



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

MÔNICA SATIE OMURA

**QUALIDADE DE FRUTOS E POTENCIAL FISIOLÓGICO DE  
SEMENTES DE TOMATE TRATADAS COM BIOPRODUTOS**

---

Londrina  
2020

MÔNICA SATIE OMURA

**QUALIDADE DE FRUTOS E POTENCIAL FISIOLÓGICO DE  
SEMENTES DE TOMATE TRATADAS COM BIOPRODUTOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de doutora em Agronomia.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lúcia Sadayo Assari  
Takahashi

Londrina  
2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

O57 Omura, Mônica Satie .  
Qualidade de frutos e potencial fisiológico de sementes de tomate tratadas com bioprodutos / Mônica Satie Omura. - Londrina, 2020.  
72 f.

Orientador: Lúcia Sadayo Assari Takahashi.  
Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2020.  
Inclui bibliografia.

1. Microbiolização de sementes - Tese. 2. Trichoderma spp. - Tese. 3. Bacillus subtilis - Tese. 4. Qualidade físico-química de frutos - Tese. I. Takahashi, Lúcia Sadayo Assari . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU 63

MÔNICA SATIE OMURA

**QUALIDADE DE FRUTOS E POTENCIAL FISIOLÓGICO DE  
SEMENTES DE TOMATE TRATADAS COM BIOPRODUTOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de doutora em Agronomia.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Lúcia Sadayo Assari  
Takahashi  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Thiago Ometto Zorzenoni  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Dr.<sup>a</sup> Gisely Paula Gomes  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Dr. Helder Rodrigues da Silva  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Fernando Teruhiko Hata  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 27 de Maio de 2020.

*Dedico esse trabalho aos meus*

*pais:*

*Francisco e Isaura*

*Obrigada por tudo. Amo vocês!*

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Estadual de Londrina e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão do espaço físico, bolsa de estudos e o suporte ao meu desenvolvimento intelectual.

À minha orientadora Dra. Lúcia Takahashi não só pela constante orientação neste trabalho, mas sobretudo pela sua amizade ao longos dos anos, por me acolher, tranquilizar e ensinar com sabedoria e humildade.

A todos os professores, amigos e colegas que tornaram essa caminhada mais fácil e alegre, por compartilharem conhecimentos, pelo companheirismo, ajuda na condução dos experimentos e análise de dados. Agradeço especialmente ao professor Ciro Hideaki Sumida, Verônica Pellizzaro, Gustavo Henrique Freiria, Felipe Favoretto Furlan, Douglas Junior Bertocelli, Osvaldo Matsuo, Marinara Ferneda Venturin e Emanuelli Bastos Garcia .

À todos os estagiários do Laboratório de Sementes da Universidade Estadual de Londrina pela paciência e ajuda.

Aos técnicos de laboratório José Rocha, Geraldo, Márcio e João e funcionários José Vicentini Neto, Cícero e Idael.

Ao meu noivo Guilherme Teiji Shimada pela paciência e pelo auxílio na condução dos experimentos, sem você este trabalho seria realizado com muito mais dificuldades.

Aos meus pais, irmãos e familiares por me apoiarem em todas as minhas decisões e me compreenderem sempre.

E principalmente à Deus pela força, coragem e inspiração.

Sou grata a cada um de vocês!

Obrigada!

*“Renasce agora em teus propósitos,  
deliberações e atitudes, trabalhando para  
superar os obstáculos que te cercam e  
alcançando a antecipação da vitória  
sobre ti mesmo”.*

*Emmanuel*

OMURA, Mônica Satie. **Qualidade de frutos e potencial fisiológico de sementes de tomate tratadas com bioprodutos**. 2020. 72 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

## RESUMO

As sementes de tomate, assim como da maioria das hortaliças, têm tamanho reduzido o que facilita a microbiolização e pode estimular o investimento dos produtores rurais em bioprodutos. As bactérias *Bacillus subtilis* e fungos do gênero *Trichoderma* spp. são conhecidos pelo potencial antagonista aos fungos patogênicos e ação promotora de crescimento para as plantas. Pesquisas envolvendo a utilização de suspensões contendo esses agentes de biocontrole e os efeitos sobre o potencial fisiológico das sementes e qualidade de frutos são escassos, no entanto essenciais para a recomendação. O trabalho teve os seguintes objetivos: avaliar os efeitos da microbiolização de bioprodutos contendo *Bacillus subtilis* e *Trichoderma* spp. sobre a germinação, vigor e potencial protetivo contra *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de tomate. E verificar os impactos da microbiolização das sementes e aplicação via solo de bioprodutos à base de *Trichoderma* spp. e *Bacillus subtilis* sobre a qualidade físico-química de tomates produzidos em solo argiloso e arenoso. Analisou-se a porcentagem de germinação, primeira contagem de germinação, comprimento e massa seca de plântulas e a germinação das sementes presença dos fungos patogênicos já mencionados. Além disso, foram avaliados os diâmetros transversal e longitudinal, pH, acidez titulável, sólidos solúveis e massa fresca dos tomates produzidos. A microbiolização de sementes de tomates ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ com suspensões contendo *Trichoderma* spp. tiveram melhor desempenho na manutenção do potencial fisiológico das sementes, além de apresentar ação antagonista aos danos causados por *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*. O tratamento *B. subtilis* + *T. harzianum* é eficiente contra *R. solani*, no entanto reduz o potencial fisiológico das sementes na ausência dos fitopatógenos. *Bacillus subtilis* atrasa a germinação, porém visualmente apresenta efeitos protetivos aos fitopatógenos avaliados. O tipo de solo alterou o formato, porém não influenciou a massa fresca. ‘Santa Cruz Kada Paulista’ apresenta maior sensibilidade às suspensões. Houve a redução da massa fresca e da relação SST/AT de tomates ‘Santa Cruz Kada Paulista’ quando em contato com *Trichoderma* spp.

**Palavras-chave:** *Bacillus subtilis*. Biocontrole. Microbiolização de sementes. *Trichoderma* spp.

OMURA, Mônica Satie. **Fruit quality and physiological potential of tomato seeds treated with bioproducts.** 2020. 72 p. Thesis (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

## ABSTRACT

Tomato seeds, as well as most vegetables, are small in size, which facilitates microbiolization and can stimulate investment by rural producers in bioproducts. *Bacillus subtilis* bacteria and fungi of the genus *Trichoderma* spp. are known for their potential antagonist to pathogenic fungi and growth-promoting action for plants. Research involving the use of suspensions containing these biocontrol agents and the effects on the physiological potential of seeds and fruit quality are scarce, however essential to the recommendation. The work had the following objectives: to evaluate the effects of microbiolization of bioproducts containing *Bacillus subtilis* and *Trichoderma* spp. on germination, vigor and protective potential against *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia sclerotiorum* in tomato seeds. And to verify the impacts of seed microbiolization and application of *Trichoderma* spp. and *Bacillus subtilis* based bioproducts via soil on the physicochemical quality of tomatoes produced in clayey and sandy soil. The germination percentage, first germination count, seedling length and dry mass and seed germination were analyzed for the presence of the aforementioned pathogenic fungi. In addition, the transversal and longitudinal diameters, pH, titratable acidity, soluble solids and fresh weight of the tomatoes produced were evaluated. The microbiolization of tomato seeds 'Santa Clara I 5300' and 'Santa Cruz Kada Paulista' with suspensions containing *Trichoderma* spp. had better performance in maintaining the physiological potential of the seeds, in addition to presenting an antagonistic action to the damages caused by *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia sclerotiorum*. The treatment *B. subtilis* + *T. harzianum* is efficient against *R. solani*, however it reduces the physiological potential of the seeds in the absence of phytopathogens. *Bacillus subtilis* delays germination, but visually presents protective effects to the evaluated phytopathogens. The type of soil, suspensions and cultivars had an influence on the physicochemical characteristics of tomatoes. The type of soil changed the shape, but did not influence the fresh mass. 'Santa Cruz Kada Paulista' is more sensitive to suspensions. There was a reduction in the fresh weight and the SST/AT ratio of 'Santa Cruz Kada Paulista' tomatoes when in contact with *Trichoderma* spp.

**Key words:** *Bacillus subtilis*. Biocontrol. Seed microbiolization. *Trichoderma* spp.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 4.4.1</b>	Temperaturas (°C) mínima (tmin), média (tmed) e máxima (tmax) ao longo do período experimental. Londrina, Paraná, Brasil, 2020 .....	47
---------------------	--	----

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 3.5.1</b>	Análise de variância com valores do quadrado médio da porcentagem de germinação de sementes de tomates ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ microbiolizadas com bioprodutos, com posterior contato com <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e <i>Rhizoctonia solani</i> . Londrina, Paraná, Brasil, 2020.....	35
<b>Tabela 3.5.2</b>	Interação entre suspensões e cultivares sobre a germinação (G%) de sementes de tomate microbiolizadas com bioprodutos, em contato com <i>Rhizoctonia solani</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . Londrina, Paraná, Brasil, 2020 .....	36
<b>Tabela 3.5.3</b>	Análise de variância com valores do quadrado médio para as variáveis primeira contagem de germinação (PCG), germinação (G), comprimento de plântulas (CP) e massa seca de plântulas (MSP) ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ microbiolizadas com bioprodutos. Londrina, Paraná, Brasil, 2020.....	36
<b>Tabela 3.5.4</b>	Primeira contagem de germinação de sementes (PCG) de tomates ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ microbiolizadas com diferentes suspensões. Londrina, Paraná, Brasil, 2020.....	37
<b>Tabela 3.5.5</b>	Interação entre suspensões e cultivares para a variável comprimento de plântulas (CP) de tomates ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ microbiolizadas com bioprodutos. Londrina, Paraná, Brasil, 2020. ....	38
<b>Tabela 3.5.6</b>	Massa seca de plântulas (MSP) de tomates ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ microbiolizadas com bioprodutos. Londrina, Paraná, Brasil, 2020 .....	38
<b>Tabela 4.4.1</b>	Resultados da análise química de solos de amostras compostas retiradas da camada superficial (0-20 cm) de solos pertencente a duas localidades: Londrina-PR, Nitossolo (argiloso) e Sapopema-PR, Argissolo (arenoso). Londrina, Paraná, Brasil, 2020.....	47

<b>Tabela 4.4.2</b>	Características dos bioprodutos comerciais contendo os microrganismos antagonistas à base de <i>Trichoderma</i> spp. e <i>Bacillus subtilis</i> .....	48
<b>Tabela 4.5.1</b>	Quadrados médios referentes às variáveis massa fresca (MF), diâmetro longitudinal (DL) e diâmetro transversal (DT) de tomates ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ provenientes de sementes microbiolizadas com bioprodutos e posterior aplicação das suspensões via solo. Londrina, Paraná, Brasil, 2020.....	50
<b>Tabela 4.5.2</b>	Interação entre os fatores: suspensões e solos e produtos e cultivares sobre a variável diâmetro longitudinal (DL) de tomates provenientes de sementes microbiolizadas com bioprodutos e posterior aplicação das suspensões via solo. Londrina, Paraná, Brasil, 2020.....	51
<b>Tabela 4.5.3</b>	Interação entre os fatores suspensões e cultivares sobre a massa fresca (MF) de tomates provenientes de sementes microbiolizadas com bioprodutos e posterior aplicação das suspensões via solo. Londrina, Paraná, Brasil, 2020 .....	52
<b>Tabela 4.5.4</b>	Interação entre suspensões e cultivares e efeito isolado do fator solos sobre a variável diâmetro transversal (DT) de tomates provenientes de sementes microbiolizadas com suspensões contendo microrganismos e posterior aplicação das suspensões via solo. Londrina, Paraná, Brasil, 2020.....	52
<b>Tabela 4.5.5</b>	Quadrados médios referentes às variáveis massa fresca (MF), diâmetro longitudinal (DL) e diâmetro transversal (DT) de tomates ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ provenientes de sementes microbiolizadas com bioprodutos e posterior aplicação das suspensões via solo, Londrina, Paraná, Brasil, 2020.....	53
<b>Tabela 4.5.6</b>	Potencial hidrogeniônico (pH) e acidez titulável (AT) de tomates provenientes de sementes ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ microbiolizadas com biorpodutos e posterior aplicação das suspensões via solo .....	53

<b>Tabela 4.5.7</b>	Razão entre os teores de sólidos solúveis totais (SST) e acidez titulável (AT) de tomates provenientes de sementes ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ microbiolizadas com biorprodutos e posterior aplicação das suspensões via solo, Londrina, Paraná, Brasil, 2020 .....54
---------------------	---

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AT	Acidez titulável
CP	Comprimento de plântulas
C. V. (%)	Coefficiente de variação
DL	Diâmetro longitudinal
DT	Diâmetro transversal
G	Germinação
MF	Massa fresca
MSP	Massa seca de plântulas
PCG	Primeira contagem de germinação
pH	Potencial hidrogeniônico
SST	Sólidos solúveis totais

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
2.1	O TOMATEIRO .....	17
2.1.1	Classificação Botânica, Origem e Domesticação .....	17
2.1.2	Características Gerais .....	17
2.1.3	Importância Econômica e Alimentar .....	19
2.2	DOENÇAS DO TOMATEIRO: <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> E <i>Rhizoctonia solani</i> ..	20
2.2.1	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary .....	21
2.2.2	<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn .....	22
2.3	BIOCONTROLE .....	23
2.4	TRATAMENTO DE SEMENTES COM BIOPRODUTOS .....	25
2.4.1	<i>Bacillus subtilis</i> .....	26
2.4.2	<i>Trichoderma</i> spp.....	27
<b>3</b>	<b>ARTIGO A: POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES TOMATE MICROBIOLIZADAS COM BIOPRODUTOS E AÇÃO PROTETORA CONTRA FITOPATÓGENOS DE SOLO</b> .....	30
3.1	RESUMO.....	30
3.2	ABSTRACT .....	30
3.3	INTRODUÇÃO .....	31
3.4	MATERIAL E MÉTODOS .....	32
3.5	RESULTADOS.....	34
3.6	DISCUSSÃO .....	39
3.7	CONCLUSÕES .....	41
<b>4</b>	<b>ARTIGO B: QUALIDADE DE FRUTOS DE TOMATEIROS TRATADOS COM BIOPRODUTOS À BASE DE <i>TRICHODERMA</i> <i>SPP.</i> E <i>BACILLUS SUBTILIS</i></b> .....	43
4.1	RESUMO.....	43
4.2	ABSTRACT .....	43
4.3	INTRODUÇÃO .....	44

4.4	MATERIAL E MÉTODOS .....	46
4.5	RESULTADOS .....	50
4.6	DISCUSSÃO .....	54
4.7	CONCLUSÕES .....	57
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>58</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>60</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das hortaliças mais consumidas no mundo e o seu cultivo se estende a todos os continentes, é fonte de renda para diversas famílias e está incluído na dieta de todas as classes sociais. Os benefícios da ingestão são a absorção de vitaminas, minerais e compostos antioxidantes importantes para a manutenção da saúde e prevenção de doenças.

O controle de patógenos presentes nos solos é um dos entraves para a produção de tomates, pois atacam as sementes no período em que antecede a emergência das plântulas ou nos tecidos tenros da região de transição entre o solo e a parte aérea.

Um dos métodos de controle para combater os agentes causais do *damping off*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani* Kühn, é a utilização de agrotóxicos. Atualmente despertou-se a consciência da população mundial para a redução, pois o uso indiscriminado provoca danos aos solos, corpos d'água, microrganismos e até mesmo distúrbios metabólicos em seres humanos e animais.

Ao longo dos anos de pesquisas sobre o controle biológico percebeu-se que as bactérias da espécie *Bacillus subtilis* e os fungos pertencentes ao gênero *Trichoderma* spp. apresentam ação antagonista aos patógenos de plantas, além disso, podem promover a indução de resistência nos vegetais.

Os bioprodutos são desenvolvidos a partir de microrganismos benéficos e podem ser aplicados em sementes por meio da técnica conhecida como microbiolização, que consiste no recobrimento das estruturas reprodutivas com essas suspensões, conferindo o controle localizado dos agentes patogênicos e a redução da emissão de substâncias tóxicas ao meio ambiente. Estudos científicos com abordagens multidisciplinares devem ser realizados a fim de buscar estratégias para aprimorar aplicação de maneira eficiente e segura, sem afetar o potencial germinativo e o vigor das sementes.

Outra alternativa é a associação entre a microbiolização com a aplicação dos bioprodutos via solo. A disponibilização dos microrganismos em períodos preestabelecidos pode favorecer o estabelecimento no solo, e conseqüentemente estimular o crescimento e desenvolvimento das plantas devido a produção de diversos compostos orgânicos. Esse desempenho pode ser

influenciado pelos tipos de solos e surtir efeitos sobre a qualidade física e química dos frutos produzidos.

Portanto, os objetivos do trabalho foram:

- Avaliar os efeitos da microbiolização de bioprodutos contendo *Bacillus subtilis* e *Trichoderma* spp. sobre a germinação, vigor e potencial protetivo contra *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de tomate.

- Verificar os impactos da microbiolização das sementes e aplicação via solo de bioprodutos à base de *Trichoderma* spp. e *Bacillus subtilis* sobre a qualidade físico-química de tomates produzidos em solo argiloso e arenoso.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 O TOMATEIRO

#### 2.1.1 Classificação Botânica, Origem e Domesticação

De acordo com a classificação feita por Miller em 1754 o tomateiro cultivado comercialmente pertence à classe Eudicotiledônea, ordem Tubiflorae, família Solanaceae, gênero *Lycopersicon*, subgênero *Eulycopersicon* e espécie *Lycopersicon esculentum* (ALVARENGA, 2013). No entanto ainda há controvérsias em relação à taxonomia. Pesquisas recentes baseadas na análise de sequências de DNA (mapa genômico) e características morfológicas permitiram a reintrodução do gênero *Lycopersicon* dentro do *Solanum*. Portanto, a nomenclatura passou a ser *Solanum lycopersicum* L. (FOOLAD, 2007; GONZÁLEZ et al., 2011).

É originário dos Andes, região que abrange Equador, Colômbia, Peru, Bolívia e Chile (BAI; LINDHOUT, 2007), nesses locais foram verificadas aproximadamente 12 espécies de tomates selvagens (PERALTA et al., 2005). Há relatos que a domesticação da espécie cultivada de tomateiro tenha se iniciado nesta região e concluída na Mesoamérica (México, Colômbia, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicarágua, Panamá e Belize) (BLANCA et al., 2012).

Ao longo da domesticação desta espécie houve mudanças no tamanho, formato, cores e vida de prateleira dos frutos, aumento da produtividade, resistência a doenças e pragas, alterações na estrutura e hábito de crescimento das plantas (BAI; LINDHOUT, 2007; KIMURA; SINHA, 2008).

#### 2.1.2 Características Gerais

O tomateiro (*S. lycopersicum*) é uma planta diploide com 24 cromossomos (GERSZBERG et al., 2015), anual, herbácea, com caule lenhoso que varia entre 1 a 3 metros de comprimento, folhas compostas do tipo pinada (10 a 25 cm de comprimento) com folíolos serrilhados (GONZÁLEZ et al., 2011). É indiferente ao fotoperíodo, no entanto a baixa luminosidade reduz a eficiência fotossintética (ALVARENGA; COELHO, 2013).

Desenvolve-se em solos rasos, desde que a profundidade mínima seja maior que 50 cm, apresentem quantidades moderadas de argila e areia, drenagem eficiente, matéria orgânica em abundância, pH entre 5 a 7, pois a raiz pivotante concentra cerca de 80% do sistema radicular aproximadamente a 50 cm profundidade (ANTONIOLLI; CASTRO, 2008).

Embora tenha melhor desempenho em climas que variam de ameno a quentes, é possível cultivá-lo em locais frios, mesmo que sensível à baixas temperaturas, desde que manejado em casas de vegetação com ambiente controlado (VAN DER PLOEG; HEUVELINK, 2005; GEBREMARIAM, 2015), podendo variar de 10 a 34 °C (ALVARENGA; COELHO, 2013).

Os tomateiros podem ser produzidos em casas de vegetação e a campo, com ou sem irrigação e permite o uso de sistemas simples e tecnificados, feitos em pequena ou grande escala (GEBREMARIAM, 2015). Em condições ideais de laboratório ou à campo (variação de 15 a 25°C) as sementes germinam no máximo em 15 dias, todavia, abaixo de 8 e acima de 40°C não ocorre esse processo (BRASIL, 2009; ALVARENGA; COELHO, 2013).

A temperatura para o desenvolvimento das inflorescências, que apresentam flores pequenas e amarelas, está em torno de 18 a 24°C. Noites frescas (14-17°C) e dias amenos (18-24°C) com umidade relativa do ar entre 50-70% proporcionam melhores condições para a formação de frutos (ANTONIOLLI; CASTRO, 2008; ALVARENGA; COELHO, 2013).

A irrigação auxilia no aumento da produção de tomates. Deve ser realizada no momento correto e em quantidades adequadas, pois variações bruscas no conteúdo de água, no solo ou vaso, provocam rachaduras, queda e doenças fisiológicas nos frutos, tais como frutos ocos e podridão apical. Ocasionalmente a falta de suprimento de compostos nitrogenados e oxigênio nas raízes. Por outro lado, o déficit hídrico prolongado reduz o crescimento e a produtividade (ALVARENGA et al., 2013).

Os tomates são os frutos do tomateiro compostos por 93-95% de água e geralmente são tratados erroneamente como legumes, possuem coloração que varia de amarelo, rosa e vermelho (FOOLAD, 2007; ANTONIOLLI; CASTRO, 2008; ALVARENGA; COELHO, 2013).

### 2.1.3 Importância Econômica e Alimentar

O tomate é a segunda hortaliça mais consumida no mundo (VILLANUEVA, 2018). Seu cultivo se difunde a todos os continentes (FOOLAD, 2007) com intuito de abastecer o mercado interno e externo (ABREU; BARCELOS, 2012).

A produção asiática corresponde cerca de 53,3%, americana 18,1%, europeia 16,2%, africana 12% e da Oceania 0,4%. Os maiores produtores mundiais são China, Estados Unidos, Índia, Turquia, Egito, Itália, Irã, Espanha, Brasil e México, considerando as médias de produção de 1994 a 2017 (FAOSTAT, 2019).

O Brasil detém a nona posição no ranking mundial (FAOSTAT, 2019). Em relação ao cenário nacional é muito comum as oscilações referentes ao tamanho das áreas cultivadas e de acordo com Hortifruti Brasil (2019) há expectativa de decréscimo em 2019, principalmente pela redução na rentabilidade em 2018, a qual inviabilizou os produtores rurais elevarem seus investimentos. Apesar da redução de 2,7% da área cultivada houve acréscimo de 0,4% na produção brasileira, considerando o mês de maio de 2018 (68.394 Kg ha<sup>-1</sup>) e o mesmo período em 2019 (SIDRA, 2019).

O tomateiro é uma das culturas mais estudadas tanto em laboratório quanto a campo (VILLANUEVA, 2018). Muitos anos de pesquisas agrônômicas sucederam ganhos significativos em produtividade, que passaram de 30-40 t ha<sup>-1</sup> para 80-130 t ha<sup>-1</sup> em menos de 80 anos (TRANI et al., 2015).

A alta demanda por pesquisas e produção de tomates move a economia, pois é um alimento consumido diariamente pela população mundial (GASTÉLUM-BARRIOS et al., 2011). E por mais que existam oscilações na produção ao longo do ano está sempre disponível aos consumidores a um preço relativamente acessível, beneficiando todas as classes sociais (ABREU, BARCELOS, 2012).

Sua ingestão pode ser realizada sem nenhum preparo culinário (cru), assado, cozido, grelhado ou por meio de produtos industrializados, tais como molhos, sopas e sucos (FOOLAD, 2007). É um alimento nutritivo, é fonte minerais e compostos bioativos em sua composição, tais como o licopeno,  $\beta$ -caroteno, luteína, vitamina E, vitamina C, rutina, quercetina, glicosídeos de quercetina e ácidos

fenólicos, capazes de estimular e modificar os mecanismos envolvidos na detoxificação do corpo (PERVEEN et al., 2015; BAKIR et al., 2018).

Estudos apontam que o licopeno, carotenóide sintetizado ao longo do desenvolvimento dos frutos, conferindo a coloração vermelha ao tomate (PERVEEN et al., 2015), tem alto poder antioxidante e sua ingestão diminui os riscos cardiovasculares por agir sobre os lipídeos no sangue, pressão arterial, inflamações (CHENG et al., 2017), além de reduzir a agressividade de cânceres do pulmão, estômago, próstata, colo do útero, mama, boca, pâncreas, colorretal e esôfago (GIOVANNUCCI, 1999).

Esses benefícios podem ser observados tanto em humanos quanto em animais (FRIEDMAN, 2013), no entanto outros fatores devem ser levados em consideração: particularidade de cada indivíduo em relação à genética e metabolismo, dieta, entre outros (STORY et al., 2010).

## 2.2 DOENÇAS DO TOMATEIRO: *Sclerotinia sclerotiorum* E *Rhizoctonia solani*

Assim como em todas as culturas, a produção de tomates enfrenta entraves e uma das medidas necessárias para obtenção de sucesso é o controle das doenças (BAWA, 2016). Os fitopatógenos provocam perdas econômicas estimadas em 20% em todo mundo (PATEL et al., 2014), e os gastos com fungicidas equivalem a 67% dos agrotóxicos utilizados na tomaticultura (KROHLING et al., 2018).

Os Fungos (*Phytophthora infestans*, *Alternaria solani*, *Septoria lycopersi*, *Stemphylium solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotinia miror*, *Leveillula taurica*, *Oidium lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia solani* Kühn, *Phytophthora* spp., *Sclerotium rolfsii*, *Phytium* sp., *Fusarium* spp.), as bactérias (*Phytoplasma* sp., *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Pseudomonas corrugata*, *Pseudomonas solanacearum*) e os vírus (Tospovirus, Tomato mosaic vírus (ToMV) , Potato vírus Y (PVY), Tomato yellow top virus (ToYTV), Tomato bottom leaf yellow vírus (TBLYV), Geminivirus) são capazes de infectar sementes, mudas, frutos, plantas jovens e adultas de tomate e causar doenças (KUROZAWA; PAVAN, 2005).

Logo no início do ciclo as plântulas estão suscetíveis ao tombamento, também conhecido como *damping off*, causado por algumas espécies de fungos que atacam a região do coleto das plântulas, causando podridões e conseqüentemente tombamento e a morte das mudas (CAROLLO; SANTOS-FILHO, 2016).

Pode ocorrer também o tombamento em pré-emergência, que consiste na infecção das sementes pelo patógeno antes da emergência, o qual pode destruir as estruturas internas e/ou provocar danos ao embrião e afetar negativamente a germinação de sementes e o desenvolvimento normal das plântulas (CRAM; FRAEDRICH, 2009).

O *damping off* é um problema geral de difícil controle, visto que pode ser causado por diversas espécies de fungos atuando em condições climáticas e locais variados (casas de vegetação, campos e viveiros) (LAEMMLEN, 2001; LAMICHHANE et al., 2017). O tratamento de sementes e o cuidado com as mudas antes do transplante são medidas preventivas (LAEMMLEN, 2001).

### 2.2.1 *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary

*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary popularmente conhecido como mofo branco pertence ao reino Fungi, Filo Ascomycota, classe Discomycetes, ordem Helotiales, família Sclerotiniaceae, gênero *Sclerotinia* (BOLTON et al., 2006). É considerado patógeno altamente destrutivo (HEGEDUS; RIMMER, 2005), pois é cosmopolita (PURDY et al., 1979) e ataca mais de 400 espécies de plantas (BOLAND; HALL, 1994). Causa perdas tanto a campo quanto no período de armazenamento em diversas culturas. Por esse motivo, dificilmente é possível o controle total dessa doença, somente maneiras de reduzir o inóculo por meio do manejo integrado, ou seja, garantir a sanidade do campo de produção, rotação de culturas, cobertura do solo, nutrição adequada do solo e das plantas, tratamento de semente, controle biológico e uso de agrotóxicos (SAHARAN; MEHTA, 2007).

Os fungos *Sclerotinia sclerotiorum* liberam seu inóculo no ambiente principalmente por meio dos ascósporos, os quais se rompem em até 72 h após a produção e podem sobreviver até sete meses em condições ambientais adversas (SAHARAN; MEHTA, 2007).

Este patógeno adere-se à planta hospedeira por meio de uma

pressão mecânica exercida sobre a cutícula vegetal, a qual começa a se desintegrar devido a atividade enzimática liberada pelo fungo. A progressão dos sintomas ocorre em caules e folhas jovens, inicialmente há o surgimento de manchas encharcadas que comprometem os tecidos até se tornarem inviáveis e deteriorados, por outro lado, em certos hospedeiros as lesões tem aspecto úmido e notadamente apresentam delimitações entre o tecido saudável e o comprometido, à medida em que o ataque progride há a morte de partes da planta (PURDY et al., 1979). Pode ocorrer ou não a visualização do micélio externamente (EKINS, 1993; BOLTON et al., 2006).

Os esclerócios são estruturas assexuadas de resistência de aspecto duro em que a *Sclerotinia* spp. vive aproximadamente 90% do ciclo e por longos períodos (ADAMS, 1979; EKINS, 1993). Em condições favoráveis eles germinam, podem formar micélios e infectar algum hospedeiro ou produzir apotécios, local em que os ascósporos (esporos) se desenvolvem internamente. Ao serem liberados disseminam-se com o vento e ao entrar em contato com uma superfície suscetível o ciclo se inicia novamente, com ataque a um novo hospedeiro pelo micélio e a formação do esclerócio (ADAMS, 1979).

Ainda não existem métodos de controle 100% eficientes contra o mofo branco, no entanto há redução do inóculo com o uso de cultivares tolerantes, sementes livre da doença, práticas culturais apropriadas e controle químico reduzem a presença do inóculo (FERRAZ CARVALHO et al., 2014).

### 2.2.2 *Rhizoctonia solani* Kühn

*Rhizoctonia solani* Kühn é um patógeno de solo agressivo que infecta diversas espécies de plantas, inclusive o tomateiro, causando os sintomas típicos de damping-off e a mela de *Rhizoctonia* (MELO; FAULL, 2000; GONDAL et al., 2019). A maioria dos fungos deste gênero são cosmopolitas, vivem na forma de microesclerócios em solos agrícolas, não cultivados e florestais, causando prejuízo econômico, embora haja espécies saprófitas e simbióticas (CAO et al., 2004; GONZÁLEZ GARCÍA et al., 2006; HUANG et al., 2012).

O gênero *Rhizoctonia* abrange fungos filamentosos, heterogêneos, que exibem características parecidas quando estão na forma reprodutiva assexuada (anamórfica), no entanto a classificação das espécies ainda está em estágio de

desenvolvimento (GONZÁLEZ GARCÍA et al., 2006).

*Rhizoctonia solani* em condições laboratoriais desenvolve-se entre 25 e 30°C, no entanto apresenta maior severidade em solos úmidos com temperaturas que desfavorecem seu hospedeiro (15 a 18°C) (KUROZAWA; PAVAN, 2005). É capaz de atacar qualquer parte da planta em qualquer estágio fenológico (SAHARAN; MEHTA, 2007). As sementes infectadas não emergem, pois há a destruição e decomposição dos tecidos. Em mudas as lesões ocorrem nas raízes, hipocótilo e coroa por outro lado, o ataque às mudas ocorre, ou seja, em regiões próximas à superfície do solo (SICUIA et al., 2012) e após a introdução do patógeno nos tecidos jovens e tenros da planta hospedeira há formação de lesões de coloração variando de vermelho amarronzada a marrom que rapidamente se expandem tornando-se marrom escuro ou até mesmo negra, por consequência pode haver o anelamento do colo, murchamento e morte (LAMICHHANE et al., 2017).

O controle químico pode ser realizado com pentacloronitrobenzeno (PCNB), clorotalonil, benomil, tiofanato de metila, carboxina, mancozebe, vinclozolina e iprodiona (LAEMMLEN, 2001). No entanto, a adoção de diferentes métodos de controle devem ser combinados: uso de sementes tratadas, cultivares resistentes, rotação de culturas, nutrição, solarização, controle químico, biológico ou a associação de ambos (CAO et al., 2004; LAMICHHANE et al., 2017).

### 2.3 BIOCONTROLE

O aumento da produção de alimentos para suprir a demanda da crescente população mundial é um dos principais desafios do setor agrícola, por isso é necessário reavaliar as estratégias e adequar as técnicas e tecnologias agrícolas tradicionais a um modelo sustentável, que reduza os impactos ambientais ocasionados pelo uso de agrotóxicos, aumentem a produtividade sem acréscimo significativo das áreas agrícolas e reduzam do uso dos recursos naturais sem prejudicar a qualidade dos produtos produzidos (DUKARE et al., 2011; CHAPARRO et al., 2012; KUMAR et al., 2014; KAMAL et al., 2015).

A agricultura depende, em quase sua totalidade, de produtos químicos para controle de pragas e doenças e tem tido bons resultados em diversas culturas de importância comercial (MONFIL; CASAS-FLORES, 2014; PATEL et al., 2014). Nas últimas décadas, o uso intensivo de agrotóxicos tem se intensificado

devido a eficácia e a facilidade de utilização (CAWOY et al., 2011; KAMAL et al., 2015).

O uso desregrado tem causado indução de resistência dos patógenos ao controle químico, além de sérios problemas como a poluição dos solos, rios, lagos e lençóis freáticos, perda da fertilidade do solo, contaminação acidental de trabalhadores, acúmulo de resíduos químicos na cadeia alimentar, toxidez em seres humanos, animais e microrganismos benéficos (CAWOY et al., 2011; BHATTACHARJEE; UTPAL, 2014; KUMAR et al., 2014; MONFIL; CASAS-FLORES, 2014; PATEL et al., 2014; BIRAH et al., 2014).

Nos últimos 20 anos cientistas do mundo todo movidos pela pressão social e interesse de empresas públicas e privadas, estão buscando alternativas fitossanitárias viáveis, seguras e eficazes (BHATTACHARJEE; UTPAL, 2014; MONFIL; CASAS-FLORES, 2014). Uma delas é o controle biológico, ou biocontrole, que consiste em utilizar organismos vivos para minimizar qualquer efeito negativo ou organismo prejudicial ao equilíbrio ambiental à favor do ser humano (SABA et al., 2012), utilizando das interações ecológicas à nível uni e/ou pluricelular (KAMAL et al., 2015).

O controle biológico de doenças de plantas pode ser definido como a interação entre o hospedeiro (planta), fitopatógeno e antagonistas em um determinado ecossistema, sendo influenciados pelo ambiente. De forma que o (s) antagonista (s) tem a capacidade de reduzir a produção de inóculos ou limitar algum processo determinante para a manifestação da doença, tais como infecção, crescimento, desenvolvimento e reprodução (MICHEREFF, 2008).

A denominação agente de biocontrole pode ser usada para organismos microbianos antagonistas capazes de impedir ou suprimir o crescimento de patógenos (KAMAL et al., 2015), além disso podem ativar mecanismos de defesa do hospedeiro e indiretamente melhorar a qualidade das plantas (DUKARE et al., 2011). As formulações comerciais que utilizam esses agentes são chamados de biopesticidas, os quais são uma alternativa viável, sustentável e atóxica (CAWOY et al., 2011; FRAVEL, 2005).

Os diferentes modos de ação dificultam a indução de resistência dos agentes causais de doenças (CAWOY et al., 2011; FRAVEL, 2005) é uma opção para incluir no manejo integrado e reduzir ou até mesmo substituir os agrotóxicos (CARRER FILHO et al., 2009; KAMILOVA, 2013) no cultivo sustentável de tomate

(WALIA et al., 2014). Podem ser utilizados em sementes, mudas e substrato (ANITHA; RABEETH, 2009), aplicados via tratamento de sementes, biopriming, no sulco de semeadura ou pulverização foliar (BHATTACHARJEE; UTPAL, 2014).

Existem formulações à base de bactérias dos gêneros: *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* e *Bacillus* e fungos: *Gliocladium*, *Trichoderma*, *Ampelomyces*, *Candida* e *Coniothyrium* (VINALE et al., 2008).

Embora sejam produtos promissores, sua participação na economia ainda é tímida se comparado aos agrotóxicos, no entanto o registro de bioprodutos para controle de fitopatógenos no Brasil tem apresentado crescimento desde 2008. Foram registrados 54 bioprodutos por 17 empresas nacionais, abrangendo nematicidas, fungicidas e bactericidas, sendo a maioria composta por *Trichoderma* spp. e *Bacillus* spp. (GUIMARÃES et al., 2019).

A ação de alguns bioprodutos parece ser lenta se comparada aos produtos químicos (BORRISS, 2017). Por ser uma tecnologia relativamente nova muitos estudos devem ser conduzidos. Principalmente em relação à compreensão da biologia dos patógenos e inimigos naturais, suas interações ecológicas, efeitos dos fatores ambientais, desenvolvimento de formulações, prolongamento da vida útil dos bioagentes, melhoria dos mecanismos de biocontrole e a conexão entre os resultados dos testes de eficiência em laboratório e a campo (CAWOY et al., 2011; PATEL et al., 2014; KAMAL et al., 2015; WALIA et al., 2014).

Para o progresso da agricultura moderna, a melhoria da microbiota do solo com bactérias benéficas para plantas é a maneira mais produtiva e não invasiva de aumentar a produtividade e a saúde das plantas (FENDRIHAN et al., 2016). A solução seria o desenvolvimento das pesquisas, levando em consideração a segurança ambiental e social, especificidade, praticidade e economia, elaboração de campanhas de marketing e a instrução de técnicos, agrônomos e agricultores (KAMILOVA, 2013; SHARMA et al., 2015).

#### 2.4 TRATAMENTO DE SEMENTES COM BIOPRODUTOS

A utilização de sementes de qualidade com elevadas porcentagens de germinação e o alto vigor permitem que o processo germinativo ocorra de forma rápida, homogênea e o aproveitamento de água, luz e nutrientes seja eficiente, por outro lado, se houver condições desfavoráveis em que a germinação se torne

vagarosa as plântulas estarão sujeitas ao ataque de patógenos e desenvolver com mais dificuldade (BISEN et al., 2014).

A qualidade sanitária das sementes também é fator determinante para alcançar a população de plantas desejada (RAHMAN et al., 2008), assim como o controle das doenças de solo, pois reduzem a germinação e limitam o potencial produtivo da lavoura (BHATTACHARJEE; UTPAL, 2014). Portanto, o uso de sementes tratadas evita perdas de produtividade (BARROS; FURLAN, 2008).

O tratamento de sementes refere-se à adição de agrotóxicos, bioprodutos, hormônios e nutrientes às sementes antes da semeadura (PARISI; MEDINA, 2013) com o objetivo de reduzir ou impedir a ação de patógenos, insetos e nematóides (BIRAH et al., 2014).

É um método acessível, pois representa 0,5 a 1 % do custo de produção, e preciso que pode suprimir ou reduzir os patógenos transmitidos via sementes ou inóculos presentes no solo e proteger as sementes quando as condições ambientais são desfavoráveis ao longo da semeadura e estabelecimento, garantindo germinação e vigor especificados na embalagem de comercialização (GOULART, 2002; MACHADO et al., 2006; PARISI; MEDINA, 2013; BIRAH et al., 2014; SHARMA et al., 2015).

Os bioprodutos foram inicialmente desenvolvidos para aplicação foliar, no entanto resultados de pesquisas verificaram que a utilização no tratamento de sementes contra patógenos de solos é eficiente (KOCH; ROBERTS, 2014), pois os microrganismos antagonistas são aderidos às sementes, local propício para sua atuação (O'CALLAGHAN, 2016).

A microbiolização é uma técnica que se baseia em revestir as sementes com microrganismos antagonistas a fim de controlar patógenos. Esse método influencia positivamente a germinação de sementes e a performance das plântulas (JUNGES et al., 2015). A adoção de mais de uma espécie de microrganismo na mesma formulação, quando compatíveis, têm mostrado resultados positivos (O'CALLAGHAN, 2016).

#### 2.4.1 *Bacillus subtilis*

O biocontrole de fitopatógenos com espécies de bactérias benéficas é uma alternativa economicamente viável (LANNA FILHO et al., 2010). Além disso,

as formulações com esporos de bactérias do gênero *Bacillus* são de fácil manipulação e conservação (FENDRIHAN et al., 2016; SHAFI et al., 2017).

A partir da germinação das sementes o embrião começa a desenvolver o sistema radicular e ao emitir exudatos pelas raízes criam um microambiente seletivo para certos tipos de microrganismos. As bactérias *Bacillus subtilis* são gram-positivas, classificadas no reino Bacteria, filo Firmicutes, beneficiam-se desses ácidos orgânicos e podem colonizar todos os órgãos das plantas (LANNA FILHO et al., 2010; FENDRIHAN et al., 2016; FIRA et al., 2018).

São consideradas agentes de biocontrole eficientes contra vários fitopatógenos (SHAFI et al., 2017) pois protegem as plantas por meio da competição por substrato ou nutrientes, produção de antibióticos (lipopeptídeos, antibióticos e enzimas) e indução de resistência da planta hospedeira (CAWOY et al., 2011; FENDRIHAN et al., 2016; FIRA et al., 2018).

As bactérias promotoras de crescimento, tais como a espécie *B. subtilis* são capazes de sintetizar mais de vinte tipos de antibióticos (STEIN, 2005), atenuar estresses abióticos (KAMILOVA, 2013), promover o crescimento das plantas (SHAFI et al., 2017) devido a disponibilização de nutrientes N, P, K e Fe (SIVASAKTHI, 2014) e a produção de fitohormônios (auxinas e citocininas) (FENDRIHAN et al., 2016). De acordo com os últimos autores, a liberação de hormônios auxilia na germinação de sementes e emergência de plântulas.

A utilização de diferentes espécies de *Bacillus* podem melhorar a capacidade protetiva somente se os agentes biológicos forem compatíveis e equilibradas de forma que nenhuma se sobressaia (SHAFI et al., 2017). Dessa forma, existe potencial para o uso de *B. subtilis*, mas há necessidade de mais pesquisas sobre o assunto. A utilização da tecnologia será essencial para que novas descobertas tenham efeitos diretos sobre a produtividade das culturas por meio de cepas capazes de alterar o microambiente, com benefícios sobre a tolerância aos estresses bióticos e abióticos, melhorar a fertilidade do solo (HASHEM et al., 2019).

#### 2.4.2 *Trichoderma* spp.

Os fungos do gênero *Trichoderma* quando estão no estágio assexual (conídios) pertencem ao reino Fungi, Filo Ascomycota, sub filo Pezizomycotina, classe Sordariomycetes, sub classe Hypocreomycetidae, ordem Hypocreales,

Família Hypocreaceae (INDEX FUNGORUM, 2019).

Atualmente são conhecidas cerca de 90 espécies de fungos do gênero *Trichoderma*, os quais crescem rapidamente e formam conídios de coloração verde, encontrados na maioria dos solos, principalmente agrícolas e florestais (SABA et al., 2012; SANDLE, 2014). Sua eficácia é conhecida desde 1920 (HARMAN, 2006). Exercendo eficiente biocontrole sobre fitopatógenos de solo, tais como fungos, bactérias e alguns invertebrados (VERMA et al., 2007; SCHUSTER; SCHMOLL, 2010), e também patógenos foliares e frutíferos (SHORESH et al., 2010).

Os fungos deste gênero são considerados agentes de biocontrole seguros, pois não tem efeitos nocivos aos seres humanos, animais e organismos benéficos (SABA et al., 2012; ADNAN et al., 2019). Podem ser produzidos à baixo custo e em escala industrial para aplicação por pulverização e imersão (VINALE et al., 2008). As espécies agrícolas mais importantes são: *Trichoderma harzianum*, *T. koningii*, *T. longibrachiatum*, *T. pseudokoningii*, *T. viren* e *T. viride* (GAJERA et al., 2013).

Podem ser micoparasitas, pois à medida em que se estabelecem em um local produzem substâncias responsáveis pela lise da parede celular de outros fungos, exercendo a predação e/ou parasitismo (CAWOY et al., 2011). Além disso, podem ativar diversos mecanismos de controle indireto: competição por espaço e nutrientes, modificação das condições ambientais, produção de enzimas com funções antibióticas e a produção de metabólitos secundários (GAJERA et al., 2013).

Os efeitos positivos dos diferentes metabólitos secundários produzidos por espécies distintas de *Trichoderma* podem ser observados sobre a germinação, crescimento e desenvolvimento de plantas cultivadas, inclusive do tomateiro (SANDLE, 2014).

Os metabólitos secundários ativam a expressão de genes responsáveis pelo estímulo do sistema de defesa vegetal e impulsionam a resistência sistêmica na planta contra microrganismos, amenizam os estresses abióticos pelo fato de promover o crescimento do sistema radicular, atenuam dos estresses oxidativos e fisiológicos (envelhecimento das sementes). Melhoram a disponibilidade, absorção de nutrientes, eficiência fotossintética e aumentam a produtividade (BROTMAN et al., 2010; SHORESH et al., 2010; VINALE, et al., 2012;

NAHER et al., 2014; HIDANGMAYUM; DWIVEDI, 2018).

Na literatura verifica-se resultados animadores quanto à eficácia de espécies isoladas de *Trichoderma* contra *Sclerotinia* e *Rhizoctonia* (ADAMS, 1979; MELO; FAULL, 2000; SHALINI; KOTASTHANE, 2007; ASAD et al., 2014). A espécie *Trichoderma harzianum* produz metabólito conhecido como ácido harziano capaz de inibir o crescimento desses patógenos, induzir a resistência sistêmica e favorecer a germinação de sementes de tomate (VINALE et al., 2014).

Uma das estratégias de controle é o consórcio entre dois isolados compatíveis, os quais tem potencializado a supressão de esclerócios de *Sclerotinia* (SINGH et al., 2014).

### 3 ARTIGO A: Potencial fisiológico de sementes de tomate microbiolizadas com bioprodutos e ação protetora contra fitopatógenos de solo.

#### 3.1 RESUMO

A microbiolização é uma alternativa viável para suprimir os patógenos de solo que entram em contato com as sementes no início do desenvolvimento das plantas, no entanto é necessário buscar estratégias para aprimorar o uso dos bioprodutos sem comprometer o potencial fisiológico das sementes. O trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da microbiolização de bioprodutos contendo *Bacillus subtilis* e *Trichoderma* spp. sobre a germinação, vigor e o potencial protetivo contra *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de tomate. Para a avaliação do potencial fisiológico de sementes adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em fatorial 2x6 (2 cultivares e 6 suspensões). Duas cultivares de tomate: Santa Clara I 5300 e Santa Cruz Kada Paulista foram microbiolizadas com seis suspensões: 1- *Trichoderma harzianum*; 2- *T. harzianum* + *T. asperellum* + *T. koningiopsis*; 3- *Bacillus subtilis*; 4- *B. subtilis* + *T. harzianum*; 5- *B. subtilis* + *T. harzianum* + *T. asperellum* + *T. koningiopsis*; 6- testemunha. O potencial de proteção da microbiolização contra fungos patogênicos foi verificado por meio do teste de germinação das sementes microbiolizadas na presença de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani*. A microbiolização de sementes de tomates 'Santa Clara I 5300' e 'Santa Cruz Kada Paulista' com suspensões contendo *Trichoderma* spp. tiveram melhor desempenho na manutenção do potencial fisiológico das sementes, além de apresentar ação antagonista aos danos causados por *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*. O tratamento *B. subtilis* + *T. harzianum* é eficiente contra *R. solani*, no entanto reduz o potencial fisiológico das sementes na ausência dos fitopatógenos. *Bacillus subtilis* atrasa a germinação, porém visualmente apresenta efeitos protetivos aos fitopatógenos avaliados.

**Palavras-chave:** *Bacillus subtilis*. *Sclerotinia sclerotiorum*. *Solanum lycopersicum* L. *Rhizoctonia solani*. *Trichoderma* spp.

#### 3.2 ABSTRACT

Microbiolization is a viable alternative to suppress soil pathogens that come into contact with seeds at the beginning of plant development, however it is necessary to look for strategies to improve the use of bioproducts without compromising the physiological potential of the seeds. The objective of this work was to evaluate the effects of microbiolization of bioproducts containing *Bacillus subtilis* and *Trichoderma* spp. on germination, vigor and protective potential against *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia sclerotiorum* in tomato seeds. To evaluate the physiological potential of seeds, a completely randomized experimental design in a 2x6 factorial (2 cultivars and 6 suspensions) was adopted. Two tomato cultivars: Santa Clara I 5300 and Santa Cruz Kada Paulista were microbiolized with six suspensions: 1- *Trichoderma harzianum*; 2- *T. harzianum* + *T. asperellum* + *T. koningiopsis*; 3- *Bacillus subtilis*; 4-

*B. subtilis* + *T. harzianum*; 5- *B. subtilis* + *T. harzianum* + *T. asperellum* + *T. koningiopsis*; 6- control. The protection potential of microbiolization against pathogenic fungi was verified through the germination test of microbiolized seeds in the presence of *Sclerotinia sclerotiorum* and *Rhizoctonia solani*. The microbiolization of tomato seeds 'Santa Clara I 5300' and 'Santa Cruz Kada Paulista' with suspensions containing *Trichoderma* spp. had better performance in maintaining the physiological potential of the seeds, in addition to presenting an antagonistic action to the damages caused by *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia sclerotiorum*. The treatment *B. subtilis* + *T. harzianum* is efficient against *R. solani*, however it reduces the physiological potential of the seeds in the absence of phytopathogens. *Bacillus subtilis* delays germination, but visually presents protective effects to the evaluated phytopathogens.

**Key-words:** *Bacillus subtilis*. *Sclerotinia sclerotiorum*. *Solanum lycopersicum*. *Rhizoctonia solani*. *Trichoderma* spp.

### 3.3 INTRODUÇÃO

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) destaca-se por ser uma das hortaliças mais cultivadas e comercializadas no Brasil (FERRAZ CARVALHO et al., 2014). O principal meio de propagação desta espécie é via sementes, por essa razão o emprego de lotes de qualidade, com elevadas porcentagens de germinação e vigor permitem que o processo germinativo ocorra de forma rápida, uniforme e o eficiente aproveitamento de água, luz e nutrientes pelas plântulas. Por outro lado, se houver condições desfavoráveis a germinação torna-se lenta e as plântulas ficam mais tempo suscetíveis ao ataque de fitopatógenos de solo (BISEN et al., 2014).

Assim como em todas as culturas, a produção de tomates enfrenta entraves e uma das medidas necessárias para obtenção de sucesso é o controle das doenças (BAWA, 2016). Estes fitopatógenos provocam perdas econômicas estimadas em 20% em todo mundo (PATEL et al., 2014). O controle das doenças de solo é um fator determinante para alcançar a população de plantas desejada e garantir o potencial produtivo da lavoura (RAHMAN et al., 2008).

Após a germinação das sementes as plântulas estão suscetíveis ao tombamento ou *damping off*, causado por diversas espécies de fungos que atacam a região do colo, causando podridões e conseqüentemente tombamento e a deterioração das mudas (CAROLLO; SANTOS-FILHO, 2016). Além disso, a infecção das sementes antes da emergência provoca danos ao embrião e afeta a germinação e o estabelecimento em campo (CRAM; FRAEDRICH, 2009). Os fungos *Rhizoctonia*

*solani* Kühn e *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary são patógenos de solo agressivos que infectam diversas espécies de plantas, inclusive o tomateiro, causando os sintomas típicos de *damping off* (BOLAND; HALL, 1994; MELO; FAULL, 2000; HEGEDUS; RIMMER, 2005; GONDAL et al., 2019).

Uma das medidas de controle é o tratamento de sementes com agentes biológicos, chamados de bioprotetores, os quais foram inicialmente desenvolvidos para aplicação foliar, no entanto resultados de pesquisas constataram que a utilização no tratamento de sementes contra patógenos de solos é eficiente (KOCH; ROBERTS, 2014).

A microbiolização é uma técnica que se baseia em revestir as sementes com microrganismos antagonistas a fim de suprimir a ação dos fitopatógenos. Esse método influencia positivamente a germinação de sementes e a performance das plântulas (JUNGES et al., 2015). A adoção de mais de uma espécie de microrganismo na mesma formulação, quando compatíveis, têm mostrado efeitos positivos (O'CALLAGHAN, 2016).

As bactérias da espécie *Bacillus subtilis* e fungos antagonistas do gênero *Trichoderma* são microrganismos presentes naturalmente no solo, capazes de agir sobre a germinação de sementes, emergência de plântulas, crescimento e desenvolvimento vegetal, além da proteção contra fitopatógenos por meio da ativação do metabolismo secundário das plantas (SAHARAN; NEHRA, 2011; SANDLE, 2014; FENDRIHAN et al., 2016).

Estudos científicos sobre o tratamento de sementes com abordagens multidisciplinares devem ser realizados a fim de buscar estratégias para aprimorar o uso dos bioprodutos de maneira eficiente e segura. Portanto, o trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da microbiolização de bioprodutos contendo *Bacillus subtilis* e *Trichoderma* spp. sobre a germinação, vigor e o potencial protetivo contra *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de tomate.

### 3.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Sementes do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina. Para avaliação do potencial fisiológico de sementes adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em fatorial 2x6 (2 cultivares e 6 suspensões). Sementes de

tomates ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’, adquiridas comercialmente sem tratamento químico, foram microbiolizadas com seis suspensões provenientes de bioprodutos comerciais : 1 - *Trichoderma harzianum* (1 mL Ecotrich® 10<sup>8</sup> UFC); 2- *T. harzianum* + *T. asperellum* + *T. koningiopsis* (1 mL Blindage T®10<sup>9</sup> UFC); 3- *Bacillus subtilis* ( 1 mL Serenade®10<sup>9</sup> UFC) ; 4- *B. subtilis* (0,5 mL Serenade® 10<sup>9</sup> UFC) + *T. harzianum* (0,5 mL Ecotrich® 10<sup>8</sup> UFC); 5- *B. subtilis* (0,5 mL Serenade® 10<sup>9</sup> UFC) + *T. harzianum* + *T. asperellum* + *T. koningiopsis* (0,5 mL Blindage T®10<sup>9</sup> UFC); 6- testemunha (1 mL de água destilada e esterilizada).

As sementes (1,5 g) foram imersas em hipoclorito de sódio a 1% por 30 segundos, seguida de imersão em álcool 70% pelo mesmo período e por fim três lavagens consecutivas com água destilada e esterilizada (Adaptado de JUNGES et al., 2015), afim de garantir a assepsia. Posteriormente foram dispostas sobre papéis mata borrão esterilizados, à temperatura ambiente, a fim de retirar o excesso de umidade.

A microbiolização foi realizada dentro de recipientes de acrílico assépticos com capacidade para 20 mL. Um mililitro dos tratamentos já mencionados foi adicionado e incorporado a 1,5 g de sementes de tomate, com auxílio de espátulas plásticas descartáveis, até o recobrimento total das sementes. Logo após, foram dispostas sobre folhas de papel mata borrão esterilizados à temperatura ambiente, a fim de retirar o excesso de umidade, por um período de 12h (adaptado de LUZ, 2001).

Os inóculos de *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum* foram obtidos no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Londrina, após incubação por sete dias, no interior de placas de petri contendo meio de batata-dextrose-ágar (BDA) mantidas em germinador do tipo à 25°C e fotoperíodo de 12 h. As sementes foram distribuídas dentro das placas de petri 12 h após a microbiolização e mantidas em germinador do tipo Mangelsdorf à 25 °C por 48h (*R. solani*) e 120 h (*S. sclerotiorum*). O potencial protetivo das suspensões contra o tombamento pré-emergente foi verificado por meio do teste de germinação sobre papel, avaliando-se oito repetições de 50 sementes por tratamento e os resultados apresentados em porcentagem (BRASIL, 2009).

Para avaliar o potencial fisiológico das sementes foram realizadas novamente a assepsia e a microbiolização, conforme mencionado anteriormente. A

germinação foi contabilizada por meio da avaliação de oito repetições de 50 sementes, distribuídas sobre uma folha de papel do tipo mata-borrão (10,5 x 10,5 cm), no interior de caixas plásticas do tipo gerbox (11 x 11 x 3,5 cm), umedecida com água destilada e esterilizada na proporção de 2,5 vezes a massa do papel seco. Todo material foi mantido em germinador regulado com fotoperíodo de 12h e temperaturas alternadas de 20-30°C por 14 dias. A primeira contagem de germinação foi avaliada aos cinco dias após a semeadura por meio da contagem de plântulas normais e os resultados apresentados em porcentagem. A germinação foi computada da mesma maneira, porém no 14º dia (BRASIL, 2009).

Os testes de vigor foram conduzidos simultaneamente ao de germinação, no entanto foram semeadas dez sementes por gerbox, com oito repetições por tratamento. O comprimento das plântulas foi aferido com auxílio de uma régua graduada em centímetros, avaliando-se as plântulas normais aos sete dias após a semeadura. Posteriormente, todo o material foi colocado em sacos de papel e levado a uma estufa de circulação de ar forçado à 80°C por 24 h. A massa seca foi avaliada pela pesagem em balança analítica de precisão, com resultados computados em  $\mu\text{g plântula}^{-1}$  (NAKAGAWA, 1999).

Os dados foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e quanto à homocedasticidade pelo teste de Hartley. Posteriormente, foram submetidos à análise de variância ( $p \leq 0,05$ ). Em caso de significância, as médias dos tratamentos foram analisados pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

### 3.5 RESULTADOS

A tabela 3.5.1 apresenta os valores do quadrado médio referentes à porcentagem de germinação de sementes de tomates ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ microbiolizadas com suspensões contendo *Trichoderma* spp. e/ou *Bacillus subtilis*, com posterior contato com *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Verificou-se interação significativa entre as suspensões e as cultivares quando em contato com ambos fitopatógenos.

**Tabela 3.5.1** - Análise de variância com valores do quadrado médio referentes à porcentagem de germinação de sementes de tomates 'Santa Clara I 5300' e 'Santa Cruz Kada Paulista' microbiolizadas com bioprodutos, com posterior contato com *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Londrina, Paraná, Brasil, 2020.

Fontes de variação	Quadrados médios	
	<i>R. solani</i>	<i>S. sclerotiorum</i>
Suspensões	2702,57**	2764,08**
Cultivares	216,00 <sup>ns</sup>	5612,04**
Suspensões*Cultivares	2748,30**	774,94**
C. V. (%)	24,48	9,92

\*\*Significativo a 1% \*Significativo a 5% ( $p \leq 0,05$ ); <sup>ns</sup> não significativo pelo teste F ( $p > 0,05$ )

As sementes 'Santa Clara I 5300' pertencentes aos tratamentos testemunha e *B. subtilis* + *T. harzianum* ao entrarem em contato com *R. solani* germinaram e apresentaram desempenho superior aos demais. As sementes 'Santa Cruz Kada Paulista' tratadas com suspensões contendo *B. subtilis* + *T. harzianum* e somente *T. harzianum* mostraram-se viáveis à manutenção dessa característica, com exceção da última, que não difere de *B. subtilis* (Tabela 3.5.2).

A microbiolização com *B. subtilis* + *T. harzianum* favoreceu a germinação das sementes de ambas cultivares na presença de *Rhizoctonia solani*. Em contrapartida as suspensões *T. harzianum* + *T. asperellum* + *T. koningiopsis*, *B. subtilis* + *T. harzianum* e testemunha tiveram melhor performance quando em contato com 'Santa Clara I 5300' (Tabela 3.5.2).

A microbiolização com *B. subtilis* resultou em menores porcentagens de germinação em relação aos demais tratamentos independentemente da cultivar, faz-se uma ressalva para as suspensões *B. subtilis* + *T. harzianum* + *T. asperellum* + *T. koningiopsis* e *B. subtilis* + *T. harzianum* que quando em contato com 'Santa Cruz Kada Paulista' também tiveram o pior desempenho (Tabela 3.5.2).

As sementes Santa Cruz Kada Paulista apresentam porcentagens de germinação superiores à Santa Clara I 5300, exceto os tratamentos testemunha e *T. harzianum* que expressam comportamento similar em ambas cultivares (Tabela 3.5.2).

**Tabela 3.5.2** - Interação entre suspensões e cultivares sobre a germinação (G%) de sementes de tomate microbiolizadas com bioprodutos, em contato com *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Londrina, Paraná, Brasil, 2020.

Suspensões	Santa Clara I 5300	Santa Cruz Kada Paulista
	<i>R. solani</i>	
<i>Trichoderma harzianum</i>	22 Cb*	56 ABa
<i>T. harzianum</i> + <i>T. asperellum</i> + <i>T. koningiopsis</i>	29 Ca	19 Cb
<i>Bacillus subtilis</i>	32 BCb	49 Ba
<i>B. subtilis</i> + <i>T. harzianum</i>	43 ABb	68 Aa
<i>B. subtilis</i> + <i>T. harzianum</i> + <i>T. asperellum</i> + <i>T. koningiopsis</i>	30 Ca	9 Cb
Testemunha	46 Aa	18 Cb
C. V. (%)	24,48	
Suspensões	Santa Clara I 5300	Santa Cruz Kada Paulista
	<i>S. sclerotiorum</i>	
<i>Trichoderma harzianum</i>	79 Aa*	84 Aa
<i>T. harzianum</i> + <i>T. asperellum</i> + <i>T. koningiopsis</i>	73 Ab	80 ABa
<i>Bacillus subtilis</i>	37 Cb	67 Ca
<i>B. subtilis</i> + <i>T. harzianum</i>	52 Bb	75 BCa
<i>B. subtilis</i> + <i>T. harzianum</i> + <i>T. asperellum</i> + <i>T. koningiopsis</i>	50 Bb	75 BCa
Testemunha	74 Aa	78 ABa
C. V. (%)	9,92	

\*Médias seguidas de letras maiúsculas distintas diferem entre si nas colunas e minúsculas diferem na linha pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A tabela 3.5.3 apresenta os valores de quadrado médio das variáveis primeira contagem de germinação (PCG), germinação (G%), comprimento de plântulas (CP) e massa seca de plântulas (MSP) de sementes de tomates 'Santa Clara I 5300' e 'Santa Cruz Kada Paulista' microbiolizadas com suspensões contendo *Trichoderma* spp. e/ou *Bacillus subtilis*. Por meio dela, é possível observar que houve interação significativa entre os fatores produto e cultivar para o comprimento de plântulas, por outro lado, as suspensões tiveram influência sobre todas as características analisadas. O comprimento e massa seca de plântulas variaram de acordo com a cultivar.

**Tabela 3.5.3** - Análise de variância com valores do quadrado médio para as variáveis primeira contagem de germinação (PCG), germinação (G), comprimento de plântulas (CP) e massa seca de plântulas (MSP) ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ microbiolizadas com bioprodutos. Londrina, Paraná, Brasil, 2020.

Fontes de variação	Quadrados médios			
	PCG (%)	G (%)	CP (cm)	MSP (µg)
Suspensões	980,94**	186,16*	0,00**	0,00**
Cultivares	301,04 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	0,04*	0,01**
Suspensões*Cultivares	191,14 <sup>ns</sup>	65,01 <sup>ns</sup>	0,00**	0,15 <sup>ns</sup>
C.V. (%)	24,48	11,2	12,81	30,52

\*\*Significativo a 1% \*Significativo a 5% ( $p \leq 0,05$ ); <sup>ns</sup> não significativo pelo teste F ( $p > 0,05$ )

O teste F indicou diferença significativa na fonte de variação suspensão para a variável germinação, no entanto não foi possível distingui-la por meio do teste Tukey à 5% de probabilidade de erro. As sementes microbiolizadas com *B. subtilis* + *T. harzianum* + *T. asperellum* + *T. koningiopsis* e *B. subtilis* reduziram a PCG, por outro lado, as suspensões contendo *T. harzianum* + *T. asperellum* + *T. koningiopsis* e *T. harzianum* apresentaram as maiores PCG não diferindo de *B. subtilis* + *T. harzianum* e da testemunha (Tabela 3.5.4).

**Tabela 3.5.4** - Primeira contagem de germinação de sementes (PCG) de tomates ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ microbiolizadas com diferentes suspensões. Londrina, Paraná, Brasil, 2020.

Suspensões	PCG (%)
<i>Trichoderma harzianum</i>	63 A*
<i>T. harzianum</i> + <i>T. asperellum</i> + <i>T. koningiopsis</i>	56 AB
<i>Bacillus subtilis</i>	40 C
<i>B. subtilis</i> + <i>T. harzianum</i>	51 ABC
<i>B. subtilis</i> + <i>T. harzianum</i> + <i>T. asperellum</i> + <i>T. koningiopsis</i>	49 BC
Testemunha	56 AB

\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

As sementes microbiolizadas com *T. harzianum* + *T. asperellum* + *T. koningiopsis* e *T. harzianum* apresentaram os maiores comprimentos de plântulas da cultivar Santa Clara, no entanto não diferiram da testemunha. A cultivar Santa Cruz apresentou plântulas menores todos os tratamentos em comparação à testemunha (Tabela 3.5.5).

A microbiolização das sementes de tomate com as três espécies de *Trichoderma* potencializou o crescimento de plântulas Santa Clara I 5300 em relação à Santa Cruz. Assim como a aplicação de *Bacillus subtilis* sobre as da cultivar Santa Cruz em comparação a Santa Clara (Tabela 3.5.5).

**Tabela 3.5.5** - Interação entre suspensões e cultivares para a variável comprimento de plântulas (CP) de tomates ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ microbiolizadas com biorprodutos. Londrina, Paraná, Brasil, 2020.

Suspensões	CP (cm)	
	Santa Clara I 5300	Santa Cruz
<i>Trichoderma harzianum</i>	8,1 Ba*	7,4 Ba
<i>T. harzianum</i> + <i>T. asperellum</i> + <i>T. koningiopsis</i>	9,3 Aa	7,6 Bb
<i>Bacillus subtilis</i>	7,1 Bb	8,2 Ba
<i>B. subtilis</i> + <i>T. harzianum</i>	8,5 Ba	7,6 Ba
<i>B. subtilis</i> + <i>T. harzianum</i> + <i>T. asperellum</i> + <i>T. koningiopsis</i>	8,9 Ba	8,2 Ba
Testemunha	9,4 Aa	9,8 Aa

\*Médias seguidas de letras maiúsculas distintas diferem entre si nas colunas e minúsculas diferem na linha pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

As plântulas ‘Santa Clara I 5300’ acumularam maior quantidade de matéria seca se comparadas à ‘Santa Cruz Kada Paulista’. Em relação às suspensões, verifica-se que a microbiolização com *T. harzianum* apresentou melhor desempenho para MSP, em contrapartida houve redução da MSP quando as sementes foram submetidas ao tratamento *B. subtilis* + *T. harzianum* (Tabela 3.5.6).

**Tabela 3.5.6** - Massa seca de plântulas (MSP) de tomates ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ microbiolizadas com bioprodutos. Londrina, Paraná, Brasil, 2020.

Cultivares	MSP (µg)
Santa Clara I 5300	15,84 A*
Santa Cruz Kada Paulista	12,84 B
Suspensões	MSP
<i>Trichoderma harzianum</i>	17,36 A*
<i>T. harzianum</i> + <i>T. asperellum</i> + <i>T. koningiopsis</i>	15,79 AB
<i>Bacillus subtilis</i>	12,40 BC
<i>B. subtilis</i> + <i>T. harzianum</i>	10,99 C
<i>B. subtilis</i> + <i>T. harzianum</i> + <i>T. asperellum</i> + <i>T. koningiopsis</i>	13,68 ABC
Testemunha	14,16 ABC

\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

### 3.6 DISCUSSÃO

A microbiolização de sementes de tomate com *B. subtilis* + *T. harzianum* + *T. asperellum* + *T. koningiopsis* reduziu a primeira contagem de germinação, provavelmente a associação dos metabólitos sintetizados por essas espécies provocaram fitotoxicidade, com efeitos negativos sobre o comprimento de plântulas ‘Santa Cruz Kada Paulista’ e ‘Santa Clara I 5300’. Os tratamentos contendo *B. subtilis* + *T. harzianum* comprometeram o acúmulo de massa seca nas plântulas de tomate. A utilização de *B. subtilis* resultou na redução da primeira contagem de germinação, comprimento e massa seca de plântulas. Em trabalho realizado com sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) microbiolizadas com espécies de *Bacillus* e *Trichoderma*, Sá et al. (2019) verificaram que o percentual germinativo das sementes tratadas com *Bacillus* spp. foi inferior a todos os tratamentos, inclusive à testemunha.

A temperatura e a umidade adequadas para o desenvolvimento de *B. subtilis* favoreceu o crescimento bacteriano e a produção de compostos orgânicos a ponto de reduzir a velocidade de germinação das sementes, pois tanto os fungos do gênero *Trichoderma* quanto as bactérias *B. subtilis* produzem compostos bioativos que atuam na produção de hormônios (LANNA FILHO et al., 2010; VINALE et al., 2012). Os hormônios devem ser sintetizados em baixa concentração para que a atividade seja eficiente e benéfica, por outro lado, quando elevada pode acarretar

efeitos indesejados às plantas, como atraso da germinação (TAIZ et al., 2017, MARCOS-FILHO, 2015). Por esse motivo, o crescimento e o acúmulo massa seca de plântulas pode ter sido prejudicado. No entanto, a maioria dos resultados encontrados na literatura indicam que os metabólitos produzidos por essa espécie de bactéria promovem rápida germinação e estímulo ao crescimento vegetal (LANNA FILHO et al., 2010; ROMAGNA et al., 2019), o que não foi encontrado neste trabalho.

Carvalho et al. (2011) ao investigarem o comportamento de sementes de feijão-comum inoculadas com *T. harzianum* concentração  $10^8$  UFC observaram efeitos negativos sobre o comprimento médio das raízes, identificando a deterioração da raiz pivotante durante a avaliação. Há relatos que *Trichoderma* spp. em condições favoráveis utilizam as sementes como fonte de nutrientes, por consequência ocorre a perda da viabilidade e posteriormente a morte das sementes (JUNGES et al., 2015). Junges et al. (2017) ao estudarem o comportamento de sementes de nabo forrageiro microbiolizadas com *B. subtilis* e *Trichoderma* spp. verificaram o decréscimo da germinação quando utilizada a suspensão contendo os esporos de *Trichoderma*. No presente estudo foram identificadas lesões semelhantes nos tratamentos que continham *Trichoderma* spp. em contato com os fitopatógenos, no entanto, a germinação das sementes ainda foi superior aos demais tratamentos.

Mesmo que diferentes cultivares pertençam a mesma espécie o desempenho de cada uma quando cultivada em determinado ambiente ou exposta a outros tratamentos é resultante de alterações genóticas propiciadas pelo melhoramento genético. Além disso, o potencial fisiológico das sementes podem variar quanto aos lotes em que estão inseridas, mesmo que a porcentagem de germinação seja a mesma é possível perceber alterações nas características relacionadas ao vigor (MARCOS FILHO, 2015). Por esses motivos o comprimento e a massa seca de plântulas Santa Clara I 5300 destacou-se em comparação à Santa Cruz Kada Paulista, provavelmente ser uma cultivar mais moderna e produtiva, derivada da 'Santa Cruz Kada Paulista'. Esses resultados também podem indicar que a primeira cultivar é pouco influenciada por essas estirpes (ROCHA et al., 2017).

A microbiolização e a inoculação com *Trichoderma* ainda apresenta resultados contraditórios na literatura. Romagna et al. (2019) ao testarem *T. harzianum* em sementes de tomate perceberam a redução do comprimento de

plântulas. Por outro lado, Amaral et al. (2014) verificaram aumento da massa fresca em relação à testemunha, porém não houve diferenças significativas em relação ao comprimento de plântulas e massa seca de raiz. Junges et al. (2017) comprovaram que a microbiolização com estirpes de *Trichoderma* spp. e *Bacillus subtilis* promovem o crescimento e desenvolvimento de plântulas. Melhoram o desempenho das plantas e podem conter a ação de fitopatógenos (JUNGES et al., 2015).

Assim como os resultados sem a presença do fitopatógeno, a microbiolização de sementes de tomate com suspensões contendo *B. subtilis* não foram eficientes quando em contato com *S. sclerotiorum*, pelo fato de reduzir a porcentagem de germinação, em oposição todos os tratamentos que continham somente *Trichoderma* spp. tiveram melhor desempenho.

*Trichoderma* spp. são capazes de inibir o crescimento micelial de fungos por meio da produção de compostos não voláteis, a ação antagonista ocorre com maior eficiência em temperaturas entre 22 a 30°C (FIPKE et al., 2015). A maioria das espécies, inclusive *T. harzianum* e *T. asperellum* sintetizam metabólitos, tais como b-1,3-glucanase, NAGase, quitinase, fosfatase ácida, proteases ácidas e alginato-liase, que prejudicam o crescimento e desenvolvimento dos fitopatógenos (QUALHATO et al., 2013). Esses compostos conferem caráter agressivo contra outras espécies, desde que fornecidas condições apropriadas de desenvolvimento (MILANESI et al., 2013).

Em oposição ao baixo desempenho germinativo da microbiolização com suspensão contendo *B. subtilis* + *T. harzianum* na presença de *S. sclerotiorum*, a germinação das sementes de tomate microbiolizadas com o tratamento mencionado foi maior quando em contato com o fitopatógeno *R. solani*.

Esse resultado sugere que o nível da atividade antagônica de *Trichoderma* seja variável de acordo com a espécie do fitopatógeno (QUALHATO et al., 2013). Os mesmos pesquisadores identificaram que *T. harzianum* e *T. asperellum* são antagonistas eficazes contra *S. sclerotiorum*, *F. solani* e *R. solani*, corroborando as informações obtidas no presente trabalho.

### 3.7 CONCLUSÕES

A microbiolização de sementes de tomates 'Santa Clara I 5300' e 'Santa Cruz Kada Paulista' com suspensões contendo *Trichoderma* spp. tiveram

melhor desempenho na manutenção do potencial fisiológico das sementes, além de apresentar ação antagonista aos danos causados por *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*. O tratamento *B. subtilis* + *T. harzianum* é eficiente contra *R. solani*, no entanto reduz o potencial fisiológico das sementes na ausência dos fitopatógenos. *Bacillus subtilis* atrasa a germinação, porém visualmente apresenta efeitos protetivos aos fitopatógenos avaliados.

#### 4 ARTIGO B: Qualidade de frutos de tomateiros tratados com bioprodutos à base de *Trichoderma* spp. e *Bacillus subtilis*.

##### 4.1 RESUMO

Os bioprodutos à base de bactérias promotoras de crescimento *Bacillus subtilis* e fungos do gênero *Trichoderma* spp. apresentam ação antagonista a patógenos e melhoram o desempenho das plantas. A ação dos microrganismos pode ser influenciada pelo tipo de solo de cultivo com consequências sobre a qualidade dos frutos produzidos. O objetivo do trabalho foi verificar os impactos da microbiolização e aplicação via solo de bioprodutos à base de *Trichoderma* spp. e *Bacillus subtilis* sobre a qualidade físico-química de tomates produzidos em solos argiloso e arenoso. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado em fatorial 2x4x2 (2 cultivares, 4 suspensões e 2 tipos de solo), com oito repetições por tratamento. Sementes de duas cultivares (Santa Clara I 5300 e Santa Cruz Kada Paulista) foram microbiolizadas com formulações comerciais diluídas (suspensões com 10<sup>8</sup> UFC) contendo estirpes de *Trichoderma harzianum* (Ecotrich®); *T. harzianum*, *T. asperellum* e *T. koningiopsis* (Blindage T®), *Bacillus subtilis* (Serenade®) e testemunha (água destilada e esterilizada), e semeadas em bandejas plásticas. Quando estavam prontas para o transplante as mudas foram transferidas para vasos contendo dois tipos de solo (argiloso e arenoso), com posterior inoculação dos solos. Na maturação dos frutos, dois tomates por planta foram colhidos e à partir deles determinadas as características físicas e químicas dos frutos: massa fresca dos frutos (MF), diâmetros longitudinal (DL) e transversal (DT), sólidos solúveis totais (SST), acidez titulável (AT) e potencial hidrogeniônico (pH). O tipo de solo, as suspensões e as cultivares tiveram influência sobre as características físico-químicas dos tomates. O tipo de solo alterou o formato, porém não influenciou a massa fresca. ‘Santa Cruz Kada Paulista’ apresenta maior sensibilidade às suspensões. Houve a redução da massa fresca e da relação SST/AT de tomates ‘Santa Cruz Kada Paulista’ quando em contato com *Trichoderma* spp.

**Palavras-chave:** *Bacillus subtilis*. Qualidade físico-química de tomates. *Trichoderma* spp.

##### 4.2 ABSTRACT

Bioproducts based on *Bacillus subtilis* growth-promoting bacteria and fungi of the genus *Trichoderma* spp. present antagonistic action to pathogens and improve plant performance. The action of microorganisms can be influenced by the type of cultivated soil with consequences on the quality of the fruits produced. The objective of the work was to verify the impacts of microbiolization and application via soil of bioproducts based on *Trichoderma* spp. and *Bacillus subtilis* on the physicochemical quality of tomatoes produced in clayey and sandy soils. A completely randomized 2x4x2 factorial design (2 cultivars, 4 suspensions and 2 types of soil) was adopted, with eight replicates per treatment. Seeds from two cultivars (Santa Clara I 5300 and

Santa Cruz Kada Paulista) were microbiolized with diluted commercial formulations (suspensions with  $10^8$  CFU) containing strains of *Trichoderma harzianum* (Ecotrich®); *T. harzianum*, *T. asperellum* and *T. koningiopsis* (Blindage T®), *Bacillus subtilis* (Serenade®) and control (distilled and sterile water), and sown in plastic trays. When they were ready for transplanting, the seedlings were transferred to pots containing two types of soil (clayey and sandy), with subsequent soil inoculation. In the ripening of the fruits, two tomatoes per plant were harvested and from them the physical and chemical characteristics of the fruits were determined: fresh weight of the fruits (MF), longitudinal (DL) and transversal (DT) diameters, total soluble solids (SST), titratable acidity (AT) and hydrogenionic potential (pH). The type of soil, suspensions and cultivars had an influence on the physicochemical characteristics of tomatoes. The type of soil changed the shape, but did not influence the fresh mass. 'Santa Cruz Kada Paulista' is more sensitive to suspensions. There was a reduction in the fresh weight and the SST/AT ratio of 'Santa Cruz Kada Paulista' tomatoes when in contact with *Trichoderma* spp.

**Key-words:** *Bacillus subtilis*. Tomatoes' physicochemical quality. *Trichoderma* spp.

#### 4.3 INTRODUÇÃO

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é cultivado em todos os continentes (STEVENS; WARE, 2018), é a segunda hortaliça mais consumida no mundo (VILLANUEVA, 2018), está presente na dieta da população (GASTÉLUM-BARRIOS et al., 2011), pois é ofertado aos consumidores a um preço acessível em algumas épocas, beneficiando todas as classes sociais (ABREU; BARCELOS, 2012).

O aumento da população mundial demanda a produção eficiente de alimentos e é um dos principais desafios do setor agrícola, por isso é necessário reavaliar as estratégias e adequar as técnicas e tecnologias agrícolas tradicionais a um modelo sustentável, que reduza os impactos ambientais ocasionados pelo uso de agrotóxicos, aumentem a produtividade sem acréscimo significativo das áreas agrícolas e reduzam o uso dos recursos naturais sem prejudicar a qualidade dos produtos (DUKARE et al., 2011; CHAPARRO et al., 2012; KUMAR et al., 2014; KAMAL et al., 2015).

Nos últimos 20 anos cientistas do mundo todo, movidos pela pressão social e interesse de empresas públicas e privadas, estão buscando alternativas fitossanitárias viáveis, seguras e eficazes (BHATTACHARJEE; UTPAL, 2014; MONFIL; CASAS-FLORES, 2014). Uma delas é o controle biológico, ou biocontrole, que consiste em utilizar organismos vivos para minimizar o efeito

negativo ou organismo prejudicial ao equilíbrio ambiental à favor do ser humano (SABA et al., 2012).

Os agentes de biocontrole são microrganismos antagonistas capazes de impedir ou suprimir o crescimento de patógenos (KAMAL et al., 2015), além disso podem ativar mecanismos de defesa do hospedeiro e indiretamente melhorar a qualidade das plantas (DUKARE et al., 2011). As formulações comerciais que utilizam esses agentes são chamados de biopesticidas, os quais são uma alternativa viável, sustentável e atóxica (CAWOY et al., 2011; FRAVEL, 2005).

A rizobactéria promotora de crescimento *Bacillus subtilis* e as espécies de fungos do gênero *Trichoderma* spp. são considerados agentes de biocontrole e utilizados como bioprodutos, pelo fato de promoverem a ativação do sistema de defesa vegetal (CHOWDAPPA et al., 2013).

Os metabólitos secundários, produzidos pelas plantas ao entrarem em contato com esses microrganismos, ativam a expressão de genes responsáveis pelo estímulo do sistema de defesa e impulsionam a resistência sistêmica, amenizam os estresses abióticos pelo fato de promover o crescimento do sistema radicular, atenuação dos estresses oxidativos e fisiológicos (envelhecimento das sementes), melhoram a disponibilidade, absorção de nutrientes, eficiência fotossintética e aumentam a produtividade (BROTMAN et al., 2010; SHORESH et al., 2010; VINALE, et al., 2012; NAHER et al., 2014; HIDANGMAYUM; DWIVEDI, 2018).

Os efeitos dos tratamentos com bioprodutos variam de acordo com a espécie e cultivar, mas podem potencializar a formação e desenvolvimento de frutos e melhorar a qualidade (KARAKUT; ASLANTAS, 2010). Pirlak e Köse (2009) em estudo sobre a inoculação de bactérias promotoras de crescimento via solo em morangos verificaram aumento de sólidos solúveis, açúcares e conseqüentemente a redução da acidez titulável, além disso, constataram que não há efeitos significativos em relação ao pH e massa fresca dos frutos.

O solo serve como alicerce para o desenvolvimento das plantas, oferece nutrientes e retém a umidade, portanto é um dos inúmeros fatores que afetam a produção agrícola (MAULE et al., 2001). Os diferentes tipos de solo e as densidades influenciam o crescimento, desenvolvimento e o acúmulo de biomassa das raízes e da parte aérea (TRACY et al., 2013) e também os parâmetros de qualidade de frutos (PASCALE et al. 2016).

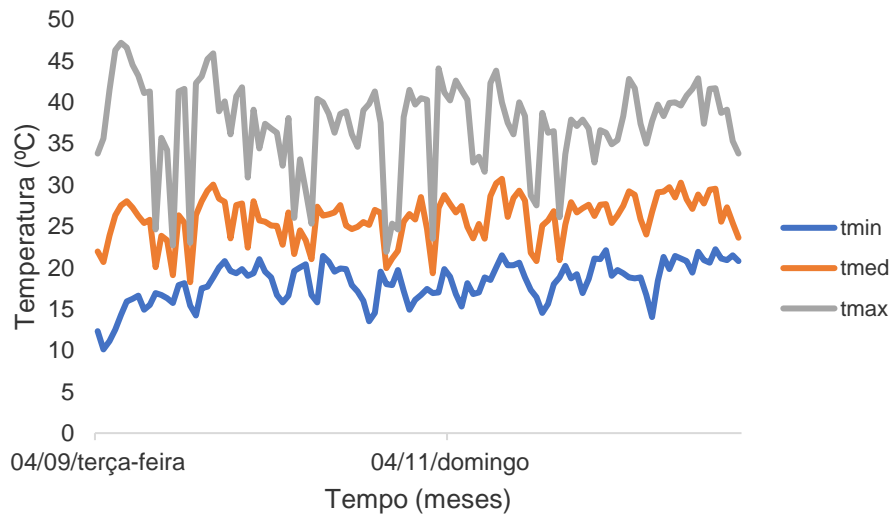
Pascale et al. (2016) em trabalho realizado com diferentes tipos de solo, cultivares, fontes de nitrogênio e irrigação de tomates orgânicos perceberam que os tomateiros cultivados em solos arenosos eram mais produtivos que nos argilosos, por outro lado há maior acúmulo de matéria seca e açúcares (°brix) em tomates produzidos em solos argilosos.

Estudos referentes à influência dos agentes de biocontrole sobre a biologia dos vegetais em diferentes tipos de solo e os efeitos na qualidade de frutos são escassos, porém importantes visto que são organismos seguros ao meio ambiente. Portanto, os objetivos do trabalho foram (i) verificar o efeito do tipo de solo na qualidade físico-química de tomates (ii) verificar os efeitos da microbiolização e aplicação via solo de bioprodutos à base de *Trichoderma* spp. e *Bacillus subtilis* sobre a qualidade físico-química de tomates produzidos em solos argiloso e arenoso.

#### 4.4 MATERIAL E MÉTODOS

O cultivo dos tomateiros foi realizado em casa de vegetação localizada no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina, no período de 4 de setembro a 24 de dezembro de 2018. Os dados de temperatura foram coletados por monitoramento via datalogger portátil HT-500, posicionado no centro da casa de vegetação à 2,5 m de altura do solo, a cada duas horas. As temperaturas (°C) mínima (tmin), média (tmed) e máxima (tmax) do período experimental foram apresentados na figura 4.4.1.

**Figura 4.4.1** - Temperaturas (°C) mínima (tmin), média (tmed) e máxima (tmax) ao longo do período experimental. Londrina, Paraná, Brasil, 2020.



Fonte: próprio autor

Amostras da camada superficial de 0 a 20 cm de profundidade de solos pertencentes à Londrina-PR (Nitossolo), correspondendo ao tratamento solo argiloso e Sapopema-PR (Argissolo), correspondendo ao solo arenoso, foram submetidos à análise química, com os resultados apresentados na tabela 4.4.1.

**Tabela 4.4.1** - Resultados da análise química de solos de amostras compostas retiradas da camada superficial (0-20 cm) de solos pertencente a duas localidades: Londrina-PR, Nitossolo (argiloso) e Sapopema-PR, Argissolo (arenoso). Londrina, Paraná, Brasil, 2020.

Solo	pH (CaCl <sub>2</sub> )	Mo g dm <sup>-3</sup>	Ca <sup>2+</sup> .....cmolc dm <sup>-3</sup>	Mg <sup>2+</sup> .....cmolc dm <sup>-3</sup>	K <sup>+</sup> .....cmolc dm <sup>-3</sup>	H+Al	CTC	P .....mg dm <sup>-3</sup>	Cu .....mg dm <sup>-3</sup>	Zn .....mg dm <sup>-3</sup>	Fe .....mg dm <sup>-3</sup>	Mn .....mg dm <sup>-3</sup>	V% %
Argiloso	5,04	31,9	5,3	2,1	0,7	4,6	12,7	25,42	13,72	3,94	102,33	298,57	63,39
Arenoso	4,9	23,4	6,1	3,2	0,1	5,09	14,5	24,50	0,87	1,30	29,54	39,54	64,80

Vasos com capacidade para cinco quilogramas foram preenchidos com solo argiloso e arenoso (64 vasos para cada tipo de solo) e distribuídos aleatoriamente sobre dez bancadas de 2,5 m comprimento, 1 m de largura e 90 cm de altura. Realizou-se a calagem com calcário dolomítico para elevar a saturação de bases para 70% e a adição de nutrientes afim de equiparar os solos.

As sementes de duas cultivares de tomate do grupo Santa Cruz, sem tratamento químico, foram adquiridas da empresa Isla. Inicialmente passaram

por uma assepsia por meio da imersão em hipoclorito de sódio a 1% por 30 segundos, seguida de álcool 70% pelo mesmo período e por fim três lavagens consecutivas com água destilada e esterilizada. Posteriormente, foram secas à temperatura ambiente sobre papéis mata borrão esterilizados (adaptado de JUNGES, et al., 2015).

Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em um fatorial 2x4x2 (2 cultivares, 4 suspensões e 2 tipos de solo), com oito repetições por tratamento. Sementes de tomates ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ foram microbiolizadas com formulações comerciais diluídas ( $10^8$ ) contendo estirpes de *Trichoderma harzianum* (Ecotrich®); *T. harzianum* + *T. asperellum* + *T. koningiopsis* (Blindage T®), *Bacillus subtilis* (Serenade®) e testemunha (água destilada e esterilizada).

A microbiolização das sementes foi realizada dentro de recipientes de plástico assépticos com 3 cm de diâmetro, contendo 1 mL de suspensões de *Trichoderma* spp. (Ecotrich® e Blindage T®) (Tabela 3.4.2) em água destilada e esterilizada na concentração de  $10^8$  UFC/mL, 1 mL de Serenade® (*Bacillus subtilis*) com  $10^9$  UFC/mL e a mesma quantidade de água destilada e esterilizada (testemunha) para 1,5 g de sementes. As sementes foram secas em temperatura ambiente por 12 h sobre papéis mata borrão esterilizados (adaptado de LUZ, 2001).

**Tabela 4.4.2** - Características dos bioprodutos comerciais contendo os microrganismos antagonistas à base de *Trichoderma* spp. e *Bacillus subtilis*.

Tratamento	Espécie	Concentração (células viáveis)	Formulação	Empresa
Ecotrich®	<i>T. harzianum</i>	$1 \times 10^{10}$ UFC/g de produto comercial	Pó molhável	Ballagro
Blindage T®	<i>T. harzianum</i> + <i>T. asperellum</i> + <i>T. koningiopsis</i>	$1 \times 10^{11}$ UFC/mL de produto comercial	Suspensão concentrada	Biosul
Serenade®	<i>B. subtilis</i> linhagem QST 713	$1 \times 10^9$ UFC/ g de ativo (13,68 g/L)	Suspensão concentrada	Bayer

As sementes foram semeadas em bandejas plásticas de 200 células contendo substrato Carolina Soil® (à base de turfa, vermiculita e casca de arroz carbonizada) e mantidas em casa de vegetação à temperatura ambiente e irrigação

diária por 20 dias, posteriormente as mudas foram transplantadas para os vasos contendo dois tipos de solo (argiloso e arenoso), deixando-se apenas uma muda por vaso.

A inoculação do solo iniciou-se uma semana após o transplante das mudas de tomateiro com a aplicação de 10 mL das suspensões ao redor dos caules, após a irrigação dos vasos, no período da manhã, essa operação foi repetida uma vez a cada sete dias, por quatro semanas.

A irrigação foi realizada diariamente de forma manual afim de manter os vasos úmidos. As exigências nutricionais foram sanadas com a aplicação de 5,7 g de 20-5-20 (N-P-K) por dez semanas consecutivas. Soluções à base de piretróide (K-Othrine® sc 25) e sulfato de cobre (Cupro Dimy®) nas doses recomendadas pelos fabricantes foram pulverizadas semanalmente, com intuito de controlar pragas e doenças.

Após a formação dos frutos houve necessidade da aplicação localizada nos tomates com  $\text{CaCl}_2$  e Borax para evitar distúrbios fisiológicos (ALVARENGA, 2013). Além disso, pulverizou-se fertilizante foliar para hortaliças (Forth®) na dose recomendada pelo fabricante, com frequência semanal até a colheita dos frutos.

Coletou-se dois tomates de cada planta, os quais foram identificados e mantidos em câmara fria (10°C) até adquirirem coloração totalmente vermelha. As análises foram realizadas no Laboratório de Análise de Frutas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina (PR).

Foram determinadas as seguintes características físico-químicas: massa fresca de frutos (MF) utilizando-se balança de precisão digital; diâmetro longitudinal (DL) e transversal (DT) aferidos com paquímetro analógico; sólidos solúveis totais (SST) determinado em refratômetro digital de bancada (Modelo DR301-95, Krüss Optronic, Alemanha), com resultados expressos em °Brix (ASSIS et al., 2011).

A determinação da AT e do pH foi realizada por titulação de 10 g de polpa + 10 mL de água destilada com solução padronizada de NaOH 0,1N em titulador potenciométrico digital (Modelo Tritoline Easy, Schott Geräte, Alemanha), adotando-se como ponto final da titulação o  $\text{pH}=8,2$  (ASSIS et al., 2011). Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido cítrico,  $\% \text{ ácido cítrico} = [\text{mL} (\text{NaOH}) * N (\text{NaOH}) * 0,064 / 6] * 100$ .

Os dados foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e quanto à homocedasticidade pelo teste de Hartley. Posteriormente, foram submetidos à análise de variância ( $p \leq 0,05$ ). Em caso de significância, as médias dos tratamentos foram analisados pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

### 3.5 RESULTADOS

A tabela 4.5.1 apresenta os valores do quadrado médio referentes à massa fresca (MF) (g), diâmetros longitudinal (DL) e transversal (DT) de tomates ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ provenientes de sementes microbiolizadas com bioprodutos, com posterior aplicação via solo. Verifica-se interação significativa ( $p < 0,05$ ) entre os fatores: suspensões e cultivares para MF, DT e DL, e suspensões e solos para DL. Isoladamente houve diferença significativa entre cultivares (MF e DL) e solos (DT).

**Tabela 4.5.1** - Quadrados médios referentes às variáveis massa fresca (MF), diâmetro longitudinal (DL) e diâmetro transversal (DT) de tomates ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ provenientes de sementes microbiolizadas com bioprodutos e posterior aplicação das suspensões via solo. Londrina, Paraná, Brasil, 2020.

Fontes de variação	Quadrados médios		
	MF (g)	DL (mm)	DT (mm)
Cultivares	7322,78**	690,43**	7,47 <sup>ns</sup>
Suspensões	211,11 <sup>ns</sup>	15,13 <sup>ns</sup>	10,15 <sup>ns</sup>
Solos	51,30 <sup>ns</sup>	0,98 <sup>ns</sup>	41,17*
Suspensões*Cultivares	719,04*	20,51*	26,37**
Suspensões*Solos	344,12 <sup>ns</sup>	23,14*	13,22 <sup>ns</sup>
Cultivares*Solos	141,33 <sup>ns</sup>	0,08 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>
Suspensões *Cultivares*Solos	718,95 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>
C.V. (%)	12,64	4,62	4,77

\*\*Significativo a 1% \*Significativo a 5% ( $p \leq 0,05$ ); <sup>ns</sup> não significativo pelo teste F ( $p > 0,05$ )

As suspensões contendo *Trichoderma* spp. em solo argiloso reduziram o diâmetro longitudinal, entretanto em arenoso não houve diferença entre os tratamentos. A testemunha apresentou maior DL quando cultivada em solo argiloso (Tabela 4.5.2).

Tomates ‘Santa Clara I 5300’ apresentam maior DL do que ‘Santa Cruz Kada Paulista’ independente das suspensões utilizadas. A inoculação da suspensão contendo as três espécies de *Trichoderma* reduziu o DL de ‘Santa Cruz Paulista’ (Tabela 4.5.2).

**Tabela 4.5.2** - Interação entre os fatores: suspensões e solos e produtos e cultivares sobre a variável diâmetro longitudinal (DL) de tomates provenientes de sementes microbiolizadas com bioprodutos e posterior aplicação das suspensões via solo. Londrina, Paraná, Brasil, 2020.

suspensões	DL (mm)	
	argiloso	arenoso
<i>T. harzianum</i> + <i>T. asperellum</i> + <i>T. koningiopsis</i>	56,63 Ba*	57,19 Aa
<i>Trichoderma harzianum</i>	56,25 Ba	57,06 Aa
<i>B. subtilis</i>	58,56 ABa	57,63 Aa
Testemunha	60,13 Aa	57,69 Ab
suspensões	Santa Clara I 5300	Santa Cruz Paulista
<i>T. harzianum</i> + <i>T. asperellum</i> + <i>T. koningiopsis</i>	60,25 Aa	53,56 Bb
<i>Trichoderma harzianum</i>	59,94 Aa	54,00 ABb
<i>Bacillus subtilis</i>	59,25 Aa	56,38 Ab
Testemunha	59,48 Aa	56,50 Ab

\*Médias seguidas de letras maiúsculas distintas diferem entre si nas colunas e minúsculas diferem na linha pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A microbiolização e a inoculação das suspensões no solo não afetaram o acúmulo da massa fresca de cada cultivar, no entanto os produtos à base de *Trichoderma* promoveram a redução desta característica em tomates ‘Santa Cruz Kada Paulista’ se comparadas à ‘Santa Clara I 5300’ (Tabela 4.5.3).

**Tabela 4.5.3** - Interação entre os fatores suspensões e cultivares sobre a massa fresca (MF) de tomates provenientes de sementes microbiolizadas com bioprodutos e posterior aplicação das suspensões via solo. Londrina, Paraná, Brasil, 2020.

suspensões	MF (g)	
	Santa Clara I 5300	Santa Cruz Paulista
<i>T. harzianum</i> + <i>T. asperellum</i> + <i>T. koningiopsis</i>	127,00 Aa*	102,95 Ab
<i>Trichoderma harzianum</i>	125,70 Aa	103,29 Ab
<i>Bacillus subtilis</i>	123,82 Aa	115,19 Aa
Testemunha	115,81 Aa	109,12 Aa

\*Médias seguidas de letras maiúsculas distintas diferem entre si nas colunas e minúsculas diferem na linha pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Os tomates ‘Santa Clara I 5300’ quando não receberam o tratamento com as suspensões (testemunha) apresentaram diâmetro transversal menor do que ‘Santa Cruz Kada Paulista’, em oposição, quando microbiolizados não foram visualizadas diferenças entre cultivares. O tipo de solo influenciou o diâmetro transversal, de forma que os tomates provenientes de solo arenoso mostraram-se maiores do que o argiloso (Tabela 4.5.4).

**Tabela 4.5.4** - Interação entre suspensões e cultivares e efeito isolado do fator solos sobre a variável diâmetro transversal (DT) de tomates provenientes de sementes microbiolizadas com suspensões contendo microrganismos e posterior aplicação das suspensões via solo. Londrina, Paraná, Brasil, 2020.

Suspensões	DT (mm)	
	Santa Clara I 5300	Santa Cruz Paulista
<i>T. harzianum</i> + <i>T. asperellum</i> + <i>T. koningiopsis</i>	62,38 Aa*	61,88 Aa
<i>Trichoderma harzianum</i>	63,00 Aa	61,44 Aa
<i>Bacillus subtilis</i>	62,19 Aa	64,13 Aa
Testemunha	60,94 Ab	63,50 Aa
Solos	DT	
Argiloso	61,73 B	
Arenoso	62,91 A	

\*Médias seguidas de letras maiúsculas distintas diferem entre si nas colunas e minúsculas diferem na linha pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A tabela 4.5.5 apresenta os valores do quadrado médio referentes ao potencial hidrogeniônico (pH), sólidos solúveis totais (SST), acidez titulável (AT) e razão SST/AT de tomates ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ provenientes de sementes microbiolizadas com bioprodutos, com posterior aplicação via solo. Verifica-se interação significativa ( $p < 0,05$ ) entre os fatores: suspensões e cultivares para razão SST/AT, e suspensões e solos para pH. Isoladamente houve diferença significativa entre cultivares (AT e razão SST/AT) e suspensões (SST). As diferenças entre as médias dos teores de SST foram significativos pelo Teste F ( $p \leq 0,05$ ), porém não perceptíveis pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

**Tabela 4.5.5** - Quadrados médios referentes às variáveis massa fresca (MF), diâmetro longitudinal (DL) e diâmetro transversal (DT) de tomates ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ provenientes de sementes microbiolizadas com bioprodutos e posterior aplicação das suspensões via solo, Londrina, Paraná, Brasil, 2020.

Fontes de variação	Quadrados médios			
	pH	SST (°Brix)	AT (% ácido cítrico)	Razão SST/AT
Cultivares	0,010 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>	0,027 <sup>**</sup>	18,85 <sup>**</sup>
Suspensões	0,046 <sup>ns</sup>	0,48 <sup>*</sup>	0,128 <sup>ns</sup>	9,00 <sup>ns</sup>
Solos	0,007 <sup>ns</sup>	0,56 <sup>ns</sup>	0,003 <sup>ns</sup>	0,053 <sup>ns</sup>
Suspensões*Cultivares	0,022 <sup>ns</sup>	0,28 <sup>ns</sup>	0,001 <sup>ns</sup>	6,74 <sup>*</sup>
Suspensões*Solos	0,116 <sup>**</sup>	0,03 <sup>ns</sup>	0,006 <sup>ns</sup>	4,16 <sup>ns</sup>
Cultivares*Solos	0,001 <sup>ns</sup>	0,88 <sup>ns</sup>	0,000 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>
Suspensões *Cultivares*Solos	0,034 <sup>ns</sup>	0,48 <sup>ns</sup>	0,001 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>
C.V. (%)	3,17	8,1	13,54	14,84

\*\*Significativo a 1% \*Significativo a 5% ( $p \leq 0,05$ ); <sup>ns</sup> não significativo pelo teste F ( $p > 0,05$ )

A suspensão contendo *Trichoderma harzianum* em solo argiloso promoveu o desenvolvimento de tomates menos ácidos (maiores valores pH). Não houve diferenças entre os tratamentos em solo arenoso, porém quando inoculado com *T. harzianum* os frutos apresentaram-se mais ácidos do que no argiloso (Tabela 4.5.5).

Os tomates ‘Santa Cruz Kada Paulista’ apresentam maiores valores de acidez titulável se comparada à Santa Clara I 5300 (Tabela 4.5.6).

**Tabela 4.5.6** - Potencial hidrogeniônico (pH) e acidez titulável (AT) de tomates provenientes de sementes ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ microbiolizadas com biorpodutos e posterior aplicação das suspensões via solo.

Suspensões	pH	
	Argiloso	Arenoso
<i>T. harzianum</i> + <i>T. asperellum</i> + <i>T. koningiopsis</i>	4,05 Ba*	4,13 Aa
<i>Trichoderma harzianum</i>	4,27 Aa	4,08 Ab
<i>Bacillus subtilis</i>	4,15 ABa	4,17 Aa
Testemunha	4,08 Ba	4,14 Aa
Cultivares	AT (% de ácido cítrico)	
Santa Clara I 5300	0,45 B	
Santa Cruz Kada Paulista	0,48 A	

\*Médias seguidas de letras maiúsculas distintas diferem entre si nas colunas e minúsculas diferem na linha pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Não houve diferença significativa entre as suspensões dentro de cada cultivar. O desempenho da maioria das suspensões foi semelhante para ambas cultivares, no entanto o tratamento *T. harzianum* + *T. asperellum* + *T. koningiopsis* apresentou menor relação SST/AT, prejudicando o sabor dos tomates ‘Santa Cruz Kada Paulista’ (Tabela 4.5.7).

**Tabela 4.5.7** – Razão entre os teores de sólidos solúveis totais (SST) e acidez titulável (AT) de tomates provenientes de sementes ‘Santa Clara I 5300’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ microbiolizadas com biorprodutos e posterior aplicação das suspensões via solo, Londrina, Paraná, Brasil, 2020.

Suspensões	Razão SST/AT	
	Santa Clara I 5300	Santa Cruz Kada Paulista
<i>Trichoderma harzianum</i>	10,32 Aa	10,49 Aa
<i>T. harzianum</i> + <i>T. asperellum</i> + <i>T. koningiopsis</i>	11,56 Aa	9,49 Ab
<i>Bacillus subtilis</i>	10,22 Aa	9,69 Aa
Testemunha	10,74 Aa	10,08 Aa

\*Médias seguidas de letras maiúsculas distintas diferem entre si nas colunas e minúsculas diferem na linha pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

#### 4.6 DISCUSSÃO

A qualidade dos frutos de tomate é influenciada por diversos fatores, dentre eles, a disponibilidade de água e o tipo de solo (PATANÈ; CONSENTINO, 2010). A água proveniente da chuva ou irrigação penetra no solo e fica disponível formando um reservatório capaz de garantir a movimentação e a troca de umidade entre os vegetais, superfície do solo e atmosfera permitindo o transporte de água pelas plantas e a solubilidade de nutrientes, fatores essenciais para o crescimento e desenvolvimento dos tomateiros (LEGATES et al., 2010). A porção de água extraível é a que vai determinar a produtividade da cultura, de forma que quanto menor o teor de umidade disponível maior a dificuldade de absorção pelas raízes. Nesta situação, o déficit hídrico torna-se limitante à produção, principalmente se o tempo de duração do estresse for prolongado, pois prejudica a redistribuição de fotoassimilados para os frutos (CARLESSO, 1995; SENEVIRATNE et al., 2010).

A textura é uma propriedade do solo que deve ser levada em

consideração nas ações de manejo pelo fato de interferir sobre o arejamento, retenção de água e disponibilidade de nutrientes (FREITAS et al., 2014). De acordo com Geroy et al. (2011) a retenção de água é influenciada pela textura do solo. Solos arenosos são porosos (maior relação macroporos x microporos) e por isso apresentam baixa retenção de água e nutrientes (permeáveis e drenáveis), por outro lado, as perdas por evapotranspiração são reduzidas. Em contrapartida, os arenosos apresentam características opostas (ARROBAS; PEREIRA, 2009; MOLINE et al., 2013).

As diferenças tornam-se mais pronunciadas quando os tomateiros são submetidos à temperaturas elevadas de cultivo, segundo Montanher e Espíndula (2017) a água apresenta calor específico aproximadamente cinco vezes maior do que o solo, pelo fato dos argilosos reterem mais umidade necessitam de quantidade superior de energia para aquecer a superfície, se comparado a um arenoso, e por isso tendem ser mais amenos.

A massa fresca, formato e o diâmetro longitudinal são parâmetros utilizados para classificar os tomates em lotes homogêneos para a comercialização (CEAGESP, 2000; KOETZ et al., 2010). No presente trabalho foi possível verificar que o solo argiloso favoreceu o aumento do diâmetro longitudinal dos tomates e o arenoso o diâmetro transversal, não havendo diferenças em relação à variável massa fresca. Provavelmente porque os tomateiros foram cultivados com umidade acima da capacidade de campo, disponibilizada em quantidades e momentos adequados, resultando em um bom desenvolvimento.

As cultivares pertencentes ao grupo Santa Cruz: Santa Cruz Kada Paulista e Santa Clara I 5300 apresentam potencial para massa média de frutos de 89 g e 215 g, respectivamente (ALVARENGA et al., 2013). Essa tendência é observada no presente estudo e indicam que os tomates Santa Clara são maiores que Santa Cruz, embora não tenha atingido 200 g.

A umidade do solo promove alterações físico-químicas que afetam o sabor e a qualidade dos tomates e seus subprodutos, há o acréscimo da massa média, tamanho, forma e suculência, em oposição há a redução da acidez e sólidos solúveis totais decorrente da dissolução de açúcares e ácidos presentes nos frutos (BIRHANU; TILAHUN, 2010; OZBAHCE; TARI, 2010; SHIRAHIGE et al., 2010).

Diversas pesquisas tem identificado diferenças entre cultivares em relação ao teor de sólidos solúveis, acidez titulável, pH, razão SS/AT e

cromaticidade (MATTEDI et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2013; ARAÚJO et al., 2014). Mattedi et al. (2011) ao avaliarem 29 genótipos identificaram variações no pH entre 3,78 e 5,09, sólidos solúveis 2,73 e 4,73 °brix, acidez titulável 0,35 e 0,62%, valores semelhantes aos encontrados no presente estudo.

Estudos tem confirmado que as espécies de *Trichoderma* provocam aumento considerável da porcentagem de frutos extragrandes em até 76% e acréscimo de 11% no teor de sólidos solúveis (NZANZA et al., 2011). Jamal Uddin et al. (2016) verificaram variações no comprimento dos frutos entre 46,2 a 57,8 mm, diâmetro 58,2 e 69, 7 mm, massa fresca 95,2 a 132 g por tomate. Os resultados desta pesquisa apontam que a cultivar Santa Cruz Kada Paulista é mais sensível ao uso das suspensões à base de *Trichoderma*, pois houve a redução do diâmetro longitudinal e da massa fresca. O diâmetro longitudinal dos tomates cultivados em solo argiloso foi reduzido com *Trichoderma* spp.

*Trichoderma* spp. ao entrar em contato com as raízes das plantas por meio de sinais químicos e hormonais, favorecem as interações biológicas capazes de penetrar no sistema radicular tanto externa como internamente (MUKHERJEE et al., 2012). Em concentrações acima de  $10^6$  estimulam o metabolismo secundário das plantas a produzir enzimas envolvidas no estresse oxidativo, tais como a peroxidase, ácido salicílico e jasmônico, além da biossíntese de etileno e outros metabólitos envolvidos na fotossíntese, fotorrespiração e metabolismo de carboidratos, o que confere resistência a fatores bióticos e abióticos (SEGARRA et al., 2007). A redistribuição de fotoassimilados para a proteção da planta pode resultar em redução da energia disponível para a produção de frutos (TAIZ et al., 2017).

Além disso, as variações das características físico-químicas entre cultivares são ocasionadas pela diversidade genética, ou seja, cada genótipo responde diferentemente à mesma condição de cultivo (SHIRAHIGE et al., 2010; NASCIMENTO et al., 2013).

Mesmo assim pode ser utilizado como fertilizante biológico em locais com histórico de fitopatógenos, pois além de reduzir a severidade de diversos fitopatógenos, estimula o crescimento radicular, a captação de mais água e nutrientes (JAMAL UDDIN et al., 2016), aumenta a biomassa acumulada na parte aérea, raízes e conseqüentemente o crescimento, desenvolvimento dos tomateiros e o teor nutricional dos frutos devido a produção de metabólitos (NZANZAA et al.,

2011). Por esse motivo pesquisas sobre o desempenho de cultivares devem ser desenvolvidas.

As bactérias *B. subtilis* estimulam o crescimento e o acúmulo de biomassa do sistema radicular, a captação de água e nutrientes torna-se mais eficiente e conseqüentemente há aumento do número de frutos por planta, além disso os tomates produzidos tem suas dimensões aumentadas, ficam maiores e mais pesados, embora o estímulo se inicie nas raízes provavelmente há uma via de sinal que interliga o crescimento, desenvolvimento e maturação dos frutos (MENA-VIOLANTE; OLALDE-PORTUGAL, 2007).

#### 4.7 CONCLUSÕES

O tipo de solo, as suspensões e as cultivares tiveram influência sobre as características físico-químicas dos tomates. O tipo de solo alterou o formato, porém não influenciou a massa fresca. 'Santa Cruz Kada Paulista' apresenta maior sensibilidade às suspensões. Houve a redução da massa fresca e da relação SST/AT de tomates 'Santa Cruz Kada Paulista' quando em contato com *Trichoderma* spp.

## 5 CONCLUSÕES GERAIS

O mercado consumidor tem mudado os padrões de consumo de alimentos e cada vez mais pessoas têm aderido à alimentação saudável, tal fato, associado a preocupação com o meio ambiente tem pressionado a redução do uso de agrotóxicos, essa tendência abrange tanto o cenário nacional quanto o internacional. Produtores rurais, agrônomos, pesquisadores, instituições públicas e privadas são eventualmente confrontados sobre o assunto e como consequência necessitam se reinventar, traçar estratégias e alterar a maneira de produzir os alimentos.

Os fitopatógenos comprometem a sanidade das sementes e plantas de tomate ao longo do ciclo. São capazes de reduzir a germinação, o estande, a produtividade e causar prejuízos econômicos à cadeia produtiva. *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum* são fungos patogênicos que comprometem o desenvolvimento de plântulas devido a infecção da região do caule, ao progredir resulta no tombamento ou *damping off*. Quando a semeadura ocorre em solo ou substrato com altas taxas do inóculo as sementes são atacadas, ocorre a deterioração e posteriormente a perda da viabilidade, por esse motivo prejudicam a germinação das sementes e impedem a emergência das plântulas.

Uma das alternativas economicamente viáveis e ecologicamente corretas para combater os fitopatógenos é a adoção do controle biológico de doenças de plantas, a qual leva em consideração a interação entre os patógenos, hospedeiro e antagonistas sob influência do ambiente.

Cientistas do mundo todo tem descoberto microrganismos antagonistas eficazes afim de reduzir os inóculos de patógenos por meio de diversos mecanismos, tais como, a antibiose, competição, parasitismo, predação e indução de resistência, além da ação promotora de crescimento das plantas. Inúmeras formulações são lançadas no mercado de produtos biológicos, embora exista uma demanda crescente pelos bioprodutos a utilização ainda tem pouca expressão se comparada aos agrotóxicos.

Os fungicidas biológicos podem ser aplicados diretamente no solo, pulverizados sobre o dossel ou por meio da microbiolização de sementes. Em muitas dessas formulações estão presentes os fungos do gênero *Trichoderma* spp. e as bactérias *Bacillus subtilis*, conhecidos pelo potencial de redução de inóculos de

fitopatógenos por meio da produção de metabólitos e a promoção de crescimento vegetal.

Estudos sobre essa temática devem ser realizados, visto que, por tratar-se de microrganismos a eficiência da ação antagonista pode ser variável. Neste trabalho verificou-se que tomates 'Santa Clara I 5300' e 'Santa Cruz Kada Paulista' apresentam respostas diferentes aos tratamentos com bioprodutos, com maior ou menor sensibilidade e potencial protetivo dependendo do genótipo.

A microbiolização de sementes de tomates 'Santa Clara I 5300' e 'Santa Cruz Kada Paulista' com suspensões contendo *Trichoderma* spp. tiveram melhor desempenho na manutenção do potencial fisiológico das sementes, além de apresentar ação antagonista aos danos causados por *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*. O tratamento *B. subtilis* + *T. harzianum* é eficiente contra *R. solani*, no entanto reduz o potencial fisiológico das sementes na ausência dos fitopatógenos. *Bacillus subtilis* atrasa a germinação, porém visualmente apresenta efeitos protetivos aos fitopatógenos avaliados.

O tipo de solo, as suspensões e as cultivares tiveram influência sobre as características físico-químicas dos tomates. O tipo de solo alterou o formato, porém não influenciou a massa fresca. 'Santa Cruz Kada Paulista' apresenta maior sensibilidade às suspensões. Houve a redução da massa fresca e da relação SST/AT de tomates 'Santa Cruz Kada Paulista' quando em contato com *Trichoderma* spp.

Ainda há um longo caminho pela frente em relação a novas descobertas de potenciais antagonistas, dos metabólitos produzidos por eles e sua ação benéfica para as plantas, sobre o modo de aplicação, o manejo levando em consideração especificidade entre culturas, cultivares, tipo de solo, modo de cultivo afim de potencializar a eficiência dos bioprodutos, sem perder o equilíbrio do ecossistema. E o mais importante é que as informações obtidas por meio das pesquisas cheguem ao alcance dos produtores rurais e que a sociedade possa se beneficiar delas.

Mesmo com respostas positivas em relação a utilização de bioprodutos à base de *Bacillus subtilis* e *Trichoderma* spp. mais pesquisas devem ser conduzidas, principalmente aquelas referentes à concentração das suspensões contendo microrganismos capazes reduzir ou suprimir a ação de patógenos em condições de campo, sem perder a qualidade dos frutos produzidos.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, W. C.; BARCELOS, M. F. P. Atividade antioxidante total da polpa de tomate submetida ao processamento térmico doméstico em diferentes tempos. **Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 14, n. 2, p. 71-76, 2012.
- ADAMS, P. B.; AYERS, W. A. Ecology of *Sclerotinia* Species. **Symposium on Sclerotinia**, v. 69, n. 8, p. 896-899, 1979.
- ADNAN, M.; ISLAM, W.; SHABBIR, A.; KHAN, K. A.; GHRAMH, H. A.; HUANG, Z.; CHEN, H. Y. H.; LU, G. D. Plant defense against fungal pathogens by antagonistic fungi with *Trichoderma* in focus. **Microbial Pathogenesis**, London, v. 129, p. 7-18, 2019.
- ALVARENGA, M. A. R. Origem, botânica e descrição da planta. In: ALVARENGA, M. A. R. **Tomate: produção em campo, casa de vegetação e hidroponia**. 2 ed. Lavras: Editora universitária de Lavras, 2013. p. 13-21.
- ALVARENGA, M. A. R.; COELHO, F. S. Exigências climáticas. In: **Tomate: Produção em campo, casa de vegetação e hidroponia**. 2 ed. Lavras: Editora universitária de Lavras, 2013. p. 33-37.
- ALVARENGA, M. A. R.; LIMA, L. A.; FAQUIN, V. PEREIRA, G. M. Irrigação e fertirrigação. In: ALVARENGA, M. A. R. **Tomate: Produção em campo, casa de vegetação e hidroponia**. 2 ed. Lavras: Editora universitária de Lavras, 2013. p.135-180.
- ALVARENGA, M. A. R.; MELO, P. C. T. de; SHIRAHIGE, F. H. Cultivares. In: ALVARENGA, M. A. R. **Tomate: Produção em campo, casa de vegetação e hidroponia**. 2 ed. Lavras: Editora universitária de Lavras, 2013. p. 41-62.
- ANITHA, A.; RABEETH, M. Control of fusarium wilt of tomato by bioformulation of streptomyces griseus in green house condition. **African Journal of Basic & Applied Sciences**, Deira, v. 1, n. 1-2, p. 9-14, 2009.
- ANTONIOLLI, L. R.; CASTRO, P. R. C. Tomateiro. In: CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; SESTARI, I. **Manual de Fisiologia Vegetal: Fisiologia de cultivos**. Piracicaba: Editora Agronômica Ceres, 2008. p. 748-762.
- AMARAL, F. L.; AZEVEDO, D. M. Q.; SILVA, J. G.; GUIMARÃES, T. T. D.; COSTA, C. A.; ROCHA, F. S. Influência de *Trichoderma* sp. no desenvolvimento de tomateiro cultivado em casa de vegetação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 2, p. S1201 – S1205, jul. 2014.
- ARROBAS, M.; PEREIRA, E. Preparação do solo. In: AZEVEDO, J. C.; GONÇALVES, A. **Manual de boas práticas em espaços verdes**. 1 ed. Bragança: Escola Tipografica – Bragança, 2009. p. 23-28.
- ASAD, S. A.; ALI, N.; HAMEED, A.; KHAN, S. A.; AHMAD, R.; BILAL, M; SHAHZAD,

M.; TABASSUM, A. Biocontrol efficacy of different isolates of *Trichoderma* against soil borne pathogen *Rhizoctonia solani*. **Polish Journal of Microbiology**, Warsaw, v. 63, n. 1, p. 95-103, 2014.

ASSIS, A. M.; YAMAMOTO, L. Y.; SOUZA, F. S. de; BORGES, R. de S.; ROBERTO, S. R. Evolução da maturação e características físico-químicas e produtivas das videiras 'BRS Carmem' e 'Isabel'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, edição especial, p. 493-498, out. 2011.

BAI, Y.; LINDHOUT, P. Domestication and breeding of tomatoes: What have we gained and what can we gain in the future? **Annals of Botany**, Oxônia, v. 100, p. 1085-1094, 2007.

BARROS, B. C.; FURLAN, S. H. Efeito do tratamento fungicida e da profundidade de semeadura no controle de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de trigo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 75, n. 4, p.4 99-505, out. dez. 2008.

BAKIR, S.; KAMILOGLU, S.; TOMAS, M.; CAPANOGLU, E. Tomato polyphenolics: putative applications to health and disease. In: WATSON, R. R.; PREEDY, V. R.; ZIBADI, S. **Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease**. 2 ed. Cambridge: Academic Press 2018. p. 93-102.

BAWA, I. Management strategies of *Fusarium* wilt disease of tomato incited by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.): A review. **International Journal of Advanced Academic Research Sciences**, v. 2, n. 5, p. 32-42, 2016.

BIRAH, A.; BHAGAT, S.; TANWAR, R. K.; CHATTOPADHYAY, C. Seed treatment in crop health management. **SATSA Mukhapatra Annual Technical**, v. 18, p. 15-26, 2014.

BIRHANU, K.; TILAHUN K. Fruit yield and quality of drip-irrigated tomato under deficit irrigation. **African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development**, v. 10, n. 2, p. 2139-2151, fev. 2010.

BISEN, K.; KESWANI, C.; MISHRA, S.; SAXENA, A. RAKSHIT, A.; SINGH, H. B. Unrealized potential of seed biopriming for versatile agriculture. In: RAKSHIT, A.; SEN, A. **Nutrient Use Efficiency: from Basics to Advances**. Nova York: Springer, 2014. p. 193-206.

BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*, **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 16, n. 2, p. 93-108, 1994.

BHATTACHARJEE, R.; UTPAL, D. An overview of fungal and bacterial biopesticides to control plant pathogens/diseases. **African Journal of Microbiology Research**, Pietermaritzburg, v. 8, n. 17, p. 1749-1762, Abr. 2014.

BLANCA, J.; CAÑIZARES, J.; CORDERO, L.; PASCUAL, L.; DIEZ, M. J.; NUEZ, L. Variation revealed by SNP genotyping and morphology provides insight into the origin of the tomato. **Plos one**, San Francisco, v. 7, n. 10, p. 1-17, out. 2012.

BOLTON, M. D.; THOMMA, B. P. H. J.; NELSON, B. D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: Biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, Hoboken, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2006.

BORISS, R. Plant growth promoting bacteria-early investigations, present state and future prospects. **International Journal of Plant Research**, Rosemead, v. 30, n. especial, p. 211-215, Jun. 2017. DOI: 10.5958/2229-4473.2017.00064.7

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análises de sementes**. Brasília: MAPA/SDA/ACS, 2009. 399 p.

BROTMAN, Y.; KAPUGANTI, G., J.; VITERBO, A. *Trichoderma*. **Current Biology**, Cambridge, v. 20, n. 9, p. R390-R391, 2010.

CAO, L.; QIU, Z.; YOU, J.; TAN, H.; ZHOU, S. Isolation and characterization of endophytic *Streptomyces* strains from surface-sterilized tomato (*Lycopersicon esculentum*) roots. **Letters in Applied Microbiology**, Hoboken, v. 39, p. 425-430, 2004.

CARLESSO, R. Absorção de água pelas plantas: água disponível versus extraível e a produtividade das culturas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 25, n.1, p. 183-188, 1995.

CAROLLO, E. M.; SANTOS-FILHO, H. P. **Manual Básico de Técnicas Fitopatológicas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura BA, 2016.

CARRER FILHO, R.; ROMEIRO, R. S.; AMARAL, L. S.; GARCIA, F. A. O. Potencialidade de um actinomiceto de rizosfera de tomateiro como agente de biocontrole de doenças. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27 p. 340-344, 2009.

CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C.M.; LOBO JUNIOR, M.; SILVA, M. C. Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. phaseoli *in vitro* e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, Berlin, v. 36, n. 1, p. 028-034, jan./fev. 2011.

CAWOY, H.; BETTIOL, W.; FICKERS, P.; ONGENA, M. *Bacillus*-based biological control of plant diseases. IN: STOYTICHEVA, M. **Pesticides in the Modern World**. Rijeka: Intec, 2011. p. 273-302.

CEAGESP. Programa Brasileiro para Modernização da Horticultura. 2000. **Normas de Classificação do Tomate**. Centro de Qualidade em Horticultura. CQH/CEAGESP. São Paulo: (CQH. Documentos 26).

CHAPARRO, J. M.; SHEFLIN, A. M.; MANTER, D. K.; VIVANCO, J. M. Manipulating the soil microbiome to increase soil health and plant fertility. **Biology and Fertility of Soils**, Nova York, v. 48, p. 489-499, 2012.

CHENG, H. M.; KOUTSIDIS, G.; LODGE, J. K.; ASHOR, A.; SIERVO, M.; LARA, J. Tomato and lycopene supplementation and cardiovascular risk factors: A systematic review and meta-analysis. **Atherosclerosis**, Amsterdã, v. 257, p. 100-108, 2017.

- CHOWDAPPA, P.; MOHAN KUMAR, S. P.; JYOTHI LAKSHMI, M.; UPRETI, K. K. Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. **Biological Control**, Amsterdã, v. 65, n. 1, p. 109–117, abr. 2013.
- CRAM, M. M.; FRAEDRICH, S. W. Seed diseases and seedborne pathogens of North America. **Tree Planters' Notes**, Washington, v. 3, n. 2, p. 35-44, jan. 2009.
- DUKARE, A. S.; PRASANNA, R.; DUBEY, S. C.; CHAUDHARY, V. SINGH, R.; SAXENA, A. K. Evaluating novel microbe amended composts as biocontrol agents in tomato. **Crop Protection**, Amsterdã, n. 30, p. 436-442, 2011.
- FAOSTAT- **Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics**. 2019. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>> Acesso em: 3 jul. 2019.
- FENDRIHAN, S.; CONSTANTINESCU, F.; SICUIA, O. A.; DINU, S. Beneficial *Bacillus* strains improve plant resistance to phytopathogens: A review. **International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology**, Japuir, v. 1, n. 2, p. 137-142, 2016.
- FERRAZ CARVALHO, C. R.; PONCIANO, N. J.; DE SOUZA, P. M.; MELO DE SOUZA, C. L.; FERNANDES DE SOUSA, E. Viabilidade econômica e de risco da produção de tomate no município de Cambuci/RJ, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 12, p. 2293-2299, dez. 2014.
- FIPKE, G. M.; PAZINI, J. B.; ETHUR, L. Z. Antagonismo de isolados de *Trichoderma* spp. ao *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes temperaturas. **Magistra**, Cruz das Almas BA, v. 27, n.1, p. 23-32, jan./mar. 2015.
- FIRA, D.; DIMKIĆ, I.; BERIĆ, T.; LOZO, J.; STANKOVIĆ, S. Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species. **Journal of Biotechnology**, Amsterdã, v. 10, n. 285, p. 44-55, 2018.
- FOOLAD, M. R. Genome mapping and molecular breeding of tomato. **International Journal of Plant Genomics**, Londres, v. 2007, n. 64358, p. 1-52, 2007.
- FRAVEL, D. R. Commercialization and implementation of biocontrol. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 43, p. 337-59, 2005.
- FREITAS, L.; CASAGRANDE, J. C.; OLIVEIRA, I. A.; CAMPOS, M. C. C. Análise multivariada na avaliação de atributos de solos com diferentes texturas cultivados com cana-de-açúcar. **Revista de Ciências Agrárias - Amazonian Journal of Agricultural and Environment Sciences**, Belém, v. 57, n. 3, jul./set. 2014.
- FRIEDMAN, M. Anticarcinogenic, cardioprotective, and other health benefits of tomato compounds lycopene,  $\alpha$ -tomatine, and tomatidine in pure form and in fresh and processed tomatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 61, n. 40, p. 9534–9550, 2013.

GAJERA, H.; DOMADIYA, R.; PATEL, S.; KAPOPARA, M.; GOLAKIYA, B. Molecular mechanism of *Trichoderma* as bio-control agents against phytopathogen system – a review. **Current Research in Microbiology and Biotechnology**, [S.l.], v. 1, n. 4, p. 133-142, 2013.

GASTÉLUM-BARRIOS, A.; BÓRQUEZ-LÓPEZ, R. A.; RICO-GARCÍA, E.; TOLEDANO-AYALA, M.; SOTO-ZARAZÚA, G. M. Tomato quality evaluation with image processing: A review. **African Journal of Agricultural Research**, Nairobi, v. 6, n. 14, p. 3333-3339, jul. 2011.

GEBREMARIAM, G. Tuta absoluta: A global looming challenge in tomato production, review paper. **Journal of Biology, Agriculture and Healthcare**, New York, v. 5, n. 14, p. 57-62, 2015.

GEROY, I. J.; GRIBB, M. M.; MARSHALL, H. P.; CHANDLER, D. G.; BENNER, S. G.; MCNAMARA, J. P. Aspect influences on soil water retention and storage. **Hydrological Processes**, Hoboken, v. 25, n. 25, p. 3836-3842, 2011.

GERSZBERG, A.; HNATUSZKO-KONKA, K.; KOWALCZYK, T.; KONONOWICZ, A. K. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in the service of biotechnology. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 120, p. 881-902, 2015.

GIOVANNUCCI, E. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: Review of the epidemiologic literature. **Journal of the National Cancer Institute**, Oxônia, v. 91, n. 4, 1999.

GONDAL, A. S.; RAUF, A.; NAZ, F. Anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* associated with tomato foot rot in Pothohar Region of Pakistan. **Scientific Reports**, London, v. 9, n. 3910, p. 1-12, 2019. DOI:10.1038/s41598-019-40043-5

GONZÁLEZ GARCÍA, V.; ONCO, M. A. P.; SUSAN, V. R. Review. Biology and systematics of the form genus *Rhizoctonia*. **Spanish Journal of Agricultural Research**, Madrid, v. 4, n. 1, p. 55-79, 2006.

GONZÁLEZ, M.; CID, M. C.; LOBO, M. G. Usage of tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.) seeds in health. In: PREEDY, V. R.; PATEL, V. B.; WATSON, R. R. **Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention**. Cambridge: Academic Press, 2011. p. 1123-1132.

GOULART, A. C. P. **Tratamento de sementes de soja com fungicidas: recomendações técnicas**. Dourados: Embrapa-CPAO, nov. 2002. Disponível em:<<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/241130/1/CT898.pdf>>. Acesso em: 4 jul. 2019.

GUIMARÃES, R. A.; SILVA, J. C. P.; MEDEIROS, F. H. V. Capítulo 13 - Mercado de produtos biológicos: uma visão atual da aplicação no território brasileiro. In: XIX International Symposium on Plant Disease Management Plant Health in Tropical Agribusiness: The Numbers of the Giant. **Anais...** Lavras: UFLA, 2019, p. 162-170.

HASHEM, A.; TABASSUM, B.; ABD\_ALLAH, E. F. *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26 , n. 9, p. 1291-1297, set. 2019.

HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 96, p. 190-194, 2006.

HEGEDUS, D. D.; RIMMER, S. R. *Sclerotinia sclerotiorum*: When “to be or not to be” a pathogen? **FEMS Microbiology Letters**, Oxônia, v, 251, p. 177–184, 2005.

HIDANGMAYUM, A.; DWIVEDI, P. Plant responses to *Trichoderma* spp. and their tolerance to abiotic stresses: A review. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, Bangladesh, v. 7, n. 1, p. 758-766, 2018.

HORTIFRUTI BRASIL. **Anuário 2018/2019-Retrospectiva 2018 e Perspectiva 2019**. Disponível em: <<https://www.hfbrasil.org.br/br/revista/acessar/completo/anuario-2018-2019.aspx>>. Acesso em: 9 jul. 2019.

HUANG, X.; ZHANG, N.; YONG, X.; YANG, X. ; SHEN, Q. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off disease in cucumber with *Bacillus pumilus* SQR-N43. **Microbiological Research**, Amsterdã, v. 167 p. 135-143, 2012.

INDEX FUNGORUM. Disponível em: <[www.indexfungorum.org](http://www.indexfungorum.org)>. Acesso em: 15 jul. 2019.

JAMAL UDDIN, A. F. M.; AHMAD, H.; HASAN, M. R.; MAHBUBA, S.; RONI, M. Z. K. Effects of *Trichoderma* spp. on growth and yield characters of Bari tomato-14. **International Journal of Business, Social and Scientific Research**, Raipur, v. 4, n. 2, p. 117-122, jan./mar. 2016.

JUNGES, E.; MUNIZ, M. F. B.; BASTOS, B. O.; OROUSKI, P. Biopriming in bean seeds. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil & Plant Science**, v. 66, n. 3, p. 1-8, set. 2015.

JUNGES, E.; MUNIZ, M. F. B.; BASTOS, B. O.; ORUOSKI, P.; MICHELON, C. J. Techniques microbiolization seed forage radishwith *Trichoderma* spp. and *Bacillus subtilis*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 12, n. 2, p.135-141, 2017.

KAMAL, R.; GUSAIN, Y. S.; KUMAR, V.; SHARMA, A. K. Disease management through biological control agents: An eco-friendly and cost effective approach for sustainable agriculture - A Review. **Agricultural Review**, Raleigh, v. 36, n. 1, p. 37-45, 2015.

KAMILOVA, F.; BRUYNE, R. Plant growth promoting microorganisms: The road from na academically promising result to a commercial product. In: BRUIJN, F. J. **Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere**, 2<sup>a</sup> ed. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2013. p. 677-686.

KARAKURT, H.; ASLANTAS, R. Effects of some plant growth promoting rhizobacteria treated twice on flower thinning, fruit set and fruit properties on apple. **African Journal of Agricultural Research**, Nairobi, v. 5, n. 5, p. 384-388, mar. 2010.

KIMURA, S.; SINHA, N. Tomato (*Solanum lycopersicum*): A model fruit-bearing crop. **Cold Spring Harb Protocols**, [S.l.] v. 3, n. 11, p. 1-9, 2008.

KOCH, E.; ROBERTS, S. J. Non-chemical Seed Treatment in the Control of Seed-Borne Pathogens. IN: GULLINO, M. L., MUNKVOLD, G. **Global Perspectives on the Health of Seeds and Plant Propagation Material**. Basingstoke: Springer, 2014. p. 105-123. 2014.

KOETZ, M.; MASCA, M. G. C. C.; CARNEIRO, L. C.; RAGAGNIN, V. A.; SENA JUNIOR, D. G.; GOMES FILHO, R. R. Caracterização agrônômica e o brix em frutos de tomate industrial sob irrigação por gotejamento no sudoeste de Goiás. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, Fortaleza, v.4, n.1, p.14-22, 2010.

KROHLING, T.; COSTA, A. F.; GALEANO, E. A. V.; COSTA, H.; ROSSI, D. A.; CARVALHO, D. R. **Revista Científica Intelletto**, Venda Nova do Imigrante, v.3, n. especial, p. 59-68, 2018.

KUMAR, R.; MAHAJAN, G.; SRIVASTAVA, S.; SINHA, A. GREEN MANURING: A boon for sustainable agriculture and pest management - A review. **Agricultural Review**, Raleigh, v. 35, n. 3, p. 196-206, 2014.

KUROZAWA C; PAVAN M. A. Doenças do tomateiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (eds). **Manual de Fitopatologia: Volume 2- Doenças de plantas cultivadas**. 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005, p. 607-626.

LAEMMLEN, F. 2001. Damping-off diseases. n. 8041. P. 1-4. University of California, Davis. Available source: <  
<https://escholarship.org/content/qt1xm1w425/qt1xm1w425.pdf>>. Acesso em: 4 jul 2019.

LAMICHHANE, J. R.; DÜRR, C.; SCHWANCK, A. A.; ROBIN, M. H.; SARTHOU, J. P.; CELLIER, V.; MESSÉAN, A.; AUBERTOT, J. N. Integrated management of damping-off diseases. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 37, n. 10, p. 1-25, 2017.

LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; PINHO, R. S. C.; Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v. 4, n. 2, p. 12, 2010.

LEGATES, D. R.; MAHMOOD, R.; LEVIA, D. F.; DELIBERTY, T. L.; QUIRING, S. M.; HOUSER, C.; NELSON, F. E. Soil moisture: A central and unifying theme in physical geography. **Progress in Physical Geography**, Thousand Oaks, v. 35, n. 1, p. 65-86, fev. 2010.

LUZ, W. C. Efeito de bioprotetores em patógenos de sementes e na emergência e rendimento de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 16-20, mar. 2001.

MACHADO, J. da C.; WAQUI, J. M.; SANTOS, J. P. dos; Reichenbach, J. W. Tratamento de sementes no controle de fitopatógenos e pragas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 232, p. 76-87, mai./jun. 2006.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: ABRATES, 2015. 659 p.

MAULE, R. F.; MAZZA, J. A.; MARTHA JUNIOR, G. B. Produtividade agrícola de cultivares decana-de-açúcar em diferentes solose épocas de colheita. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 2, p. 295-301, abr./jun. 2001.

MATTEDI, A. P.; GUIMARÃES, M. DE A.; SILVA, D. J. H. DA; CALIMAN, F. R. B.; MARIM, B. G. Qualidade dos frutos de genótipos de tomateiro do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, n. 4, p. 525-530, jul./ago. 2011.

MELO, A. P. C.; SELENGUINI, A.; VELOSO, V. R. S.; PEREIRA, J. M. Recobrimento de sementes de tomate com concentrações crescentes de polímero sintético. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 6, p. 958-963, jun. 2015.

MELO, I. S.; FAULL, J. L. Parasitism of *Rhizoctonia solani* by strains of *Trichoderma* spp. **Scientia agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 1, p. 55-59, jan./mar. 2000.

MENA-VIOLANTE, H. G.; OLALDE-PORTUGAL, V. Alteration of tomato fruit quality by root inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): *Bacillus subtilis* BEB-13bs. **Scientia Horticulturae**, Amsterdã, v. 113, n. 1, p. 103-106, jun. 2007.

MICHEREFF, S. J. **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Notas de aula: Fitopatologia. 2008. 7 p.

MILANESI, P. M.; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B.; REINIGER, L. R. S.; ANTONIOLLI, Z. I.; JUNGES, E.; LUPATINI, M. Detecção de *Fusarium* spp. e *Trichoderma* spp. e antagonismo de *Trichoderma* sp. em soja sob plantio direto. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, suplemento 1, p. 3219-3234, dez. 2013.

MOLINE, E. F. DA V.; BARBOZA, E.; SIMÕES, L. P.; FERREIRA FILHO, G. S.; SOUZA, F. L. F.; SCHLINDWEIN, J. A. Ponto de murcha permanente em solos arenoso e argiloso utilizando o tomateiro como cultura indicadora. **Global Science and Technology**, Rio Verde, v. 6, n. 1, p.164-170, jan./abr. 2013.

MONFIL, V. O.; CASAS-FLORES, S. Molecular mechanisms of biocontrol in *Trichoderma* spp. and their applications in agriculture. In: GUPTA, V. K.; SCHMOLL, M.; HERRERA-ESTRELLA, A.; UPADHYAY, R. S.; DRUZHININA, I.; TUOHY, M. G. **Biotechnology and Biology of Trichoderma**. Amsterdã: Elsevier, 2014. p. 429-449.

MONTANHER, O. C.; ESPÍNDULA, D. R. B. R. Fatores que controlam a temperatura de superfície dos solos do noroeste do Paraná. **Caminhos de Geografia**, Uberlândia, v. 18, n. 62, p. 59-72, jun. 2017.

MUKHERJEE, M.; MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A.; ZACHOW, C.; BERG, G.; ZEILINGER, S. *Trichoderma*–Plant–Pathogen Interactions: Advances in genetics of biological control. **Indian Journal of Microbiology**, Mumbai, v. 2, n. 4, p. 522–529, dez. 2012.

NAHER, L.; YUSUF, U. K.; ISMAIL, A.; HOSSAIN, K. *Trichoderma* spp.: A biocontrol agent for sustainable management of plant diseases. **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v. 46, n. 4, p. 1489-1493, 2014.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOSWIKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 2.1- 2.24.

NASCIMENTO, A. R.; SOARES JÚNIOR, M. S.; CALIARI, M.; FERNANDES, P. M.; RODRIGUES, J. P. M.; CARVALHO, W. T. Qualidade de tomates de mesa cultivados em sistema orgânico e convencional no estado de Goiás. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 4, p. 628-635, out./dez. 2013.

NZANZA, B.; MARAIS, D.; SOUNDY, P. Response of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) to nursery inoculation with *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizal fungi under field conditions. **Acta Agriculturae Scandinavica-Section B Soil and Plant Science**, v. 62, n. 3, p. 209-215, jul. 2011.

O'CALLAGHAN, M. Microbial inoculation of seed for improved crop performance: issues and opportunities. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Nova York, v. 100, n. 13, p. 5729-5746, mai. 2016.

OZBAHCE, A.; TARI, A. F. Effects of different emitter space and water stress on yield and quality of processing tomato under semi-arid climate conditions. **Agricultural Water Management**, Amsterdã, v. 97, n. 9, p. 1405-1410, set. 2010.

PARISI, J. J. D.; MEDINA, P. F. **Tratamento de Sementes**. Campinas: Instituto Agrônomo - IAC, 2013. Disponível em: <[http://www.iac.sp.gov.br/imagem\\_informacoestecnologicas/81.pdf](http://www.iac.sp.gov.br/imagem_informacoestecnologicas/81.pdf)>. Acesso em : 4 jul. 2019.

PASCALE, S. de; MAGGIO, A.; ORSINI, F.; BARBIERI, G. Cultivar, soil type, nitrogen source and irrigation regime as quality determinants of organically grown tomatoes. **Scientia Horticulturae**, Amsterdã, v. 199, p. 88-94, fev. 2016.

PATANÈ, C.; COSENTINO, S. L. Effects of soil water deficit on yield and quality of processing tomato under a Mediterranean climate. **Agricultural Water Management**, v. 97, n. 1, p. 131-138, 2010.

PATEL, N.; DESAI, P.; PATEL, N.; JHA, A.; GAUTAM, H. K. Agronanotechnology for Plant Fungal Disease Management: A Review. **International Journal of Current**

**Microbiology and Applied Sciences**, Tamilnadu, v. 3, n. 10, p. 71-84, 2014.

PERALTA, I. E.; KNAPP, S.; SPOONER, D. M. New species of wild tomatoes (*Solanum* Section *Lycopersicon*: Solanaceae) from Northern Peru. **Systematic Botany**, Laramie, v. 30, n. 2, p. 424-434, abr. jun. 2005.

PERVEEN, R.; SULERIA, H. A. R.; ANJUM, F. M.; BUTT, M. S.; PASHA, I.; AHMAD, S. Tomato (*Solanum lycopersicum*) carotenoids and lycopenes chemistry; metabolism, absorption, nutrition, and allied health claims - A comprehensive review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, p. 919–929, 2015.

PIRLAK, L.; KÖSE, M. Effects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Yield and Some Fruit Properties of Strawberry. **Journal of Plant Nutrition**, Nova York, v. 32, n. 7, p. 1173–1184, 2009.

PURDY, L. H. *Sclerotinia sclerotiorum*: history, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution, and impact. **Symposium on Sclerotinia**, v. 69, n. 8, p. 875- 880, 1979.

QUALHATO, T. F.; LOPES, F. A. C.; STEINDORFF, A. S.; BRANDÃO, R. S.; JESUINO, R. S. A.; ULHOA, C. J. Mycoparasitism studies of *Trichoderma* species against three phytopathogenic fungi: evaluation of antagonism and hydrolytic enzyme production. **Biotechnology Letters**, Berlin, v. 35, n. 9, p. 1461-1468, set. 2013.

RAHMAN, M. M. E.; ALI, M. E.; ALI, M. S.; RAHMAN, M. M.; ISLAM, M. N. Hot water thermal treatment for controlling seed-borne mycoflora of maize. **International Journal of Sustainable Crop Production**, Tejgaon, v. 3, n. 5, p. 5-9, Ago. 2008.

ROCHA, W. S.; SAKAI, T. R.; SOUZA, D. L. A.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; SANTOS, M. M. Efeito da microbiolização na germinação e crescimento inicial de feijão-caupi no estado do Tocantins. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 11, n. 6, p. 41-47, dez. 2017.

ROMAGNA, I. S.; JUNGES, E.; KARSBURG, P. A.; PINTO, S. Q. Bioestimulantes em sementes de olerícolas submetidos a testes de germinação e vigor. **Scientia Plena**, Aracajú, v. 15, n. 10, p. 1-7, out. 2019.

SÁ, M. N. F.; LIMA, J. S.; JESUS, F. N.; PEREZ, J. O. Microbiolização na qualidade de sementes e crescimento inicial de plantas de *Vigna unguiculata* L. Walp. **Acta Brasiliensis**, Campina Grande, v. 3, n. 3, p. 111-115, 2019.

SABA, H.; VIBHASH, D.; MANISHA, M.; PRASHANT, K. S.; FARHAN, H.; TAUSEEF, A. *Trichoderma* - a promising plant growth stimulator and biocontrol agent. **Mycosphere**, Chiang Rai, v. 3, p. 524-531, 2012.

SAHARAN, G. S.; MEHTA, N. **Sclerotinia diseases of crop plants: biology, ecology and disease management**. Hisar: Springer, 2007.

SAHARAN, B. S.; NEHRA, V. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. **Life Sciences and Medicine Research**, Warsaw, v. 2011, n. 1, p. 1-30, abr.

2011.

SANDLE, T. *Trichoderma*. In: BATT, C. A., TORTORELLO, M. L. (Eds.), **Encyclopedia of Food Microbiology**, 3 ed. Amsterdã: Elsevier Ltd, Academic Press, 2014. p. 644-646.

SCHUSTER, A.; SCHMOLL, M. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Nova York, v. 87, p. 787-799, 2010.

SEGARRA, G.; CASANOVA, E.; BELLIDO, D.; ODENA, M. A.; OLIVEIRA, E.; TRILLAS, I. Proteome, salicylic acid, and jasmonic acid changes in cucumber plants inoculated with *Trichoderma asperellum* strain T34. **Proteomics**, Amsterdã, v. 7, n. 21, p. 3943-3952, nov. 2007.

SENEVIRATNE, S. L.; CORTI, T.; DAVIN, E. L.; HIRSCHI, M.; JAEGER, E. B.; LEHNER, I.; ORLOWSKY, B.; TEULING, A. J. Investigating soil moisture–climate interactions in a changing climate: A review. **Earth-Science Reviews**, Amsterdã, v. 99, n. 3-4, 125–161, 2010.

SHAFI, J.; TIAN, H.; JI., M. *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, Sofia, v. 31, n. 3, 446-459, 2017.

SHALINI, S.; KOTASTHANE, A. S. Parasitism of *Rhizoctonia solani* by strains of *Trichoderma* spp. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, West Sussex, v. 6, n. 8, p. 2272-2281, 2007.

SHARMA, K. K.; SINGH, U.S.; SHARMA, P.; KUMAR, A.; SHARMA, L. Seed treatments for sustainable agriculture-A review. **Journal of Applied and Natural Science**, Haridwar, v. 7, n. 1, p. 521-539, 2015.

SHIRAHIGE, F. H.; MELO, A. M. T.; PURQUERIO, L. F. V.; CARVALHO, C. R. L.; MELO, P. C. T. Produtividade e qualidade de tomates Santa Cruz e Italiano em função do raleio de frutos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 3, p. 292-298, jul./ set. 2010.

SHORESH, M.; HARMAN, G. E.; MASTOURI, F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 48, p. 21-43, 2010.

SIDRA-Sistema IBGE de Recuperação Automática. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola - maio 2019**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>>. Acesso em: 3 jul. 2019.

SINGH, S. P.; SINGH, H. B.; SINGH, D. K. Biocontrol potential of mixture of *Trichoderma* isolates on damping-off and collar rot of tomato. **The Bioscan**, Jharkhand, v. 9, n. 3, p. 1301-1304, 2014.

SIVASAKTHI, S.; USHARANI, G.; SARANRAJ, P. Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR) - *Pseudomonas fluorescens* And *Bacillus subtilis*:

A review. **African Journal of Agricultural Research**, Nairobi, v. 9, n. 16, p. 1265-1277, 2014.

STEIN, T. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. **Molecular Microbiology**, Hoboken, v. 56, n. 4, p. 845–857, 2005.

STEVENS, D.; WARE, D. **Biotechnology of Horticultural Crops**. Waltham Abbey: ED-Tech Press. 2018.

STORY, E. N.; KOPEC, R. E.; SCHWARTZ, S. J.; HARRIS, K. An Update on the health effects of tomato lycopene. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 1, p. 189–210, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. 2017. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6 ed. Porto Alegre, Artmed.

TRACY, S. R.; BLACK, C. R.; ROBERTS, J. A.; MOONEY, S. J. Exploring the interacting effect of soil texture and bulk density on root system development in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdã, v. 91, p. 38-47, jul. 2013.

TRANI, P. E.; KARIYA, E. A.; HANAI, S. M.; ANBO, R. H.; BASSETO JUNIOR, O. B.; PURQUERIO, L. F. V.; TRANI, A. L. **Calagem e adubação do tomate de mesa**. Campinas: Instituto Agronômico, 2015. 35 p. online. (Série Tecnologia Apta. Boletim Técnico IAC, 215).

VAN DER PLOEG, A.; HEUVELINK, E. Influence of sub-optimal temperature on tomato growth and yield: a review. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, Ashford, v. 80, n. 6, p. 652–659, 2005.

VILLANUEVA GUTIERREZ, E. E. V. **An overview of recent studies of tomato (*Solanum lycopersicum* spp) from a social, biochemical and genetic perspective on quality parameters**. Alnarp-Sweden: Sveriges lantbruksuniversitet, 2018.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; WOO, S. L.; LORITO, M. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 40, p. 1-10, 2008.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; RUOCCO, M.; WOO, S. L.; LORITO, M. *Trichoderma* Secondary Metabolites that Affect Plant Metabolism. **Natural Product Communications**, Thousand Oaks, v. 7, n. 11, p. 1545-1550, 2012.

VINALE, F.; MANGANIELLO, G.; NIGRO, M.; MAZZIE, P.; PICCOLO, A.; PASCALE, A.; RUOCCO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; LANZUISE, S.; VARLESE, R.; CAVALLO, P.; LORITO, M.; WOO, S. L. A Novel Fungal Metabolite with Beneficial Properties for Agricultural Applications. **Molecules**, Basel, v. 19, p. 9760-9772, 2014.

VERMA, M.; BRAR, S. K.; TYAGI, R. D.; SURAMPALLI, R. Y.; VAL´ERRO, J. R.

Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. **Biochemical Engineering Journal**, Amsterdã, v. 37, p. 1-20, 2007.

WALIA, A.; MEHTA, P.; CHAUHAN, A.; SHIRKOT, C. K. Effect of *Bacillus subtilis* strain CKT1 as inoculum on growth of tomato seedlings under net house conditions. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B**, Allahabad, v. 84, n. 1, p. 145-155, 2014.