

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE ANÁPOLIS – UniEVANGÉLICA
CURSO DE AGRONOMIA**

**USO DE ISOLADOS E PRODUTO BIOLÓGICO COMERCIAL DE
Trichoderma spp. NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS
NA FASE INICIAL DA CULTURA DA SOJA**

Flávio Gonçalves de Oliveira Filho

**ANÁPOLIS-GO
2019**

FLÁVIO GONÇALVES DE OLIVEIRA FILHO

**USO DE ISOLADOS E PRODUTO BIOLÓGICO COMERCIAL DE
Trichoderma spp. NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS
NA FASE INICIAL DA CULTURA DA SOJA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao
Centro Universitário de Anápolis-
UniEVANGÉLICA, para obtenção do título de
Bacharel em Agronomia.

Área de concentração: Microbiologia

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Klênia Rodrigues
Pacheco Sá

**ANÁPOLIS-GO
2019**

Oliveira Filho, Flávio Gonçalves

Uso de isolados e produto biológico comercial de *Trichoderma* spp. na promoção de crescimento de plantas na fase inicial cultura da soja/ Flávio Gonçalves de Oliveira Filho – Anápolis: Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA, 2019.

34 páginas.

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Klênia Rodrigues Pacheco Sá

Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Agronomia – Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA, 2019.

1. Bioagente 2. Biocontrole. 3. Rizosfera I. Flávio Gonçalves de Oliveira Filho. II. Uso de isolados e produto biológico comercial de *Trichoderma* spp. na promoção de crescimento de plantas na fase inicial cultura da soja.

CDU 504

FLÁVIO GONÇALVES DE OLIVEIRA FILHO

**USO DE ISOLADOS E PRODUTO BIOLÓGICO COMERCIAL DE
Trichoderma spp. NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS
NA FASE INICIAL DA CULTURA DA SOJA**

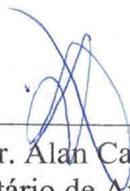
Monografia apresentada ao Centro
Universitário de Anápolis –
UniEVANGÉLICA, para obtenção do título de
Bacharel em Agronomia.
Área de concentração: Microbiologia

Aprovada em: 21 de Junho de 2019

Banca examinadora



Prof.^a. Dr.^a. Klênia Rodrigues Pacheco Sá
Centro Universitário de Anápolis - UniEVANGÉLICA
Presidente



Prof. Dr. Alan Carlos Alves de Souza
Centro Universitário de Anápolis - UniEVANGÉLICA



Prof. Me. Elson de Jesus Antunes Júnior
Centro Universitário de Anápolis - UniEVANGÉLICA

Dedico esse trabalho aos meus pais, minha
irmã e amigos que sempre me apoiaram e
incentivaram

AGRADECIMENTOS

Gratidão primeiramente a Deus por me conceder o dom da vida, por me proporcionar saúde e colocar pessoas ao meu redor, que pudessem me apoiar, me fortalecer e me ajudar a seguir caminhos corretos de cabeça erguida.

Gratidão aos meus pais Flávio Gonçalves de Oliveira e Vanessa Carla Alves Silva de Oliveira, que me proporcionaram estrutura familiar, mental e financeira para que eu pudesse correr atrás dos meus objetivos, com respeito e honestidade.

Gratidão à minha irmã Amanda Alves Oliveira e meu cunhado Lucas Pereira Silva, por me incentivarem, apoiarem e compartilharem conhecimentos como Engenheiros Agrônomos.

Gratidão à Jéssica Corrêa de Sena, por todo companheirismo, apoio e incentivo.

Gratidão à minha orientadora Prof^ª. Dr^ª. Klênia Rodrigues Pacheco Sá, por todo ensino, apoio, companheirismo, carinho e paciência, e por contribuir com a minha afeição pela Microbiologia e Fitopatologia.

Gratidão aos professores, que foram fundamentais para o meu amadurecimento profissional e individual.

Gratidão aos meus colegas e amigos de graduação Ane Karolyne de Jesus Bueno, Bianca de Oliveira Horvath Pereira, Danilo de Araújo Diniz, Geórgia Suzana Moraes Camargo e Mariana de Lourdes Barreto que tornaram meus dias mais sorridentes, mesmo em dias difíceis.

Gratidão ao Jefferson Feliciano Silva, Mayara Alves Rodrigues e Talyta Machado Carneiro por se desvencilharem de tempo para que pudessem me auxiliar no desenvolvimento de procedimentos laboratoriais.

Gratidão ao Everson Marcos de Moura Valadão, Halllyson Kim Lu Sato, Heriky Henriky Alves Godoy pela assistência laboratorial.

“O papel dos infinitamente pequenos é infinitamente grande”
Louis Pasteur

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	ix
RESUMO.....	x
1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1. CULTURA DA SOJA	13
2.2. MICRORGANISMOS BIOAGENTES.....	14
2.3. <i>Trichoderma</i> spp.	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1. OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS DE SOLO	18
3.2. ISOLAMENTO DO FUNGO <i>Trichoderma</i> spp.	18
3.3. CONTAGEM DE ESPOROS EM CÂMARA DE NEUBAUER	19
3.4. AVALIAÇÃO DO USO DE PRODUTO BIOLÓGICO COMERCIAL <i>Trichoderma asperellum</i> E ISOLADOS DE <i>Trichoderma</i> spp. NA FASE INICIAL DA CULTURA DA SOJA.....	20
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5. CONCLUSÃO.....	31
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Filtragem da suspensão de <i>Trichoderma</i> spp. isolado S31 em camada dupla de gaze.	20
FIGURA 2 – Área de Preservação Permanente da Fazenda Escola, unidade experimental do Centro Universitário de Anápolis - UniEVANGÉLICA, de coordenadas Latitude 16°19'36"S e Longitude 48°27'10"W.	22
FIGURA 3 – A: Imagem de microscópio 40x de <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S13.; B: Imagem de microscópio 40x de <i>Trichoderma</i> spp. isolado S31.	23

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Ensaio 1: Avaliação do comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento da raiz (CR), realizadas no vigésimo primeiro dia após semeadura (DAS) com <i>Trichoderma asperellum</i>	24
TABELA 2 – Ensaio 1: Avaliação de massa verde (MVR) e massa seca (MSR) da raiz, realizadas no vigésimo primeiro dia após semeadura (DAS) com <i>Trichoderma asperellum</i>	25
TABELA 3 – Ensaio 1: Avaliação de massa verde (MVPA) e massa seca (MSPA) da parte aérea, realizadas no vigésimo primeiro dia após semeadura (DAS) com <i>Trichoderma asperellum</i>	25
TABELA 4 – Ensaio 2: Avaliação do comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), realizadas no vigésimo primeiro dia após semeadura (DAS) com o isolado S13 de <i>Trichoderma</i> spp.	26
TABELA 5 – Ensaio 2: Avaliação de massa verde (MVR) e massa seca (MSR) da raiz, realizadas no vigésimo primeiro dia após semeadura (DAS) com o isolado S13 de <i>Trichoderma</i> spp.	27
TABELA 6 – Ensaio 2: Avaliação de massa verde (MVPA) e massa seca (MSPA) da parte aérea, realizadas no vigésimo primeiro dia após semeadura (DAS) com o isolado S13 de <i>Trichoderma</i> spp.	27
TABELA 7 – Ensaio 3: Avaliação do comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), realizadas no vigésimo primeiro dia após semeadura (DAS) utilizando o isolado S31 de <i>Trichoderma</i> spp.	28
TABELA 8 – Ensaio 3: Avaliação de massa verde (MVR) e massa seca (MSR) da raiz, realizadas no vigésimo primeiro dia após semeadura (DAS) com o isolado S31 de <i>Trichoderma</i> spp.	29
TABELA 9 – Ensaio 3: Avaliação de massa verde (MVPA) e massa seca (MSPA) da parte aérea, realizadas no vigésimo primeiro dia após semeadura (DAS) com o isolado S31 de <i>Trichoderma</i> spp.	29

LISTA DE ABREVIATURAS

BDA	batata-dextrose-ágar
CM	centímetros
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
CPA	comprimento da parte aérea
CR	comprimento de raiz
DAS	dias após semeadura
EUA	Estados Unidos da América
G	gramas
Kg	quilogramas
K	potássio
μL	microlitros
MM	milímetros
MM ³	milímetros cúbicos
ML	mililitros
MSPA	massa seca da parte aérea
MSR	massa seca da raiz
MVPA	massa verde da parte aérea
MVR	massa verde da raiz
N	nitrogênio
P	potássio
UV	ultravioleta

RESUMO

Os agentes biológicos vêm ganhando importância em seu uso na cultura da soja. *Trichoderma* spp. é um dos principais agentes biológicos presentes na rizosfera, e estão relacionados ao aumento do crescimento vegetal, podendo ter influência na germinação de sementes, no desenvolvimento e no rendimento de plantas pela produção de substâncias promotoras de crescimento. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi isolar e verificar a eficiência de novas estirpes encontradas de *Trichoderma* spp., além de também verificar eficiência do produto biológico comercial nas suas capacidades de promoção de crescimento da parte aérea, raiz e aumento de biomassa em plântulas cultura da soja. Foram utilizadas sessenta amostras de solo para realização do isolamento utilizando-se a técnica de diluição seriada. Os *Trichoderma* spp. isolados foram repicados de sete em sete dias para purificação das amostras. Após a purificação, utilizou-se o método de contagem de conídios em Câmara de Neubauer. Os isolados foram utilizados em experimento *in vivo*, utilizando-se sacos de polietileno para a semeadura da soja de variedade TMG 1264. Foram três ensaios independentes compostos pelos seguintes tratamentos: T1: Testemunha, T2: *Trichoderma* tratamento de sementes (100 mL 100 Kg⁻¹), T3: *Trichoderma* tratamento de sementes (200 mL 100 Kg⁻¹), T4: *Trichoderma* tratamento de sementes (300 mL 100 Kg⁻¹), T5: *Trichoderma* tratamento de sementes (200 mL 100 Kg⁻¹) + rega (60 mL ha⁻¹). No primeiro ensaio as sementes foram tratadas com *Trichoderma asperellum*, produto comercial R1® (conídios viáveis 1x10¹⁰) mL⁻¹. No segundo ensaio as sementes foram tratadas com *Trichoderma* spp. isolado S13 (conídios viáveis 1x10⁷) mL⁻¹. No terceiro ensaio as sementes foram tratadas com *Trichoderma* spp. isolado S31 (conídios viáveis 8x10⁶) mL⁻¹. Foi avaliado o comprimento da raiz e da parte aérea, massa verde e massa seca. O produto biológico comercial R1® *Trichoderma asperellum* apresentou eficiência quanto ao crescimento de raiz e aumento de biomassa na dosagem recomendada 200mL 100 Kg⁻¹ no tratamento de sementes e na dosagem recomendada com pulverização (200ml 100 Kg⁻¹ + rega (60 mL ha⁻¹)), enquanto os isolados de *Trichoderma* spp. S13 e S31 apresentaram resultados significativos para crescimento de raiz e aumento de biomassa em dosagem à partir de 200 mL 100 Kg⁻¹, podendo ser isolados de *Trichoderma* spp. promissores na promoção de crescimento de plantas.

Palavras-chave: Bioagente, biocontrole, rizosfera.

1. INTRODUÇÃO

O crescimento contínuo e expressivo do cultivo da soja tem enorme importância nutritiva, atendendo principalmente a demanda para produção de alimentos destinados à nutrição animal, além de demanda para indústrias esmagadoras para produção de óleo vegetal e biodiesel, consolidando uma cadeia produtiva bem estruturada que desempenha papel fundamental econômico-social (HIRAKURI et al., 2014).

No Brasil, a soja é o principal produto da agricultura, e o país é posicionado como o segundo maior produtor do mundo, ficando atrás apenas dos Estados Unidos da América (EUA). Essa cadeia fortalece o país no cenário mundial e permite pretensões geopolíticas e geoeconômicas, consequentemente influenciando o mercado mundial. Os principais estados produtores são Mato Grosso, Paraná e Rio Grande do Sul respectivamente, com consumo interno de grãos de até 59 milhões de toneladas (CONAB, 2018).

O Brasil alcançou recorde de produção de soja na safra 2017/18, sendo 122 milhões de toneladas (CONAB, 2018). Na safra 2018/2019 houve redução de produtividade, sendo 117 milhões de toneladas. Tal redução foi impulsionada devido problemas climáticos que ocorreram nos principais estados produtores do país (CONAB, 2019).

Adversidades climáticas e problemas fitossanitários são os principais desafios para se obter um produto final de qualidade. Esses fatores somados podem ocasionar grande quebra de produtividade, sendo a tecnologia o principal aliado do produtor para ultrapassar as barreiras de produção (SILVA et al., 2011).

A constante inovação tecnológica é peça chave para sucesso no desenvolvimento da cultura. A cultura da soja, possui um leque extenso de práticas e métodos que favoreçam o desenvolvimento de plantas e auxiliem no controle de microrganismos e insetos. O uso de agentes biológicos surge como um método eficaz e tem ganhado espaço pelo seu potencial na promoção de um maior desenvolvimento de plantas e também pelo seu potencial de controlar microrganismos e insetos (LUCON, 2009).

O fungo *Trichoderma* spp. foi inicialmente associado ao controle de microrganismos nocivos. Contudo, também se associa à produção de hormônios e ou fatores de crescimento, alterando sua relação com nutrientes disponíveis no solo causando aumento de absorção de nutrientes pela planta (LUCON, 2009). Este gênero se dispõe de uma enorme gama de cepas fúngicas que agem como controle biológico, onde suas atividades antagônicas são baseadas na ativação de múltiplos mecanismos. As cepas de *Trichoderma* spp. podem exercer biocontrole

direto ou indireto no controle de microrganismos nocivos à planta. De modo direto, através do mecanismo chamado parasitismo e de modo indireto, através da competição por nutrientes e espaço, conseqüentemente alterando as condições ambientais (BENITEZ et al., 2004).

As estirpes de *Trichoderma* spp. mostraram potencial de se associarem ao ecossistema de raízes, tratando-se de cepas como organismos avirulentos com capacidade de promover simbiose em plantas, colonizando raízes por meio de mecanismos similares aos fungos micorrízicos, produzindo compostos estimuladores de mecanismos de crescimento e defesa nas plantas (HARMAN, 2004). Portanto, o objetivo desse trabalho foi isolar e verificar a eficiência de novas estirpes encontradas de *Trichoderma* spp., além de também verificar eficiência do produto biológico comercial nas suas capacidades de promoção de crescimento da parte aérea, raiz e aumento de biomassa em plântulas cultura da soja.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. CULTURA DA SOJA

A soja (*Glycine max*) teve origem no sul da Ásia, mais precisamente no norte da China, cerca de 2883 e 2838 a.C., sofrendo modificações até os dias atuais. Era uma planta rasteira, onde sua evolução se deu com o aparecimento de plantas oriundas de cruzamentos naturais entre duas espécies, sendo então exploradas e melhoradas geneticamente por cientistas da antiga China. Foi introduzida na Europa no fim do século XV e na década do século XX, o seu teor de óleo e riqueza de proteína despertaram interesse de indústrias comerciais (NUNES, 2016).

Nas Américas o cultivo da soja ocorreu entre o final do século XVII e início do século XVIII, nos EUA (PIPER; MORSE, 1923). Ainda no século XIX a soja tornou-se conhecida no Canadá, Filipinas, Argentina, Egito e Cuba (SEDIYAMA et al., 1985).

A soja compreende um conjunto de atividades agrícolas com grande destaque no cenário mundial. Aproximadamente 90% dos grãos são direcionados para o processo de esmagamento e para produção de farelo e óleo de soja, onde o principal produto é o farelo de soja, que junto ao milho, constitui matéria-prima para fabricação de ração (HIRAKURI et al., 2014).

A China é o maior esmagador de soja do mundo, mesmo produzindo apenas 15,90 milhões de toneladas, com esmagamento em cerca de 86 milhões de toneladas devido importação. Somado aos esmagamentos dos Estados Unidos, com 57,15 milhões de toneladas; Brasil, 42,70 milhões de toneladas; e Argentina com 42 milhões de toneladas, correspondem por 227 milhões de toneladas de todos os esmagamentos mundiais (CONAB, 2019).

A soja possui grande fonte de proteínas na alimentação humana e de grande parte dos animais que originam carne, leite, ovos e uma infinidade de produtos. É uma cadeia produtiva bastante abrangente, devido ao uso de farelo de soja na dieta de animais que proporcionam produtos e derivados, financiando então, outras áreas do agronegócio (SILVA et al., 2011).

O Brasil é o segundo maior produtor de soja mundial, ficando atrás apenas dos EUA (CONAB, 2018). Isso demonstra a grande importância do complexo da soja no cenário brasileiro, que pode ser dimensionada tanto pela produção da oleaginosa, quanto pela produção de seus derivados (SILVA et al., 2011).

A soja é cultivada basicamente em todo território brasileiro, desde as altas latitudes até as baixas latitudes, apresentando em muitas regiões, produtividades médias superiores à média obtida pela soja norte-americana. Esse nível de produtividade tem se tornado possível, devido ao uso de cultivares adaptadas à região tropical, que possui alta incidência de luz, temperaturas

favoráveis e precipitação constante, relativamente bem distribuída ao longo do ciclo fenológico da soja (CÂMARA, 2015).

Além disso, adubação equilibrada; avanço do sistema de plantio direto; uso de práticas de manejo; contribuições em áreas do melhoramento genético; da química, especialmente para produção de fertilizantes, estimulantes e defensivos; adequada construção da fertilidade e da microbiologia do solo resultaram em crescimento substancial na produção de alimentos e matéria-prima (CÂMARA, 2015; FIGUEIREDO et al., 2008).

Apesar de o Brasil possuir vantagens de produção, como a alta disponibilidade de recursos naturais e clima favoráveis à produção, o país enfrenta desafios que, se corrompidos, podem potencializar ainda mais o complexo da soja, sendo fundamental num mercado concorrido e excludente. A agricultura brasileira passou por um processo de modernização à partir de 1990, contribuindo para que a cultura da soja se reestruturasse ao longo da sua cadeia, devido à introdução de novas tecnologias (SILVA et al., 2011).

De acordo com Machado et al., citado por Chagas et al. (2017), a utilização de promotores de crescimento de plantas será uma das táticas mais importantes para potencializar o complexo da soja, pois contribui para o aumento da produtividade, tornando o produto competitivo e diferenciado. Além disso, reduz a dependência de fertilizantes minerais e favorece o desenvolvimento de uma agricultura sustentável, reduzindo custos ao produtor.

Devido a uma série de problemáticas ambientais causados pela agricultura convencional, como degradação do solo e recursos naturais, torna-se necessário uma agricultura mais sustentável e menos agressiva ao meio ambiente. Os processos mediados pelos microrganismos tornam-se fundamentais na preservação dos recursos naturais (FIGUEIREDO et al., 2008).

2.2. MICRORGANISMOS BIOAGENTES

A rizosfera é a zona de influência das raízes, que se localiza da superfície até a profundidade de 1 a 3 mm, de acordo com Hiltner, citado por Moreira et al. (2006). É a região onde ocorre interação do solo e as raízes, e é também onde há um elevado número de microrganismos que influenciam o crescimento e produção de plantas. Seus efeitos podem ser benéficos ou prejudiciais (LUCON, 2009).

As propriedades físico-químicas da rizosfera têm elevada estabilidade. Quando associadas ao fornecimento de substratos orgânicos e fatores de crescimento, passam a favorecer a intensa atividade metabólica das populações (MOREIRA et al., 2006).

Os microrganismos benéficos possuem capacidade de potencializar germinação de sementes e crescimento de plântulas (LUCON, 2009). Constituem habilidades genéticas que propiciam grande potencial para desenvolvimento sustentável de áreas agricultáveis. Destaca-se os microrganismos capazes de induzirem crescimento inicial de plântulas, podendo atingir reflexos positivos na produtividade (NASCENTE et al., 2016).

Além disso, microrganismos benéficos são agentes de controle biológico de doenças em plantas. Baseiam-se em relações antagônicas entre microrganismos como competição, parasitismo e produção de metabólitos que inibem desenvolvimento de outro microrganismo (SANTOS et al., 2015).

O processo de controle biológico e indução de crescimento é interferido por uma série de fatores como o patógeno antagonizado, fatores químicos do solo como nutrientes, pH e concentração de ferro, além de fatores climáticos como temperatura e umidade. A ativação desses mecanismos desencadeia produção de compostos e metabolitos específicos que podem favorecer o biocontrole e indução de crescimento de plantas (BENITEZ et al., 2014).

Os fungicidas biológicos atingem alguns nichos onde o controle químico não é capaz de atuar (HARMAN, 2000). Contudo, de acordo com Papazivas et al., citado por Machado et al. (2012), o sucesso do controle de microrganismos prejudiciais e da promoção de crescimento por bioagentes irá depender dos mecanismos de ação do organismo. Os fungos *Trichoderma* spp. são os mais utilizados no controle de fitopatógenos por serem encontradas em uma vasta diversidade de ambientes, por serem fácil de se cultivar, observar e pelo rápido crescimento em um grande número de substratos.

2.3. *Trichoderma* spp.

Trichoderma spp. são fungos de vida livre, com reprodução assexuada, presentes principalmente em solos de regiões de climas temperados e tropicais, podendo se colonizar também em madeira. Sua fase sexual teleomorfa denomina-se *Hypocrea*. Muitas de suas linhagens não possuem ciclo sexual conhecido, sendo então classificado na sub-divisão Deuteromycotina (HARMAN et al., 2000; SAMUEL; HADAVI, 1996).

O fungo *Trichoderma* spp., é um microrganismo naturalmente encontrado no solo. A principal característica morfológica do fungo *Trichoderma* spp. é a formação de micélio, com coloração inicialmente branca, e crescimento acelerado. Com o progresso do seu desenvolvimento, torna-se cotonoso e compacto com tufo verde. A quantidade de conídios e da pigmentação determina a coloração da colônia (SAITO et al., 2009).

Linhagens de *Trichoderma* são utilizadas no controle de fitopatógenos e na promoção de crescimento de plantas devido a sua diversidade de ação, como parasitismo, antibiose e competição, podendo também atuar como indutor de resistência das plantas contra doenças. Pesquisas têm sido direcionadas para a promoção do crescimento vegetal e apresentam aumento no crescimento e na produtividade de diversas culturas como soja, pepino, berinjela, pimentão, tomate, alface, cenoura, milho, algodão, feijão, arroz, grão-de-bico, eucalipto, entre outras (MACHADO et al., 2012).

Solos com presença do *Trichoderma* spp. torna os nutrientes mais solúveis, e permite uma possibilidade maior e mais rápida de absorção. Por conta disso, solos dispostos de *Trichoderma* spp. possuem maior teor húmico, originados da lignina decomposta por este microrganismo. Isso promove aumento da área radicular da planta, acompanhado do aumento da massa verde em culturas que são tratadas com *Trichoderma* spp. (HOWELL, 1987).

Este fungo demonstra melhor atuação contra patógenos habitantes do solo, como por exemplo, *Pythium* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp. e *Sclerotium* sp.. Como o fungo também é um habitante do solo, apresenta características de antagonismo melhor expressas neste ambiente. O fungo *Trichoderma* spp. compete pelos exsudatos liberados por sementes, esses que são capazes de estimular, no solo, a germinação de propágulos de fungos patogênicos de plantas. A competição é uma das principais características de isolados de *Trichoderma* spp. usados como agentes de biocontrole, pois somente assim terão capacidade de se desenvolver na rizosfera (SAITO et al., 2009).

Trabalhos apresentados têm mostrado que fungo *Trichoderma* spp. possui poder de parasitismo sobre outros fungos patogênicos que não sejam habitantes do solo, como *Armillaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Verticillium* sp., *Venturia* sp., *Endothia* sp., *Phytophthora* sp., *Rhizopus* sp., *Botrytis* sp., *Diaphora* sp., *Fusicladium* sp. (RIBAS, 2010).

Sua atividade antagonística pode ocorrer através da produção de metabólitos voláteis e não voláteis, como ácido harziânico, alamicinas e tricolinas, além da atividade de diversas enzimas líticas, tais como quitinases, glucanases e proteases. Portanto, sua relação parasítica sobre fungos fitopatogênicos pode desencadear acontecimentos como localizar, reconhecer,

obter contato direto, formar estruturas em forma de gancho com função de apressórios, penetrar, enovelar e desenvolver hifas paralelas (SILVA et al., 2017).

Garcia-Núñez et al. (2012) relatou em estudos que isolados de *Trichoderma* spp. nativos são mais agressivos do que os comerciais. Abdullah (2008) mostrou em testes *in vivo*, que *Trichoderma harzianum* nativos tiveram maior efetividade no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* se comparada a isolados comerciais armazenados, pois, não somente inibiram o crescimento de *Sclerotinia sclerotiorum*, assim como ocorreu nos comerciais, mas também demonstraram capacidade de parasitá-lo através da penetração e colonização das hifas.

Em comparação aos mecanismos de ação envolvendo o controle biológico, os mecanismos de *Trichoderma* spp. voltados para promoção de crescimento vegetal podem estar ligados à produção de hormônios vegetais e vitaminas ou conversão de materiais de forma que seja útil para a planta, e também, absorção e translocação de minerais (POMELLA; RIBEIRO, 2009; MELO, 1991). Segundo Baugh; Escobar, a ação de *Trichoderma* spp. com função de estímulo do crescimento é complexa e acontece através de interações com fatores bioquímicos e produção de diversas enzimas e compostos benéficos.

A utilização de *Trichoderma* spp. tem propiciado elevações significativas na porcentagem e precocidade de germinação, no peso de matéria seca e no tamanho em altura de plantas. Além disso, estimula o desenvolvimento das raízes laterais, pois são capazes de atuar como bioestimulantes do crescimento das raízes, desencadeando o desenvolvimento radicular através de fitormônios, e portanto, melhorando a assimilação de nutrientes, aumentando a resistência perante fatores bióticos desfavoráveis, além de degradar fontes de nutrientes que são necessários para o desenvolvimento das plantas (HARMAN, 2000; HARMAN et al., 2004).

Segundo Howell citado por Saito (2009), o fungo apresenta também a capacidade de indução de ações defensivas pela própria planta. Estas ações são a expressão de um conjunto de proteínas conhecidas como “proteínas de resistência”, que proporcionam proteção a planta contra infecções de patógenos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS DE SOLO

As amostras de solo foram retiradas na Fazenda Escola, unidade experimental do Centro Universitário de Anápolis - UniEVANGÉLICA, de coordenadas Latitude 16°19'36"S e Longitude 48°27'10"W. A unidade se dispõe de uma área agricultável e uma área de preservação permanente. Todos os pontos da coleta das amostras foram realizados na área de preservação permanente. Na coleta das amostras de solo foram retiradas aproximadamente 30 g de solo na profundidade de 5 cm da superfície (PACHECO et al., 2012) e acondicionadas em sacos plásticos transparente identificados, sendo utilizados para o isolamento logo após coleta. Foram retiradas um total de sessenta amostras de solo, que receberam nomenclatura S1, S2, S3... S60.

3.2. ISOLAMENTO DO FUNGO *Trichoderma* spp.

Para o isolamento do fungo, a primeira etapa foi a realização da técnica de diluição seriada (SILVA, 2010). O processo foi realizado no laboratório do Centro Tecnológico de Biodiversidade do Centro Universitário de Anápolis - UniEVANGÉLICA, de coordenadas Latitude 16°19'36"S e Longitude 48°27'10"W. Para cada amostra, foram separados 10 g de solo em um becker de 50 mL com auxílio de uma espátula, pesados em uma balança de precisão. Na primeira etapa do isolamento adicionou-se os 10 g de solo em um becker de 250 mL contendo 90 mL de água ionizada e esterilizada. Com auxílio de um bastão de vidro esterilizado foi realizado a agitação do solo (soluto) e água (solvente) para a homogeneização por cerca de 2 minutos.

Posteriormente, com auxílio de uma micropipeta com ponteira esterilizada foram transferidos 1000 µL (1 mL) da amostra homogeneizada para um becker de 100 mL contendo 9 mL de água ionizada e esterilizada. Desta forma, o fator de diluição passou a ser 10^{-1} . Realizou-se a agitação para homogeneização por cerca de 2 minutos. Posteriormente, com auxílio de uma micropipeta com ponteira esterilizada foram transferidos 1000 µL (1 mL) da diluição 10^{-1} homogeneizada para um becker de 100 mL contendo 9 mL de água ionizada e esterilizada. Desta forma, o fator de diluição passou a ser 10^{-2} . Realizou-se a agitação para homogeneização por cerca de 2 minutos.

Para a realização da segunda etapa do isolamento foi utilizado uma câmara de fluxo para a transferência das amostras 10^{-2} para placas de Petri de acrílico contendo cerca de 20 mL de Batata-Dextrose-Ágar (BDA). Anterior ao início do processo ligou-se as luzes de raio UV durante 15 minutos para redução de microrganismos no interior da câmara de fluxo.

Com o auxílio da micropipeta com ponteira esterilizada foram transferidos 100 μ L (0,1 mL) da amostra diluída 10^{-2} para a placa de Petri com BDA, sempre agitando a diluição 10^{-2} antes da transferência. Após a transferência espalhou-se o líquido por toda a placa de Petri. Foram realizadas cinco repetições para cada amostra. Em seguida, as placas de Petri foram envoltas de papel filme e levadas para o laboratório de Microbiologia do Centro Universitário de Anápolis UniEVANGÉLICA, onde foram acondicionadas em estufa incubadora BOD à temperatura de 25 °C, onde ficaram incubadas por sete dias.

Identificou-se presença de *Trichoderma* spp. em duas amostras de solos, sendo então, repicadas após sete dias de incubação, transferindo o material desejado das amostras para uma nova placa de Petri com BDA, utilizando-se a câmara de fluxo para transferência das amostras. Repicações posteriores foram efetuadas de sete em sete dias após a primeira repicação, onde um novo processo de repicação foi feito igualmente ao primeiro, até que as amostras estivessem purificadas.

3.3. CONTAGEM DE CONÍDIOS EM CÂMARA DE NEUBAUER

Após a purificação, utilizou-se o método de contagem de conídios em Câmara de Neubauer para aproximação de valores de conídios viáveis mL^{-1} entre os isolados. O processo foi realizado no laboratório de Microbiologia do Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA de coordenadas Latitude 16°19'36"S e Longitude 48°27'10"W. Para cada isolado de *Trichoderma* spp. foram extraídos os conídios da placa de Petri com auxílio de uma espátula e adicionados em um becker contendo 10 mL de água ionizada e esterilizada, misturando para homogeneização. A suspensão foi filtrada em camada dupla de gaze (Figura 1).

Transferiu-se uma alíquota de cerca de 0,5 mL da suspensão filtrada para a borda da Câmara de Neubauer, preenchendo o espaço vazio entre a câmara e a lamínula. Utilizando um microscópio com lente 40x, focalizou-se a área demarcada da câmara de Neubauer e realizou-se a contagem em zigue-zague na área correspondente a 0,1 mm^3 . Repetiu-se os procedimentos para ambos os isolados. Os valores das suspensões foram aproximados entre o isolado S13 e

S31, onde utilizou-se uma concentração final de 1×10^7 conídios mL^{-1} e para o isolado S31 uma concentração final de 8×10^6 conídios mL^{-1} .



Figura 1 – Filtragem da suspensão de *Trichoderma* spp. isolado S31 em camada dupla de gaze.

Fonte: OLIVEIRA FILHO, F. G.

3.4. AVALIAÇÃO DO USO DE PRODUTO BIOLÓGICO COMERCIAL *Trichoderma asperellum* E ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. NA FASE INICIAL DA CULTURA DA SOJA

Os *Trichoderma* spp. isolados e o *Trichoderma asperellum* comercial foram utilizados em experimento *in vivo*, utilizando-se sacos de polietileno para a semeadura da soja. Os experimentos foram em delineamento inteiramente casualizados com cinco tratamentos e dez repetições. Estes tratamentos foram iguais para os *Trichoderma* spp. isolados e para o *Trichoderma asperellum* comercial, totalizando três ensaios independentes, com 50 sacos de polietileno contendo solo classificado como Latossolo Vermelho Distrófico, adubado com 300 Kg de N-P-K (4-14-8) para cada ensaio.

Todos os ensaios independentes foram compostos por seguintes tratamentos: T1: Testemunha, T2: *Trichoderma* tratamento de sementes ($100 \text{ mL } 100 \text{ Kg}^{-1}$), T3: *Trichoderma*

tratamento de sementes (200 mL 100 Kg⁻¹), T4: *Trichoderma* tratamento de sementes (300 mL 100 Kg⁻¹), T5: *Trichoderma* tratamento de sementes (200 mL 100 Kg⁻¹) + rega (60 mL ha⁻¹).

O primeiro ensaio as sementes foram tratadas com *Trichoderma asperellum*, produto comercial R1[®] (conídios viáveis 1x10¹⁰) mL⁻¹. O segundo ensaio as sementes foram tratadas com *Trichoderma* spp. isolado S13 (conídios viáveis 1x10⁷) mL⁻¹. O terceiro ensaio as sementes foram tratadas com *Trichoderma* spp. isolado S31 (conídios viáveis 8x10⁶) mL⁻¹.

As sementes de soja da variedade TMG 1264 foram tratadas e semeadas quatro sementes em cada saco de polietileno. Foi realizado a pulverização de *Trichoderma* spp. no tratamento 200 mL 100 Kg⁻¹ + rega (60 mL ha⁻¹) 7 DAS, onde a dosagem da rega foi diluída em 30 mL de água e o molhamento foi feito diretamente no solo. Realizou-se o desbaste 10 DAS, permanecendo apenas duas plantas em cada saco de polietileno. Após vinte e um dias da germinação, as plantas de soja foram removidas dos sacos de polietileno e lavadas em água corrente.

Realizou-se a medição da raiz (cm) e da parte aérea (cm) com o auxílio de uma trena. Posteriormente às medições, com o auxílio de uma tesoura separou-se a raiz da parte aérea para realização da pesagem de massa verde de cada tratamento com auxílio de uma balança, e, posteriormente, foram submetidas à secagem através da utilização de micro-ondas, com tempo padronizado para parte aérea (5 minutos) e raiz (3 minutos) para pesagem de massa seca com auxílio de uma balança.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias geradas comparadas pelo teste Duncan ($p \leq 5\%$) utilizando o programa estatístico “ASSISTAT”, Versão 7.7.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As duas amostras em que foram identificados a presença de *Trichoderma* spp. foram as amostras S13 e S31. O local em que foi realizado a coleta de solo apresenta flora nativa e solo com grande quantidade de húmus e folhagens de árvores em estágio de mineralização (Figura 2). Há também presença de nascente, consequentemente apresentando alta umidade no solo.



Figura 2 – Área de Preservação Permanente da Fazenda Escola, unidade experimental do Centro Universitário de Anápolis - UniEVANGÉLICA, de coordenadas Latitude 16°19'36"S e Longitude 48°27'10"W.

Fonte: OLIVEIRA FILHO, F. G.

Sua caracterização se dá por micélios de crescimento rápido com coloração branca, tornando-se verdes escuro com o decorrer de seu desenvolvimento (DOMSCH et al., 1980). Os

micélios são ramificados, solitários ou em tufos compactos; formato cônico ou piramidal. Os conídios são estruturas unicelulares; formato subgloboso, ovoide, elipsoide ou elíptico-cilíndricos e textura lisa ou rugosa, que se apresentam em forma de esferas no ápice de fiáldes. As fiáldes possuem forma cantil, centro dilatado e ápice afilado; são solitários ou em grupos e hialinos que formam os conidióforos (Figura 3) (MOREIRA, 1991).

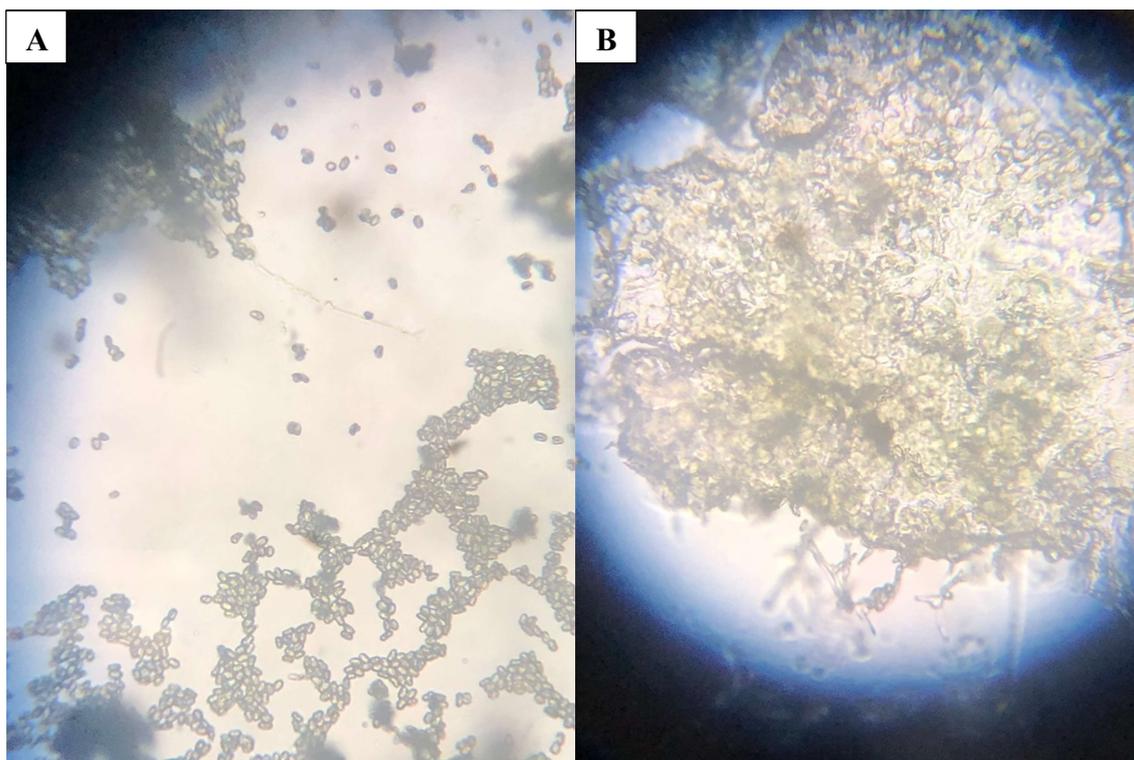


Figura 3 – A: Imagem de microscópio 40x de *Trichoderma* spp. isolado S13.; B: Imagem de microscópio 40x de *Trichoderma* spp. isolado S31.

Fonte: Oliveira Filho, F. G.

A rizosfera é uma zona altamente rica em diversidade microbiana, visto que a atividade dos microrganismos possui complexidade em suas interações com as raízes. É a região onde ocorre grande parte de reações físicas, químicas e bioquímicas relacionadas à decomposição de matéria orgânica e degradação e ciclagem de nutrientes (SYLVIA et al., 1998).

Trichoderma spp. é um dos principais microrganismos presentes na rizosfera relacionados ao aumento do crescimento vegetal. Pode influenciar positivamente na germinação de sementes, no desenvolvimento e rendimento de plantas pela produção de substâncias promotoras de crescimento (CHAGAS et al., 2017). É um fungo natural do solo, encontrado principalmente em solos orgânicos (MELO, 1991). Exerce uma função ecológica

importante, devido sua participação na decomposição e mineralização dos resíduos vegetais, contribuindo para a disponibilização de nutrientes para as plantas (GAMS; BISSET, 1998).

Para os experimentos em *in vivo*, no primeiro ensaio, utilizando-se o produto biológico comercial R1® *Trichoderma asperellum* (conídios viáveis 1×10^{10}) ml⁻¹, observou-se aos 21 DAS que o tratamento com dosagem 200 mL 100 Kg⁻¹ no tratamento de sementes + rega (60 mL ha⁻¹) foi superior em 21% em relação à testemunha no comprimento de raiz. Quanto ao crescimento da parte aérea, os tratamentos não apresentaram diferença significativa em relação à testemunha (Tabela 1).

Quanto à pesagem de massa verde e massa seca da raiz no primeiro ensaio, o tratamento com dosagem 200 mL 100 Kg⁻¹ no tratamento de sementes + rega (60 mL ha⁻¹) diferiu em 62,7% na massa verde e 52,6% na massa seca em relação à testemunha (Tabela 2). Para a massa verde e massa seca da parte aérea no primeiro ensaio, o tratamento com dosagem, 300 mL 100 Kg⁻¹ no tratamento de sementes diferiu em 23% na massa verde e 19,6% na massa seca em relação à testemunha (Tabela 3).

TABELA 1 – Ensaio 1: Avaliação do comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento da raiz (CR), realizadas no vigésimo primeiro dia após semeadura (DAS) com *Trichoderma asperellum*.

Tratamentos	CPA	CR
	21 DAS	21 DAS
T1 – Testemunha	18,275 a ¹	24,925 b
T2 – <i>Trichoderma asperellum</i> (100 mL 100 Kg ⁻¹)	18,475 a	24,875 b
T3 – <i>Trichoderma asperellum</i> (200 mL 100 Kg ⁻¹)	18,950 a	27,475 ab
T4 – <i>Trichoderma asperellum</i> (300 mL 100 Kg ⁻¹)	19,600 a	26,350 b
T5 – <i>Trichoderma asperellum</i> (200 mL 100 Kg ⁻¹) + rega (60 mL ha ⁻¹) 7 DAS	18,825 a	30,175 a
CV% ²	10,76	18,40

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si segundo Duncan a 5% de probabilidade.

² Coeficiente de variação.

TABELA 2 – Ensaio 1: Avaliação de massa verde (MVR) e massa seca (MSR) da raiz, realizadas no vigésimo primeiro dia após semeadura (DAS) com *Trichoderma asperellum*.

Tratamentos	MVR	MSR
	21 DAS	21 DAS
T1 – Testemunha	12,267 d ¹	6,334 d
T2 – <i>Trichoderma asperellum</i> (100 mL 100 Kg ⁻¹)	12,134 d	6,167 b
T3 – <i>Trichoderma asperellum</i> (200 mL 100 Kg ⁻¹)	16,700 b	8,634 b
T4 – <i>Trichoderma asperellum</i> (300 mL 100 Kg ⁻¹)	15,200 c	7,567 b
T5 – <i>Trichoderma asperellum</i> (200 mL 100 Kg ⁻¹) + rega (60 mL ha ⁻¹) 7 DAS	19,967 a	9,667 a
CV% ²	3,25	4,02

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si segundo Duncan a 5% de probabilidade.

² Coeficiente de variação.

TABELA 3 – Ensaio 1: Avaliação de massa verde (MVPA) e massa seca (MSPA) da parte aérea, realizadas no vigésimo primeiro dia após semeadura (DAS) com *Trichoderma asperellum*.

Tratamentos	MVPA	MSPA
	21 DAS	21 DAS
T1 – Testemunha	32,067 e ¹	10,367 d
T2 – <i>Trichoderma asperellum</i> (100 mL 100 Kg ⁻¹)	34,567 d	10,967 c
T3 – <i>Trichoderma asperellum</i> (200 mL 100 Kg ⁻¹)	37,067 b	11,534 b
T4 – <i>Trichoderma asperellum</i> (300 mL 100 Kg ⁻¹)	39,567 a	12,400 a
T5 – <i>Trichoderma asperellum</i> (200 mL 100 Kg ⁻¹) + rega (60 mL ha ⁻¹) 7 DAS	36,634 c	11,167 bc
CV% ²	2,48	2,79

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si segundo Duncan a 5% de probabilidade.

² Coeficiente de variação.

Jesus et al. (2011) corroboram com o potencial de *Trichoderma asperellum* utilizados em substrato para a produção de mudas de café, apresentando o efeito positivo no aumento de

massa da raiz e crescimento da parte aérea e raiz. Chagas et al. (2017) mostrou que tratamentos com utilização de *Trichoderma asperellum* foram superiores em relação à testemunha nas culturas da soja, arroz, feijão-caupi e milho.

Produtos de baixo custo com microrganismos promotores de crescimento de plantas é uma opção para reduzir os problemas ambientais causados pela utilização inadequada e até excessiva de insumos e defensivos agrícolas. Além disso, agentes biológicos promotores de crescimento de plantas contribuem para aumentar a produtividade (POMELLA; RIBEIRO, 2009; MACHADO et al., 2012).

No segundo ensaio, utilizando-se o isolado S13 *Trichoderma* spp. (conídios viáveis 1×10^7) mL⁻¹, foi observado aos 21 DAS que o tratamento com dosagem 200 mL 100 Kg⁻¹ no tratamento de sementes foi superior em 9,8% em relação à testemunha no comprimento de parte aérea. Quanto ao crescimento de raiz, os tratamentos não apresentaram diferença significativa em relação entre si (Tabela 4).

TABELA 4 – Ensaio 2: Avaliação do comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), realizadas no vigésimo primeiro dia após semeadura (DAS) com o isolado S13 de *Trichoderma* spp.

Tratamentos	CPA	CR
	21 DAS	21 DAS
T1 – Testemunha	16,475 b ¹	27,700 a
T2 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S13 (100 mL 100 Kg ⁻¹)	17,250 ab	30,450 a
T3 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S13 (200 mL 100 Kg ⁻¹)	18,100 a	29,900 a
T4 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S13 (300 mL 100 Kg ⁻¹)	17,400 ab	30,600 a
T5 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S13 (200 mL 100 Kg ⁻¹) + rega (60 mL ha ⁻¹) 7 DAS	16,950 b	28,250 a
CV% ²	8,87	18,32

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si segundo Duncan a 5% de probabilidade.

² Coeficiente de variação.

Quanto à pesagem de massa verde e massa seca da raiz no segundo ensaio, o tratamento com dosagem 200 mL 100 Kg⁻¹ no tratamento de sementes diferiu em 79% para massa verde e 93,2% para massa seca em relação à testemunha (Tabela 5). Para massa verde e massa seca da parte aérea no segundo ensaio, o tratamento com dosagem 200 mL 100 Kg⁻¹ no tratamento de

sementes diferiu em 22,1% para massa verde e 40% para massa seca em relação à testemunha (Tabela 6).

TABELA 5 – Ensaio 2: Avaliação de massa verde (MVR) e massa seca (MSR) da raiz, realizadas no vigésimo primeiro dia após semeadura (DAS) com o isolado S13 de *Trichoderma* spp.

Tratamentos	MVR	MSR
	21 DAS	21 DAS
T1 – Testemunha	12,100 d ¹	6,400 e
T2 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S13 (100 mL 100 Kg ⁻¹)	14,400 d	6,834 d
T3 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S13 (200 mL 100 Kg ⁻¹)	21,667 a	12,367 a
T4 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S13 (300 mL 100 Kg ⁻¹)	18,067 b	8,834 b
T5 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S13 (200 mL 100 Kg ⁻¹) + rega (60 mL ha ⁻¹) 7 DAS	14,533 c	7,767 c
CV% ²	1,36	2,32

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si segundo Duncan a 5% de probabilidade.

² Coeficiente de variação.

TABELA 6 – Ensaio 2: Avaliação de massa verde (MVPA) e massa seca (MSPA) da parte aérea, realizadas no vigésimo primeiro dia após semeadura (DAS) com o isolado S13 de *Trichoderma* spp.

Tratamentos	MVPA	MSPA
	21 DAS	21 DAS
T1 – Testemunha	41,634 e ¹	9,867 d
T2 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S13 (100 mL 100 Kg ⁻¹)	46,767 c	12,100 c
T3 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S13 (200 mL 100 Kg ⁻¹)	50,867 a	13,867 a
T4 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S13 (300 mL 100 Kg ⁻¹)	49,634 b	12,700 b
T5 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S13 (200 mL 100 Kg ⁻¹) + rega (60 mL 100 Kg ⁻¹) 7 DAS	45,567 d	9,967 d
CV% ²	1,92	2,01

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si segundo Duncan a 5% de probabilidade.

² Coeficiente de variação.

No terceiro ensaio, utilizando-se o isolado S31 *Trichoderma* spp. (conídios viáveis 8×10^6) mL⁻¹, foi observado aos 21 DAS que para comprimento da parte aérea não foi observado diferença significativa em relação à testemunha. Quanto ao comprimento de raiz, o tratamento com dosagem 300 mL 100 Kg⁻¹ no tratamento de sementes, foi superior em 20,7% em relação à testemunha (Tabela 07).

TABELA 7 – Ensaio 3: Avaliação do comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), realizadas no vigésimo primeiro dia após semeadura (DAS) utilizando o isolado S31 de *Trichoderma* spp.

Tratamentos	CPA	CR
	21 DAS	21 DAS
T1 – Testemunha	16,600 a ¹	28,125 c
T2 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S31 (100 mL 100 Kg ⁻¹)	17,050 a	32,825 ab
T3 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S31 (200 mL 100 Kg ⁻¹)	17,525 a	30,050 bc
T4 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S31 (300 mL 100 Kg ⁻¹)	17,075 a	33,950 a
T5 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S31 (200 mL 100 Kg ⁻¹) + rega (60 mL ha ⁻¹) 7 DAS	16,575 a	30,150 bc
CV% ²	10,37	16,29

¹Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si segundo Duncan a 5% de probabilidade.

² Coeficiente de variação.

Quanto à pesagem de massa verde e massa seca da raiz no terceiro ensaio, o tratamento com dosagem 300 mL 100 Kg⁻¹ no tratamento de sementes diferiu em 56,8% para massa verde e 47,8% para massa seca em relação à testemunha (Tabela 8). Para a massa verde e massa seca da parte aérea no terceiro ensaio, o tratamento com dosagem 200 mL 100 Kg⁻¹ no tratamento de sementes diferiu em 25,4% para massa verde e 22,7% para massa seca em relação à testemunha (Tabela 9).

TABELA 8 – Ensaio 3: Avaliação de massa verde (MVR) e massa seca (MSR) da raiz, realizadas no vigésimo primeiro dia após semeadura (DAS) com o isolado S31 de *Trichoderma* spp.

Tratamentos	MVR	MSR
	21 DAS	21 DAS
T1 – Testemunha	16,134 d ¹	7,800 c
T2 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S31 (100 mL 100 Kg ⁻¹)	19,667 c	8,167 c
T3 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S31 (200 mL 100 Kg ⁻¹)	24,234 a	9,367 b
T4 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S31 (300 mL 100 Kg ⁻¹)	25,300 a	11,534 a
T5 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S31 (200 mL 100 Kg ⁻¹) + rega (60 mL ha ⁻¹) 7 DAS	10,234 e	5,667 d
CV% ²	3,25	3,84

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si segundo Duncan a 5% de probabilidade.

² Coeficiente de variação.

TABELA 9 – Ensaio 3: Avaliação de massa verde (MVPA) e massa seca (MSPA) da parte aérea, realizadas no vigésimo primeiro dia após semeadura (DAS) com o isolado S31 de *Trichoderma* spp.

Tratamentos	MVPA	MSPA
	21 DAS	21 DAS
T1 – Testemunha	46,167 d ¹	13,334 b
T2 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S31 (100 mL 100 Kg ⁻¹)	52,300 b	13,167 bc
T3 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S31 (200 mL 100 Kg ⁻¹)	57,934 a	16,367 a
T4 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S31 (300 mL 100 Kg ⁻¹)	49,034 c	12,634 c
T5 – <i>Trichoderma</i> spp. Isolado S31 (200 mL 100 Kg ⁻¹) + rega (60 mL ha ⁻¹) 7 DAS	37,567 e	10,400 d
CV% ²	2,89	2,48

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si segundo Duncan a 5% de probabilidade.

² Coeficiente de variação.

Chagas et al. (2017) cita isolados de *Trichoderma* como promotores de crescimento vegetal pela capacidade de solubilização de fosfatos e outros minerais, disponibilizando-os para

as plantas. Sivan; Harman (1991), trataram sementes de milho e algodão com os isolados de *Trichoderma harzianum* e observaram que o isolado T-22 promoveu crescimento das raízes de 31% em milho e 60% em algodoeiro em relação à testemunha.

Silva et al. (2012) demonstraram que isolados de *Trichoderma* spp. encontrados em solos da Amazônia elevaram a biomassa de plantas de arroz, mostrando também o potencial como promotores de crescimento. Santos et al. (2010) afirmaram que a utilização de *Trichoderma* spp. em plantas de maracujá derivadas de estaquia, proporcionou resultados positivos no incremento de massa fresca e seca. Kleifeld; Chet (1992), relataram aumento na produção de massa seca de plantas de *Cucumis sativum* tratadas com *Trichoderma harzianum*.

Algumas estirpes aumentam a superfície total do sistema radicular, e possibilita melhor acesso aos elementos minerais (HARMAN, 2004). Outras estirpes são capazes de solubilizar e disponibilizar para a planta elementos como fósforo, ferro, cobre, manganês e zinco presentes no solo, podendo melhorar também os mecanismos ativos de absorção, e ainda, aumentar a eficiência da planta na utilização de nutrientes importantes, como o nitrogênio (ALTOMARE et al., 1999).

5. CONCLUSÃO

A utilização de produto biológico comercial e isolados *Trichoderma* spp. se mostraram eficientes no crescimento de raiz, crescimento de parte aérea e aumento de biomassa em tratamento de sementes e tratamento de sementes + rega.

O produto biológico comercial R1[®] *Trichoderma asperellum* apresentou eficiência quanto ao crescimento de raiz e aumento de biomassa na dosagem recomendada 200mL 100 Kg⁻¹ no tratamento de sementes e na dosagem recomendada com pulverização (200ml⁻¹ 100 Kg + rega (60 mL ha⁻¹)), enquanto os isolados de *Trichoderma* spp. S13 e S31 apresentaram resultados significativos para crescimento de raiz e aumento de biomassa em dosagem à partir de 200 mL 100 Kg⁻¹, podendo ser isolados de *Trichoderma* spp. promissores na promoção de crescimento de plantas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULLAH, M.T.; ALI, N. Y.; SULEMAN, P. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. **Crop Protection**, Oxford, v. 27, n. 10, p. 1354-1359. 2008.

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

BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. **Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. Department of Genetics, University of Sevilla, Spain. 2004.**

BAUGH, C. L.; ESCOBAR, B. The genus *Bacillus* and genus *Trichoderma* for agricultural bio-augmentation. **Rice Farm Magazine**, Anytown, NY, v. 1, n. 4, p. 1-4, 2007.

CÂMARA, G. M. S. **Introdução ao agronegócio soja**. USP/ESALQ. 2015.

CHAGAS, L. F. B.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; SOARES, L. P.; FIDELIS, R. R.. *Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 4, n. 3, p. 97-102, jul./set. 2017.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Análise Mensal: Soja**, Agosto de 2018. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-soja>>.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Análise Mensal: Soja**, Março de 2019. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-soja>>.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. **Compendium of soil fungi**. CRC Press, London. p. 630. 1980.

FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A.; STAMFORD, N. P.; SANTOS, C. E. R. S. *Microrganismos e Agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura*. Guaíba. **Agrolivros**. 568p. 2008.

GAMS, W.; BISSET, J. Morphology and identification of *Trichoderma*. **In:** KUBUCEK, C.P.; HARMAN, G.E. (ed.) *Trichoderma & Gliocadium*, London: Taylor & Francis Ltd., v.1, p.3-34. 1998.

GARCÍA-NÚÑEZ, H. G. Isolation of native strains of *Trichoderma* spp. from horticultural soils of the Valley of Toluca, for potential biocontrol of *Sclerotinia*. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**. Valencia, v. 15, n. 2, p.357-365. 2012.

HARMAN, G.E. **Myths and dogmas of biocontrol**. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease*, 84, 4: 376–393. 2000.

HARMAN, G.E.; HOWELL, C.R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Natural Reviews Microbiology**, v.2, p.43-56, 2004.

HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J. **O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro**. Embrapa Soja – Documentos (InfotecaE). 2014.

HOWELL, C. R. The Role of mycoparasitism in the biological control of *Rhizoctonia solani* by *Gliocadium virens*. **Phytopathology**. v.77 p.992-994. 1987.

JESUS, E. P.; SOUZA, C. H. E.; POMELLA, A. W. V.; COSTA, R. L.; SEIXAS, L.; SILVA, R. B. Avaliação do potencial de *Trichoderma asperellum* como condicionador de substrato para a produção de mudas de café. **Cerrado Agrocência**, Patos de Minas-MG, v. 2, n.2, p. 7-19. 2011.

LUCON, C.M.M. **Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma* spp.** 2009. Artigo em Hypertexto. Disponível em:

<http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/trichoderma/index.htm>. Acesso em: 29/5/2019.

MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. R.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo bioagente. **Revista de Ciências Agrárias** – Vol. 35, 1, 26: 274-288, ISSN: 0871-018. 2012.

MELO, I.S. Potencialidades da utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. **In:** BETTIOL, W. (ed.). Controle Biológico de Doenças de Plantas. Jaguariúna: CNPDA/EMBRAPA. p.135-156. 1991.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2. Ed. Lavras: UFLA. 2006.

PACHECO, K. R. **Avaliação de *Trichoderma* e de fosfito no controle da murcha-de-esclerócio em feijoeiro causada por *Sclerotium rolfsii***. [88] f., il. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Brasília, Brasília. 2012.

PIPER, C. V.; MORSE, W.J. **The Soybean**. McGraw-Hill, New York. 310p. 1923.

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

RIBAS, P. P. **Compatibilidade de *Trichoderma* spp. a princípios ativos de fungicidas comerciais aplicados na cultura do feijão**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, março. 2010.

SAITO, L. R.; SALES, L. L. S. R.; MARTINCKOSKI, L.; ROYER, R.; RAMOS, M. S.; REFFATTI, T. Aspectos dos efeitos do fungo *Trichoderma* spp. no biocontrole de patógenos de culturas agrícolas. **Pesquisa Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**. v2 n3 set/dez. 2009.

SAMUEL, N.; HADAVI, N. *Trichoderma*: review of biology and sistematics of de genus. **Journal of General Microbiology**, v. 100, p. 923-935. 1996.

SANTOS, H. A.; MELLO, S. C. M.; PEIXOTO, J. R. Associação de isolados de *Trichoderma* spp. e ácido indol-3-butírico (AIB) na promoção de enraizamento de estacas e crescimento de maracujazeiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia-MG, v. 26, n. 6, p. 966-972. 2010.

SEDIYAMA, T.; PEREIRA, M.G.; SEDIYAMA, C.S.; GOMES, J.L.L. **Cultura da soja – Parte I**. Viçosa, MG: Impr. Univer., UFV. 96p. 1985.

SILVA, A. C.; LIMA, E. P. C.; BATISTA, H. R. **A importância da soja para o agronegócio brasileiro**: uma análise sob enfoque da produção, emprego e exportação. V Encontro de Economia Catarinense. 2011.

SILVA, F. F.; CASTRO, E. M.; MOREIRA, S. I.; FERREIRA, T. C.; LIMA, A. E.; ALVES, A. Emergência e análise ultraestrutural de plântulas de soja inoculadas com *Sclerotinia sclerotiorum* sob efeito da aplicação de *Trichoderma harzianum*. **Summa Phytopathol**, Botucatu, v. 43, n. 1, p. 41-45. 2017.

SILVA, J. C. **Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. no controle biológico da queimada-bainha (*Rhizoctonia solani* Kühn) em arroz (*Oryza sativa* L.)**. PhD Thesis. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural da Amazônia. 2010.

SIVAN, A.; HARMAN, G.E. Improved rhizosphere competence in a protoplast fusion progeny of *Trichoderma harzianum*. **Journal of General Microbiology**. v. 137, p. 23-29. 1991.

SYLVIA, D. M.; FUHRMANN, J. J.; HARTEL, P. G.; ZUBERER, D. A. Principles and applications of Soil Microbiology. **New Jersey: Prentice-Hall**, p.389-407. 1998.