as quais são consideradas uma das mais importantes fibras duras do mundo e a sua utilização em substituição às fibras sintéticas torna-se atrativa para vários mercados, incluindo o mercado do automobilismo e de moveis de plástico, por ela ser biodegradável, atóxica e de fonte renovável (MARTIN et al., 2009).

No Brasil, o sisal foi introduzido em 1903 no estado da Bahia, no município de Maragogipe, pelo industrial Horácio Urpia Junior, com plantas adquiridas de uma empresa norte-americana (MEDINA, 1954). Atualmente estima-se que a produção da fibra de sisal se aproxima de 91.923 toneladas por ano, sendo cultivado em 68 municípios, alguns desses com maior expressão em termos de produção, como por exemplo: Conceição do Coité, Santaluz, Valente, Araci, dentre outros (IBGE, 2022). A Bahia é responsável por 94% da produção de fibra de sisal do Brasil, seguida pelos estados da Paraíba e Pernambuco (SINDIFIBRAS, 2020). No entanto, a produtividade média por hectare é de aproximadamente 1200 kg/ha, sendo considerada baixa, quando comparada aos índices de produtividade encontrados na Tanzânia e Kenya, superiores a 2800 kg/ha (SANTOS e BRANDÃO, 2021).

Sua adaptação às condições edafoclimáticas da região semiárida do Nordeste, onde as opções de cultivo são limitadas, devido às condições extremas de déficit hídrico e elevadas temperaturas (SILVA et al., 2008), e a comercialização da fibra nos mercados nacional e internacional fizeram com que esta cultura se tornasse o principal cultivo na região, com significativa importância socioeconômica para diversos municípios do semiárido da Bahia, com a geração de emprego e renda (SUINAGA et al., 2006). Entretanto, é necessário o investimento em pesquisa científica para o desenvolvimento de tecnologias para o manejo da cultura no campo e o aumento de produtividade da fibra de sisal na região (SANTOS e BRANDÃO, 2021).

Apesar da importância socioeconômica do sisal na região semiárida da Bahia e de o Brasil ser o maior produtor mundial de fibra de sisal, nas últimas duas décadas tem sido constatado um declínio em termos de plantio e produtividade do sisal (FAO, 2022). Dentre diversos fatores, destaca-se o baixo índice de modernização e de aproveitamento da planta, o baixo valor pago pela fibra, a competição com os fios sintéticos, o alto custo inicial de produção, a falta de máquinas modernas para a colheita e beneficiamento, os longos períodos de estiagem e a podridão vermelha do sisal, doença que tem ameaçado a sustentabilidade desta cultura no Brasil (BATISTA et al., 2010; SOARES et al., 2020).

No Brasil, apenas duas doenças são relatadas afetando a cultura do sisal. A primeira é a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum agaves* Cav., que afeta as folhas do sisal e como consequência a fibra extraída dessas folhas é menos resistente e seu valor comercial é depreciado (MEDINA, 1954). Apesar disso, essa doença não consiste propriamente em um problema de importância econômica (BARBOSA, 2019). A segunda é a podridão vermelha do sisal, causada pelo fungo *Aspergillus welwitschiae* (DUARTE et al., 2018), que tem sido o principal problema fitossanitário nas plantações de sisal no Brasil, com prevalência de 100% e incidência média de 35% nas áreas produtoras de sisal (ABREU, 2010). As plantas infectadas pelo fungo apresentam como sintomas externos, o amarelecimento e murcha das folhas e os sintomas internos no pseudocaule são caracterizados pelo escurecimento interno dos tecidos, apresentando descoloração variando de rosa pálido/avermelhado a marrom. No estágio mais avançado da doença, o caule apodrece, a planta morre e se desprende facilmente do solo, tombando (COUTINHO et al., 2006; DUARTE et al., 2018).

O *A. welwitschiae* pertence ao Reino Fungi, filo Ascomycota, classe Eutotiomyces, ordem Eurotiales, família Aspergillaceae (MYCOBANK, 2023). O fungo ocorre naturalmente nas estruturas reprodutivas de *Welwitschia mirabilis*, uma planta do deserto da Namíbia (PEKAREK et al., 2006), é um habitante comum do solo, e seus esporos também são encontrados no ar, nas regiões áridas e semiáridas onde *W. mirabilis* ocorre (WHITAKER et al., 2008). Isolados do fungo também foram relatados no Brasil em grãos de café (VON HERTWIG et al., 2018) e castanhas (MASSI et al., 2016), dentre outras culturas em outros países (SUSCA et al., 2016; HANIF et al., 2016). Duarte et al. (2018), relata em seu estudo que para

iniciar o processo de infecção, o *A. welwitschiae* dependente de lesões e/ou condições ambientais adversas ao hospedeiro. Ao realizar experimento em mudas de sisal lesionadas e inoculadas com suspensão 1×10^6 conídios ml^{-1} de esporos de *A. welwitschiae*, os autores observaram que os primeiros sintomas iniciaram dentro de 8 a 10 dias após a inoculação, a base das folhas apresentou clorose e murcha, e algumas folhas começaram a apresentar o sintoma de apodrecimento úmido. Em 12 a 15 dias, esses sintomas progrediram para formar necrose do pseudocaule, mas sem a morte da planta. Após 15 dias, as mudas começaram a morrer, os pseudocaulos necrosaram totalmente e as folhas destacavam-se facilmente. Após 30 dias, a maioria das mudas estavam mortas.

As práticas adotadas pelos agricultores podem influenciar substancialmente a distribuição geográfica da podridão vermelha do sisal e o padrão de distribuição da doença na área de cultivo (ABREU, 2010; BARBOSA, 2019). Entre os fatores limitantes para o manejo desta doença no Brasil, tem-se a falta de produtos registrados para o controle (AGROFIT, 2023) e a inviabilidade por causa da elevação dos custos de produção. Portanto, atualmente, as estratégias de manejo devem considerar o uso de material propagativo sadio e adequação dos tratos culturais (SILVA et al., 2008; BATISTA et al., 2010).

Diversas metodologias de controle da podridão vermelha do sisal vêm sendo testadas. Lima (2021) avaliou em seu estudo o efeito da aplicação individual e combinada dos óleos essenciais-OEs e dos hidrolatos de *Lippia alba* e *Ocimum basilicum* sobre *A. welwitschiae* e no controle da podridão vermelha. O tratamento das mudas de sisal com os OEs reduziu o índice da doença entre 34-82%, e as mudas tratadas com hidrolatos na concentração de 70% tiveram uma redução de 94% do índice da doença, comprovando que os OEs e hidrolatos de *Lippia alba* e *Ocimum basilicum* possuem potencial para utilização no manejo da podridão vermelha do sisal.

Silva et al. (2019) avaliaram o potencial do resíduo oriundo do desfibramento das folhas de sisal, fermentado em condições naturais de campo, para o controle de *A. welwitschiae* e da podridão vermelha, por meio de testes in vitro, em segmentos de caule de sisal e em mudas de sisal. Obtiveram como resultados que a calda do resíduo líquido do desfibramento das folhas de sisal causou inibição do crescimento micelial do *A. welwitschiae*. Em discos de caules de sisal, a calda promoveu o controle da esporulação do fungo, e em mudas de

sisal, a calda reduziu a severidade da doença, mas não promoveu o controle de 100% da doença. Esses autores concluíram que a calda do resíduo fermentado de sisal tem efeito tóxico ao patógeno, atuando no controle de *A. welwitschiae* e na redução da severidade da podridão vermelha.

A utilização de microrganismos benéficos que atuam no controle da podridão vermelha vem sendo comprovada através de diversos estudos (SÁ, 2009; MAGALHÃES et al, 2013; MAGALHÃES et al., 2017). Souza et al. (2021) e Barbosa et al. (2018), realizaram experimentos com bactérias endofíticas de diferentes partes de plantas de sisal saudáveis e doentes para selecionar potenciais agentes para o controle da doença. Ambos estudos reportaram resultados favoráveis, selecionando bactérias com atividade antagonista direta, as quais diminuíram significativamente a incidência da podridão vermelha em experimentos com mudas de sisal.

Sá (2013) e Barbosa (2019) avaliaram o potencial de diferentes espécies de *Trichoderma* spp. no controle da podridão vermelha do sisal e obtiveram resultados significativos no controle da doença. Sá (2013) avaliou 55 isolados de *Trichoderma* pertencentes a sete espécies, em condições de campo e em laboratório. Os isolados TCS76 (*Trichoderma harzianum*), TCS43 (*T. virens*) e TCS09 (*T. viride*) promoveram redução significativa da doença nos ensaios em laboratório, mas em campo os resultados não se repetiram, indicando a influência do ambiente na resposta dos micro-organismos no biocontrole. Barbosa (2019) avaliou em seu estudo o antagonismo de isolados de *Trichoderma* spp. selecionados por Sá (2013), sobre o *A. welwitschiae*, e o controle da podridão vermelha em plantas de sisal. Os isolados inibiram a germinação de esporos, o crescimento micelial e a esporulação de *A. welwitschiae* e promoveram significativa redução da incidência (70-93%) e severidade (97%) da doença em mudas de sisal.

As diversas metodologias e estratégias estudadas para o controle da doença através de microrganismos benéficos se mostram promissoras, não só pela redução efetiva dos sintomas, mas também pelos diversos benefícios que a substituição dos defensivos químicos pelos microrganismos trás, como a sustentabilidade ambiental, a preservação da biodiversidade e a promoção de um ambiente agrícola mais equilibrado.

3. REFERÊNCIAS

ABRANTES, E.M. **Silício, *Trichoderma* e Matéria orgânica como atenuadores do estresse salino na cultura da quinoa: Estudo exploratório.** Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Serra Talhada. Dissertação (Mestrado). 2022.

ABRAHAM, P. E.; YIN, H.; BORLAND, A. M.; WEIGHILL, D.; LIM, S. D.; DE PAOLI, H. C.; YANG, X. Transcript, protein and metabolite temporal dynamics in the CAM plant *Agave*. **Nature Plants**, v.2, e16178, 2016.

ABREU, L.M.; PFENNING, L.H. O gênero *Trichoderma*. In: MEYER, M.C.; MAZARO, S.M.; SILVA, J.C. eds. ***Trichoderma: uso na agricultura***. Brasília: EMBRAPA, p. 163-179, 2019.

ABREU, K.C.L.M. **Epidemiologia da podridão vermelha do sisal no Estado da Bahia.** Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. Tese (Doutorado) – Fitopatologia, 2010.

AGROFIT - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/DAS. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em 05 de julho de 2023.

AMBRIZZI, T.; ARAUJO, M. (Org.). Primeiro relatório da avaliação sobre mudanças climáticas: base científica das mudanças climáticas. Rio de Janeiro: UFRJ, **COPPE**, v.1, 2014.

BACH, E.M.; BAER, S.G.; MEYER, C.K.; SIX, J. Soil texture affects soil microbial and structural recovery during grassland restoration. **Soil Biology and Biochemistry**, v.42, p.2182–2191, 2010.

BARBOSA, L.O. **Podridão Vermelha do Sisal: Controle com *Trichoderma Spp.*, escala de notas e estudos histopatológicos.** Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Bahia. Tese (Doutorado) – 2019.

BARBOSA, L.O.; LIMA, J.S.; MAGALHÃES, V.C.; GAVA, C.A.T.; SOARES, A.C.F.; MARBACH, P.A.S.; SOUZA, J.T. Compatibility and combination of selected bacterial antagonists in the biocontrol of sisal bole rot disease. **BioControl**, v.63, p.595–605, 2018.

BASU, G.; ROY, A.N.; SATAPATIA, K.K.; ABAS, S.M.J. Potentiality for value-added technical use of Indian sisal. **Industrial Crops and Products**, v. 36, n.1, p. 33–40, 2012.

BATISTA, D.C.; SILVA, F.M.; SOUZA, W.C.O.; BARBOSA, M.A.G.; COSTA, V.S.O.; BRANDÃO, W.N.; TERAPO, D. **Manejo da Podridão Vermelha do Tronco do Sisal. Circular Técnico** - EMBRAPA, 2010.

BROWN, K. *Agave Sisalana* Perrine. University of Florida, Center for Aquatic and Invasive Plants. **Summer**, n.1, p.18-21, 2022.

BROTMAN, Y.; GUPTA, J. K.; VITERBO, A. *Trichoderma*. **Current Biology**, v. 20, n. 9, p. 390-391, 2010.

BROCKETT, B.F.T.; PRESCOTT, C.E.; GRAYSTON, S.J. Soil moisture is the major factor influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeoclimatic zones in Western Canada. **Soil Biology and Biochemistry**, v.44, p.9–20, 2012.

CAI, F.; DRUZHININA, I.S. Em homenagem a John Bissett: Diretrizes autorizadas sobre identificação molecular de Tricoderma. **Diversidade de Fungos**, v.107, p.1-69, 2021.

CARDOZA, R.E.; MCCORMICK, S.P.; MALMIERCA, M.G.; OLIVERA, E.R.; ALEXANDER, N.J.; MONTE, E.; GUTIÉRREZ, S. Effects of trichothecene production on the plant defense response and fungal physiology: Overexpression of the *Trichoderma arundinaceum* tri4 gene in *T.harzianum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.81, p.6355-6366, 2015.

CHAGAS, L. F. B.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; SOARES, L. P.; FIDELIS, R. R..*Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 4, p. 97-102, 2017.

COUTINHO, W. M.; LUZ, C. M.; SUASSUNA, N. D.; SILVA O. F. E.; SUINAGA, F. A. **A podridão vermelha do tronco do Sisal – Embrapa – Comunicado Técnico**, 2006.

DRUZHININA, I.S.; CHENTHAMARA, K.; ZHANG, J.; ATANASOVA, L.; YANG, D.; MIAO, Y.; RAHIMI, M.J.; GRUJIC, M.; CAI, F.; POURMEHDI, S.; SALIM, K.A.; PRETZER, C.; KOPCHINSKIY, A.G.; HENRISSAT, B.; KUO, A.; HUNDLEY, H.; WANG, M.; AERTS, A.; SALAMOV, A.; LIPZEN, A.; LABUTTI, K.; BARRY, K.; GRIGORIEV, I.V.; SHEN, Q; KUBICEK, C.P. Transferência lateral maciça de genes que codificam enzimas que degradam a parede celular da planta para o fungo micoparasita *Trichoderma* de seus hospedeiros associados à planta. **Genética PLOS**, v.14, n.4, e1007322, 2018.

DRUZHININA, I.S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B.A.; KENERLEY, C.M.; MONTE, E.; MUKHERJEE, P.K.; ZEILINGER, S.; GRIGORIEV, I.V.; KUBICEK, C.P. *Trichoderma* : a genômica do sucesso oportunista. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, pp. 749-759, 2011.

DINIZ, G.L.; COSTA, C.C.; SOUSA, V.F.O.; LOPES, K.P.; BOMFIM, M.P.; SANTOS, J.B. Use of *Trichoderma* spp and saline stress in the production of watermelon seedlings. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 15, n. 4, e9939, 2022.

DUARTE, .E.A.A.; DAMASCENO C.L.; OLIVEIRA T.A.S.; BARBOSA L.O.; MARTINS, F.M.; QUEIROZ,S.J.R.; LIMA T.E.F.; SILVA, R,M,, KATO, R.B.;

BORTOLINI, D.E.; AZEVEDO V.; GÓES-NETO, A.; SOARES, A.C.F. Colocando a bagunça em ordem: *Aspergillus welwitschiae* (e não *A. niger*) é o Agente Etiológico da Podridão do Bole do Sisal. Doença no Brasil. **Frontiers in Microbiology**, v.9, e1227, 2018.

Fibras Futuras da FAO - Food Agric Organ, 2022. Disponível em: <http://www.fao.org/economic/futurefibres/fibres/sisal/en/online> (Acesso em 20.12.2022).

GENG, L. et al. Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* against *Botrytis cinerea* in tomato plants. **Biological Control**, v.174, e105019, 2022.

GUO, R.; LI, G.; ZHANG, Z.; PENG, X. Structures and Biological Activities of Secondary Metabolites from *Trichoderma harzianum*. **Marine Drugs**, v. 20, e701, 2022.

HANIF, K.; AKHTAR, N.; HAFEEZ, R. First report of *Aspergillus welwitschiae* as a postharvest pathogen of *Brassica campestris* seeds in Pakistan. **Journal of Plant Pathology**, v.98, p.171- 185, 2016.

HARMAN, G.E.; HOWELL, C.R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. Espécies de *Trichoderma*: simbioses vegetais avirulentos e oportunistas. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, p. 43-56, 2004.

HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Beneficial effects on *Trichoderma* plants and their genes. **Microbiology**, v.158, p.17–25, 2012.

HERMOSA, R.; CARDOZA, R.E.; RUBIO, M.B.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E.; Metabolismo secundário e metabólitos antimicrobianos de *Trichoderma*. In:GUPTA, V.K.; SCHMOLL, M.; HERRERA-ESTRELLA, A.; UPADHYAY, R.S.; DRUZHININA, I.; TUOHY, M.G. Biotecnologia e biologia de *Trichoderma*. Amsterdã: **Elsevier**, v.1, p. 125-137, 2014.

HOYOS-CARVAJAL, L.; BISSETT, J. Biodiversidade de *Trichoderma* em neotrópicos. In: Grillo, O.; Venora, G. (Eds.), The Dynamical Processes of Biodiversity – Case Studies of Evolution and Spatial Distribution, **Intech**, n.2, p.303-314, 2011.

KUBICEK, C.P.; KOMON-ZELAZOWSKA, M.; DRUZHININA, I.S.; Fungos do gênero *Hipocrea/Trichoderma*: dos códigos de barras à biodiversidade. **Journal of Zhejiang University Science B**, v.9, p.753–763, 2008.

KREDICS, L.; HARVANI, L.; NAEIMI, S.; KÖRMÖCZI, P.; MANCZINGER, L.; VÁGVÖLGYI, C.; DRUZHININA, I. Biodiversidade do gênero *Hipocrea/Trichoderma* em diferentes habitats. In: Gupta VG, Schmoll M, Herrera- 67 Estrella A, et al., eds. Biotechnology and Biology of *Trichoderma*. **Elsevier**, v.1, p. 3– 24, 2014.

LIMA, R. **Potencial de controle preventivo da podridão vermelha do sisal na produção de mudas com aplicação de óleos essenciais e hidrolato de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown.** Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de

Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Bahia. Tese (Doutorado) – 2021.

LIMA, L.S.; ELIAS, M.T.A.; PACHECO, K.R.; PEIXOTO, J.C. USE OF *Trichoderma* spp. IN PROMOTING GROWTH IN RICE CULTURE. **Ipê Agronomic Journal**, v.7, n.1, p.1-16, 2023.

LUCON, C.M.M. **Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma* spp.** 2009. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/trichoderma/index.htm>. Acesso em: 27/12/2022

LUCON, C.M.M. CHAVES, A.L.R.; BACILIERI, S. Tricoderma: o que é, para que serve e como usar corretamente na lavoura. São Paulo: **Instituto Biológico**, 2014.

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, p.274-288, 2012.

MAGALHÃES, V.C.; BARBOSA, L.O.; ANDRADE, J.P.; SOARES, A.C.F.; SOUZA, J.T.; MARBACH, P.A.S.; *Burkholderia* isolates from a sand dune leaf litter display biocontrol activity against the bole rot disease of *Agave sisalana*, **Biological Control**, v.112, p.41-48, 2017.

MAGALHÃES, V. C.; SOARES, A. C. F.; MARBACH, P. A. S. **O sisal e a podridão vermelha: potencial do uso de bactérias como agentes de biocontrole.** Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola), 2013.

MARTIN, A. R.; MARTINS, M. A.; MATTOSO, L. H. C.; SILVA, O. R. R. F. Caracterização química e estrutural de fibra de sisal da variedade *Agave sisalana*. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos, v. 19, n. 1, p.40-46, 2009.

MAYO-PRIETO, S.; PORTEOUS-ÁLVAREZ, A.J.; MEZQUITA-GARCÍA, S.; RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, Á.; CARRO-HUERGA, G.; del SER-HERRERO, S.; GUTIÉRREZ, S.; CASQUERO, P.A. Influence of Physicochemical Characteristics of Bean Crop Soil in *Trichoderma* spp. **Development Agronomy**, v.11, e274, 2021.

MEDINA, J. C. O Sisal. São Paulo: Secretaria da Agricultura, Diretoria de Publicidade Agrícola, 1954

MEYER, M.C.; MAZARO, S.M.; SILVA, J.C. ***Trichoderma*: uso na agricultura.** Brasília, DF: Embrapa, 2019.

MOURA, I.N.B.M.; SILVA, J.N.; SILVA, E.C.; FARIAS, O.R.; NASCIMENTO, L.C. Biological control by *Trichoderma* spp. on the quality of seeds of *Astronium urundeuva* (M. ALLEMÃO) ENGL. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 15, n. 1, e8360, 2022.

MONTE, E.; BETTIOL, W.; HERMOSA, R. ***Trichoderma* e seu controle de ação**

para o controle de doenças de plantas. Embrapa, 2019.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle Biológico de Doenças de Plantas no Brasil. In.: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009.

MYCOBANK: Fungal database, nomenclatures, and species banks. 2023. Disponível em: <http://www.mycobank.org/>. Acesso em: julho 2023.

NASCIMENTO, V.C.; RODRIGUES-SANTOS, K.C.; CARVALHO-ALENCAR, K.L.; CASTRO, M.B.; KRUGER, R.H.; LOPES, F.A.C. *Trichoderma*: eficiência no controle biológico e perspectivas para os estados do Centro-Oeste brasileiro e Tocantins. **Revista Brasileira de Biologia**, v.82, e260161, 2022.

NAVA-CRUZ, N.,Y.; MEDINA-MORALES, M.A.; MARTINEZ, J.L.; RODRIGUEZ, R.; AGUILAR, C.N. Agave biotechnology: an overview. **Critical Reviews in Biotechnology**, v.35, p.546-559, 2015.

OLIVEIRA, L.; KETTNER, M.; LIMA, M.; ARAÚJO, E.; SILVA, A.; COSTA, A. POTENCIAL DE BIOCONTROLE *Trichoderma* spp CONTRA *Macrophomina phaseolina* DE FEIJÃO- CAUPI. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 26, n. 2, e2512262021, 2021.

PEREIRA, J.V.N. **Promoção do crescimento de mudas de maracujazeiro inoculadas com *Trichoderma* spp**. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Bahia. Dissertação - (Mestrado), 2012.

PEKAREK, E.; JACOBSON, K.; DONOVAN, A. High levels of genetic variation exist in *Aspergillus niger* populations infecting *Welwitschia mirabilis* Hook. **Journal of Heredity**, v. 97, n. 3, p. 270-278, 2006.

PIO-GONÇALVES, R.; LIMA-PRIMO, H. E. DE; SCHURT, D. A.; CURCINO, A.; CUNHA, E.N.; GOMIDE, P.H.O. EFICIÊNCIA DE *TRICHODERMA* SPP. NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE MUDAS DE AÇAIZEIRO (*EUTERPE OLERACEA* MART.). **Revista Brasileira De Agroecologia**, v.17, p.339-353, 2022.

POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas—uma visão empresarial. **Biocontrole de Doenças de Plantas**. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. Biocontrole de Doenças de Plantas – Uso e Perspectivas, Capítulo 15, p. 239-244, 2009.

RIBEIRO, A.P.M.S.; LIMA, C.A.; LOPES, M.B.; MOURA, D.M.O.; FERREIRA, A.L.L.; MARTINS, A.L.L.; CHAGAS, L.F.B.; CHAGAS JUNIOR, A.F. Uso de *Trichoderma* na promoção do crescimento de mudas florestais. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 1, e19712139138, 2023.

ROLIM, J.M.; RABUSKE, J.E.; SAVIAN, L.G.; WALKER, C.; BRUN, T.; MUNIZ, M.F.B. *Trichoderma harzianum* COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO DE *Peltophorum dubium*. **Anais do 9º SALÃO INTERNACIONAL DE ENSINO**,

PESQUISA E EXTENSÃO – SIEPE, Universidade Federal do Pampa | Santana do Livramento, 2017.

ROUSSO, K. Maguey Journey: Discovering Textiles in Guatemala. Tucson: University of Arizona Press, 2010.

SÁ, J.O. **Controle Biológico da podridão vermelha do sisal (*Agave sisalana* Perrine) com *Trichoderma* spp. e actinobactérias**. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Tese (Doutorado), 2013.

SÁ, J.O. **Patogênese de *Aspergillus niger* e biocontrole da podridão vermelha do sisal por *Trichoderma* spp.** Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA. Dissertação (Mestrado), 2009.

SANTOS, E. M. C.; SILVA, O. A. da. Sisal na Bahia-Brasil. **Mercator**, v. 16, e16029, 2017.

SANTOS, R.A.; BRANDÃO, W.N. Território Sisal. EMBRAPA Semiárido, 2021. Disponível em: Sisal - Portal Embrapa. Acesso em: 21.12.2022.

SILVA FILHO, R.V. **Efeitos combinados da salinidade e do fungo (*Trichoderma harzianum*) no crescimento do pepino (*Cucumis sativus* L.)**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Bacharelado em Agronomia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Unidade Acadêmica de Serra Talhada, 2019.

SILVA, F. M.; BRANDAO, W. N.; BARBOSA, M. A. G.; TERAQ, D.; BATISTA, D. da C. Levantamento e distribuição espacial da podridão vermelha do sisal em áreas de produção da Bahia. **Embrapa Semiárido**, 2009.

SILVA, V.N.; GUZZO, S.D.; LUCON, C.M.M.; HARAKAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, p.1609-1618, 2011.

SILVA, G.B.P.; HECKLER, L.I.; SANTOS, R.F.; DURIGON, M.R.; BLUME, E. Identificação e utilização de *Trichoderma* spp. armazenados e nativos no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 28, p. 33 – 42, 2015.

SILVA, O. R. R. F. DA; COUTINHO, W. M.; CARTAXO, W. V.; SOFIATTI, V. SILVA FILHO, J. L.; CARVALHO, O. S.; COSTA, L. B. da **Cultivo do Sisal no Nordeste Brasileiro, Circular Técnica n. 123**, Embrapa, Campina Grande, 2008.

SILVA, R.M.; BRITO, S.S.S.; CARMO, C.O.; SOARES, A.C.F. CONTROLE DE *Aspergillus welwitschiae* E DA PODRIDÃO VERMELHA COM RESÍDUO LÍQUIDO DO DESFIBRAMENTO DAS FOLHAS DE SISAL. **Ciência Agrícola**, v. 17, p. 13-21, 2019.

SINDIFIBRAS. Notas de referência sobre a cadeia produtiva do sisal na Bahia, 2020. Disponível em: http://arquivos.sindicatodaindustria.com.br/app/cni_sindicatos/2011/01/10/123/20200804145826548397i.pdf. Acesso em:

05 de julho 2023.

SOARES, A.C.F.; SANTOS, J.S.; SOUSA, R.A.; BARBOSA, L.O.; DUARTE, E.A.A.; NETO, A.G. Sisal: podridão vermelha e o biocontrole. **Tópicos em microbiologia agrícola**. Cruz das Almas, BA: EDUFRB, v.8, p.157-174, 2020.

SOLANKI, P.; NALLANCHAKRAVARTHULA, S. Beneficial and Harmful Aspects of *Trichoderma*: A Review. **International Journal of Scientific Research in Science and Technology**, v. 6, p. 569-577, 2017.

SOUZA, J.T.; SILVA, A.C.M.; SANTOS, A.F.J.; SANTOS, P.O.; ALVES, P.S.; CRUZ-MAGALHÃES, V.; MARBACH, P.A.S.; LOGUERCIO, L.L. Endophytic bacteria isolated from both healthy and diseased *Agave sisalana* plants are able to control the bole rot disease. **Biological Control**, v.157, e104575, 2021.

STEFFEN, G. et al. *Trichoderma asperelloides* promove crescimento inicial em mudas de *Corymbia citriodora*. **Enciclopedia Biosfera**, v. 16, p. 1699-1708, 2019.

SUINAGA, F. A.; SILVA, O. R.R. F.; COUTINHO, W. M. Cultivo de sisal na região semi-árida do nordeste brasileiro. Campina Grande: **Embrapa Algodão**, 2006.

SUSCA, A. et al. Variation in fumonisin and ochratoxin production associated with differences in biosynthetic gene content in *Aspergillus niger* and *A. welwitschiae* isolates from multiple crop and geographic origins. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, e01412, 2016.

VON HERTWIG, A. M. et al. Real-time PCR-based method for rapid detection of *Aspergillus niger* and *Aspergillus welwitschiae* isolated from coffee. **Journal of Microbiological Methods**, v. 148, p. 87–92, 2018.

WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, M.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MANGANIELLO, G.; LORITO, M. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, p. 71-126, 2014.

WHITAKER, C.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Infection of the cones and seeds of *Welwitschia mirabilis* by *Aspergillus niger* var. *phoenicis* in the Namib-Naukluft Park. **South African Journal Botany**, v. 74, p. 41–50, 2008.

ZHONG, W.; GU, T.; WANG, W.; ZHANG, B.; LIN, X.; HUANG, Q.; SHEN, W. The effects of mineral fertilizer and organic manure on soil microbial community and diversity. **Plant Soil**, v.326, p.511–522, 2010.

CAPÍTULO 1

Sobrevivência de *Trichoderma asperellum* e *T. harzianum* em solos de plantios de sisal do semiárido da Bahia

Resumo: Para otimizar o uso de *Trichoderma* spp. nos sistemas agrícolas é essencial entender as interações com as plantas, com outros microrganismos e a sua sobrevivência nos solos. Os parâmetros físico-químicos do solo podem afetar diretamente a sobrevivência dos microrganismos e o sucesso do uso de agentes de biocontrole na agricultura, o que depende do seu crescimento, colonização e sobrevivência nos ambientes onde são aplicados. Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a sobrevivência de espécies de *Trichoderma* spp. em solos de seis áreas produtoras de sisal do semiárido baiano. Foram avaliadas amostras de solo esterilizado (SE) e de solo natural (SN), de seis áreas produtoras de sisal da região sisaleira da Bahia. Essas amostras de solo foram inoculadas com *Trichoderma asperellum* e *T. harzianum* e incubadas em incubadora com temperatura controlada a $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 36 dias. A quantificação do *Trichoderma* no solo foi pela contagem das unidades formadoras de colônias (UFCs) em meio seletivo para *Trichoderma* (TSM), em dois períodos de coleta, 12 e 36 dias. O solo que apresentava maior valor de pH (6,6), teor de matéria orgânica (26 g/dm^3), elevada CTC (307 mmolc/dm^3) e elevada porcentagem de saturação por bases (93%), quando inoculado com *T. asperellum* apresentou o maior número de UFC's. A população de *Trichoderma* foi maior em solo esterilizado, e o *T. asperellum* se desenvolveu melhor que o *T. harzianum*. A população de ambas as espécies de *Trichoderma* aumentou ao longo dos 36 dias, em todos os solos. As características físico-químicas das amostras de solo não apresentaram correlação significativa com os números de unidades formadoras de colônias de ambos os isolados de *Trichoderma*.

Palavras chave: Solo estéril, *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma harzianum*
Unidades Formadoras de Colônias

Survival of *Trichoderma asperellum* and *T. harzianum* in soils of sisal plantations from the semi-arid region of Bahia

Abstract: To optimize the use of *Trichoderma* spp. in agricultural systems, it is essential to understand their interactions with plants, other microorganisms and their survival in soil. The physicochemical parameters of the soil can directly affect the survival of microorganisms and the success of the use of biocontrol agents in agriculture, which depends on their growth, colonization and survival in the environments where they are applied. Therefore, the present study aimed to evaluate the survival of *Trichoderma* spp. in soils from six sisal-producing areas in the semi-arid region of Bahia. Samples of sterilized soil (SE) and natural soil (SN) were evaluated from six sisal-producing areas in the sisal region of Bahia. These soil samples were inoculated with *Trichoderma asperellum* and *T. harzianum* and incubated in an incubator with temperature controlled at $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ for 36 days. *Trichoderma* in the soil was quantified by counting colony forming units (CFUs) in *Trichoderma selective medium* (TSM), in two collection periods, 12 and 36 days. The soil with the highest pH value (6.6), organic matter content (26 g/dm^3), high CTC (307 mmolc/dm^3) and high percentage of base saturation (93%), when inoculated with *T. asperellum* presented the highest number of UFC's. The *Trichoderma* population was higher in sterilized soil, with *T. asperellum* developing better than *T. harzianum*. The population of both *Trichoderma* species increased over the 36 days in all soils. The physicochemical characteristics of the soil samples did not show a significant correlation with the numbers of colony-forming units of both *Trichoderma* isolates.

Keywords: Sterile soil, *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma harzianum*, Colony Forming Units

1. INTRODUÇÃO

O *Trichoderma* é um fungo que tem despertado um interesse significativo na agricultura devido aos seus diversos benefícios (SILVA et al., 2015; FATINEL et al., 2018). Estudos voltados para o seu potencial como agente de biontrole (SILVA, 2020; MEDEIROS et al., 2020) e como promotor de crescimento (JUNGES et al., 2016; SANTOS, 2020) tem evidenciando seu papel na agricultura sustentável.

No entanto, para maximizar o uso do *Trichoderma* spp. nos sistemas agrícolas é essencial entender as interações deste fungo com as plantas, com outros microrganismos e a sua sobrevivência em diferentes solos. Os solos são fisicamente, quimicamente e biologicamente heterogêneos, e as variações nessas características podem afetar o desenvolvimento de microrganismos (MAYO-PIETRO et al, 2021). Fatores abióticos do solo como pH, teores de macro e micronutrientes, teor de umidade, matéria orgânica, dentre outros, podem afetar diretamente a sobrevivência dos microrganismos, e conseqüentemente o seu desempenho nos processos de biocontrole, promoção de crescimento, dentre outros (KURAMAE et al., 2012).

Trichoderma harzianum e *Trichoderma asperellum* são espécies bastante citadas quando se fala em controle biológico (CONSOLO et al., 2020; GUO et al., 2022) e promoção de crescimento vegetal (CHAGAS et al., 2017; DEGANI et al., 2021). Essas espécies de *Trichoderma* tem seus efeitos benéficos comprovados devido a produção de metabólitos secundários, além de dispor de diferentes mecanismos fisiológicos que são responsáveis por garantir o incremento no crescimento de plantas (PIO-GONÇALVES et al., 2022). Porém, os microrganismos que podem influenciar na promoção do crescimento vegetal e no controle de patógenos tendem a sofrer variações em seus modos de ação a depender de características do meio, disponibilidade de nutrientes, tipos de solos, formas de inoculação, dentre outros fatores. Desta forma, é importante que sejam utilizados isolados adaptados às condições de solo da região e o método de inoculação seja adequado para a cultura e o patógeno em questão, visando assim a eficiência dos microrganismos e que os benefícios da inoculação sejam otimizados (STEFFEN et al., 2019).

Em relação aos solos do semiárido brasileiro, uma das principais

características, no que diz respeito à sua cobertura pedológica, é a heterogeneidade das condições de ambientes. Existe uma diversidade de litologias e material originário, relevo e regime de umidade do solo e estes fatores resultam na presença de diversas classes de solos, as quais apresentam diferentes características físicas, químicas e biológicas (CUNHA et al, 2010).

Diversos estudos têm avaliado a influência das características dos solos na comunidade microbiana (ZHONG et al., 2010; BROCKETT, 2012; BACH, 2010). Tais estudos indicam que a textura, matéria orgânica e a umidade do solo são os fatores que mais influenciam na estrutura da comunidade microbiana. Ao avaliar a importância relativa de vários parâmetros do solo na adaptação e desenvolvimento de *Trichoderma* spp., Mayo-Pietro (2021) concluíram que a textura, principalmente a concentração de argila, e a matéria orgânica, condutividade elétrica (CE), pH, B e Cu são os principais fatores que influenciaram no desenvolvimento do *Trichoderma* spp.

Pesquisas avaliando o desenvolvimento do *Trichoderma* em solos do semiárido baiano são escassas na literatura, se tornando assim importante investigar os efeitos das condições edáficas dessa região na sobrevivência e atividade de espécies e isolados de *Trichoderma*. Compreender os fatores que afetam sua sobrevivência e atividade nos solos permitirá desenvolver estratégias de uso do *Trichoderma* com mais eficiência e maximizar os seus possíveis efeitos benéficos.

O presente estudo teve como objetivo avaliar o desenvolvimento de *Trichoderma asperellum* e *T. harzianum* em solos de seis áreas produtoras de sisal do semiárido com diferentes características físico-químicas da região sisaleira na Bahia.

2. METODOLOGIA

2.1. Amostragem do solo

Seis amostras compostas de solo foram coletadas em áreas de produção de sisal na região semiárida da Bahia (Tabela 1).

Tabela 1. Locais da amostragem de solo no semiárido da Bahia

Município	Propriedade	Código
Retirolândia	Porto Alegre	S1
São Domingos	Lagendo da Coruja	S2
São Domingos	Alto Bonito	S3
Retirolândia	Porto Alegre	S4
Salgadália	Vitória - Área 01	S5
Salgadália	Vitória - Área 02	S6

Foram coletadas amostras simples na profundidade de 0-20 cm, com um trado, e estas foram homogeneizadas para formação de uma amostra composta. Essas amostras foram destorroadas e peneiradas em peneiras de 2mm.

2.2. Análises físico-química dos solos

As análises físicas e químicas das amostras dos solos foram realizadas no Laboratório Agrônomo - LAGRO, em Indaiatuba, São Paulo. As amostras foram analisadas de acordo com os métodos descritos a seguir: $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$, $\text{pH}_{\text{CaCl}_2}$ e condutividade elétrica pelo método potenciométrico; Ca^{2+} , Mg^{2+} , P e K foram determinados por meio da metodologia com a resina de troca iônica; Al^{3+} foi extraído com KCl; Na^+ foi extraído com Mehlich⁻¹ (HCl 0,05 mol L⁻¹ + H_2SO_4 0,0125 mol L⁻¹), conforme descrito por Raji et al. (2001). Os micronutrientes, Fe, Zn, Mn e Cu foram determinados com o método DTPA, através de espectrofotometria de absorção atômica; a matéria orgânica foi determinada através do método de oxidação com dicromato de potássio em meio sulfúrico; a análise granulométrica foi realizada através do método HMFS + NaOH (Raji et al., 2001). Os valores de capacidade de troca catiônica (CTC) e saturação por bases (V%) foram calculados a partir dos resultados.

2.3. Isolados de *Trichoderma*

Os isolados utilizados neste estudo foram *Trichoderma harzianum* (isolado TCS 35) e *Trichoderma asperellum* (isolado F12), da coleção de culturas do Laboratório de Microbiologia Agrícola da UFRB. Esses isolados foram coletados em Araci, BA e Conceição do Coité, BA, respectivamente. O F12 foi isolado de folha de sisal sadio e o TCS 35 de uma amostra de solo, em área de produção de sisal e, ambos foram selecionados para este estudo com base no potencial de controle da podridão vermelha do sisal (BARBOSA, 2019).

2.4. Preparo da suspensão de esporos

Os isolados de *Trichoderma* foram multiplicados em meio batata dextrose ágar e discos da cultura foram transferidos para frascos de Erlenmeyer contendo arroz parboilizado, umedecido e esterilizado e foram incubados a 28°C em incubadora, por 7 dias (Figura 1).

Figura 1. Isolados de *Trichoderma harzianum* (TCS 35) e *Trichoderma asperellum* (F12)



Autora: Barbosa (2023)

Após o crescimento e esporulação dos isolados, foi realizado o preparo das suspensões de esporos para inoculação do solo. Adicionou-se água destilada esterilizada com três gotas de Tween 20 no frasco de Erlenmeyer contendo a cultura do fungo em arroz. Com uma espátula esterilizada, o arroz colonizado foi agitado, para se obter a suspensão de esporos e em seguida a suspensão foi filtrada em um funil de vidro esterilizado com uma camada dupla de gaze

esterilizado. A suspensão de esporos foi homogeneizada por agitação e uma pequena alíquota foi retirada com uma micropipeta de 1 mL para a contagem dos esporos. Fez-se uma diluição de 10^{-1} da alíquota em um tubo de ensaio com 9 mL de solução salina e essa suspensão diluída foi transferida para uma câmara de Neubauer para contagem em microscópio ótico com aumento de 400 x. A suspensão de esporos foi ajustada com água destilada esterilizada para $1,0 \times 10^8$ esporos ml^{-1} .

2.5. Ensaio com amostras de solo e *Trichoderma*

Uma parte de cada amostra de solo foi esterilizada em autoclave a 121°C por 1,5 horas, por duas vezes, em dias consecutivos. Para o ensaio, 30g de cada amostra de solo, esterilizado e não-esterilizado (solo natural) foram transferidas para placas de Petri esterilizadas e acrescentados 2 ml de água destilada em cada placa com solo, com agitação, usando uma espátula para homogeneização. Em cada placa de Petri com o solo foram adicionados 3 ml da suspensão de *Trichoderma* ($1,0 \times 10^8$ esporos mL^{-1}) e o solo foi novamente homogeneizado com uma espátula esterilizada. Em cada tratamento controle, solo esterilizado e solo natural, foram adicionados 3 mL de água esterilizada. O experimento foi constituído por 36 placas de Petri com os tratamentos, conforme tabela 2 e três repetições. Os ensaios foram incubados em incubadora com temperatura controlada a $28 \pm 2^\circ\text{C}$, durante todo o experimento (Figura 2). Na incubadora foram colocadas vasilhas de plástico com água para manter a umidade.

Uma alíquota de cada inóculo, *T. asperellum* e *T. harzianum*, foi transferida para tubos de microcentrífuga do tipo Eppendorf e fez-se a diluição seriada e o plaqueamento em meio *Trichoderma Selective Medium* (TSM) com antibiótico para obtenção do número de unidades formadoras de colônia nos inóculos, sendo contabilizados 77×10^6 UFC ml^{-1} de *T. harzianum* (TCS 35) e $91,6 \times 10^6$ UFC ml^{-1} de *T. asperellum* (F12).

Tabela 2. Descrição do ensaio com amostras de solo e *Trichoderma*

Código	Descrição
SN, SE	SN - Solo Natural SE - Solo Esterilizado
T0, T1, T2	T0: controle T1: <i>T. asperellum</i> , isolado F12 T2: <i>T. harzianum</i> , isolado TCS35
S1, S2, S3, S4, S5, S6	Amostras de solo

Figura 2. Incubação das amostras de solo tratadas com os isolados de *Trichoderma*, a temperatura de $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ 

Autora: Barbosa (2023)

2.6. Quantificação do *Trichoderma* no solo

Para a quantificação do *Trichoderma* no solo usou-se a metodologia de contagem das unidades formadoras de colônias (UFCs), após diluição seriada de sub-amostras com 1 g de solo retiradas do solo incubado e plaqueamento em meio TSM. As placas de Petri foram retiradas da incubadora e, dentro da câmara de fluxo laminar, sub-amostras de solo foram retiradas das placas, pesadas e 1 grama de solo de cada tratamento foi transferida para tubo de ensaio contendo 9 mL de solução

salina (0,85% NaCl) esterilizada, para o processo de diluição seriada, fazendo-se a diluição de 10^{-1} a 10^{-4} . O plaqueamento foi com 100 μ L da suspensão diluída, utilizando-se uma micropipeta ajustada para o volume de 100 μ L e os tubos foram agitados com um agitador tipo vórtex antes da retirada da alíquota de 100 μ L. O plaqueamento foi em triplicata para cada diluição, em meio de cultura TSM com a seguinte composição: 0,2g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,9g de K_2HPO_4 , 0,15g de KCL, 1,0g de NH_4NO_3 , 3,0g de dextrose, 0,15g de rosa bengala, 20g de ágar, 1ml de tetraciclina (0,2g), acrescido de 3ml de Triton x100 e 1L de água destilada. O inóculo foi espalhado na placa com a alça de Drigalski esterilizada por flambagem e as placas incubadas a $28 \pm 2^\circ C$ por 72 horas. Após incubação por 72 horas fez-se a contagem do número de colônias de *Trichoderma* na diluição que permitia a melhor contagem. Logo após a pesagem de 1 g de solo, as placas foram mantidas em incubadora. Este processo de pesagem, plaqueamento e contagem das UFCs foi realizada aos 12 e 36 dias após a incubação das amostras de solo com os isolados de *Trichoderma*, sendo realizadas portanto, duas coletas. Para o cálculo nas UFCs utilizou-se a seguinte equação: número de UFC/grama de solo úmido = X * fator de diluição * 10, sendo X = média do número de colônias de *Trichoderma* obtida na contagem de três placas da mesma diluição. O fator 10 refere-se ao volume da suspensão transferida para a Placa de Petri com o meio de cultura. Sendo transferido para a placa 100 μ L, que corresponde a 0,1mL que equivale a 10^{-1} e o fator de diluição refere-se á diluição das placas selecionadas para a contagem das unidades formadoras de colônia, com expoente positivo.

2.7. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dois isolados de *Trichoderma*, seis amostras de solo da região sisaleira, sendo estas divididas em solo esterilizado (SE) e solo natural (SN), com três repetições e os controles, sendo seis controles de SA e seis de SN, totalizando assim 60 amostras, que foram avaliadas em dois tempos, 12 e 36 dias. Apesar de terem sido incubadas três repetições por tratamento, foram avaliadas apenas duas repetições devido ao número elevado de amostras para os ensaios de plaqueamento em meio TSM.

2.8. Análise estatística

Realizou-se uma análise fatorial com o intuito de avaliar a interação dos parâmetros, onde utilizou-se o software R Statistical para a realização de Testes de médias como Teste de Tukey e Teste de t de Student, e com o software Sisvar foi realizada a Análise de Componentes Principais.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os solos utilizados no presente estudo (Tabela 3) variaram para os valores de pH de ácido (amostra S5 – pH 5,2) a levemente ácido (amostra S4 – pH 6,6). Os teores de matéria orgânica variaram entre 15 g/dm³ e 26 g/dm³, solos S1 e S4, respectivamente. Corroborando com o maior valor de pH e maior teor de matéria orgânica, o solo S4 apresentou elevada CTC (307 mmolc/dm³) e elevada porcentagem de saturação por bases (93%).

Tabela 3. Características químicas dos solos

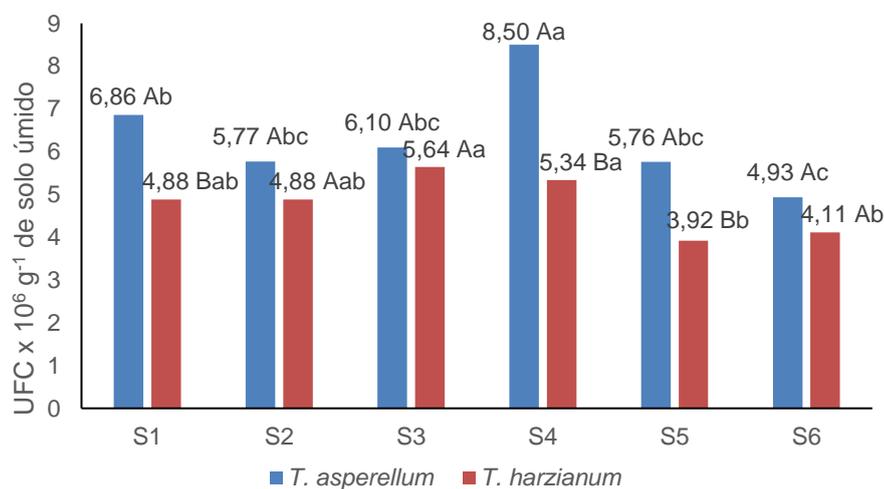
Solo	M.O.	Al	H+Al	CTC	V	K	Ca	Mg	Na
	g/dm ³	mmolc/dm ³			%				
S1	15	4	38	147	74	0,02	4,14	10,18	5,43
S2	24	0	23	293	92	0,02	2,18	8,18	9,21
S3	21	0	44	234	81	0,02	2,48	8,96	31,16
S4	26	0	20	307	93	0,02	2,15	8,48	7,17
S5	19	0	23	61,1	62	0,23	8,51	31,10	11,46
S6	21	0	31	133	77	0,03	4,51	15,79	6,02
	pH	EC	P	S	Fe	Mn	Cu	Zn	B
		dS/m	mg/dm ³						
S1	6,1	0,03	8	6	58	111,2	2,3	1,3	0,48
S2	6,4	0,07	27	5	52	35	1,1	33,8	1,16
S3	5,8	0,05	73	8	160	53,6	1,6	10,9	0,85
S4	6,6	0,06	22	7	38	20	2,2	3,7	0,79
S5	5,2	0,14	7	6	25	30	0	2,2	0,34
S6	6	0,04	8	8	56	52	2,4	2,9	0,35

Quanto à classificação textural, os solos variaram de argiloso (S2) a franco-arenoso (S5) (Tabela 4).

Tabela 4. Classificação textural dos solos

Solos	Classificação textural
S1	Franco-argilo-arenoso
S2	Argiloso
S3	Franco-argilo-arenoso
S4	Argilo-arenoso
S5	Franco-arenoso
S6	Franco-argilo-arenoso

Em relação ao desenvolvimento do *Trichoderma* nos solos, o *T. asperellum* apresentou a maior média de UFCs no solo S4 e o *T. harzianum* apresentou maiores médias nos solos S3 e S4, não diferindo significativamente nesses solos. Nos solos S2, S3 e S6 não houve diferença significativa no número de UFCs entre os dois isolados. Nos solos S1, S4 e S5 o número de UFCs de *T. asperellum* foi maior, em comparação com o de *T. harzianum* (Figura 3).

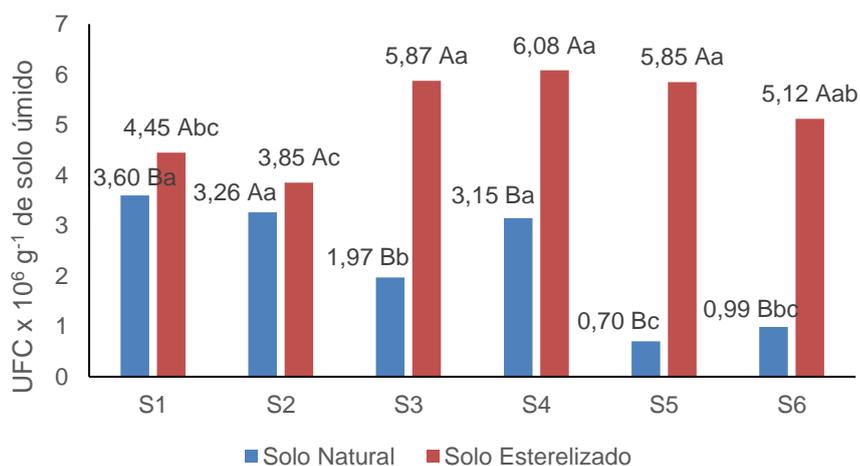
Figura 3. Análise do desdobramento dos fatores solo e inóculo (*Trichoderma*)

Letras minúsculas comparam as médias entre os solos e letras maiúsculas comparam as médias entre os isolados.

Quando não esterilizados os solos S1, S2 e S4 apresentaram maiores médias de UFCs. Quando esterilizados, os solos S3, S4 e S5 apresentaram maiores médias de UFCs. Com exceção da amostra de solo S2, que não houve

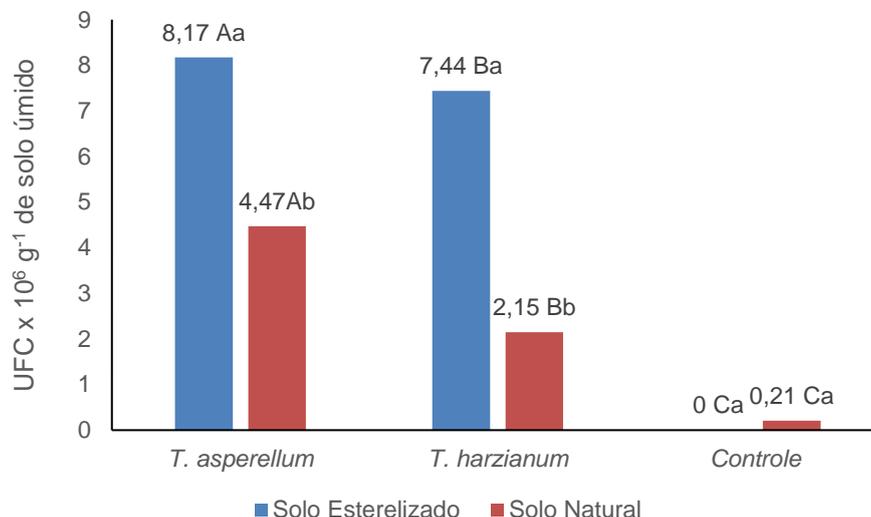
diferença significativa, em todas as amostras de solo, o solo esterilizado apresentou resultados superiores para UFCs de *Trichoderma* (Figura 4). Destaca-se que o solo S2 tem o segundo maior valor de CTC (293 mmolc/dm³) e o maior valor de Zn (33,8 mg/dm³). Entre os isolados, o *T. asperellum* se desenvolveu melhor que o *T. harzianum*, tanto em solo natural quanto esterilizado (Figura 5). O solo S4 que apresenta maior valor de pH (6,6), teor de matéria orgânica (26 g/dm³), elevada CTC (307 mmolc/dm³) e elevada porcentagem de saturação por bases (93%), quando inoculado com *T. asperellum* apresentou o maior número de UFC's. Na comparação do desenvolvimento dos dois isolados de *Trichoderma*, ambos se desenvolveram melhor em solo esterilizado. O solo esterilizado apresentou maiores médias de UFCs nos dois períodos de incubação, 12 e 36 dias (Figura 6). Tal resultado pode ser atribuído à eliminação da competição dos microrganismos do solo com o *Trichoderma* introduzido por inoculação. Destaca-se também que o processo de esterilização causa a mineralização de nutrientes devido a morte celular e decomposição de substâncias orgânicas causados pela elevada temperatura, promovendo a liberação de nutrientes, o que pode promover a disponibilização de nutrientes para o *Trichoderma*, além da eliminação da competição por microrganismos ativos dessas amostras de solo (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Com outros microrganismos, Al-Khalie (2010) observou que a população de *Bacillus subtilis* foi maior em substrato autoclavado do que em substrato não autoclavado. Linderman (1997), relatou que plantas de amendoim apresentaram maior colonização de *Glomus* spp. em solo autoclavado do que em solo não autoclavado.

Figura 4. Análise do desdobramento dos fatores solo e esterilização



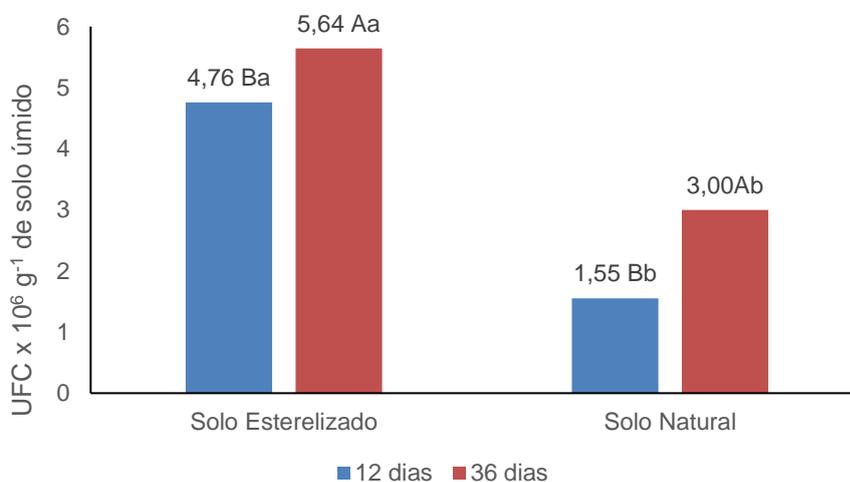
Letras minúsculas comparam as médias entre os solos e letras maiúsculas comparam as médias entre o fator esterilização

Figura 5. Análise do desdobramento dos fatores inóculo (*Trichoderma*) e esterilização do solo



Letras minúsculas comparam as médias entre o solo esterelizado e o solo natural e letras maiúsculas comparam as médias entre os isolados

Figura 6. Análise do desdobramento dos fatores esterilização e tempo de incubação do solo

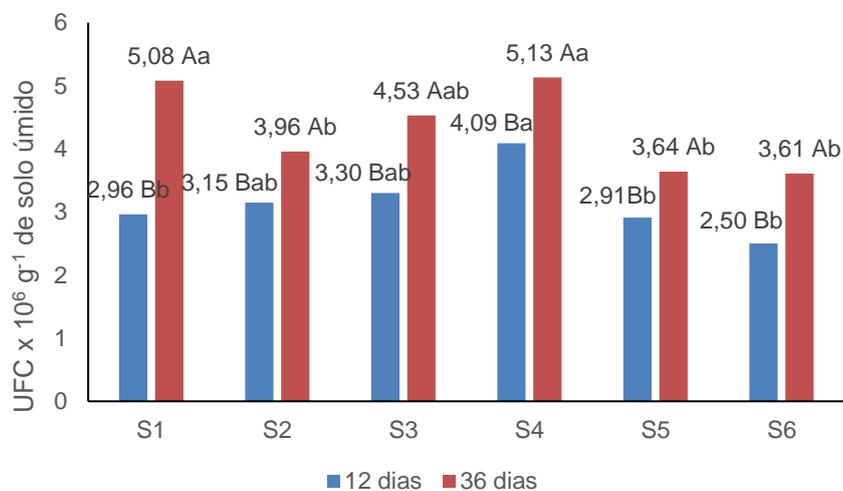


Letras minúsculas comparam as médias entre o solo esterelizado e o solo natural e letras maiúsculas comparam as médias entre os tempos de incubação

Para tempo de incubação, houve diferença significativa entre os dois períodos avaliados, para todos os solos, comprovando o crescimento da população de *Trichoderma* ao longo dos 36 dias (Figura 7). Na avaliação aos 12 dias após incubação, o solo S4 apresentou maior número de UFCs e aos 36 dias os solos S1

e S4 não diferiram significativamente (Figura 7).

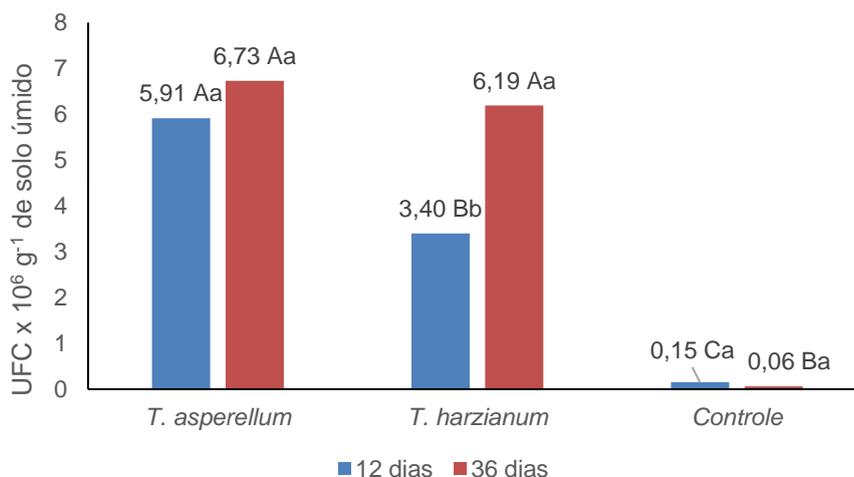
Figura 7. Análise do desdobramento dos fatores solo e tempo de incubação



Letras minúsculas comparam as médias entre os solos e letras maiúsculas comparam as médias entre os tempos de incubação

Entre os isolados, o *T. asperellum* se desenvolveu melhor que o *T. harzianum* no período de coleta aos 12 dias, mas aos 36 dias não diferiram significativamente. As médias de UFCs do *T. asperellum* não apresentaram diferença significativa entre os dois períodos de incubação, enquanto o *T. harzianum* apresentou maior média aos 36 dias (Figura 8).

Figura 8. Análise do desdobramento dos fatores inoculação e tempo de incubação



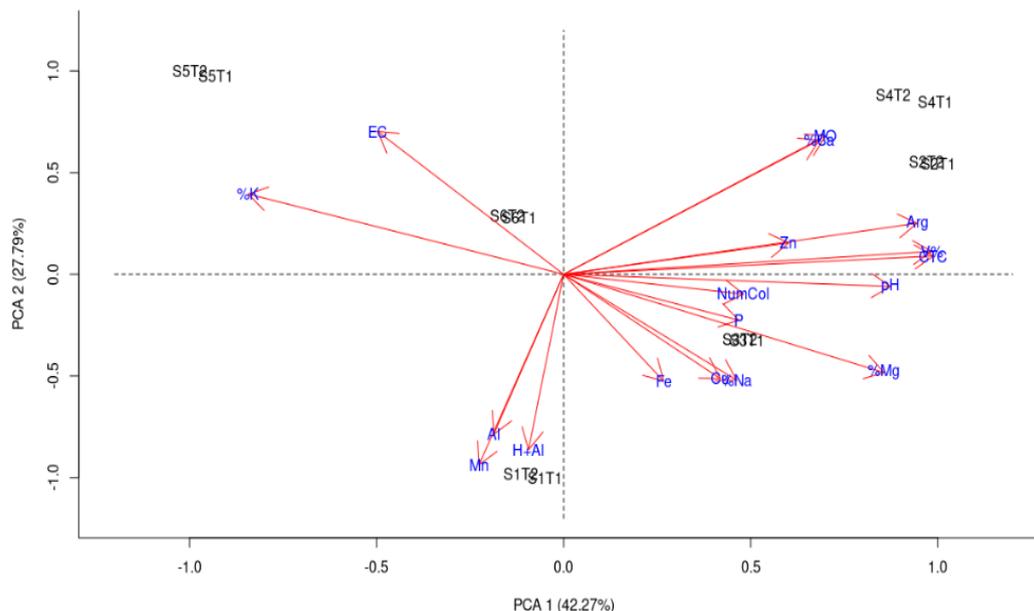
Letras minúsculas comparam as médias entre os tempos de incubação e letras maiúsculas comparam as médias entre os isolados

Os dois primeiros componentes apresentaram 42,27% e 27,79% da variância dos dados, explicando cerca de 70,06% da variação, uma larga e aceitável porcentagem (Tabela 5).

Tabela 5. Análise de componentes principais

Componentes Principais	1	2
AutoValor	7.6085	5.0026
%Explicação	42.2692	27.7925
%Explicação Acumulada	42.2692	70.0616

A Análise de Componentes Principais (Principal Component Analysis - PCA) permite visualizar informações em uma matriz de dados contendo indivíduos/observações descritos por variáveis quantitativas interrelacionadas (ABDI e WILLIAMS, 2010). O objetivo da PCA é identificar direções tal que a variação dos dados seja máxima (JOLLIFFE, 2002), ou seja, a ACP reduz a dimensionalidade de dados multivariados para dois ou três Componentes Principais, que podem ser visualizados graficamente, com a mínima perda de informação (BARBOSA, 2018). Esta análise (PCA) do conjunto de dados (Figura 9) indicou diferenças consistentes entre os tipos de solo, em relação às características físico-químicas. Os solos S4 e S2 se separaram do S5 ao longo do primeiro eixo, o que explicou 42,27% da variabilidade dos dados. E os solos S5 e S1 se separaram ao longo do segundo eixo, o que explicou 27,79% da variabilidade dos dados.

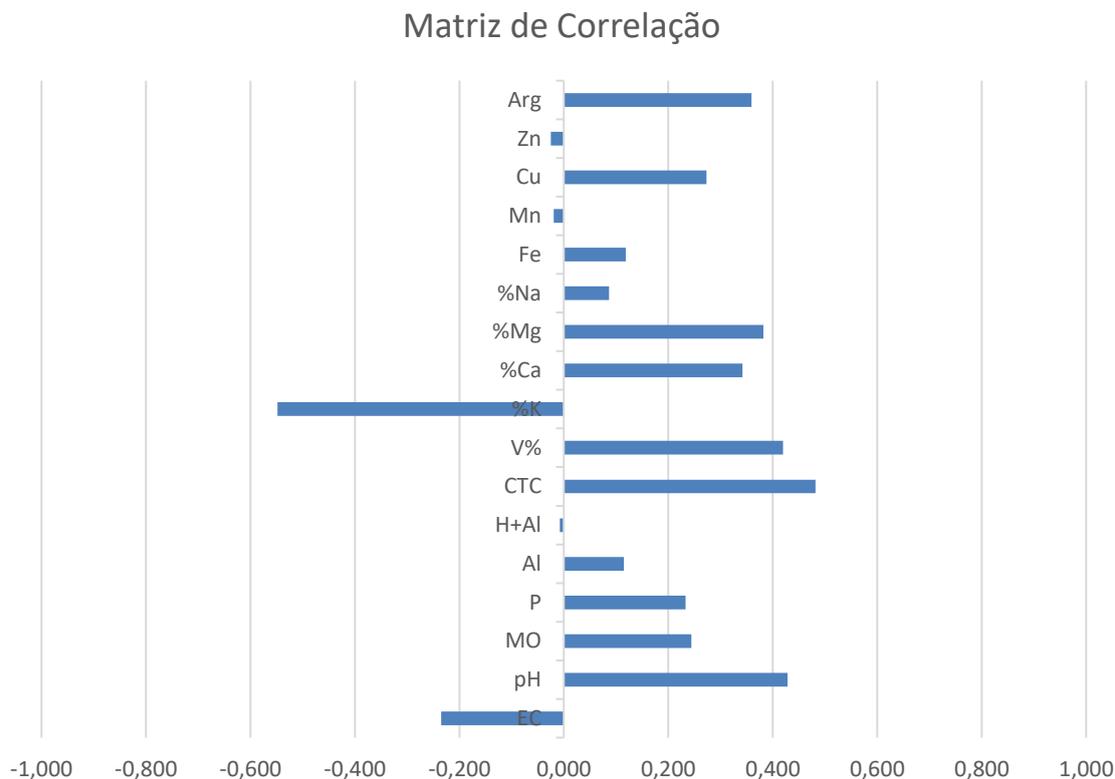
Figura 9. Análise de Componentes Principais

É possível observar que as variáveis CTC, V%, Mg, pH e teor de Argila, apresentam uma alta correlação positiva com o componente principal 1 e se agrupam com os solos S4 e S2, o que indica um alto valor dessas variáveis nesses solos. Enquanto o S5 se agrupa com a variável K, que apresenta correlação negativa com o componente principal 1, indicando assim que o solo possui o maior teor de K entre os demais.

Quanto ao número de colônias de *Trichoderma*, que é o foco do presente estudo, esta variável não apresentou correlação significativa com os componentes principais, o que indica que não foi um fator de importância quanto à variabilidade dos dados.

De acordo com a matriz de correlação (Figura 10), observa-se que, com exceção do percentual de K que apresenta uma correlação negativa moderada (-0,548) com o número de UFCs, a 10% de significância, nenhuma outra característica do solo apresenta correlação significativa com o número de UFCs, sendo que, quanto mais próximo de -1,0 ou 1,0 maior a correlação. Geraldine et al., (2013) reportaram a ACP evidenciando que a sobrevivência de *Trichoderma* spp. é afetada negativamente em solos com K elevado.

Figura 10. Correlação entre as características dos solos e o número de unidades formadoras de colônias de *Trichoderma*



Os agentes de biocontrole possuem diferentes capacidades de crescimento, colonização e sobrevivência ou proteção vegetal, dependendo das peculiaridades ambientais, da planta e do microorganismo. Alguns fatores do solo, como pH e matéria orgânica, podem modificar esses processos (KURAMAE et al., 2012; MAYO-PIETRO et al., 2021). Mayo-Pietro et al., (2021) observaram que parâmetros como pH, C, relação C:N, C.E e textura foram as características que apresentaram maior correlação com o desenvolvimento do *Trichoderma* em solos de cinco zonas produtivas da cultura do feijão. De acordo com esses autores, as correlações tanto positivas quanto negativas com os parâmetros dos solos variaram de acordo com a região produtora de feijão e os diferentes isolados analisados. O estudo de Bach et al., (2010) demonstrou que as respostas microbianas no solo à restauração de pastagens são moduladas pela textura do solo. Harries et al., (2020) observaram que o desenvolvimento de *R. solani* foi limitado em solos com alto teor de argila, diferindo do estudo realizado por Mayo-Pietro et al., (2021), em que isolados de *T. harzianum* se desenvolveram melhor em solos com alto teor de argila. Tal resultado pode ser explicado pelo tamanho pequeno das partículas, que

proporciona poros pequenos e protege os microrganismos contra outros organismos. Além disso, as partículas de silte e argila têm maior capacidade de retenção de água e exercem maior impacto na disponibilidade de água e nutrientes (BACH, 2010).

De acordo com os estudos abordados (BACH, 2010; BACH et al., 2010; MAYO-PIETRO et al., 2021), a textura pode desempenhar um papel importante no desenvolvimento e sobrevivência dos microrganismos no solo, porém, no presente estudo a textura não apresentou correlação com o número de colônias de *Trichoderma* no solo. A ausência de correlações significativas entre os parâmetros das amostras de solos e o desenvolvimento dos isolados de *Trichoderma* no presente estudo difere de diversos estudos que indicam que as características físico-químicas dos solos estão fortemente relacionadas ao desenvolvimento e sobrevivência da comunidade microbiana (FIERER e JACKSON, 2006; LOZUPONE e KNIGHT, 2010; ZHONG et al., 2010). Latour et al., (1996) estudaram a diversidade das populações nativas de *Pseudomonas fluorescens* associadas ao tomateiro e a plantas de linho em dois solos e observaram que o substrato era o principal fator responsável pela heterogenicidade das populações bacterianas associadas. Ao comparar a estrutura e a função das comunidades microbianas do solo em sete tipos de florestas maduras e não perturbadas, em uma variedade de climas regionais na Colúmbia Britânica, Brockett et al., (2012) concluíram que os teores de matéria orgânica, umidade do solo e pH foram os que mais se relacionaram com as características da comunidade microbiana.

4. CONCLUSÕES

As características físico-químicas das amostras de solo não apresentaram correlação significativa com o número de unidades formadoras de colônias, de ambos os isolados de *Trichoderma*, ou seja, as características desses solos não interferiram na sobrevivência dos isolados. Além de que, a população dos fungos aumentou ao longo dos 36 dias em todos os solos, indicando assim, que mesmo a microbiota nativa interferindo no desenvolvimento do *T. harzianum* e *T. asperellum*, ambos apresentaram potencial de sobrevivência nos solos da região sisaleira do semiárido da Bahia.

5. REFERÊNCIAS

- ABDI H., H. e WILLIAMS, L.: Principal component analysis. Wiley interdisciplinary reviews: computational statistics, v. 2, p. 433–459, 2010.
- AL-KHALIEL, A.S. Effects of arbuscular mycorrhization in sterile and non-sterile soils. **Tropical Life Sciences Research**, v. 21, p. 55-70, 2010.
- BACH, E.M.; BAER, S.G.; MEYER, C.K.; SIX, J. Soil texture affects soil microbial and structural recovery during grassland restoration. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, p. 2182–2191, 2010.
- BARBOSA, L.M. **Análise de componentes principais no estudo do IPCA-15**. Universidade Federal de Uberlândia - Faculdade de Matemática, Minas Gerais. Monografia (Graduação), 2018.
- BARBOSA, L.O. **Podridão Vermelha do Sisal: Controle com *Trichoderma* spp., escala de notas e estudos histopatológicos**. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Bahia. Tese (Doutorado), 2019.
- BROCKETT, B.F.T.; PRESCOTT, C.E.; GRAYSTON, S.J. Soil moisture is the major factor influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeoclimatic zones in Western Canada. **Soil Biology and Biochemistry**, v.44, p.9–20, 2012.
- CHAGAS, L. F. B.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; SOARES, L. P.; FIDELIS, R. R.. *Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 4, p. 97-102, 2017.
- CONSOLO, V.F.; TORRES-NICOLINI, A.; ALVAREZ, V.A. Mycosynthetized Ag, CuO and ZnO nanoparticles from a promising *Trichoderma harzianum* strain and their antifungal potential against important phytopathogens. **Scientific Reports**, v.10, e20499, 2020.
- CUNHA, T.J.F; PETRERE, V.G.; SILVA, D.J.; MENDES, A.M.S.; MELO, R.F.; NETO, M.B.O.; SILVA, M.S.L.; ALVAREZ, I.A. **Principais solos do Semiárido tropical brasileiro: caracterização, potencialidades, limitações, fertilidade e manejo**. EMBRAPA Semiárido, p.50-87, 2010.
- DEGANI, O.; RABINOVITZ, O.; BECHER, P.; GORDANI, A.; CHEN, A. *Trichoderma longibrachiatum* and *Trichoderma asperellum* Confer Growth Promotion and Protection against Late Wilt Disease in the Field. **J. Fungi**, v. 7, e444, 2021.
- HARRIES, E.; BERRUEZO, L.A.; GALVÁN, M.Z.; RAJAL, V.B.; MERCADO CÁRDENAS, G.E. Soil properties related to suppression of *Rhizoctonia solani* on tobacco fields from northwest Argentina. **Plant Pathology**, n. 69, p. 77–86, 2020.
- FATINEL, V.S.; MUNIZ, M.F.B; POLETTO, T.; DUTRA, A.F.; KRAHN, G.T.;

FAVARETTO, R.F.; SARZI, G.S. Biocontrole In Vitro de *Colletotrichum siamense* utilizando *Trichoderma* spp. e *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki. **Ciência Agrícola**, v. 16, n. 3, p. 43-50, 2018.

FIERER, N.; JACKSON, R.B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.103, p.626–631, 2006.

GERALDINE, A. M.; YOSHIDA, F.; CIVARDI, E. A.; SILVA, L. L.; BARBOSA, E. T.; JUNIOR, M. L. Multivariate effect of soil physical and chemical factors on *Trichoderma* sp. survival and parasitism of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia. **Tropical Plant Pathology**, v.38, e325, 2013.

GUO, R.; LI, G.; ZHANG, Z.; PENG, X. Structures and Biological Activities of Secondary Metabolites from *Trichoderma harzianum*. **Marine Drugs**, v.20, e701, 2022.

JOLLIFFE, I.: Principal Component Analysis. **Springer-Verlag**, n.2, p.167-198, 2002.

JUNGES, M.; 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.

KURAMAE, E.E.; YERGEAU, E.; WONG, L.C.; PIJL, A.S.; VEEN, J.A.; KOWALCHUK, G.A. Soil characteristics more strongly influence soil bacterial communities than land-use type. **FEMS Microbiology Ecology**, v.79, p.12–24, 2012.

LATOUR, X.; CORBERAND, T.; LAGUERRE, G.; ALLARD, F.; LEMANCEAU, P. The composition of fluorescent pseudomonad populations associated with roots is influenced by plant and soil type. **Applied and Environmental Microbiology**, v.62, p.2449–2456, 1996.

LINDERMAN, R.G. **Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions**, 1997.

LOZUPONE, C.A.; KNIGHT, R. Global patterns in bacterial diversity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.104, p.11436–11440, 2007.

LUCON, C.M.M. *Trichoderma*: uso do bioagente na produção agrícola brasileira. Tecnologia Sustentável *Trichoderma*. Instituto Biológico, **Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal** – Boletim Técnico - São Paulo, 2016.

MAYO-PRIETO, S.; PORTEOUS-ÁLVAREZ, A.J.; MEZQUITA-GARCÍA, S.; RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, Á.; CARRO-HUERGA, G.; del SER-HERRERO, S.; GUTIÉRREZ, S.; CASQUERO, P.A. Influence of Physicochemical Characteristics of Bean Crop Soil in *Trichoderma* spp. **Agronomy**, v.11, e274, 2021.

MEDEIROS, J.C.D.; MARTINS, W.S.; MIRANDA, F.F.R. Antagonismo de

Trichoderma spp. no biocontrole de *Fusarium moniliforme* na cultura do milho. **Revista Sítio Novo**, v.4, n.4, p.171-178, 2020.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. Lavras, n.2, e726, 2006.

PIO-GONÇALVES, R.; LIMA-PRIMO, H. E. DE; SCHURT, D. A.; CURCINO, A.; CUNHA, E.N.; GOMIDE, P.H.O. EFICIÊNCIA DE *TRICHODERMA* SPP. NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE MUDAS DE AÇAIZEIRO (*EUTERPE OLERACEA* MART.). **Revista Brasileira De Agroecologia**, v.17, p.339-353, 2022.

SANTOS, J.M.R. - ***Trichoderma* como bioestimulante do crescimento de mudas de cajueiro-anão**. Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Fortaleza. Dissertação (Mestrado), 2020.

RAIJ, B. VAN, ANDRADE, J. C. DE, CANTARELLA, H., AND QUAGGIO, J. A. **Análise Química para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, v.1, e285, 2001.

SILVA, G.B.P.; HECKLER, L.I.; SANTOS, R.F.; DURIGON, M.R.; BLUME, E.

Identificação e utilização de *Trichoderma* spp. armazenados e nativos no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 28, n. 4, p. 33 – 42, 2015.

SILVA, J.F. ***Trichoderma* spp. no controle de fusariose e promoção de crescimento na cultura do algodão** – Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Agronomia – Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA, 2020.

ZHONG, W.; GU, T.; WANG, W.; ZHANG, B.; LIN, X.; HUANG, Q.; SHEN, W. The effects of mineral fertilizer and organic manure on soil microbial community and diversity. **Plant and Soil**, v.326, p.511–522, 2010.

CAPÍTULO 2

***Trichoderma* no controle da podridão vermelha e promoção de crescimento do sisal**

Resumo: O Brasil é o maior produtor e exportador de fibra de sisal, que é uma das mais importantes fibras duras do mundo. A cultura do sisal se destaca na economia da Bahia, no Brasil, pelo seu potencial de geração de empregos no semiárido. Porém, a produção do sisal tem caído devido a diversos fatores, dentre eles a podridão vermelha causada pelo fungo *Aspergillus welwitschiae*. O manejo da podridão vermelha do sisal não é realizado com o controle químico pela falta de fungicidas registrados para a cultura. Estudos sobre o uso de agentes de biocontrole são necessários e os fungos do gênero *Trichoderma* vem se destacando no controle biológico de diversos patógenos, além de algumas espécies e isolados de *Trichoderma* spp. promoverem o crescimento vegetal. Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial do *Trichoderma asperellum*, isolado F 12, como agente de biocontrole da podridão vermelha e como promotor de crescimento em mudas de sisal, sob condições de casa de vegetação, e avaliar diferentes métodos de inoculação. Para isso, mudas de sisal foram inoculadas com *T. asperellum* por três métodos de inoculação e em solo esterilizado (SE) e solo natural (SN). Avaliou-se a incidência e severidade da doença e a promoção de crescimento em mudas de sisal. O *T. asperellum* teve efeito eficiente no controle da doença e também na promoção do crescimento da parte aérea e da raiz, apenas com o método de inoculação por micro ferimentos no pseudocaule do sisal com as plantas cultivadas em solo natural. As plantas desse tratamento apresentaram apenas 14% de incidência da doença, e houve um aumento na massa seca da parte aérea de 41,89% e de 33,09% da massa seca da raiz, quando comparado com o tratamento controle. Nos outros tratamentos, as plantas apresentaram 100% de incidência da doença. O *T. asperellum* F12 é um isolado promissor, apresentando um efeito sinérgico com o microbioma do solo, pois sua resposta no biocontrole foi eficiente apenas nas plantas cultivadas em solo natural.

Palavras chave: *Agave sisalana*, Biocontrole, *Trichoderma asperellum*

***Trichoderma* in the control of bole rot and growth promotion of sisal**

Abstract: Brazil is the largest producer and exporter of sisal fiber, which is one of the most important hard fibers at a worldwide level. Sisal culture stands out in the economy of Bahia state in Brazil, due to its potential to generate jobs in the semi-arid region. However, production of sisal has decreased due to several factors, including bole rot disease, caused by the fungus *Aspergillus welwitschiae*. Management of sisal bole rot disease is not accomplished with chemical control due to the lack of fungicides approved and registered for this crop. Studies on the use of biocontrol agents are necessary and fungi of the genus *Trichoderma* have been pointed out for the biological control of several pathogens. In addition, some species and isolates of *Trichoderma* spp. can promote plant growth. Therefore, the present study aimed to evaluate the potential of *Trichoderma asperellum* isolate F12, as a biocontrol agent for sisal bole rot disease and for growth promotion of sisal plants under green-house conditions, and to evaluate different methods of inoculation. Sisal plants were inoculated with *T. asperellum*, by using three inoculation methods and in sterilized soil (SE) and natural soil (SN). The incidence and severity of the disease, and the promotion of growth in sisal plants were evaluated. *T. asperellum* had an efficient effect in controlling the disease and in promoting growth of shoot and root biomass, only with the inoculation method through wounds in the sisal bole tissue, and with plants grown in natural soil. The plants in this treatment showed only a 14% incidence of the disease, and there was an increase in the dry mass of the aerial part of 41.89% and of 33.09% in the root dry mass, when compared to the control treatment. For the other treatments, the plants showed 100% incidence of the disease. *T. asperellum* F12 is a promising isolate, presenting a synergistic effect with the soil microbiome, as its response was more efficient in plants grown in natural soil.

Keywords: *Agave sisalana*, Biocontrol, *Trichoderma asperellum*

1. INTRODUÇÃO

O *Agave sisalana*, popularmente conhecido como sisal, é cultivado em regiões áridas e semiáridas de países como Brasil, Tanzânia, Angola, Quênia e México (FAO, 2022). O Brasil é o maior produtor e exportador de fibra de sisal, que é considerada uma das mais importantes fibras duras do mundo e a sua utilização em substituição às fibras sintéticas torna-se atrativa por ser uma fibra biodegradável, atóxica e de fonte renovável (FAO, 2022; MARTIN et al., 2009). O sisal é cultivado em uma área extensa da região semiárida do Nordeste do Brasil, com 94% sendo produzido no Estado da Bahia (SANTOS e SILVA, 2017; IBGE, 2023).

A cultura do sisal se destaca na economia baiana, pela capacidade de geração de empregos no semiárido, por meio de uma cadeia de serviços que abrange desde os trabalhos de manutenção das lavouras, à extração e o processamento de fibras, até as atividades de industrialização de diversos produtos, bem como seu uso para fins artesanais (SUINAGA et al., 2006). Porém, a produção do sisal vem declinando devido a diversos fatores, dentre eles a ausência de práticas adequadas de plantio, tratos culturais incorretos, e problemas fitossanitários, como a podridão vermelha do sisal, causada pelo fungo *Aspergillus welwitschiae* (SOARES et al, 2020).

A podridão vermelha é a principal doença do sisal que vem causando sérios prejuízos para o arranjo produtivo. Um dos principais métodos de disseminação da doença é o plantio de mudas contaminadas pelo *Aspergillus welwitschiae* (DUARTE et al., 2018; SANTOS e BRANDÃO, 2021). O manejo da podridão vermelha do sisal não é realizado com o controle químico, seja pela falta de fungicidas registrados para a cultura ou pela inviabilidade devido a elevação dos custos de produção. Atualmente, as estratégias de manejo são o uso de material propagativo sadio e a adequação dos tratos culturais (BATISTA et al, 2010; SOARES et. al, 2020). Entretanto, diversos estudos tem avaliado o uso de agentes de biocontrole como potencial estratégia de controle da podridão vermelha (BARBOSA, 2019; SOUZA et al., 2021; MAGALHÃES et al., 2017).

Os agentes de biocontrole (ABCs) são organismos vivos, utilizados com o objetivo de combater os patógenos, mantendo um equilíbrio no agroecossistema, de modo que o hospedeiro, na presença do patógeno, não sofra danos significativos,

em função da ação controladora dos organismos não patogênicos no sistema (HOWELL, 2003; MEYER et al., 2019; BETTIOL e MORANDI, 2009). Nos últimos anos, a popularidade do biocontrole e de produtos alternativos ou biocompatíveis tem aumentado em diferentes segmentos da sociedade brasileira (MEYER et al., 2019).

Os fungos do gênero *Trichoderma* tem se destacado no controle biológico (GUO et al., 2022), além de algumas linhagens de *Trichoderma* spp. promoverem o crescimento vegetal, por aumentarem a superfície total do sistema radicular, possibilitando a maior absorção de nutrientes, o que faz deste fungo, um grande aliado na promoção de crescimento vegetal (LUCON, 2009; SILVA et al, 2011). Diversos estudos vêm sendo realizados ao longo dos anos com espécies de *Trichoderma*, avaliando o seu potencial como agentes de biocontrole (KIM e KNUDSEN, 2013; SILVA et al, 2015; OLIVEIRA et al, 2021) e promotores de crescimento (CHAGAS et al, 2017). Os estudos com *Trichoderma* também abordam diferentes métodos de inoculação, a exemplo da inoculação de substratos para promoção do enraizamento de plantas (FORTES et al, 2007), do tratamento de sementes (JUNGES et al, 2014), da inoculação de plantas por pulverização foliar (MACHADO et al., 2020) e a inoculação através de ferimentos nas plantas (BARBOSA, 2019).

Dentre as espécies de *Trichoderma* com potencial de biocontrole e de promoção de crescimento, *T. asperellum* tem sido amplamente estudado e a sua eficiência no biocontrole de patógenos em plantas tem sido comprovada (STRACQUADANIO et al., 2020). Essa espécie tem apresentado ação antagonista a diversos patógenos, como *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, e *Colletotrichum dematium* var. *truncata* (GABARDO et al., 2020) e também na promoção de crescimento de plantas (CHAGAS et al., 2017).

Entretanto, a forma de inoculação do *Trichoderma* pode influenciar diretamente em processos distintos na planta, como no enraizamento e aumento da biomassa da parte aérea das plantas (ROLIM et al, 2017). A aplicação direta de *Trichoderma* spp. no solo tem sido uma estratégia eficaz para aumentar a população do fungo no solo e promover o crescimento das plantas (HERMOSA et al., 2012). A aplicação foliar pode induzir respostas de defesa nas plantas, aumentando sua resistência a doenças (LORITO et al., 2010). A integração da inoculação com *Trichoderma* e a irrigação por gotejamento pode facilitar a

distribuição uniforme do fungo no solo e melhorar sua eficácia no controle de patógenos (SHARMA et al., 2013). Cada método possui suas vantagens e aplicações específicas, sendo importante considerar as características da cultura, as condições do solo e os objetivos desejados para a definição da melhor forma de aplicação de *Trichoderma* spp. em um determinado contexto.

Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial do *T. asperellum* como agente de biocontrole da podridão vermelha e como promotor de crescimento em mudas de sisal, por diferentes métodos de inoculação.

2. METODOLOGIA

2.1. Coleta e cultivo dos bulbilhos

Os bulbilhos de sisal foram coletados em Conceição do Coité, Bahia, no escapo floral de uma única planta de *Agave sisalana*. Após a coleta, foram transportados para a casa de vegetação, localizada na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Campus Cruz das Almas. Os bulbilhos foram plantados em sacos plásticos com capacidade de 2 litros, preenchidos com solo coletado na área de cultivo do sisal, na região sisaleira. Metade do solo utilizado foi natural, sendo apenas destorroado e peneirado, e a outra parte, após o beneficiamento, foi esterilizada em autoclave a 121°C por 1,5 horas, por duas vezes em dias consecutivos.

2.2. Isolados de *Trichoderma* e *Aspergillus*

Os isolados utilizados neste estudo foram *Trichoderma asperellum* (F12) e *Aspergillus welwitschiae*. Os isolados fazem parte da coleção de culturas do Laboratório de Microbiologia Agrícola da UFRB, sendo preservados pelo método de Castellani. O isolado F12 foi selecionado para este estudo com base no potencial de biocontrole da podridão vermelha do sisal (BARBOSA, 2019). O isolado de *A. welwitschiae* foi obtido de plantas de sisal com sintomas de podridão vermelha (Barbosa, 2019) na região sisaleira.

2.3. Preparo da suspensão de esporos

Para reativar os fungos, estes foram transferidos para placas de Petri com meio batata-dextrose-ágar (BDA) e cultivados em incubadora a 28±2°C, por uma

semana. Após o crescimento, foi realizado o preparo das suspensões de esporos para inoculação das plantas. Foram adicionados 20ml de água destilada esterilizada com duas gotas de Tween 20 sobre a superfície da cultura de *Trichoderma* nas placas de Petri e a colônia foi raspada com uma alça de Drigalski esterilizada por flambagem. Em seguida, a suspensão foi filtrada em funil de vidro esterilizado e com camada dupla de gaze esterilizada. A suspensão de esporos foi transferida para um tubo de centrifuga de 50 mL esterilizado e, após homogeneizada, uma alíquota foi pipetada e diluída para 10^{-1} em tubo de ensaio com 9 ml de solução salina. Em seguida, a suspensão diluída foi transferida para uma câmara de Neubauer para a contagem de esporos realizada em microscópio ótico de luz com aumento de 400 x. A suspensão de esporos de *Trichoderma* foi ajustada com água destilada para $1,0 \times 10^8$ esporos mL^{-1} e a de *A. welwitschiae* foi ajustada para $1,0 \times 10^7$ esporos mL^{-1} .

2.4. Inoculação de mudas de sisal

Após o preparo das suspensões de esporos, as plantas foram inoculadas por três métodos : Método 1- foram realizados 2 micro ferimentos (de aproximadamente 0,4 a 0,5 cm de profundidade) no pseudocaule de cada planta, com uma agulha de seringa descartável de 1 mL e, em seguida foram adicionados 100 μl da suspensão do inóculo de *Trichoderma* em cada ferimento (Figura 1); método 2 - foram adicionados 10 ml da suspensão de esporos de *Trichoderma* no solo próximo às raízes da planta; método 3 - foram pulverizados 5 ml da suspensão de esporos de *Trichoderma* nas folhas das plantas. Após 23 dias de inoculação do *Trichoderma*, foram separadas sete plantas de cada tratamento, incluindo o controle, para inoculação com o *A. welwitschiae*. Foram feitos 2 micro ferimentos no pseudocaule de cada planta, utilizando-se uma agulha de seringa descartável de 1 mL e a planta foi inoculada em cada micro ferimento com 100 μl da suspensão do *A. welwitschiae*. Além das plantas do tratamento controle que receberam água esterilizada nos ferimentos, as outras sete plantas de cada tratamento com *Trichoderma*, foram mantidas em casa de vegetação, sem inoculação do patógeno para observação do potencial do isolado de *T. asperellum* em promover o crescimento de mudas de sisal.

Figura 1. Inoculação de *Trichoderma* nas plantas de sisal



Autora: Barbosa (2023)

2.5. Avaliação da severidade da doença

A severidade da doença foi avaliada 25 dias após a inoculação com o *A. welwitschiae*. As plantas foram avaliadas quanto a presença de sintomas externos de murcha e podridão. Em seguida, as plantas foram retiradas do saco de mudas, cortadas longitudinalmente e avaliadas de acordo com a escala elaborada por Barbosa, (2019) para quantificação da severidade da podridão vermelha nos tecidos internos do pseudocaule de sisal (Figura 2). A escala atribui cinco notas em relação aos sintomas: 0 - Caule saudável; 1 - Lesões iniciais no tecido do caule próximo ao tecido basal da folha, com coloração marrom- clara a avermelhada \leq 5% da área do caule lesionado; 2 - Apodrecimento inicial no tecido basal da folha, crescendo em direção ao tecido do caule, com lesões de coloração marrom-clara a avermelhada, com 7-20% de área lesionada; 3 - Apodrecimento do caule com lesões marrom-claras a avermelhadas no tecido basal da folha e no tecido interno do caule, com 22-45% de área lesionada; 4 - Apodrecimento do caule, com lesões internas marrom-claras a avermelhadas, atingindo todo o tecido central do caule e tecido meristemático foliar, com 50 - \leq 78%de área lesionada; 5 - Morte da planta, com podridão completa do caule de cor marrom clara (Barbosa, 2019).

Figura 2. Escala diagramática para quantificação da severidade da podridão vermelha do sisal



Autor: Barbosa (2019)

2.6. Avaliação da promoção de crescimento

A promoção de crescimento foi avaliada 48 dias após a inoculação do *T. asperellum*, por meio da medição dos seguintes parâmetros: altura da planta, número de folhas, largura das folhas, peso da massa seca das raízes, e da massa seca da parte aérea. Os parâmetros foram medidos com uma régua, e para a obtenção da massa seca, as plantas foram secas em estufa com ventilação forçada, e temperatura de 65°C por 3 dias e a massa seca mensurada em uma balança analítica.

2.7. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com solo natural (SN) e solo autoclavado (SA), três formas de inoculação com Trichoderma, Tratamento 1 - Inoculação de Trichoderma em micro ferimentos no pseudocaule da planta; Tratamento 2 – Inoculação de Trichoderma no solo e Tratamento 3 - Inoculação de Trichoderma por meio de pulverização nas folhas. Foram utilizadas 14 plantas por tratamento, e 13 plantas no controle, totalizando 110 plantas (Figuras 3 e 4).

Figura 3. Plantas para avaliação do controle biológico



Figura 4. Plantas para avaliação da promoção de crescimento



Autora: Barbosa (2023)

2.8. Análise estatística

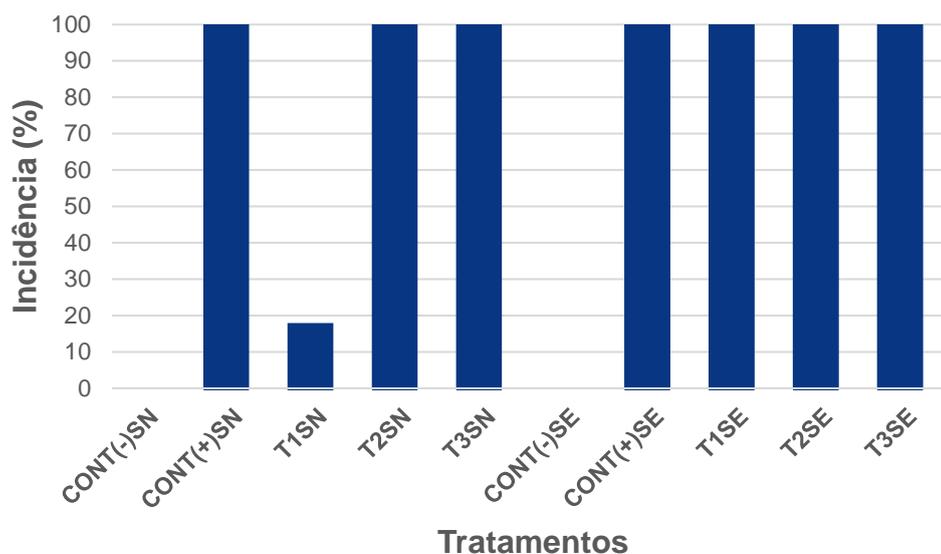
Para avaliação da ação do *Trichoderma* no controle da podridão vermelha do sisal foi calculada a incidência e o índice da doença. O cálculo da incidência foi feito com o número de plantas sintomáticas dividido pelo número total de plantas, obtendo-se os dados em porcentagem (%). Os dados de severidade foram usados para o cálculo do índice da doença, conforme a equação: $\Sigma (\text{nota da escala de doença} * \text{frequência}) * 100 / (\text{número de avaliações} * \text{nota máxima da escala de doença})$ (MCKINNEY, 1923).

A análise dos dados de promoção de crescimento das mudas de sisal foi pelo teste F(ANOVA), e o teste de Scott-Knott, utilizando o programa estatístico R Studio.

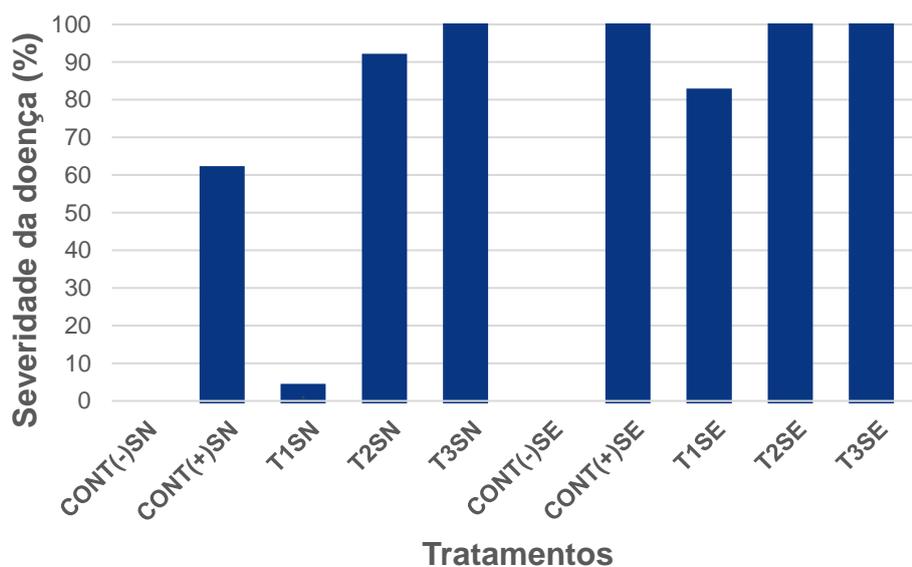
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Controle da podridão vermelha

As mudas de sisal plantadas em solo natural e tratadas com *Trichoderma asperellum*, pelo método de inoculação em microferimentos no pseudocaule, tiveram significativa redução na incidência e severidade da podridão vermelha, no período de vinte e quatro dias de avaliação (Figuras 5 e 6).

Figura 5. Incidência da doença nas mudas de sisal

Legenda: CONT(-)SN – Controle inoculadas com *T. asperellum* e cultivadas em solo natural; CONT(+)SN – Controle inoculadas com *A. welwitschiae* e cultivadas em solo natural; T1SN – Inoculação de *T. asperellum* através de ferimento e plantas cultivadas em solo natural; T2SN – Inoculação de *T. asperellum* no solo e plantas cultivadas em solo natural; T3SN – Inoculação de *T. asperellum* por aspersão e plantas cultivadas em solo natural; CONT(-)SE – Controle inoculadas com *T. asperellum* e cultivadas em solo estéril; CONT(+)SN – Controle inoculadas com *A. welwitschiae* e cultivadas em solo estéril; T1SE – Inoculação de *T. asperellum* através de ferimento e plantas cultivadas em solo estéril; T2SE – Inoculação de *T. asperellum* no solo e plantas cultivadas em solo estéril; T3SE – Inoculação de *T. asperellum* por aspersão e plantas cultivadas em solo estéril.

Figura 6. Índice de severidade da doença nas mudas de sisal

Legenda: CONT(-)SN – Controle inoculadas com *T. asperellum* e cultivadas em solo natural; CONT(+)SN – Controle inoculadas com *A. welwitschiae* e cultivadas em solo natural; T1SN –

Inoculação de *T. asperellum* através de ferimento e plantas cultivadas em solo natural; T2SN – Inoculação de *T. asperellum* no solo e plantas cultivadas em solo natural; T3SN – Inoculação de *T. asperellum* por aspersão e plantas cultivadas em solo natural; CONT(-)SE – Controle inoculadas com *T. asperellum* e cultivadas em solo estéril; CONT(+)SN – Controle inoculadas com *A. welwitschiae* e cultivadas em solo estéril; T1SE – Inoculação de *T. asperellum* através de ferimento e plantas cultivadas em solo estéril; T2SE – Inoculação de *T. asperellum* no solo e plantas cultivadas em solo estéril; T3SE – Inoculação de *T. asperellum* por aspersão e plantas cultivadas em solo estéril.

Nas mudas dos tratamentos em solo natural e solo esterilizado, e inoculadas apenas com *A. welwitschiae*, a incidência da dença foi de 100% e as mudas apresentaram folhas murchas, amareladas e o caule totalmente apodrecido (planta morta) (Figura 5, Figura 7).

Figura 7. Mudanças dos tratamentos controles com inoculação de *A. welwitschiae*, com podridão no pseudocaule: (A) em solo esterilizado e (B) em solo natural



Autora: Barbosa (2023)

Estes sintomas iniciaram aos quatro dias após a inoculação do patógeno, e com 15 dias todas as mudas do tratamento controle, plantadas no solo esterilizado, apresentavam o pseudocaule totalmente apodrecido (planta morta). Entretanto, nas mudas do tratamento controle plantadas no solo natural, apenas três apresentaram podridão no pseudocaule e morte da planta após 15 dias de inoculação com o patógeno. As mudas restantes desse tratamento apresentavam apodrecimento parcial do pseudocaule.

As mudas plantadas no solo esterilizado apresentaram maior severidade, além dos sintomas progredirem mais rápido, levando a morte das plantas. Isso se

torna perceptível ao compararmos as mudas inoculadas apenas com o patógeno, plantadas em solo natural em relação aquelas plantadas em solo esterilizado. No solo natural, as mudas apresentaram severidade de aproximadamente 60%. Os sintomas apresentados foram o apodrecimento do pseudocaule, com lesões internas marrom-claras a avermelhadas, atingindo todo o tecido central do caule e tecido meristemático foliar, com 50 - ≤ 78% de área lesionada, enquanto que no solo esterilizado a severidade da podridão foi de 100%, com as plantas mortas, apresentando podridão completa do caule. Tais resultados apontam para a importância da microbiota do solo na saúde das plantas. A eliminação da microbiota do solo pela esterilização tornou as plantas mais suscetíveis ao patógeno, mesmo com o patógeno sendo inoculado diretamente no pseudocaule das plantas, ou seja sem ter o contato direto com o solo. De acordo com Berendsen et al. (2012), a ausência de microrganismos no solo pode afetar a resistência das plantas a doenças. Tian et al., (2020) relatam que a microbiota associada às plantas desempenha papel vital na regulação de vários processos biológicos que estão envolvidas no crescimento e desenvolvimento das plantas, bem como nas respostas das plantas a condições adversas, provocadas por fatores bióticos e abióticos. Vila et al., (2021) abordam a importância de microrganismos nativos do solo, como micorrizas e rizóbios, na tolerância de doenças em plantas. De acordo com os autores, os microrganismos atuam como bioprotetores contra os estresses abióticos e bióticos, além da ativação dos mecanismos de defesa da planta com a resistência induzida.

Entre os tratamentos com *Trichoderma asperellum* inoculado de diferentes formas, a inoculação através de microferimentos no pseudocaule (T1) foi o tratamento eficiente no controle da doença. O T1 em solo natural apresentou aproximadamente 14% de incidência de plantas com sintomas de podridão vermelha e as plantas restantes desse tratamento permaneceram assintomáticas e vigorosas durante os vinte e quatro dias de avaliação (Figura 5, Figura 8).

Figura 8. Plantas assintomáticas do tratamento T1SN



Autora: Barbosa (2023)

Legenda: T1SN – Inoculação de *T. asperellum* através de ferimento e em plantas cultivadas em solo natural

As plantas que receberam a inoculação do *Trichoderma* no solo (T2) e do *Trichoderma* por aspersão nas folhas (T3) apresentaram 100% de incidência da doença, ou seja não houve controle pelo *T. asperellum*, o que indica que possivelmente não houve colonização da planta pelo *Trichoderma* (Figura 9). A ineficiência do *T. asperellum*, quando inoculado por aspersão na folha ou por aplicação no solo, pode ter ocorrido devido à morfologia da planta e as características xerófilas da planta de sisal, ou seja, cutícula cerosa e espessa que são barreiras naturais à penetração de microrganismos (SÁ, 2009).

Figura 9. Plantas dos tratamentos T1SN, T2SN, T3SN e T0SN após 25 dias de inoculação com *A. welwitschiae*



Autora: Barbosa (2023)

Legenda: T1 – Inoculação de *T. asperellum* através de ferimento e plantas cultivadas em solo natural; T2 – Inoculação de *T. asperellum* no solo e plantas cultivadas em solo natural; T3 – Inoculação de *T. asperellum* por aspersão e plantas cultivadas em solo natural; T0 – tratamento controles= com inoculação de *A. Welwitschiae* e plantas cultivadas em solo natural

Com o corte longitudinal das mudas, observou-se que apenas uma planta do tratamento T1 em solo natural apresentava lesão inicial e, a doença não progrediu no tecido caulinar, permanecendo próxima ao tecido basal da folha, local da inoculação (Figura 10). Entretanto, as plantas do tratamento T1 em solo esterilizado apresentaram aproximadamente 79% de severidade, e os demais tratamentos entre 89-100% de severidade, com as mudas apresentando folhas murchas, amareladas e o caule totalmente apodrecido e a planta morta (Figura 11).

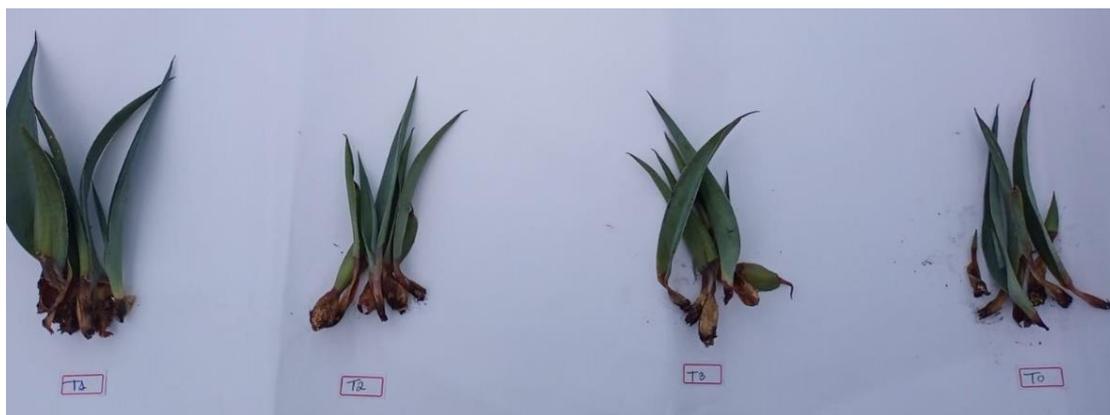
Figura 10. Planta do T1SN com lesão inicial indicada com a seta



Autora: Barbosa (2023)

Legenda: T1SN – Inoculação de *T. asperellum* através de ferimento e em plantas cultivadas em solo natural

Figura 11. Plantas do T1SE, T2SE, T3SE e T0SE



Autora: Barbosa (2023)

Legenda: T1SE – Inoculação de *T. asperellum* através de ferimento e em plantas cultivadas em solo estéril; T2SE – Inoculação de *T. asperellum* no solo e em plantas cultivadas em solo estéril; T3SE – Inoculação de *T. asperellum* por aspersão e em plantas cultivadas em solo estéril; T0SE - Controle inoculada com *A. welwitschiae* e cultivadas em solo estéril

O estudo de Barbosa (2019) comprovou o efeito de biocontrole de várias espécies de *Trichoderma*, mas usando apenas o método de inoculação de ambos, o agente de biocontrole e o patógeno por micro ferimentos no pseudocaule e com mudas plantadas em solo natural. Nesse estudo, as mudas permaneceram assintomáticas durante todo o experimento, e os isolados *T. longibrachiatum* (TCS15), *T. harzianum* (TCS76, TCS35, R74), *T. asperellum* (TCS81, TCS83 e TCS85), *T. virens* (R62), *T. viride* (R75), e *T. piluliferum* destacaram-se por promoverem a redução de 70-93% na incidência da podridão vermelha e de até 97% na severidade da doença. Os resultados promissores com esse método de inoculação podem ser explicados pela aplicação direta do fungo no tecido vegetal, permitindo uma rápida colonização dos tecidos que garante a proteção contra o patógeno, por diferentes mecanismos. Em relação ao patógeno, este só causa sintomas quando a inoculação é feita por meio de micro ferimentos no pseudocaule (DUARTE et al. 2018). No campo, ainda não se tem uma boa compreensão dos mecanismos bioquímicos e fisiológicos que desencadeiam a doença, mas tem-se discutido que injúria mecânica ou fisiológica predispõe a planta à doença (DUARTE et al., 2018). Barbosa (2019) descreve o espessamento da parede celular dos tecidos do pseudocaule, observado em plantas inoculadas com *Trichoderma* como um dos possíveis mecanismos de defesa da planta induzidos. Mecanismos de micoparasitismo e competição também foram descritos por Barbosa (2019), em testes *in vitro*.

Entretanto, Medeiros et al., (2020) avaliaram o potencial do *Trichoderma* spp. no biocontrole de *Fusarium moniliforme* na cultura do milho, através de três métodos de inoculação (tratamento de sementes, tratamento de solo e aplicação foliar) e obtiveram resultados favoráveis. A aplicação do *Trichoderma* no solo promoveu maior capacidade de indução de resistência e/ou biocontrole em milho, com taxa de 90%, seguido da aplicação foliar com 85%. No patossistema milho – *Fusarium moniliforme*, este fungo é transmitido via sementes, e a infecção pode se iniciar pelas raízes e é favorecida por ferimentos causados por nematóides ou pragas subterrâneas (SHAN et al., 2017). Uma explicação para a diferença nos resultados de Medeiros et al., (2020) e no presente estudo, seria a morfologia da folha e das raízes do sisal que apresentam barreiras naturais à penetração de microrganismos (SÁ, 2009). As plantas de milho apresentam morfologia diferente do sisal, e o processo de penetração de microrganismos ocorre mais facilmente (CASELA et al., 2006).

3.2. Promoção de crescimento

A massa seca da parte aérea e das raízes das mudas plantadas em solo natural e inoculadas pelo método de ferimentos no pseudocaule (T1SN) diferiram significativamente dos demais tratamentos (Tabela 1). Houve um aumento na massa seca da parte aérea de 41,89% e de 33,09% da massa seca da raiz, quando comparado com o tratamento controle. Para massa seca da raiz, as mudas plantadas em solo estéril e inoculadas por aplicação no solo (T2SE) apresentaram maiores valores e diferiram significativamente dos demais tratamentos, exceto para o tratamento T1SN. Para altura da planta, nenhum tratamento foi efetivo como promotor de crescimento. Para número de folhas, os tratamentos não diferiram estatisticamente.

Tabela 1. Variáveis analisadas em mudas de sisal para avaliação da promoção de crescimento.

Tratamentos	Altura da planta	MSPA	MSR	Nº de folhas
T0SE	17,87a	2,37b	0,94c	8,33a
T1SE	15,80b	2,00b	0,91c	8,00a
T2SE	17,57a	2,35b	1,68a	8,00a
T3SE	17,08a	2,14b	0,81c	8,00a
T0SN	16,98a	2,22b	1,39b	8,00a
T1SN	17,76a	3,15a	1,85a	8,86a
T2SN	16,24b	2,24b	0,88c	8,28a
T3SN	14,80b	1,60c	1,05c	7,71a
CV	10,27%	17,16%	14,02%	10,18%

Legenda: MSPA – Massa seca da parte aérea; MSR – Massa seca da raiz; SE – Solo Esterilizado; SN – Solo Natural; T0 – tratamento controle; T1- inoculação de *Trichoderma* por micro fermentos no pseudocaulé; T2 – inoculação no solo; T3 – inoculação por aspersão; SE- solo estéril; SN 0 solo natural, não esterilizado; CV – Coeficiente de variação

O *T. asperellum* tem sido relatado como promotor de crescimento em algumas culturas. Chagas et al. (2017) observaram um aumento significativo na massa seca da parte aérea e da raiz, ao inocular o *T. asperellum* em sementes de milho, arroz, soja e feijão caupi. Jesus et al. (2011) evidenciam o potencial de *T. asperellum* como condicionador de substrato para a produção de mudas de café, por meio do efeito positivo no aumento da biomassa da raiz, da parte aérea e total. Entretanto, com outras espécies de *Trichoderma*, Rolim et al. (2017) observaram que *Trichoderma harzianum* não teve eficiência como promotor de crescimento de *Peltophorum dubium* ao microbiolizar as sementes com o fungo. Assim como Romão (2010), que ao estudar a inoculação de *Trichoderma virens* em plantas de cana de açúcar, não obteve resultados satisfatórios. A aplicação de *Trichoderma* pode apresentar diferentes respostas quando se trabalha em diferentes regiões, com diferentes materiais genéticos, diferentes métodos de aplicação e diferentes espécies de plantas (PEREIRA, 2012). Portanto, torna-se pertinente avaliar as espécies e isolados de *Trichoderma* e o melhor método de aplicação para a obtenção de melhores respostas para cada condição de trabalho.

Foi obtido um resultado positivo em relação ao incremento na massa seca da parte aérea no T1SN. Por ser uma planta explorada principalmente para extração da fibra das folhas (TEWARI et al., 2014), o aumento da massa seca da parte aérea pode ser extremamente vantajoso para a cultura. Destaca-se também que esse tratamento T1SN foi o que promoveu o melhor controle da podridão

vermelha nas mudas de sisal. Portanto, o *T. asperellum* (isolado F12) é um isolado promissor, quando inoculado por meio de microferimentos, por ter ação tanto de promoção do crescimento da planta como no eficiente controle da principal doença que afeta os plantios de sisal. Este isolado de *T. asperellum* deve ser mais estudado, com avaliações em plantas de sisal por períodos mais longos e explorando diferentes métodos de aplicação do *Trichoderma* nas plantas de sisal.

4. CONCLUSÕES

A inoculação de *Trichoderma asperellum* através de ferimento em mudas produzidas em solo natural é o método mais eficiente para o controle da podridão vermelha e a promoção de crescimento do sisal. Entretanto, mesmo esse método se mostrando eficiente, apresenta alguns desafios práticos com a inoculação das plantas em campo. Com isso, se faz necessário estudos mais aprofundados para adequar os métodos de aplicação para a realidade de campo, com a produção de sisal. A maior incidência e severidade da podridão vermelha em mudas de sisal cultivadas em solo esterilizado, com o surgimento precoce dos sintomas sugerem a importância do microbioma do solo e da planta na tolerância das plantas à podridão vermelha. Estudos futuros deverão abordar esse tema.

5. REFERÊNCIAS

BARBOSA, L.O.; LIMA, J.S.; MAGALHÃES, V.C.; GAVA, C.A.T.; SOARES, A.C.F.; MARBACH, P.A.S.; SOUZA, J.T. Compatibility and combination of selected bacterial antagonists in the biocontrol of sisal bole rot disease. **BioControl**, v.63, p.595–605, 2018.

BARBOSA, L.O. **Podridão Vermelha do Sisal: Controle com *Trichoderma* spp., escala de notas e estudos histopatológicos**. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Bahia. Tese (Doutorado), 2019.

BATISTA, D.C.; SILVA, F.M.; SOUZA, W.C.O.; BARBOSA, M.A.G.; COSTA, V.S.O.; BRANDÃO, W.N.; TERAPO, D. **Manejo da Podridão Vermelha do Tronco do Sisal. Circular Técnico - EMBRAPA**, 2010.

BERENDSEN, R.L.; PIETERSE, C.M.; BAKKER, P.A. The rhizosphere microbiome and plant health. **Trends in Plant Science**, v.17, p.478-486, 2012.

BROWN, K. *Agave Sisalana* Perrine. University of Florida, Center for Aquatic and Invasive Plants. **Summer**, n.1, p.18-21, 2022.

BROTMAN, Y.; GUPTA, J. K.; VITERBO, A. *Trichoderma*. **Current Biology**, v. 20,

p. 390-391, 2010.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JUNIOR, T. J.; CORREA, É. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L. Bioprotetores comerciais para o controle de doenças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 17, p. 111-147, 2009.

CASELA, C.R.; FERREIRA, A.S.; PINTO, N.F.J.A. **Doenças na cultura do milho. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Circular Técnico**, MG, 2006.

COUTINHO, W. M.; LUZ, C. M.; SUASSUNA, N. D.; SILVA O. F. E.; SUINAGA, F. A. **A podridão vermelha do tronco do Sisal, Embrapa – Boletim Técnico**, 2006.

CHAGAS, L. F. B.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; SOARES, L. P.; FIDELIS, R. R. *Trichoderma* promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 4, p. 97-102, 2017.

CHAGAS, L.F.B.; CHAGAS JUNIOR, A.F.; FIDELIS, R.R.; CARVALHO FILHO, M.R.; MILLER, L.O. *Trichoderma asperellum* efficiency in soybean yield components. **Comunicata Scientiae**, v.8, p.165-169, 2017.

DUARTE, E.A.A.; DAMASCENO, C.L.; OLIVEIRA, T.A.S.; BARBOSA, L.O.; MARTINS, F.M.; QUEIROZ, S.J.R.; LIMA, T.E.F.; SILVA, R.M., KATO, R.B.; BORTOLINI, D.E.; AZEVEDO, V.; GÓES-NETO, A.; SOARES, A.C.F. Colocando a bagunça em ordem: *Aspergillus welwitschiae* (e não *A. niger*) é o Agente Etiológico da Podridão do Bole do Sisal. Doença no Brasil. **Frontiers in Microbiology**, v.9, e1227, 2018.

FATINEL, V.S.; MUNIZ, M.F.B; POLETTO, T.; DUTRA, A.F.; KRAHN, G.T.; FAVARETTO, R.F.; SARZI, G.S. Biocontrole In Vitro de *Colletotrichum siamense* utilizando *Trichoderma* spp. e *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki. **Ciência Agrícola**, v. 16, p. 43-50, 2018

Fibras Futuras da FAO - Food Agric Organ, 2022. Disponível em: <http://www.fao.org/economic/futurefibres/fibres/sisal/en/online> (Acesso em 05.07.2023).

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. **Revista Árvore**, v.31, p.221–228, 2007.

HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Beneficial effects on *Trichoderma* plants and their genes. **Microbiology**, v.158, p.17–25, 2012.

GABARDO, G.; PRIA, M.D.; PRESTES, A.M.C.; SILVA, H.L. *Trichoderma asperellum* e *Bacillus subtilis* como antagonistas no crescimento de fungos fitopatogênicos in vitro. **Brazilian Journal of Development**, v.6, p.55870–55885, n.8, 2020.

GUO, R.; LI, G.; ZHANG, Z.; PENG, X. Structures and Biological Activities of Secondary Metabolites from *Trichoderma harzianum*. **Marine Drugs**, v.20, e701, 2022.

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

JESUS, E. P. de; SOUZA, C. H. E. de; POMELLA, A. W. V.; COSTA, R. L. da; SEIXAS, L.; SILVA, R. B. da. Avaliação do potencial de *Trichoderma asperellum* como condicionador de substrato para a produção de mudas de café. **Revista do Centro Universitário de Patos de Minas**, v. 2, p.111-126, 2011.

JUNGES, E.; BASTOS, B.O.; TOEBE, M.; MULLER, J.; PEDROSO, D.C.; MUNIZ, M.F.B. Restrição hídrica e revestimento de sementes na microbiolização de sementes de milho com *Trichoderma* spp. **Comunicata Scientiae**, v.5, p.18–25, 2014.

KIM, T.G.; KNUDSEN, G.R. Relationship between the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* and the phytopathogenic fungus *Fusarium solani* f.sp. pisi. **Applied Soil Ecology**, v.68, p.57–60, 2013.

LORITO, M.; WOO, S. L.; HARMAN, G. E.; MONTE, E. Translational research on *Trichoderma*: from 'omics to the field. **Annual Review of Phytopathology**, v.48, p.395-417, 2010.

LUCON, C.M.M. **Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma* spp.** 2009. Artigo em Hypertexto. Disponível em:<http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/trichoderma/index.htm>. Acesso em:27/12/2022

OLIVEIRA, L.; KETTNER, M.; LIMA, M.; ARAÚJO, E.; SILVA, A.; COSTA, A.. Potencial de biocontrole do *Trichoderma* spp. contra *Macrophomina phaseolina* de feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, Brasil, v. 26, n. 2, e2512262021, 2021.

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, p. 274-288, 2012.

MAGALHÃES, V. C.; SOARES, A. C. F.; MARBACH, P. A. S. **O sisal e a podridão vermelha: potencial do uso de bactérias como agentes de biocontrole.** Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola), 2013.

MAGALHÃES, V.C.; BARBOSA, L.O.; ANDRADE, J.P.; SOARES, A.C.F.; SOUZA, J.T.; MARBACH, P.A.S.; Burkholderia isolates from a sand dune leaf litter display biocontrol activity against the bole rot disease of *Agave sisalana*, **Biological Control**, v.112, p.41-48, 2017.

MARTIN, A. R.; MARTINS, M. A.; MATTOSO, L. H. C.; SILVA, O. R. R. F. Caracterização química e estrutural de fibra de sisal da variedade Agave sisalana. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos, v. 19, p.40-46, 2009.

MAYO-PRIETO, S.; PORTEOUS-ÁLVAREZ, A.J.; MEZQUITA-GARCÍA, S.; RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, Á.; CARRO-HUERGA, G.; del SER-HERRERO, S.; GUTÉRREZ, S.; CASQUERO, P.A. Influence of Physicochemical Characteristics of Bean Crop Soil in *Trichoderma* spp. **Agronomy**, v.11, e274, 2021.

MEDEIROS, J.C.D.; MARTINS, W.S.; MIRANDA, F.F.R. Antagonismo de *Trichoderma* spp. no biocontrole de *Fusarium moniliforme* na cultura do milho. **Revista Sítio Novo**, v.4, p. 171-178, 2020.

MEDINA, J. C. O Sisal. São Paulo: Secretaria da Agricultura, Diretoria de Publicidade Agrícola, 1954.

MEYER, M.C.; MAZARO, S.M.; SILVA, J.C. **Trichoderma: uso na agricultura**. Brasília, DF: Embrapa – Circular Técnico, 2019.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle Biológico de Doenças de Plantas no Brasil. In.: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009.

NAVA-CRUZ, N.,Y.; MEDINA-MORALES, M.A.; MARTINEZ, J.L.; RODRIGUEZ, R.; AGUILAR, C.N. Agave biotechnology: an overview. **Critical Reviews in Biotechnology**, v.35, e546, 2015.

PEREIRA, J.V.N. **Promoção do crescimento de mudas de maracujazeiro inoculadas com *Trichoderma* spp.** Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Bahia. Dissertação - (Mestrado), 2012.

POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas—uma visão empresarial. **Biocontrole de Doenças de Plantas**. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. Biocontrole de Doenças de Plantas – Uso e Perspectivas, Capítulo 15, p. 239-244, 2009.

ROLIM, J.M.; RABUSKE, J.E.; SAVIAN, L.G.; WALKER, C.; BRUN, T.; MUNIZ, M.F.B. *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento de *Peltophorum dubium*. **Anais do 9º SALÃO INTERNACIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – SIEPE, Universidade Federal do Pampa | Santana do Livramento**, 2017.

ROMÃO, A.S. **Análise da comunidade fúngica associada à cana-de-açúcar e estudo da interação *Trichoderma virens* – planta hospedeira**. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, 2010.

SÁ, J.O. **Controle Biológico da podridão vermelha do sisal (*Agave sisalana* Perrine) com *Trichoderma* spp. e actinobactérias**. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2009.

SANTOS, E. M. C.; SILVA, O. A. da. Sisal na Bahia-Brasil. **Mercator**, v. 16, e16029, 2017.

SANTOS, R.A.; BRANDÃO, W.N. **Território Sisal**. EMBRAPA Semiárido, 2021. Disponível em: Sisal - Portal Embrapa. Acesso em: 21.12.2022.

SILVA, F. M.; BRANDAO, W. N.; BARBOSA, M. A. G.; TERAQ, D.; BATISTA, D. da
C. **Levantamento e distribuição espacial da podridão vermelha do sisal em áreas de produção da Bahia**. Circular Técnico - Embrapa Semiárido, 2009.

SILVA, V.N.; GUZZO, S.D.; LUCON, C.M.M.; HAKAKAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, p.1609-1618, dez. 2011.

SILVA, G.B.P.; HECKLER, L.I.; SANTOS, R.F.; DURIGON, M.R.; BLUME, E. Identificação e utilização de *Trichoderma* spp. armazenados e nativos no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 28, p. 33 – 42, 2015.

STRACQUADANIO, C.; QUILES, J.M.; MECA, G.; CACCIOLA, S.O. Antifungal Activity of Bioactive Metabolites Produced by *Trichoderma asperellum* and *Trichoderma atroviride* in Liquid Medium. **J. Fungi**, v.6, e263, 2020.

SOARES, A.C.F.; SANTOS, J.S.; SOUSA, R.A.; BARBOSA, L.O.; DUARTE, E.A.A.; NETO, A.G. **Sisal: podridão vermelha e o biocontrole. Tópicos em microbiologia agrícola**. Cruz das Almas, BA: EDUFRB, 2020.

SOUZA, J.T.; SILVA, A.C.M.; SANTOS, A.F.J.; SANTOS, P.O.; ALVES, P.S.; CRUZ-MAGALHÃES, V.; MARBACH, P.A.S.; LOGUERCIO, L.L. Endophytic bacteria isolated from both healthy and diseased *Agave sisalana* plants are able to control the bole rot disease. **Biological Control**, v. 157, e104575, 2021.

SUINAGA, F. A.; SILVA, O. R.R. F.; COUTINHO, W. M. **Cultivo de sisal na região semi-árida do nordeste brasileiro**. **Boletim Técnico** - Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006.

TIAN, L.; LIN, X.; TIAN, J.; JI, L.; CHEN, Y.; TRAN, L.S.P.; TIAN, C. Research advances of beneficial microbiota associated with crop plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v.21, p.1–18, 2020.

VILA, V.V.; REZENDE, R.; SILVA, L.H.M.; NOCCHI, R.C.F.; ANDREAN, A.F.B.; WENNECK, G.S.; TERASSI, D.S.; PINTRO, P.T.M. Soil microbiota on disease tolerance in plants: A review. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, e25910817161, 2021.

WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, M.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MANGANIELLO, G.; LORITO, M. *Trichoderma*-

based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, p.71-126, 2014.