



***Trichoderma harzianum* e associações em sementes de trigo armazenadas: sanidade**

***Trichoderma harzianum* and associations in stored wheat seeds: sanity**

Ana Gabriela Tessaro*, Nadia Graciele Krohn[†],
Patrick Machado[‡]

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a viabilidade da associação de *Trichoderma harzianum* e fungicida em sementes de trigo antes do armazenamento, afim de manter viável as células do tratamento biológico foi utilizado polímero e avaliado a ordem de aplicação dos produtos. Foram avaliados cinco períodos de armazenamentos e nove tratamentos. Períodos avaliados: 0, 45, 90, 135 e 180 dias de tratamento e armazenamento. Tratamentos: T0 (testemunha), T1 (*T. harzianum*), T2 (fungicida), T3 (polímero), T4 (*T. harzianum* + polímero), T5 (fungicida + polímero), T6 (fungicida + *T. harzianum*), T7 (*T. harzianum* + polímero + fungicida) e T8 (fungicida + polímero + *T. harzianum*). A sanidade das sementes simultaneamente à avaliação da porcentagem de sementes com *T. harzianum* foi avaliada a partir do método *blotter test*. Os tratamentos testados apresentam efeitos positivos no controle de *Alternaria* spp. De forma contrária, a viabilidade de *T. harzianum* diminui com o decorrer do período de armazenamento. O uso do polímero e a ordem de aplicação de tratamentos não foram eficientes em manter a viabilidade do tratamento biológico. Da mesma forma, o uso de fungicida associado à *T. harzianum* apresenta efeito negativo sobre o crescimento do fungo.

Palavras-chave: Tratamento biológico, viabilidade, patologia de sementes.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the viability of the association of *Trichoderma harzianum* and fungicide in wheat seeds before storage, in order to maintain viable the cells of the biological treatment, polymer was used and the order of application of the products was evaluated. Five storage periods and nine treatments were adopted. Tested periods: 0, 45, 90, 135 and 180 days of treatment and storage. Treatments: T0 (control), T1 (*T. harzianum*), T2 (fungicide), T3 (polymer), T4 (*T. harzianum* + polymer), T5 (fungicide + polymer), T6 (fungicide + *T. harzianum*), T7 (*T. harzianum* + polymer + fungicide) and T8 (fungicide + polymer + *T. harzianum*). Blotter test was used to the evaluate sanity and the percentage of occurrence of *T. harzianum* on seeds. The tested treatments have positive effects on the control of *Alternaria* spp. Conversely, the viability of *T. harzianum* decreases with the storage period. The use of the polymer and the order of application of treatments were not efficient in maintaining the viability of the biological treatment. Likewise, the use of fungicide associated with *T. harzianum* has a negative effect on the growth of the fungus.

Keywords: Biological treatment, viability, seeds pathology.

* Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil; anagabrielatessaro@alunos.utfpr.edu.br

[†] Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena; ngkrohn@utfpr.edu.br

[‡] Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena; patrickmachado@alunos.utfpr.edu.br



1 INTRODUÇÃO

Ainda que, o trigo (*Triticum aestivum* L.) se adapte às mais diversas condições ambientais existem limitações para produção da cultura, que são relacionadas à ocorrência de patógenos, causadores de doenças e redução na produtividade (MARINI, 2011). Em função disso, é necessário o emprego de estratégias para sanar tais limitações, nesse sentido o tratamento de sementes é imprescindível, seu principal objetivo é preservar sementes, de forma que, garanta qualidade sanitária e fisiológica (GALVÃO; MIRANDA, 2004).

O controle biológico proporciona interações benéficas com o solo e reduz os impactos ambientais, ademais é alternativa eficiente que viabiliza a substituição de defensivos agrícolas e não possui riscos consideráveis à saúde humana. O *T. harzianum* além de bioestimulante de plantas também pode ser utilizado para o controle biológico (SCUDELER; VENEGAS, 2015), pois, produzem substâncias que desenvolvem ação antifúngica, capazes de alterar o crescimento de patógenos (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2015). No entanto, o tratamento químico e seus benefícios para a planta são comprovados. Sendo uma estratégia ampla e extensivamente praticada, por ser relativamente econômica e de fácil execução, representa de 0,5% à 1,0% dos custos da produção da cultura e é associada por diversos autores como a mais eficaz no controle de microrganismos (PARISI; MEDINA, 2013). Ademais, o polímero também pode ser utilizado como tratamento, este por sua vez contribui para melhor aplicação de inoculantes, defensivos agrícolas, nutrientes e outros, formando filme adesivo que permite maior aderência dos tratamentos na superfície das sementes, em consequência disso, aumenta-se o desempenho da mesma (KARAM et al., 2007).

Mediante a importância dos diferentes produtos no tratamento de sementes, o estudo da interação entre os mesmos é almejado. Adicionalmente, deve-se considerar que sendo o trigo cultura de inverno, e o período de armazenamento das sementes, coincide com temperaturas e umidades relativas do ar excessivamente altas, e apesar de não haver formas para aumento da qualidade das sementes, é possível mantê-la caso as mesmas sofram o mínimo possível (EICHELBERGER, 2011). Para tanto, o beneficiamento de sementes, controle de temperatura e umidade relativa do ar no ambiente de armazenamento, e eleição do tratamento de semente que proporcione conservação da viabilidade e sanidade das sementes durante o período.

Com a condução do projeto buscou-se responder as seguintes questões: é possível associar o tratamento de *T. harzianum* com o fungicida em sementes de trigo antes do armazenamento? Essa associação trará benefícios para a qualidade fisiológica e sanitária de sementes de trigo durante o armazenamento? O tratamento fungicida tem efeito negativo na viabilidade de células de *T. harzianum*, quando usados no tratamento de sementes de trigo, durante o armazenamento? O uso do polímero pode resultar em uma barreira protetora entre o tratamento com *T. harzianum* e o fungicida? A ordem de aplicação da associação dos produtos *T. harzianum*, polímero e fungicida químico apresenta algum efeito na qualidade de sementes de trigo armazenadas?

2 MÉTODO

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 5x9, com quatro repetições. Foram avaliadas cinco épocas de armazenamento e nove tratamentos. As épocas referem-se ao momento do tratamento e início de armazenamento, correspondendo a zero dias, continuando com 45, 90, 135 e 180 dias de tratamento e armazenamento (DTA).

As sementes foram tratadas todas no mesmo dia e armazenadas a 4 °C, em sacos de papel pardo, os testes foram conduzidos e avaliados nas épocas descritas anteriormente. Os tratamentos realizados foram T0 (testemunha), T1 (*T. harzianum*), T2 (fungicida químico), T3 (polímero), e as associações T4 (*T. harzianum*



+ polímero), T5 (fungicida + polímero), T6 (fungicida + *T. harzianum*), T7 (*T. harzianum* + polímero + fungicida) e T8 (fungicida + polímero + *T. harzianum*). Foram utilizados 5.10^{10} UFC (Unidades Formadoras de Colônia) 100 kg^{-1} de sementes de *T. harzianum* IBLF006 (Ecotrich®). Para o tratamento fungicida químico foi utilizada carboxina + tiram, com o produto comercial Vitavax-Thiram 200 SC® com 250 mL p.c. 100 kg^{-1} de sementes. O polímero empregado foi Likoseed Natural®, na proporção de 100 mL 100 kg^{-1} de sementes. Os tratamentos foram realizados em sementes de trigo da cultivar TBIO DUQUE com aplicação dos produtos na dosagem recomendada respectivamente, e com volume de calda 1000 mL kg^{-1} de sementes, em sacos plásticos com agitação constante até a uniformização do tratamento. Na associação de produtos, cada um foi aplicado isoladamente e na ordem descrita, ademais após cada tratamento as sementes permaneceram em temperatura ambiente durante uma hora para secagem.

A sanidade foi avaliada pelo método do papel filtro (*blotter test*), conduzido de acordo com o descrito por Brasil (2009). Foram avaliadas quatro repetições de cem sementes cada. Os resultados foram expressos em percentual de ocorrência dos fungos nas sementes. A avaliação da porcentagem de sementes com *T. harzianum* foi conduzido concomitantemente com o teste de sanidade. Os resultados obtidos para os testes foram submetidos à análise de variância (teste F) a 5% de probabilidade e as médias do fator época de armazenamento foram submetidas à análise de regressão e o teste de Scott-Knott, também à 5%, para comparação das médias do fator tratamento.

3 RESULTADOS

Dentre os resultados obtidos na análise de variância é possível observar que as fontes de variação *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp., *Rhizopus* spp., *Chaetomium* spp., *Fusarium* spp. e *Stagonospora* spp., foram significativas, sendo significativos os fatores isolados período e tratamento, bem como a interação entre os mesmos (Tab. 1). Em contrapartida *Bipolaris* spp. não apresentou resultados significativos.

Considerando a incidência significativa de *Alternaria* spp. durante o armazenamento para T0 (testemunha) (Tab. 1) verificou-se que os dados não se ajustaram à equação linear ou quadrática. No mais, a incidência do fungo se manteve alta durante todo o armazenamento, variando de 32,0 a 54,4%.

Tabela 1 – Incidência de patógenos em sementes de trigo tratadas e armazenadas.

Tratamentos	<i>Alternaria</i> spp. (% de sementes com incidência)					Equação	R ²
	Período (dias)						
	0	45	90	135	180		
T0	41,6 a	32,0 a	54,4 a	51,2 a	40,8 a	-	-
T1	8,8 b	24,0 b	36,8 b	24,8 b	28,0 b	$y = -0,0017x^2 + 0,397x + 9,6686$	78,9
T2	12,0 b	21,6 b	18,4 d	44,0 a	44,0 a	$y = 0,0003x^2 + 0,131x + 12,091$	83,6
T3	34,4 a	33,6 a	41,6 b	24,8 b	20,8 b	$y = -0,0011x^2 + 0,1181x + 33,783$	72,9
T4	25,6 a	24,0 b	28,0 c	45,6 a	16,0 c	-	-
T5	24,8 a	20,8 b	14,4 d	13,6 b	24,0 b	$y = 0,0012x^2 - 0,238x + 26,194$	83,2
T6	32,8 a	17,6 b	12,8 d	20,0 b	11,2 c	$y = 0,0009x^2 - 0,2481x + 30,583$	71,9
T7	16,0 b	20,0 b	28,0 c	16,8 b	27,2 b	-	-
T8	12,0 b	40,0 a	9,6 d	20,8 b	8,8 c	-	-

FV	Análise de variância			Erro Padrão
	Fc			
	Período (P)	Tratamento (T)	P x T	
<i>Bipolaris</i> spp.	1,333 ^{ns}	0,750 ^{ns}	0,958 ^{ns}	0,07
<i>Alternaria</i> spp.	1,679**	11,731**	3,759**	1,77
<i>Cladosporium</i> spp.	5,202**	4,282**	2,182**	1,64
<i>Rhizopus</i> spp.	25,985**	46,648**	13,199**	1,01
<i>Chaetomium</i> spp.	20,093**	5,880**	5,063**	0,24
<i>Fusarium</i> spp.	36,362**	20,204**	8,042**	0,39
<i>Stagonospora</i> spp.	4,953**	3,453**	2,887**	0,18



Fonte: Autoria própria (2021). Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. FV: fonte de variação; Fc: valor de F calculado; **: significativo a 1% de probabilidade; ns: não significativo. T0 (testemunha), T1 (*Trichoderma harzianum*), T2 (fungicida químico), T3 (polímero), T4 (*T. harzianum* + polímero), T5 (fungicida + polímero), T6 (fungicida + *T. harzianum*), T7 (*T. harzianum* + polímero + fungicida) e T8 (fungicida + polímero + *T. harzianum*).

Para os tratamentos T1 (*T. harzianum*), T2 (fungicida), T3 (polímero), T5 (fungicida + polímero) e T6 (fungicida + *T. harzianum*) (Tab. 1) constatou-se que os dados de incidência de *Alternaria* spp. se ajustaram à equação quadrática, sendo que a menor incidência ocorreu no momento do tratamento (período 0 dias de armazenamento), a partir de então aumentou a incidência até 117, 90, 54, 99 e 138 DTA, respectivamente, para T1, T2, T3, T5 e T6, com declínio após esse período.

Provavelmente no momento do tratamento ocorreu maior eficiência de controle de T1 sobre o patógeno em questão e, com o passar dos períodos de armazenamento, até os 116,76 DTA ocorreu decréscimo da viabilidade do *T. harzianum*, resultando em menor controle de *Alternaria* spp. De maneira convergente, *Alternaria* spp. é um fungo de campo, e, portanto, espera-se diminuição da sua viabilidade no decorrer do armazenamento, fato observado no presente trabalho, com a diminuição da sua incidência a partir de 116,76 DTA. A mesma análise se aplica para T5 e T6. Ressalta-se que o T6 foi o tratamento que controlou por mais tempo (138 DTA) o fungo *Alternaria* spp. Este fato pode ser explicado pelo efeito sinérgico da associação de *T. harzianum* com fungicida, resultando em maior controle do patógeno.

O tratamento químico com fungicida (T2) apresentou resultados semelhantes ao tratamento biológico (T1). No entanto, apresentou uma eficiência um pouco menor, pois aos 90 DTA ocorreu o ponto de máxima incidência de *Alternaria* spp., em comparação com 117 DTA para T1 (Tab. 1).

O polímero (T3), apesar de não apresentar efeito fungicida controlou *Alternaria* spp. até 54 DTA (Tab.1), provavelmente por alterar as trocas gasosas no patógeno e por consequência diminuir o seu crescimento. Assim, diminui a pressão de inóculo do patógeno e, nos períodos de 90 – 135 DTA o tratamento apresentou menor incidência do mesmo em comparação com a testemunha T0 (Tab. 1).

Para T4 (*T. harzianum* + polímero), T7 (*T. harzianum* + polímero + fungicida) e T8 (fungicida + polímero + *T. harzianum*) não se verificou ajustes dos dados de incidência de *Alternaria* spp. às equações linear e quadrática. No entanto, os tratamentos controlaram o patógeno durante o armazenamento, sendo que na maioria dos períodos os tratamentos apresentaram menor incidência do mesmo em comparação à testemunha (T0).

Ressalta-se que os T1, T2, T7 e T8 diferiram da testemunha (T0) desde o período de 0 DTA, mantendo o resultado nos demais períodos de armazenamento testados (Tab. 1). Os demais tratamentos (T3, T4, T5 e T6) diferiram da testemunha de T0 a partir dos 45 DTA, mantendo o resultado até o final do armazenamento, evidencia a eficiência dos mesmos no controle de *Alternaria* spp.

Os demais patógenos, com efeito estatisticamente significativo, não serão descritos aqui, em função da limitação de espaço de texto, por serem considerados fungos saprófitas (*Cladosporium* spp., *Rhizopus* spp. e *Chaetomium* spp.) e também por terem apresentado incidência menor, variando de 0 – 10%.

Analisando a porcentagem de sementes que apresentaram crescimento de *T. harzianum* (Tab. 2) nota-se que os fatores período e tratamento isolados, bem como a interação entre os mesmos foi significativa. Para os tratamentos que não continham *T. harzianum* (T0 – testemunha, T2 – fungicida, T3 – polímero e T5 – fungicida + polímero), como esperado, não se observou crescimento do mesmo sobre as sementes. Já para os demais tratamentos observou-se crescimento de *T. harzianum* em pelo menos um período, com ajuste dos dados para a equação linear decrescente, ou seja, com o passar dos períodos de armazenamento ocorreu diminuição da viabilidade do microrganismo.

No entanto, notou-se diferença na manutenção da viabilidade de *T. harzianum* em função do tratamento (Tab. 2). Assim, T1 (*T. harzianum*) apresentou maior viabilidade no momento do tratamento (0 DTA) em comparação com os demais tratamentos, resultado mantido para o período de 45 DTA. Nos demais períodos



notou-se decréscimo da viabilidade do T1, mas sempre com o destaque de ser o tratamento com maior número de sementes com crescimento de *T. harzianum*, em comparação com os demais tratamentos.

Tabela 2 – Sementes de trigo com *T. harzianum*, após tratamento e armazenamento.

Tratamentos	Sementes com <i>T. harzianum</i> (%)					Equação	R ²
	Período (dias)						
	0	45	90	135	180		
T0	0,0 e	0,0 d	0,0 b	0,0 b	0,0 b	-	-
T1	100,0 a	100,0 a	39,2 a	14,4 a	16,0 a	$y = -0,5636x + 104,64$	86,17
T2	0,0 e	0,0 d	0,0 b	0,0 b	0,0 b	-	-
T3	0,0 e	0,0 d	0,0 b	0,0 b	0,0 b	-	-
T4	41,6 b	14,4 b	1,6 b	0,0 b	0,0 b	$y = -0,2169x + 31,04$	74,60
T5	0,0 e	0,0 d	0,0 b	0,0 b	0,0 b	-	-
T6	16,0 c	3,2 c	0,0 b	0,0 b	0,0 b	$y = -0,0782x + 10,88$	64,36
T7	4,8 d	0,0 d	0,0 b	0,0 b	0,0 b	-	-
T8	6,4 d	0,8 d	0,0 b	0,0 b	0,0 b	$y = -0,0302x + 4,16$	59,22

Análise de variância				
FV	Fc			Erro Padrão
	Período (P)	Tratamento (T)	P x T	
Sementes com <i>T. harzianum</i>	129,185**	381,462**	52,740**	0,67

Fonte: Autoria própria (2021). Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. FV: fonte de variação; Fc: valor de F calculado; **: significativo a 1% de probabilidade; ns: não significativo. T0 (testemunha), T1 (*Trichoderma harzianum*), T2 (fungicida químico), T3 (polímero), T4 (*T. harzianum* + polímero), T5 (fungicida + polímero), T6 (fungicida + *T. harzianum*), T7 (*T. harzianum* + polímero + fungicida) e T8 (fungicida + polímero + *T. harzianum*)

Em estudos realizados por Brito (2010), Silva (2015) e Pereira (2020) demonstraram que isolados de *Trichoderma*, quando armazenados, apresentam redução da viabilidade do fungo. Nesse contexto, a viabilidade é diminuída em consequência do armazenamento. Os dados dos trabalhos em questão corroboram o presente estudo, sendo que no decorrer do período de armazenamento também se reduziu a porcentagem de *T. harzianum* nas sementes. Nesse sentido deduz-se que, possa ter ocorrido um decréscimo na viabilidade mediante o período em que ficaram armazenadas, ressalta-se também que não ocorreu nenhum benefício pela associação com polímero no tratamento.

Adicionalmente, Pereira (2020) relatou que os tratamentos associados com *T. harzianum* e fungicida químico apresentaram efeitos negativos, sendo o mesmo observado no presente estudo, com menor percentual de sementes com crescimento do microrganismo nos seguintes tratamentos (T6 – fungicida + *T. harzianum*, T7 - *T. harzianum* + polímero + fungicida e T8 – fungicida + polímero + *T. harzianum*) em comparação com T1. Ademais estudo de Dalacosta (2019) avaliou a compatibilidade dos principais produtos utilizados no tratamento de sementes de soja, com duas formulações de *T. harzianum* e com diferentes metodologias de avaliação, foram avaliados dois tipos de formulações de *Trichoderma*, sendo grânulos dispersíveis em água (WP) ou suspensão concentrado (SC). Observou-se que os tratamentos que continham a combinação de ingredientes ativos (tiram/carbedazim) causaram efeito fungicida sobre o *T. harzianum*, independente da formulação utilizada.

4 CONCLUSÃO

Os tratamentos testados apresentaram efeito positivo no controle de *Alternaria* spp. A viabilidade de *T. harzianum* em sementes de trigo diminui com o passar do tempo de armazenamento. O uso do polímero e da ordem de aplicação de tratamentos não foram eficientes em manter a viabilidade de *T. harzianum* em



sementes de trigo armazenadas. O uso de *T. harzianum* associado ao fungicida apresenta efeito negativo sobre o crescimento do fungo.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399p.
- BRITO, F.S.; MILLER, P.R.M.; STADNIK, M. Presença de *Trichoderma* spp. em composto e suas características para o controle de fitopatógenos. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.5, n.1, p.43-53, 2010.
- CONTRERAS-CORNEJO, H.A.; LOPEZ-BUCIO, J.S.; MÉNDEZ-BRAVO, A.; MACÍAS-RODRIGUES, L.; RAMOZ-VEGA, M.; GUEVARA-GARCÍA, A.A.; LOPEZ-BUCIO, J. Mitogen-activated protein kinase 6 and ethylene and auxin signaling pathways are involved in Arabidopsis root-system architecture alterations by *Trichoderma atroviride*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v.28, n.6, p.701-710, 2015.
- DALACOSTA, N. L. Compatibilidade de *Trichoderma harzianum* associado ao controle químico no tratamento de sementes de soja. 2019. 53 f. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco.
- EICHELBERGER, L. Produção de sementes de trigo. In: PIRES, J.L.F.; VARGAS, L.; CUNHA, G.R. (Ed.). **Trigo no Brasil: bases para produção competitiva e sustentável**. Passo Fundo: Embrapa trigo, 2011, p.349-370.
- GALVÃO, J.C.C.; MIRANDA, G.V. **Tecnologia de produção de milho**. Viçosa: Editora da UFV, 2004. 366p.
- KARAM, D. MAGALHÃES, P.C.; PADILHA, L. **Efeito da adição de polímeros na viabilidade no vigor e na longevidade de sementes de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, Circular Técnica, n.94, 2007. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/485934/efeito-da-adicao-de-polimeros-na-viabilidade-no-vigor-e-na-longevidade-de-sementes-de-milho>. Acesso: 17 ago, 2021.
- MARINI, N.; TUNES, L.M.; SILVA, J.I.; MORAES, D.M.; OLIVO, F.; CANTOS, A.A. Efeito do fungicida Carboxim Tiram na qualidade fisiológica de sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.6, n.1, p.17-22, 2011.
- PARISI, J.J.D.; MEDINA, P.F. **Tratamento de sementes**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2013.
- PEREIRA, A.E. **Sobrevivência de *Trichoderma asperellum* em sementes de trigo armazenadas com associação de fungicida e de polímero: ordem de aplicação, viabilidade e sanidade**. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Estadual de Maringá. Umuarama, 51 p. 2020.
- SCUDELER, F.; VENEGAS, F.N. *Trichoderma harzianum* associado ou não a fungicidas em tratamento de sementes na cultura do milho (*Zea mays* L.). **Ensaios e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 16, n. 5, 2012.
- 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**, v. 28, n. 4, p. 33-42, 2015.