

Influência de metabólitos decendários de *Trichoderma spp.* no desenvolvimento de fungos veiculados pelas sementes e na germinação de sementes de Arroz

Influence of secondary metabolites of *Trichoderma spp.* development of fungi transmitted by seeds and germination of rice

Lucas Bonorino Martini¹, Luciana Zago Ethur², Keilor da Rosa Dorneles³

¹Universidade Federal do Pampa-Unipampa, RS, Brasil

² Universidade Federal de Pelotas-UFPel, RS, Brasil

Resumo

As sementes de arroz são degradadas por ampla diversidade de patógenos que interferem no vigor e na germinação das mesmas. O fungo *Trichoderma spp.* tem sido utilizado no tratamento de sementes de várias culturas comerciais com fins sanitários e de desenvolvimento de plantas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de metabólitos secundários isolados de *Trichoderma spp.* no desenvolvimento de fungos veiculados pelas sementes e na germinação de sementes de arroz irrigado. Para isso foram utilizados dois isolados (TI1 e TM1) de *Trichoderma spp.* e realizados os testes e experimentos: isolamento de fungos das sementes de arroz irrigado; interferência de metabólitos não voláteis de *Trichoderma spp.* no desenvolvimento de fungos veiculados pela semente de arroz; teste de assepsia utilizando diferentes tempos de imersão das sementes em hipoclorito de sódio e de germinação das sementes de arroz; e a interferência de metabólitos não voláteis de *Trichoderma spp.* na germinação de semente de arroz. Foram encontrados os fungos *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.* e *Bipolaris oryzae* nas sementes de arroz e ocorreu interferência dos metabólitos não voláteis dos dois isolados de *Trichoderma spp.* no desenvolvimento micelial dos fungos *Fusarium* e *Bipolaris oryzae*. O teste de assepsia mostrou que o tempo ideal de imersão no hipoclorito de sódio foi de 15 min e que os metabólitos secundários dos isolados de *Trichoderma spp.* não interferiram na germinação das sementes. Portanto, os metabólitos secundários, liberados pelos isolados de *Trichoderma spp.* testados, interferem no desenvolvimento dos fungos *Fusarium* e *Bipolaris oryzae*, veiculados pelas sementes de arroz e não interferem na germinação da mesmas.

Palavras-chave: *Oryza sativa* L., tratamento de sementes, antibiose

Abstract

Rice seeds are degraded by a wide diversity of pathogens that affect the vigor and the germination. The fungus *Trichoderma spp.* has been used to treat seeds of various crops with sanitary and development of plants objectives. The aim of this research was to evaluate the influence of secondary metabolites of *Trichoderma spp.* in the development of fungus transmitted by seeds and in the germination of seeds of rice. Were used two isolates (TI1 and TM1) of *Trichoderma spp.* and conducted tests and experiments: isolation of fungi from seeds of rice; interference of non-volatile metabolites of *Trichoderma spp.* in the development of fungus transmitted by seed of rice; aseptic and germination test using different time of immersion of seeds in sodium hypochlorite; and the interference of non-volatile metabolites of *Trichoderma spp.* in the germination of rice seed. It was founded the fungi *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.* and *Bipolaris oryzae* on seeds of rice. It was occurred a interference of non-volatile metabolites of two isolates of *Trichoderma spp.* in the mycelial growth of *Fusarium* and *Bipolaris oryzae*. The sterilization test showed that the optimal time of immersion in sodium hypochlorite was 15 min and that the secondary metabolites of *Trichoderma spp.* did not affect germination of seed. Therefore, secondary metabolites released by *Trichoderma spp.* interfere in the development of *Bipolaris oryzae* and *Fusarium spp.* transmitted by seeds of rice. However, they do not interfere in the germination of seeds of rice.

Keywords: *Oryza sativa* L., seed treatment, antibiosis.

Recebido: 06/11/2013 Revisado: 27/01/2014 Aceito: 18/02/2014

1 Introdução

O arroz (*Oryza sativa*, L.) é um dos alimentos mais importantes para a nutrição humana, porém seu cultivo depende de diversos fatores que afetam sua produção, sendo a sanidade das sementes um dos principais.

As sementes são degradadas por ampla diversidade de patógenos que interferem no vigor e na germinação das mesmas. Assim, o tratamento de sementes é fundamental para evitar-se que os microrganismos veiculados pelas sementes apodreçam as mesmas ou infestem as áreas de cultivo. Existe ampla diversidade de fungos que são encontrados em sementes de arroz, tais como: *Bipolaris oryzae* Breda de Haan, *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc., *Curvularia* sp., *Nigrospora* sp., *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Phoma* sp., *Cladosporium* sp., *Epicocum* sp., *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. (FRANCO et al., 2001; MACEDO et al., 2002).

O tratamento de sementes comumente utilizado é com o uso de fungicidas, que reduz o inóculo inicial de patógenos, controlando a infecção primária, aumentando o vigor e o estande de plântulas. Porém, as opções de fungicidas registrados são poucas, apresentam baixa atividade residual e controle deficiente quando a pressão de inóculo é elevada no campo (SILVA-LOBO, 2008).

Atualmente, isolados fúngicos do gênero *Trichoderma* figuram entre os agentes de biocontrole que são mais utilizados no tratamento de sementes, de culturas comerciais. Porém, existem poucas pesquisas com relação ao uso desse fungo na cultura do arroz e a sua ação na espermosfera das sementes. A ação de *Trichoderma* como agente de controle biológico ocorre por meio de hiperparasitismo, competição, antibiose e indução de defesa das plantas (ETHUR et al. 2001; BOMFIM et al., 2010; VELAZQUEZ-ROBLEDO et al., 2011). Quando do tratamento de sementes sua ação contra os fungos veiculados pelas sementes, ocorre principalmente por antibiose (LUZ, 1991). Na antibiose ocorre a liberação, por parte de isolados de *Trichoderma*, de metabólitos secundários voláteis e não voláteis (BOMFIM et al., 2010). Existem estudos sobre os metabólitos secundários liberados por isolados de *Trichoderma*, no entanto, o papel dos antibióticos produzidos por esse fungo na proteção fitossanitária do solo mantem-se em aberto (VELAZQUEZ-ROBLEDO et al., 2011).

Além de ser utilizado como agente de controle biológico, isolados de *Trichoderma* spp. são usados como estimuladores da germinação e do desenvolvimento de plantas (ETHUR et al., 2002; DINIZ et al., 2006) e podem ser usados sob várias formulações, inclusive líquida. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de metabólitos secundários, de isolados de *Trichoderma* spp., no desenvolvimento de fungos veiculados pelas sementes e na germinação de sementes de arroz irrigado.

2 Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Microbiologia do Solo e Fitopatologia. Para os experimentos utilizaram-se sementes de arroz irrigado das cultivares IRGA 424 e PUITÁ INTA CL safra 2010/11 e para o tratamento das sementes de arroz para o experimento relacionado com a germinação foi utilizado o fungicida MAXIM XL®. Os isolados de *Trichoderma* spp. utilizados foram: TI1 – do solo de Itaqui/RS e TM1 do solo de Maçambará/RS, que foram isolados pelo método de iscas e selecionados em experimentos in vitro, conforme Fipke (2011).

2.1 Fungos veiculados pelas sementes de arroz

Para o isolamento de diferentes gêneros fúngicos da espermosfera das sementes de arroz, três sementes foram dispostas equidistantes, em placas de petri, contendo meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar). As vinte placas contendo as duas cultivares de arroz, totalizando 30 sementes por cultivar, foram colocadas em câmara climatizada, com temperatura de 25 °C ± 1 °C, umidade relativa de 70% e fotoperíodo de 12 h. Após 5 dias da implantação do experimento, os fungos que se desenvolveram a partir das sementes foram repicados para placas de petri contendo meio de cultura BDA, até obter-se cultura pura.

2.2 Interferência de metabólitos não voláteis de *Trichoderma* spp. no desenvolvimento de fungos veiculados pela semente de arroz

Após o isolamento dos fungos veiculados pelas sementes, os mesmos foram testados quanto ao seu desenvolvimento sobre os metabólitos não voláteis dos isolados de *Trichoderma* spp. Para isso, foi utilizado o teste do papel celofane (ETHUR, 2002). Foi colocado um disco de papel celofane poroso do tipo torção (permite a passagem dos metabólitos secundários para o meio de cultura), do tamanho da placa de petri, sobre o meio de cultura do tipo BDA. Posteriormente foi colocado um disco contendo micélio e esporos dos isolados TI1 e TM1 de *Trichoderma* spp., de 6 mm de diâmetro, sobre o papel celofane, na região central da placa.

As placas de petri foram colocadas em câmara climatizada, por 48h, com temperatura de 25 °C ± 1 °C, umidade relativa de 70% e fotoperíodo de 12 horas luz. Após, o disco foi retirado juntamente com o papel celofane e descartados em um recipiente contendo álcool, para que não ocorresse nenhum tipo de contaminação no meio de cultura. Em seguida, foi inserido no centro da placa, sobre os metabólitos não voláteis de *Trichoderma* spp., um disco, do tamanho de 6 mm, dos fungos retirados das sementes. A avaliação ocorreu depois de sete dias e

constou do diâmetro dos micélios dos fungos retirados das sementes.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 (metabólitos não voláteis de dois isolados de *Trichoderma* spp.) x 3 (*Fusarium* spp.; *Bipolaris oryzae*; *Penicillium* spp.). Foi utilizado um tratamento testemunha que constou do crescimento do micélio fúngico em meio de cultura, sem os metabólitos de *Trichoderma*.

2.3 Teste de germinação

Para o teste de germinação foram utilizadas 200 sementes de cada uma das cultivares IRGA 424 e PUITÁ INTA CL, em quatro repetições de 50 sementes cada. As sementes foram semeadas sobre uma folha de tamanho 28 x 38 cm de papel para germinação, esterilizado e umedecido com água destilada e esterilizada e uma folha na cobertura; em seguida, os rolos foram colocados em germinador mantido a temperatura de 22 °C ± 1 °C, umidade de 70 % e fotoperíodo de 12 horas luz.

A avaliação do número de sementes germinadas ocorreu após o oitavo e décimo quarto dia da organização do experimento. A germinação de sementes foi avaliada como sendo o desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião (BRASIL, 2009).

2.4 Teste de assepsia das sementes

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e cinco repetições. Foram utilizadas sementes de arroz irrigado da cultivar PUITÁ INTA CL, sendo que cada tratamento constou de 45 sementes, com cinco repetições de 9 sementes em cada placa. As sementes passaram pela imersão em álcool 96 °GL (por 1 min), hipoclorito de sódio (2 % de cloro ativo), três recipientes contendo água destilada e esterilizada (por 1min cada) e foram deixadas para secar sobre papel filtro esterilizado, em câmara de fluxo laminar. Os tratamentos constaram de diferentes tempos de imersão das sementes de arroz no hipoclorito de sódio: 1, 5, 10, 15 e 30 min. O tratamento considerado testemunha foi o de 1min, por ser esse o tempo geralmente indicado para testes de assepsia.

Posteriormente, as sementes foram colocadas em placas de petri contendo meio de cultura do tipo BDA + Cloranfenicol (1mL por L de meio) e as mesmas foram colocadas em câmara climatizada do tipo BOD, sob temperatura de 20 °C ± 1 °C, umidade relativa de 70 % e fotoperíodo de 12 horas luz, durante oito dias.

A avaliação do experimento constou do número de sementes germinadas e não contaminadas, número de sementes germinadas e contaminadas, número de sementes não germinadas e contaminadas e número de sementes não germinadas e não contaminadas.

2.5 Interferência de metabólitos não voláteis de *Trichoderma* spp. na germinação de semente de arroz

Foi colocado um disco nas dimensões da placa de petri, de papel celofone poroso, sobre o meio de cultura BDA. Posteriormente foi colocado um disco contendo micélio e esporos dos isolados T11 e TM1 de *Trichoderma* spp., de 6 mm de diâmetro, sobre o papel celofane, na região central da placa. As placas de petri foram colocadas em câmara climatizada, por 48h, com temperatura de 25 °C ± 1 °C, umidade relativa de 70% e fotoperíodo de 12 horas luz. Posteriormente, o disco contendo *Trichoderma* foi retirado juntamente com o papel celofane e os mesmos foram descartados.

Sobre o meio de cultura contendo apenas os metabólitos não voláteis dos isolados de *Trichoderma* foram inseridos, no centro da placa, nove sementes de arroz das cultivares IRGA 424 e PUITÁ INTA CL tratadas com o fungicida, contendo o princípio ativo fludioxonil, na dose de 150 mL PC/100 kg de sementes. O fungicida foi utilizado porque o teste de assepsia não apresentou resultado satisfatório, ou seja, sementes livres de fungos.

As placas de petri permaneceram na câmara climatizada por 8 dias, quando foi realizada a avaliação que constou do número de sementes germinadas por placa.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 (cultivares de arroz) x 2 (metabólitos secundários de dois isolados de *Trichoderma*), com 5 repetições.

3 Análise estatística

Os dados percentuais originais foram transformados em arco seno da raiz quadrada de x/100. Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Foi utilizado o programa estatístico ASSISTAT 7.6.

4 Resultados e discussão

Os fungos encontrados e isolados das sementes de arroz irrigado foram: *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. e *Bipolaris oryzae* (sinonímia: *Helminthosporium oryzae* e *Drechslera oryzae*). Os gêneros fúngicos citados também foram encontrados, por Franco et al. (2001), em sementes de arroz irrigado. Os fungos *Fusarium* spp. e *Bipolaris oryzae* podem ocasionar tombamento e queima de plântulas de arroz, além do segundo fitopatógeno ser causador da mancha parda (FRANCO et al., 2001). Já o fungo *Penicillium* spp. é considerado fungo de armazenamento e pode causar deterioração nas sementes (MACEDO et al., 2002).

Os metabólitos não voláteis de *Trichoderma* spp. inibiram, significativamente, o desenvolvimento micelial dos fungos *Fusarium* spp. em até 94% e *Bipolaris oryzae* em até 78%, porém não interferiram no desenvolvimento de *Penicillium* spp. (Tabela 1). Isolados de *Trichoderma* sp. liberam metabólitos não voláteis em meio de cultura, em teste do papel celofane, inibindo o desenvolvimento micelial do fungo *Verticillium dahliae* Kleb. (MARTINS-CORDER & MELO, 1998) e *Sclerotinia sclerotiorum* Lib. (De Bary) (ETHUR et al., 2001). De acordo com Bomfim et al. (2010), entre os efeitos provocados pelos antibióticos, observa-se a redução e/ou paralisação do crescimento micelial, da esporulação e germinação de esporos, além de distorção de hifas e endólise. Segundo Luz (1991), a antibiose é o principal mecanismo de ação na espermosfera dos microrganismos aplicados na microbiolização de sementes. Já Bomfim et al. (2010) enfatizaram que os antibióticos são produtos do metabolismo secundários de seus produtores e podem ser mais importantes na inibição de outros organismos do que a competição por nutrientes.

Para o teste de germinação de sementes de arroz, observou-se que a cultivar IRGA 424 apresentou 92,5% e a cultivar PUITÁ INTA CL 94,5% de germinação. Portanto, as sementes apresentaram índices de germinação considerados satisfatórios para o desenvolvimento dos experimentos.

Com relação à assepsia das sementes de arroz, observou-se que, para as sementes germinadas e não contaminadas, não ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos, porém para não germinadas e não contaminadas o tempo de assepsia de 30 minutos em hipoclorito de sódio ocasionou um aumento significativo de até 36%, quando comparado com os demais (Tabela 2). Assim, o tempo de exposição de 30 minutos ao hipoclorito de sódio interferiu na germinação de sementes de arroz, não sendo indicado para assepsia das mesmas. De acordo com Ribeiro (2008), a utilização de

hipoclorito de sódio por dez minutos, como forma de assepsia, reduz o processo de germinação de sementes de arroz e diminui a perda de água.

Para as sementes germinadas e contaminadas ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos, sendo que a exposição de 15 minutos ao hipoclorito de sódio apresentou um aumento percentual de 5 a 42% quando comparado aos demais tratamentos (Tabela 2). Para as sementes não germinadas e contaminadas, observaram-se diferenças significativas, sendo que para o tratamento com 1 minuto de exposição ao hipoclorito de sódio apresentou aumento percentual de 50 a 81%, quando comparado com os demais tratamentos (Tabela 2). Assim, o tempo de 1 minuto de assepsia, que geralmente é indicado para desinfestação de materiais botânicos que são colocados em meio de cultura, não foi adequado para conter a contaminação.

Portanto, o tempo ideal de imersão das sementes de arroz ao hipoclorito de sódio indicado para a sua germinação em meio de cultura é de 15 minutos, porém ocorrendo contaminação das mesmas. Nesse sentido, a assepsia com hipoclorito de sódio não foi utilizada, nesse trabalho, para o experimento com a germinação de sementes de arroz em meio de cultura, sobre os metabólitos não voláteis de *Trichoderma*.

Não ocorreu interação entre os fatores diferentes cultivares e metabólitos não voláteis de isolados de *Trichoderma* spp. e não ocorreram diferenças significativas para as diferentes cultivares e nem para os diferentes isolados de *Trichoderma* (Tabela 3). Isolados de *Trichoderma* spp. promoveram a germinação e o desenvolvimento de plantas em diversos experimentos (DINIZ et al., 2006), porém os metabólitos não voláteis, em contato com as sementes, não demonstraram qualquer ação nesse sentido, embora o experimento tenha sido desenvolvido em meio de cultura BDA. O tratamento testemunha apresentou em torno de 35% menos germinação em meio de cultura BDA, quando comparado com o teste de germinação

Tabela 1. Desenvolvimento micelial (cm²) de fungos, retirados de sementes de arroz irrigado, crescendo sobre metabólitos não voláteis de isolados de *Trichoderma* spp.

| Tratamentos | <i>Fusarium</i> spp. (cm ²) | <i>Bipolaris oryzae</i> (cm ²) | <i>Penicillium</i> spp. (cm ²) |
|-----------------------|---|--|--|
| M-NV - isolado TI1 | 0,77* b | 0,36 b | 0,65 a |
| M-NV - isolado | 0,36 b | 0,36 b | 1,03 a |
| TM1 | 6,62 a | 1,63 a | 1,77 a |
| Testemunha | | | |
| CV % | 50,8 | 31,74 | 59,5 |

M-NV = Metabólitos não voláteis.

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

Tabela 2. Germinação e contaminação (%) de sementes de arroz imersas em hipoclorito de sódio a 2% por cinco tempos e colocadas em meio de cultura BDA.

| Tratamentos | Sementes de arroz em meio de cultura | | | | |
|-------------|--------------------------------------|---------|----------|----------|----------|
| | Assepsia | G-C (%) | NG-C (%) | G-NC (%) | NG-NC(%) |
| 1 minuto | | 62 ab* | 32 a | 06 a | 00 b |
| 5 minutos | | 72 ab | 16 ab | 12 a | 00 b |
| 10 minutos | | 60 ab | 08 ab | 18 a | 14 ab |
| 15 minutos | | 76 a | 06 b | 10 a | 08 ab |
| 30 minutos | | 44 b | 16 ab | 18 a | 22 a |
| CV% | | 18,5 | 54,1 | 100,0 | 99,5 |

G-C = Germinada e contaminada; NG-C = Não germinada e contaminada; G-NC = Germinada e não contaminada; NG-NC = Não germinada e não contaminada.

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Média de 5 placas contendo 9 sementes cada.

Tabela 3. Germinação de sementes de arroz irrigado sobre metabólitos não voláteis de *Trichoderma* spp., em meio de cultura BDA.

| Cultivares de Arroz | Germinação (%) | | |
|---------------------|------------------|------------------|------------------|
| | TI1 | TM1 | Testemunha |
| IRGA 424 | 58 ^{ns} | 66 ^{ns} | 61 ^{ns} |
| PUITÁ INTA CL | 64 ^{ns} | 61 ^{ns} | 62 ^{ns} |

TI1 e TM1 = Metabólitos secundários dos isolados de *Trichoderma* spp.
ns = não significativo.

em papel próprio para germinação, evidenciando que ocorreu interferência do meio ambiente nesse processo. O meio de cultura BDA pode não ser o meio adequado para a germinação das sementes de arroz, porém é o meio necessário para o desenvolvimento de fungos. No entanto, para Garcés et al. (2012), as sementes de mucuna branca e preta apresentaram em torno de 33 a 100% maior germinação em meio de cultura BDA do que em papel filtro.

5 Conclusões

Os metabólitos secundários dos isolados TI1 e TM1, de *Trichoderma* spp., interferem no desenvolvimento dos fungos *Fusarium* spp. e *Bipolaris oryzae*, entretanto não interferem no desenvolvimento de *Penicillium* spp., in vitro.

Os metabólitos secundários dos isolados de *Trichoderma* spp. não interferem na germinação das sementes de arroz das cultivares IRGA 424 e PUITÁ INTA CL.

Referências

BOMFIM, M. P. et al. Avaliação antagônica in vitro e in vivo de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. *Summa Phytopathologica* [online] vol.36, n.1, p. 61-67, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análises de sementes/Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 2009.399p.

- DINIZ, K.A.; OLIVEIRA, J.A.; GUIMARÃES, R.M.; CARVALHO, M.L.M.; MACHADO, J.da C. Incorporação de microrganismos, aminoácidos, micronutrientes e reguladores de crescimento em sementes de alface pela técnica de peliculização. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 28, n. 3, p. 37-43, 2006.
- ETHUR, L. Z. Controle biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary por isolados de *Trichoderma viride* no pepineiro. Dissertação (Mestrado em Agronomia- Programa de Pós-Graduação em Agronomia), 2002. UFSM, Santa Maria, 2002.
- ETHUR, L. Z. et al. Seleção de *Trichoderma* spp. visando ao controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, in vitro. *Ciência Rural* vol. 31 n. 5 Santa Maria. Setembro/Outubro. 2001.
- FIPKE GM, PAZINI, JB & ETHUR LZ .Seleção de fungos antagonistas ao *Sclerotinia sclerotiorum* provenientes de solos da fronteira oeste do Rio Grande do Sul. *Tropical Plant Patology*. (Suplemento) p. 414. 2001.
- FRANCO, D.F. et al. Fungos associados a sementes de arroz irrigado no Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Agrociência*, v.7 n 3, p.235-236, 2001.
- GARCÉS FIALLOS, F.; SILVA, M. W.; BENAVIDES, O.P. Germinação e qualidade sanitária de sementes de mucuna branca e preta utilizadas como adubo verde em Quevedo, Equador. *Scientia Agropecuaria*, v. 1, p. 15-21, 2012.
- LUZ, W.C. Controle biológico das doenças na esfermosfera. In: BETTIOL, W. (Org.) Controle biológico de doenças de plantas. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. 388p.
- MACEDO, E. de C.; GROTH, D. & SOAVE, J. Influência da embalagem e do armazenamento na qualidade sanitária de sementes de arroz. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 24, n. 1, p.42-50, 2002.
- MARTINS-CORDER, M.P. & MELO, I.S. de. Antagonismo in vitro de *Trichoderma* spp. a *Verticillium dahliae* Kleb. *Scientia agrícola*, v.55, n.1, p. 1-7, 1998.
- RIBEIRO, M. F., et al. Influência do hipoclorito de sódio na germinação e vigor desementes de arroz (*Oryza sativa* L.). Pelotas-RS: UFPel. p. 4 2008..
- SILVA-LOBO, V. L. Efeito do tratamento químico de sementes de arroz no controle da bruzone nas folhas e na qualidade sanitária e fisiológica das sementes. *Tropical Plant Pathology*, Brasília, v. 33 n. 2, p. 162-166, 2008.
- VELAZQUEZ-ROBLEDO, R.; CONTRERAS-CORNEJO, H.A.; MANIAS-RODRIGUEZ, L.; HERNANDEZ-MORALES, A. et al. Role of the 4-phosphopantetheinyl transferase of *Trichoderma virens* in secondary metabolism and induction of plant defense responses. *Molecular Plant - Microbe Interactions*, v. 24, n. 12, p. 1459-1471, 2011.