

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROBIOLOGIA**

**VERMICOMPOSTAGEM E DESENVOLVIMENTO  
INICIAL DE ALFACE EM DOSES SUPERIORES DE  
TRICHODERMA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**MARIA MEDIANEIRA SACCOL WIETHAN**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2015**

# **VERMICOMPOSTAGEM E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE ALFACE EM DOSES SUPERIORES DE TRICHODERMA**

**MARIA MEDIANEIRA SACCOL WIETHAN**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Área de Concentração em Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Agrobiologia**

**Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Ferreira da Silva**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2015**

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Naturais e Exatas  
Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia**

A comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**VERMICOMPOSTAGEM E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE  
ALFACE EM DOSES SUPERIORES DE TRICHODERMA**

elaborada por  
**Maria Medianeira Saccol Wiethan**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Agrobiologia**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

**Antonio Carlos Ferreira da Silva, Dr.**  
(Presidente/Orientador)

---

**Ecila Maria Nunes Giracca, Dr<sup>a</sup>. (UFSM)**

---

**Solange Tedesco, Dr<sup>a</sup>. (UFSM)**

Santa Maria, 06 de novembro de 2015.

*A todos aqueles que ambicionam e  
lutam por um mundo melhor*

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

### **Agradeço:**

A Deus, que me deu seu amor incondicional, graça e conhecimento, me capacitando espiritual e fisicamente, dia após dia, para vencer os obstáculos e superar limitações, mostrando-me que com Ele sonhos como este são possíveis;

Aos familiares que souberam entender as exigências deste período e com grande compreensão e amor acompanharam este processo continuando a fazer-me sorrir todos os dias e me incentivando a nunca desistir, acreditando em mim e no meu potencial.

Imensamente ao meu orientador Professor Dr. Antonio Carlos Ferreira da Silva pela brilhante orientação, atuando com muito profissionalismo, paciência, apoio, incentivo, dedicação, amizade e pela liberdade que me concedeu na construção desta dissertação, torcendo e acreditando na realização de mais uma etapa importante em minha vida. Por todas as vezes que me disse: "Você vai conseguir".

Aos professores, funcionários e colegas do curso PPG Agrobiologia, em especial ao Gabriel Streck Bortolin pela ajuda incondicional em todas as etapas desse trabalho e pela amizade e companheirismo demonstrada durante esses anos.

A Renata Soares Pinto que chegou num momento muito importante e que não mediu esforços para que eu pudesse atingir esse objetivo tão sonhado.

Aos colegas de trabalho do Departamento de Solos em especial ao Antonio Carlos Bassaco que me fez acreditar que eu era capaz; ao Luiz Francisco Finamor pelo auxílio técnico nas análises químicas; aos colegas Enio Pozzobon e Paulo Giacomini pelo convívio, incentivo e ajuda diária, também são responsáveis por essa conquista.

A empresa ICB BIOAGRITEC LTDA pelo fornecimento e disponibilidade das informações a respeito do produto biológico.

A todos aqueles amigos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

**Muito Obrigada!**

*"Se fiz o que fiz foi porque subi  
no ombro de gigantes"*  
(Isaac Newton)

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia  
Universidade Federal de Santa Maria

### VERMICOMPOSTAGEM E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE ALFACE EM DOSES SUPERIORES DE TRICHODERMA

AUTORA: MARIA MEDIANEIRA SACCOL WIETHAN  
ORIENTADOR: ANTONIO CARLOS FERREIRA DA SILVA  
Santa Maria, RS, 06 de novembro de 2015

A diminuição do uso de agrotóxicos é uma das alternativas utilizadas na agricultura orgânica, podendo estes serem substituídos por agentes biológicos menos agressivos ao ambiente. Alguns isolados de trichoderma são considerados importantes e eficientes agentes biológicos que, em doses ótimas, protegem as plantas contra doenças de plantas e possuem mecanismos que promovem tanto a germinação de sementes como o desenvolvimento de hortaliças. São raros os estudos que avaliam a germinação de sementes e o desenvolvimento de plantas em interação com a vermicompostagem em altas doses de trichoderma. Baseado nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi testar doses superiores às recomendadas do produto comercial biológico ICB Nutrisolo Trichoderma (ICB), avaliando-se a multiplicação e o desenvolvimento de *Eisenia andrei*, as alterações nas características químicas do substrato, bem como a emergência e o desenvolvimento inicial de plântulas de alface em vermicomposto. Para o experimento 1, multiplicação e desenvolvimento de *E. andrei*, a unidade experimental constituiu-se de 6 kg de esterco bovino em caixas com 48 minhocas da espécie *E. andrei*. Utilizou-se o produto comercial ICB nas doses 0,0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0; todas na concentração  $10^{11}$  UFC kg<sup>-1</sup> em substrato. Para avaliação das características químicas do vermicomposto foi utilizado também o tratamento sem minhocas. Foi feita a contagem do número de minhocas adultas, jovens e casulos, e avaliou-se o peso seco total. No experimento 2, conduzido em casa de vegetação, o substrato foi uma mistura de vermicomposto e substrato comercial na relação 1:1 (v/v). Foram utilizadas as doses 0,0; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 16,0 de ICB, todas na concentração  $10^{11}$  UFC kg<sup>-1</sup> em substrato. O substrato inoculado foi colocado em bandejas de germinação, sendo cada unidade experimental composta por 10 células, cada uma com cinco sementes de alface cv. Regina. Após a emergência fez-se um desbaste, permanecendo uma plântula por célula. As variáveis avaliadas foram porcentagem de germinação de sementes, índice de velocidade de emergência de plântulas, altura, massa fresca e seca da parte aérea, área foliar, volume e área superficial de raiz, e porcentagens de P, K, Ca e Mg nas folhas. Os delineamentos experimentais foram ao acaso com quatro repetições. A partir da dose 4,0 de ICB, há decréscimo do número de minhocas. Doses altas até 1,0 não alteram o número de minhocas adultas e de casulos de *E. andrei*, entretanto, o índice de multiplicação foi inferior em todos os tratamentos ICB e doses acima de 2,0 diminuíram o peso seco total. O pH foi superior nos tratamentos com ICB, e houve aumento na porcentagem de P, K e Mg em presença de minhocas. As doses estudadas no experimento 2 influenciaram negativamente o desenvolvimento aéreo e radicular das plantas. As variáveis porcentagem de germinação e índice de velocidade de emergência foram influenciadas negativamente quando em doses acima de 4,0. A análise química foliar demonstrou que todas as doses aumentaram a porcentagem dos nutrientes analisados.

**Palavras-chave:** Altas doses, *Trichoderma* spp., minhoca, *Eisenia andrei*, *Lactuca sativa*.

## ABSTRACT

Master's dissertation  
Post-Graduation Program in Agrobiologia  
Federal University of Santa Maria

### VERMICOMPOSTING AND INITIAL DEVELOPMENT OF LETTUCE SUBJECTED TO HIGHER TRICHODERMA DOSES

AUTHOR: MARIA MEDIANEIRA SACCOL WIETHAN  
ADVISOR: ANTONIO CARLOS FERREIRA DA SILVA  
Santa Maria, RS, november 06, 2015

Pesticide use reduction is one of the alternatives used in organic agriculture. Pesticides may be replaced by biological agents, which are less harmful to the environment. Some *Trichoderma* isolates are considered to be important and efficient biological agents. They protect plants from plant diseases when used at optimal doses and have mechanisms to enable seed germination and vegetable development. Few studies evaluate seed germination and plant development interaction with vermicomposting at high *Trichoderma* doses. Thus, the current study aims to test higher doses of the ICB Nutrisolo *Trichoderma* (ICB) biological commercial product than the recommended ones. It was done by evaluating, *Eisenia andrei* multiplication and development, the changes in the substrate's chemical features as well as the emergence and the initial development of lettuce seedlings in vermicompost. Regarding experiment 1, *E. andrei* multiplication and development, the experimental unit consisted of 6 kg of cattle manure in boxes containing 48 *E. andrei* earthworms. ICB commercial product doses of 0,0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 and 8,0 were used at the concentration of  $10^{11}$  CFU  $\text{kg}^{-1}$  in the substrate. The treatment without earthworms was also conducted to evaluate the vermicompost chemical features. The number of adult and young earthworms and of earthworm cocoons was counted, and the total dry weight was evaluated. As for experiment 2, which was conducted in greenhouse, the substrate was a mixture of vermicompost and commercial substrate at the ratio 1:1 (v/v). ICB doses of 0,0; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 and 16,0 were used at concentration of  $10^{11}$  UFC  $\text{kg}^{-1}$  in the substrate. The inoculated substrate was placed in germination trays. Each experimental unit was composed of 10 cells, and each cell received five Regina cultivar lettuce seeds. After the seedlings emerged, a thinning was conducted by leaving one seedling per cell. The evaluated variables were germination percentage, seedling emergence speed index, height, shoot fresh and dry weight, leaf area, root volume and surface area, and P, K, Ca and Mg percentages in the leaves. The experimental designs were randomized with four replications. There was decrease in the number of earthworms when ICB doses equal to or above 4,0 were used. Doses up to 1,0 did not change the number of adult *E. andrei* earthworms and cocoons. However, the multiplication index was lower in all ICB treatments and doses above 2,0 decreased the total dry weight. The pH was higher in ICB treatments, and there was increased P, K and Mg percentage in the presence of earthworms. The doses studied in experiment 2 negatively influenced the plants' shoot and root development. The germination percentage and the seedling emergence speed index were negatively influenced when doses above 4,0 were used. The leaf chemical analysis showed that all doses increased the percentage of analyzed nutrients.

**Keywords:** High doses, *Trichoderma* spp., earthworm, *Eisenia Andrei*, *Lactuca sativa*.



## LISTA DE FIGURAS

### Artigo 1

- Figura 1** - Número de minhocas adultas (A), minhocas jovens (B) e de minhocas totais (C) sob altas doses de ICB Nutrisolo Trichoderma em vermicomposto..... 33
- Figura 2** - Número total de casulos (A) e proporção minhocas adultas/casulos (B) em altas doses de ICB Nutrisolo Trichoderma em vermicomposto..... 34
- Figura 3** - Índice de multiplicação (A) e peso seco total de minhocas (B) sob altas doses de ICB Nutrisolo Trichoderma em vermicomposto..... 35
- Figura 4** - Curva de sobrevivência de indivíduos de *Eisenia andrei* em altas doses de ICB Nutrisolo Trichoderma em esterco bovino..... 36

### Artigo 2

- Figura 1** - Resultados de porcentagem de emergência (A), índice de velocidade de emergência (B) altura (C), massa seca (D) e fresca (E) de mudas de alface cultivar Regina cultivadas com doses crescentes de ICB Nutrisolo Trichoderma..... 50
- Figura 2** - Resultados de área foliar (A), área superficial (B) e volume de raiz (C) de alface cultivar Regina cultivadas com doses crescentes de ICB Nutrisolo Trichoderma..... 51
- Figura 3** - Teores de fósforo e potássio (A), cálcio e magnésio (B) em folhas de alface cultivar Regina cultivadas com doses crescentes de ICB Nutrisolo Trichoderma..... 51

## LISTA DE TABELAS

### Artigo 1

<b>Tabela 1</b> - Análise química para pH em água, relação C/N e as porcentagens de N total, C, P, K, Ca e Mg, em vermicomposto de esterco bovino em altas doses do produto comercial ICB Nutrisolo Trichoderma em esterco bovino (ICB).....	32
--	----

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>14</b>
<b>ARTIGO 1: DESENVOLVIMENTO E MULTIPLICAÇÃO DE <i>Eisenia andrei</i> EM ESTERCO BOVINO EM ALTAS DOSES DE TRICHODERMA.....</b>	<b>16</b>
<b>Resumo.....</b>	<b>17</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>18</b>
<b>Introdução.....</b>	<b>19</b>
<b>Material e Métodos.....</b>	<b>20</b>
Produção de vermicomposto em altas doses de trichoderma.....	21
Ensaio de letalidade.....	22
Caracterização química do vermicomposto.....	22
Delineamento experimental e análise estatística.....	23
<b>Resultados e Discussão.....</b>	<b>23</b>
<b>Conclusões.....</b>	<b>27</b>
<b>Agradecimentos.....</b>	<b>27</b>
<b>Referências.....</b>	<b>28</b>
<b>ARTIGO 2: DESENVOLVIMENTO INICIAL DE ALFACE EM VERMICOMPOSTO SOB DOSES SUPERIORES DE TRICHODERMA.....</b>	<b>37</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>38</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>38</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>39</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>41</b>
Produção de substrato vermicomposto em altas doses de trichoderma.....	41
Índice de Velocidade de Emergência (IVE).....	42
Análise química da parte aérea.....	43
Delineamento experimental e análise estatística.....	43
<b>Resultados e discussão.....</b>	<b>43</b>
<b>Conclusões.....</b>	<b>46</b>
<b>Agradecimentos.....</b>	<b>46</b>
<b>Referências.....</b>	<b>46</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>52</b>

## INTRODUÇÃO

A preocupação com o meio ambiente e a qualidade de vida tem difundido amplamente as correntes da agricultura alternativa, dentre elas a agricultura orgânica. Esse sistema de produção tem crescido continuamente, em função de uma demanda cada vez maior por produtos ecologicamente corretos (COSTA et al., 2008). A agricultura orgânica é baseada em alternativas que diminuam o uso de agrotóxicos, substituindo por agentes biológicos menos agressivos ao ambiente, e seu crescimento é bastante evidente, sobretudo na olericultura (VENTURA et.al., 2007)

A utilização de técnicas de cultivo sem uso de produtos tóxicos vem representando um aspecto favorável tanto para o consumidor como para o meio ambiente (LIMA et al., 2007). Esse processo é decorrente da necessidade de interação dos fatores ecológicos, econômicos e sociais.

A escolha de um substrato hortícola deve ser baseada em dois critérios essenciais: o custo de aquisição e a disponibilidade do substrato, ou seja, deve ser economicamente viável e estar disponível em quantidade, em qualquer época do ano (ANDRIOLLO, 1999). Neste sentido, o substrato orgânico obtido através do processo de vermicompostagem, por atender a estas características, torna-se uma alternativa promissora na produção de mudas.

A vermicompostagem é um processo de degradação e estabilização do material orgânico, através da ação contínua e conjunta de minhocas e de microrganismos (DOMINGUEZ, 2004). No processo de vermicompostagem, as minhocas ingerem os resíduos orgânicos e ao fazerem isto, digerem parte deste material e o fracionam estimulando assim a atividade dos microrganismos e, conseqüentemente, a mineralização de nutrientes, acelerando a transformação do resíduo em material humificado (LANDGRAF et al., 1999; DOMINGUEZ; PEREZ-LOUSADA, 2010).

Normalmente, tenta-se fazer o controle do fitopatógeno por meio de práticas culturais, e entre estas o uso do controle químico. Esse método nem sempre é eficiente; além disso, os

produtos químicos podem trazer riscos ao meio ambiente, tanto pela contaminação das águas como pelos resíduos que deixam no próprio solo, além de não serem seletivos, afetando toda a biótica do solo. Em culturas, principalmente de ciclo curto, como a alface, podem ser encontrados resíduos tóxicos, acarretando riscos para a alimentação humana (FERREIRA et.al., 2011).

Fungos do gênero *Trichoderma*, conhecidos comumente por trichoderma, estão entre os microrganismos mais estudados como agentes no biocontrole de fitopatógenos, promotores da germinação de sementes e do crescimento vegetal (ALTOMARE et al., 1999; BENÍTEZ et al., 2004; HOYOS-CARVAJAL et al., 2009; KUNIEDA-ALONSO et al., 2005; MELO, 1996). O sucesso da atividade dos bioagentes depende das propriedades e mecanismos de ação do organismo. Espécies de trichoderma podem agir através da competição, parasitismo direto, produção de metabólitos secundários e por serem parasitas de estruturas de resistência de patógenos no ambiente, como esporos, em geral difíceis de serem destruídos (MELO, 1998).

São raros estudos que avaliam a interação da vermicompostagem, com altas doses de isolados do fungo antagonista trichoderma que também podem ser promotores de crescimento de plantas. Alguns isolados são importantes e eficientes sapróbios que, em doses ótimas, protegem as plantas contra fitopatógenos e possuem mecanismos que promovem à germinação de sementes e o desenvolvimento vegetal de espécies de hortaliças como a alface. No entanto, há poucos estudos em relação à ação de doses superiores às recomendadas desse bioproduto na germinação e desenvolvimento de plantas em vermicomposto (NEUMANN e LAING, 2006).

Isolados de trichoderma são produtores de metabólitos, voláteis e não voláteis, entre outros, uma lactona que possui atividade fungicida (COLLINS e HALIM, 1972; SERRANO-CARREÓN et al., 2004). NEUMANN E LAING (2006) concluíram que trichoderma adicionado em altas doses interfere com o processo normal de nitrificação, ocorrendo o risco de toxicidade associada à inibição do crescimento na planta.

As minhocas são consideradas bioindicadores em contaminações ambientais por serem sensíveis a compostos voláteis, não voláteis e gases como o CO<sub>2</sub>. Número de espécies, abundância e biomassa são parâmetros facilmente mensuráveis em minhocas que habitam os solos, constituindo ferramentas importantes para a avaliação de diferentes transformações e impactos ambientais. Em ambientes rurais diferentes sistemas de cultivo podem ser avaliados a partir da biomassa e números de minhocas (PAOLETTI, 1999).

A aplicação de isolados de trichoderma pode ser feita nas sementes, no substrato, no sulco de plantio ou em matérias orgânicas que serão incorporadas antes do transplante das mudas (LUCON, 2009). Mas, independente da forma de aplicação, há a necessidade de usar produtos biológicos como uma alternativa aos químicos, assim, os bioprodutos apresentam-se como uma tecnologia alternativa, que poderá ter um importante impacto na redução do uso de fungicidas e fertilizantes (LUZ, 2001). ICB Nutrisolo Trichoderma é um produto comercial biológico, da ICB BIOAGRITEC Ltda composto por uma mistura de três espécies de trichoderma, sendo muito utilizado no controle de patógenos nos sistemas de produção.

Levando tais aspectos em consideração, o objetivo deste trabalho foi testar altas doses do produto comercial biológico ICB Nutrisolo Trichoderma (ICB), avaliando-se a multiplicação e desenvolvimento de *Eisenia andrei* e alterações nas características químicas do substrato produzido no processo de vermicompostagem, a partir do resíduo orgânico esterco bovino, bem como avaliar a emergência e o desenvolvimento inicial de plântulas de alface em vermicomposto tratado com doses superiores à  $10^6$  UFC  $\text{kg}^{-1}$  de *T. asperillum* utilizadas por Sadykova & Kurakov (2013) em que obtiveram resultados positivos tanto para o índice de multiplicação de minhocas quanto para o desenvolvimento em plantas.

## REFERÊNCIAS

- ALTOMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJORKMAN, 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.
- ANDRIOLLO, J. L. Fisiologia das culturas protegidas. UFSM, Santa Maria, Brasil, p. 142, 1999.
- BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**. v.7, n.4, p. 249-260, 2004.
- COLLINS, R. P.; HALIM, A. F. Characterization of the major aroma constituent of the fungus *Trichoderma viride* (Pers.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 20, n. 2, p. 437-738, 1972.
- COSTA, N.D.; ARAÚJO, J.F.; SANTOS, C.A.F.; RESENDE, G.M.; LIMA, M.A.C. Desempenho de cultivares de cebola em cultivo orgânico e tipos de solo no Vale do São Francisco, **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.26, n.4, p. 476-480, 2008.
- DOMINGUEZ, J. State of the art and new perspectives on vermicomposting Research. In: EDWARDS, C. A. **Earthworm ecology**. 2. ed. Florida: CRC Press, p. 401-424, 2004.
- DOMÍNGUEZ J, Pérez-Losada M. *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) and *Eisenia andrei* Bouché, 1972 are two different earthworm species. **Acta Zoologica Mexicana** (n.s.). 2010; Número Especial 2: 321-331.
- FERREIRA, S.; VIEIRA, V.L.F.; GOMES, L.A.A.; MALUF, W.R.; FILHO, J.L.S.C. Identificação de linhagens avançadas de alface quanto à resistência a *Meloidogyne javanica*. **Ciências Agrotecnica**, v.35, n.2, Lavras, 2011.
- HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. **Biological Control**. v.51. p. 409–416, 2009.
- KUNIEDA-ALONSO, S.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A. Sobrevivência de micélio e escleródios de *Rhizoctonia solani* tratados com *Trichoderma* spp., em restos de cultura de *Eucalyptus* sp. **Fitopatologia Brasileira**. v.30, n.2., p. 164-168, 2005.
- LANDGRAF, M.D; ALVES, M.R.; SILVA, S.C.; REZENDE, M.O.O. Caracterização de ácidos húmicos de vermicomposto de esterco bovino compostado durante 3 e 6 meses. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 4, p. 483-486, 1999.

LIMA, R.C.M.; STAMFORD, N.P.; SANTOS, E.R.S.; DIAS, S.H.L. Rendimento da alface e atributos químicos de um Latossolo em função da aplicação de biofertilizantes de rochas com fósforo e potássio. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.25, n.2, p. 224-229, 2007.

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](http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/trichoderma/index.htm)>. Acesso em: 2/9/2015

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

MELO, I.S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão anual de patologia de plantas**, Passo Fundo, v.4, p. 261-296, 1996.

MELO, I. S. de. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Controle biológico**. v.1. Jaguariúna: Embrapa, p. 17-60. 1998.

NEUMANN, B.; LAING, M. A. Mechanism for growth inhibition in plants, associated with *Trichoderma* application. In *Proceedings of the Meeting Fundamental and Practical Approaches to Increase Biocontrol Efficacy*; Setembro de 2006; Spa, Belgica: Yigal Elad, Marc Ongena, Monica Höfte, M. Haïssam Jijakli; 2007. p. 47.

PAOLETTI, M.G. Using bioindicators based on biodiversity to assess landscape sustainability. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 74, p. 1- 18, 1999.

SADYKOVA S; KURAKOV AV. 2013.Prospects for the use of strains of the genus *Trichoderma* to obtain vermicomposts with fungicides and growth stimulating properties. *Russian Agricultural Sciences*39:257–260.

SERRANO-CARREÒN, L; FLORES C; RODRIGUEZ, B; GALINDO, E. *Rhizoctonia solani*, an elicitor of 6-pentyl- $\alpha$ -pyrone production by *Trichoderma harzianum* in a two liquid phases, extractive fermentation system. **Biotechnology Letters**,26: 1403–1406, 2004.

VENTURA, S.R.S.; CARVALHO, A.G.; ABOUD, A.C.S.; RIBEIRO, R.L.D. Influência das doses de nitrogênio e das coberturas vivas do solo em cultivo orgânico de berinjela, na incidência de *Corythaica cyathicollis* em diferentes períodos do dia. **Biotemas**, v.20, n.4, p. 59-63, dez. 2007.



**ARTIGO 1****DESENVOLVIMENTO E MULTIPLICAÇÃO DE *Eisenia andrei* EM ESTERCO BOVINO EM ALTAS DOSES DE TRICHODERMA**

Maria Medianeira Saccol Wiethan<sup>1</sup>, Gabriel Streck Bortolin<sup>2</sup>, Renata Soares Pinto<sup>3</sup>, Antonio Carlos Ferreira da Silva<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Bióloga, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. mediasaccol@gmail.com, (55) 9943-8392\*

<sup>2</sup>Eng<sup>o</sup> Agrônomo, Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. gabrielbortolin91@gmail.com

<sup>3</sup>Tecnóloga em Gestão Ambiental, Pós-Graduada em Especialização em Educação Ambiental, Universidade Federal de Santa Maria, Programa de Pós-Graduação em Educação Ambiental, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. renatasoares261@gmail.com

<sup>4</sup>Eng<sup>o</sup> Agrônomo, Professor Titular da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. acfsilva2@uol.com.br

## RESUMO

A agricultura orgânica é baseada em alternativas que diminuam o uso de agrotóxicos, substituindo os mesmos por agentes biológicos menos agressivos ao ambiente. São raros estudos que avaliam a interação da vermicompostagem, com altas doses de *Trichoderma* (*Trichoderma* spp.), um fungo antagonista de vários fitopatógenos e promotor de crescimento em plantas. Baseado nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi testar altas doses do produto comercial biológico ICB Nutrisolo *Trichoderma* (ICB), avaliando-se a multiplicação e desenvolvimento de *Eisenia andrei* bem como alterações nas características químicas do substrato produzido no processo de vermicompostagem, a partir do resíduo orgânico esterco bovino. O esterco bovino *in natura* foi autoclavado a 121 °C por duas vezes em um intervalo de 24 h. A unidade experimental constituiu de 6 kg de substrato em caixa multiuso de polipropileno de dimensões 20 x 40 x 50 cm, com 48 minhocas adultas e cliteladas da espécie *E. andrei*. Como agente biológico utilizou-se o produto comercial ICB na forma de fluído, composto por oito cepas das espécies *T. koningiopsis*, *T. asperellum* e *T. harzianum*, com as seguintes doses nos tratamentos a seguir: T1 (0,5); T2 (1,0); T3 (2,0); T4 (4,0); T5 (8,0) e T6 (0,0), sendo todas as concentrações em  $10^{11}$  UFC kg<sup>-1</sup> do produto em vermicomposto e para a avaliação das características químicas do vermicomposto em altas doses do produto ICB foi utilizado também o T7 (somente substrato). O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento. A temperatura foi mantida a 28 °C e a umidade entre 60 e 70 %. Após 60 dias do início da instalação fez-se a contagem do número de minhocas adultas, jovens e casulos, posteriormente avaliou-se o peso seco total das mesmas. Os resultados observados no teste de letalidade mostram que somente a partir de  $4,0 \times 10^{11}$  UFC kg<sup>-1</sup> de ICB, há decréscimo do número de minhocas. Doses altas até  $1,0 \times 10^{11}$  UFC kg<sup>-1</sup> do produto não alteram o número de minhocas adultas e de casulos de *E. andrei* em vermicompostagem com esterco bovino, entretanto, o índice de multiplicação foi inferior em todos os tratamentos com o produto. Doses acima de  $2,0 \times 10^{11}$  UFC kg<sup>-1</sup> diminuíram o peso seco total. O pH foi superior nos tratamentos com ICB, e houve aumento na percentagem de P, K e Mg nos tratamentos com a presença de minhocas. A relação C/N do vermicomposto, em todos os tratamentos, indica maturidade, dentro de resultados aceitáveis para compostos orgânicos.

**Palavras-chave:** *Trichoderma* spp., produto biológico, minhoca, vermicompostagem.

**ABSTRACT: DEVELOPMENT AND MULTIPLICATION OF *Eisinea andrei* IN THE MANURE OF CATTLE SUBJECTED TO HIGH TRICHODERMA DOSES**

The organic agriculture is based on alternatives to reduce pesticide use based on its replacement by less aggressive biological agents. There are few studies evaluating the interaction between the vermicomposting biological process organic waste decomposition using worms subjected to high biocontrol agent (*Trichoderma spp.*) doses for plant disease control and growth promotion. Thus, the present work aims to test the use of high commercial biocontrol product (ICB Nutrisolo Trichoderma) doses by evaluating the multiplication and development of *Eisinea andrei*. The changes in the chemical features of the substrate produced by the vermicomposting process using *in natura* and sterilized organic cattle manure were also assessed. The experimental unit consisted of 6 kg of substrate (in multipurpose polypropylene box - 20 x 40 x 50 cm) containing 48 clitellate adult *Eisinea andrei* worms. ICB Nutrisolo Trichoderma was used as biological agent along with eight strains of the following species: *T. koningiopsis*, *T. asperellum* and *T. harzianum*. The following treatments were applied at doses of  $10^{11}$  CFU  $\text{kg}^{-1}$  of ICB Nutrisolo Trichoderma in the presence of worms: T1 (0.5); T2 (1.0); T3 (2.0); T4 (4.0); T5 (8.0) and T6 (0.0). The T7 treatment was herein used in order to evaluate the chemical features of the vermicompost. It was a completely randomized design with four replications per treatment. The temperature was kept at 28 °C and humidity ranged between 60 and 70 %. After 60 days, the number of young and adult worms, and cocoons was counted; then, their dry biomass was assessed. The results found in the lethality test showed decrease in the number of worms treated with  $4 \times 10^{11}$  UFC  $\text{kg}^{-1}$  of ICB. The biological product doses up to  $1 \times 10^{11}$  UFC  $\text{kg}^{-1}$  did not alter the number of adult worms and cocoons, or the multiplication index of *E. andrei* in cattle waste vermicomposts. There was no influence of the tested doses on worms' individual development. However, doses above  $2 \times 10^{11}$  UFC  $\text{kg}^{-1}$  decreased their total biomass. There was pH variation and increase in P, K and Mg percentages in the substrate in all treatments using worms subjected the  $1 \times 10^{11}$  UFC  $\text{kg}^{-1}$ .

**Keywords:** *Trichoderma spp.*, biological product, worm, vermicomposting

## INTRODUÇÃO

Resíduos orgânicos são insumos de produção agrícola os quais quando estabilizados e reciclados adequadamente podem incrementar a produção e, embora, com grande capacidade de poluição, na verdade, são de fato, recursos a serem reciclados no ecossistema natural. Na sua grande maioria, os resíduos constituem-se de dejetos que são componentes orgânicos naturais do meio e, portanto, quando adequadamente tratados e incorporados ao solo, podem contribuir para a melhoria da produção vegetal e por consequência da produção animal (Van Horn et al., 1994).

No Brasil, a bovinocultura de leite é uma das áreas mais relevantes na produção de resíduos orgânicos (IBGE, 2009), desenvolvendo suas atividades geralmente em áreas menores de 20 ha (Martins et al., 2006), sendo que a produção de dejetos nesse sistema resulta na contaminação do solo, lagos, rios e lençóis freáticos, devido ao volume de resíduos gerados e constitui-se um grave problema ambiental, tornando-se um desafio para os criadores e especialistas (Van Horn et al., 1994).

Existem várias maneiras para tratar adequada, econômica e ecologicamente os resíduos. Estudos têm demonstrado que a vermicompostagem, processo biológico de decomposição de resíduos orgânicos que utiliza minhocas, em comparação ao composto produzido sem as minhocas, acelera a estabilização da matéria orgânica e produz um composto com menor relação carbono nitrogênio (C/N), maior capacidade de troca catiônica e maior quantidade de substâncias húmicas (Albanell et al., 1988), bem como fitormônios (Tomati et al., 1995). *Eisenia andrei* está entre as espécies de minhocas mais utilizadas para a produção de vermicomposto, assim como *Eisenia fetida*, por serem mais eficientes na transformação dos resíduos e por apresentarem alta taxa de multiplicação (Domínguez et al., 2010). Além disso, são tolerantes a uma ampla faixa de temperatura e umidade, podendo multiplicar-se em diversos tipos de resíduos (Atiyeh et al., 2000), porém não toleram resíduos ácidos e com odor muito forte (Oliveira et al., 2007).

As minhocas são consideradas bioindicadores em contaminações ambientais por serem sensíveis a compostos voláteis, não voláteis e gases como o CO<sub>2</sub>. Número de espécies, abundância e biomassa são parâmetros facilmente mensuráveis em minhocas que habitam os solos, constituindo ferramentas importantes para a avaliação de diferentes transformações e

impactos ambientais. Em ambientes rurais diferentes sistemas de cultivo podem ser avaliados a partir da biomassa e números de minhocas (Paoletti, 1999).

*Trichoderma* (*Trichoderma* spp.) é um agente promissor de biocontrole de fitopatógenos e um fungo natural do solo encontrado especialmente em solos orgânicos, que pode viver saprofiticamente ou parasitando outros fungos (Melo, 1996). Isolados de trichoderma são citados como produtores de metabólitos voláteis e não voláteis (Dennis e Webster, 1971a, b, c), entre outros, o composto volátil 6-pentil- $\alpha$ -pirone (6-PP), uma lactona que possui atividade fungicida com forte aroma de coco (Collins e Halim, 1972; Serrano-Carreón et al., 2004). Resultados obtidos por Neumann e Laing (2006) demonstraram que trichoderma adicionado em altas doses na região das raízes e em presença de íons de amônio, interfere com o processo normal de nitrificação, ocorrendo o risco de toxicidade associada à inibição do crescimento na planta. Trabalho realizado por Oliveira (2008) com biorremediação em solo contaminado por petróleo indicou toxicidade relacionada ao nitrogênio, sob a forma de uréia adicionada, com alta taxa de letalidade em *E. Andrei* (100 %).

A agricultura orgânica tem sido amplamente difundida na busca de uma melhor qualidade de vida, baseada em alternativas que diminuam o uso de agrotóxicos substituindo-os por agentes menos agressivos ao ambiente. Embora haja trabalhos comprovando os benefícios da agricultura orgânica envolvendo minhocas e trichoderma separadamente, ainda são escassos os estudos que avaliem a interação destes organismos entre si e as propriedades químicas do solo. Os resultados apresentados por Sadykova e Kurakov (2013) demonstraram ser eficiente o emprego de *Trichoderma asperellum* em consorcio com minhocas visando à multiplicação de *E. fetida* bem como a promoção de crescimento e desenvolvimento em pepino. Trabalhos com vermicompostagem envolvendo altas doses de trichoderma não têm sido frequentemente observados (Neumann e Laing, 2006).

Utilizando como base a hipótese do uso de altas doses de trichoderma interferir em processos de vermicompostagem, o presente trabalho teve como objetivo testar essas altas doses crescentes do produto comercial biológico ICB NutrisoloTrichoderma, avaliando-se a multiplicação e desenvolvimento de *Eisinea andrei*, bem como alterações nas características químicas do substrato produzido no processo de vermicompostagem, a partir do resíduo orgânico esterco bovino.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia do Solo (área experimental), Laboratório de Análise de Tecidos do Departamento de Solos, Centro de Ciências Rurais, e Laboratório de Interação Planta-Microrganismo do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. As minhocas adultas e cliteladas da espécie *Eisenia andrei* foram obtidas a partir do minhocário do Departamento de Solos, UFSM. Como fonte do agente biológico trichoderma, utilizou-se o produto comercial ICB Nutrisolo Trichoderma na forma de fluído, composto por oito cepas das espécies *Trichoderma koningiopsis*, *Trichoderma asperellum* e *Trichoderma harzianum*, na concentração de  $10^{11}$  UFC mL<sup>-1</sup> e registro no MAPA: RS12734/10000-4 (artigo 15 do anexo ao Decreto 4954/2004), cedido pela ICB BIOAGRITEC LTDA.

### **Produção de vermicomposto em altas doses de trichoderma**

Para testar altas concentrações de unidades formadoras de micélio (UFC) do produto comercial ICB Nutrisolo Trichoderma (ICB) na reprodução e desenvolvimento de minhocas em esterco bovino, foram utilizadas doses crescentes e superiores à dose  $10^6$  UFC kg<sup>-1</sup> de substrato descrita para *T. asperullum* por Sadykova e Kurakov (2013) em vermicomposto. O substrato utilizado para a produção do vermicomposto foi esterco bovino *in natura* proveniente de gado de leite e obtido em propriedade rural no município de Santa Maria, RS. Após o esterco ser homogeneizado e autoclavado a 121 °C por duas vezes e um intervalo de 24 h, efetuou-se a montagem dos tratamentos em caixas multiuso de polipropileno com dimensões 20 x 40 x 50 cm com capacidade para 10 L, aos quais foram adicionados 6 Kg de substrato por repetição em cada um dos seguintes tratamentos, T1 (minhocas +  $0,5 \times 10^{11}$  UFC kg<sup>-1</sup> de ICB); T2 (minhocas +  $1 \times 10^{11}$  UFC kg<sup>-1</sup> de ICB); T3 (minhocas +  $2 \times 10^{11}$  UFC kg<sup>-1</sup> de ICB); T4 (minhocas +  $4 \times 10^{11}$  UFC kg<sup>-1</sup> de ICB); T5 (minhocas +  $8 \times 10^{11}$  UFC kg<sup>-1</sup> de ICB); T6 (minhocas sem ICB), e para avaliação das características químicas do vermicomposto em altas doses do produto ICB foi utilizado o T7 (sem minhocas e sem ICB). Para que ocorresse a colonização, o produto comercial biológico ICB foi aplicado no substrato sete dias antes da inoculação das minhocas. As caixas ficaram cobertas com papel pardo. A temperatura foi mantida a 28 °C, a umidade entre 60 e 70 % e ausência de luz durante todo o processo. Foi feito o revolvimento uniformemente do material a cada sete dias para a aeração do mesmo e controle de umidade. Cada unidade experimental constituiu-se de 48 minhocas adultas e cliteladas da espécie *E. andrei*.

Após 60 dias da inoculação das minhocas foram realizadas as seguintes avaliações por unidade experimental: contagem manual do número de minhocas adultas (cliteladas), número de minhocas jovens (sem clitelo desenvolvido), número de minhocas totais (adultas e jovens), número de casulos, proporção entre minhocas adultas e número de casulos, índice de multiplicação e peso total de minhocas jovens e adultas.

O material de cada unidade experimental foi colocado sobre uma mesa com fundo branco para que fossem separadas as minhocas jovens, adultas e os casulos presentes no substrato. Os indivíduos coletados foram separados em frascos de plástico de 100 mL, onde permaneceram aproximadamente oito horas em ambiente iluminado para que parte do material presente em seu tubo digestivo fosse eliminado. Posteriormente, foram lavados para retirar qualquer tipo de resíduo aderido ao corpo, secos com papel toalha, e mantidos em estufa a 75 °C, em recipientes abertos, até obtenção de peso seco constante. Para o índice de multiplicação das minhocas, utilizou-se a fórmula  $IM = Pf / Pi$ , onde IM = índice de multiplicação, Pf = população final de minhocas e Pi = população inicial de minhocas que corresponde ao número de matrizes inoculadas (Steffen, 2008).

### **Ensaio de letalidade**

Com o objetivo de testar o efeito das altas doses de ICB Nutrisolo Trichoderma dos tratamentos T1, T2, T3, T4, T5 e o controle (T6) sobre o número de indivíduos sobreviventes de *E. andrei*, realizou-se o ensaio de letalidade de acordo com as normas ISO 11268-1 – Soil quality – Effects of pollutants on earth worms (*E. fetida*) – Part 1: Determination of acute toxicity using artificial soil substrate (ISO, 1993) e ISO 11268-2 – Soil quality – Effects of pollutants on earth worms *E. fetida* (ISO, 1998). A unidade experimental constou de uma caixa de isopor (4 L) com 3 kg de esterco bovino *in natura* e 10 minhocas adultas e cliteladas da espécie *E. andrei*. No início do ensaio de letalidade foram colocados os organismos adultos em cada recipiente nos respectivos tratamentos. Após 48 horas de exposição, foram contados os números de minhocas mortas e vivas, e comparados com o tratamento controle somente com o esterco bovino, e construída a curva de sobrevivência.

### **Caracterização química do vermicomposto**

Para avaliar a influência das minhocas e do trichoderma sobre a qualidade química do substrato nos tratamentos T1, T2, T3, T4, T5 e T6, foram determinadas segundo metodologia para resíduos e tecidos vegetais proposta por Tedesco et al. (1995) as porcentagens de N total, C, P, K, Ca e Mg, pH em água e relação C/N. Aos 60 dias da inoculação das minhocas, as

amostras coletadas (100 g de vermicomposto) foram secas em estufa a 75 °C e moídas em graal, sendo analisadas no Laboratório de Análises de Tecidos.

### **Delineamento experimental e análise estatística**

Os delineamentos experimentais utilizados foram o inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento. A análise de variância ANOVA foi utilizada para comparar as diferenças nos tratamentos, complementando-se o estudo, quando necessário, com o teste de Scott-Knott 5% de probabilidade para comparar as diferenças entre as médias. O teste de regressão foi usado para avaliar o ensaio de letalidade, índice de multiplicação das minhocas, número de minhocas jovens, adultas e casulos, bem como o peso seco total de minhocas. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o programa BioEstat 4.0 (Ayres et al., 2005).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados apresentados para o número de minhocas adultas e jovens, total de minhocas (Figura 1), número de casulos, proporção entre número de minhocas adultas e de casulos (Figura 2), índice de multiplicação e peso seco total de minhocas (Figura 3) demonstram que todos os tratamentos com altas doses do produto comercial ICB Nutrisolo (ICB), não promoveram mortalidade total de indivíduos e ainda proporcionaram condições para reprodução de *E. andrei*. Para alguns tratamentos observou-se redução em todos os parâmetros citados acima quando comparados ao controle na ausência do produto biológico (Figuras 1, 2 e 3).

Os resultados para o número de minhocas adultas (Figura 1) nas doses 0,5 e 1,0 de ICB (47,2) não apresentaram diferença significativa em relação ao tratamento sem ICB (45,5), mas diferiram dos tratamentos com doses superiores (2,0; 4,0 e 8,0 de ICB) nas quais observou-se a diminuição gradativa no número por morte ou fuga de minhocas (34,2; 14,5 e 9,0; respectivamente). As doses superiores de ICB podem ter proporcionado um ambiente desfavorável para a adaptação e estabilização das minhocas. A explicação, segundo Lavelle et al. (2004), em relação a atitude comportamental das minhocas, sendo que a maior diferença entre experimentos em escala pequena e o mundo real é que em experimentos confinados, minhocas têm oportunidades limitadas para encontrar comida e mover-se. Isto provavelmente mostra porque quase sempre elas perdem peso ou morrem em experimentos de laboratório. Os resultados observados no teste de letalidade, conforme a curva de sobrevivência de indivíduos de *E. andrei* (Figura 4), mostram que ocorreu aumento no número de minhocas para a dose



$0,5 \times 10^{11}$  UFC  $\text{kg}^{-1}$  e que somente a partir de  $4,0 \times 10^{11}$  UFC  $\text{kg}^{-1}$  de ICB houve decréscimo do número destas, em relação ao controle na ausência de ICB, corroborando com os resultados apresentados na Figura 1A.

Ensaio investigando a temperatura da região radicular e aplicações de trichoderma em doses elevadas, revelou que sob condições de alta temperatura e alta concentração de amônio, o efeito de nanismo nas plantas foi aumentado. A presença de ions de amônio interferiu no processo normal de nitrificação, como resultado houve o aumento de toxicidade da amônia, associada a inibição do crescimento das plantas (Neumann e Laing, 2006). A amônia está presente naturalmente nos corpos de água como produto da degradação de compostos orgânicos e inorgânicos do solo e da água, resultado da excreção da biota, redução do nitrogênio gasoso da água por microrganismos ou por trocas gasosas com a atmosfera. Nas soluções aquosas, a amônia pode se apresentar sob as formas  $\text{NH}_4^+$  ionizada ou  $\text{NH}_3$  não-ionizada (Reis e Mendonça, 2009). Segundo Erickson (1985), embora alguma toxicidade possa ser atribuída à amônia ionizada, a forma não-ionizada é reconhecidamente a forma mais tóxica de amônia. Estudos realizados por Oliveira (2008) com solo contaminado, acrescentado de uréia, na relação 100/10 de C/N, apresentou alta letalidade de minhocas (100%) quando comparado ao solo virgem (0% de morte), comprovando a sensibilidade destas diante das fontes de nitrogênio.

O índice de multiplicação é o parâmetro que avalia a capacidade reprodutiva das matrizes em determinado ambiente (Antoniolli et al., 2009). As espécies *E. andrei* e *E. fetida* apresentam características e comportamento semelhantes (Atiyeh et al., 2000). Os resultados obtidos (Figura 3A) com *E. andrei* para os índices de multiplicação nos tratamentos com as doses 0,5 (5,20), 1,0 (5,65) e 2,0 (4,02) de ICB assemelham-se aos apresentados por Aquino et al. (1994) que obtiveram em condições semelhantes um índice de multiplicação de *E. fetida* igual a 4,54 e números de minhocas adultas, jovens e casulos (4,0; 18,5 e 1,5; respectivamente) inferiores aos encontrados nas Figuras 1A, B e 2A. Os autores ressaltam que embora o esterco bovino seja uma ótima fonte de alimento para minhocas destas espécies, este diverge muito com relação a sua constituição, que depende do regime alimentar dos bovinos, dificultando comparações entre experimentos. Os resultados obtidos neste trabalho para as três primeiras doses (Figura 3A), também foram superiores aos encontrados por Pereira et al. (2005) utilizando esterco bovino puro, com índice de multiplicação de 2,1.

Trabalhos realizados por Antoniolli et al. (2009) com *E. fetida* e misturas de esterco bovino e casca de arroz com uma inoculação inicial de 6 matrizes em 4 L de esterco encontraram índice maior de multiplicação (8,5) e números menores de casulos (57) em

mesmo período. Em experimento de natureza semelhante, Schiavon et al. (2007) também constataram um alto número de casulos em tratamento com esterco bovino puro, onde a partir de 10 minhocas da espécie *E. fetida* inoculadas em 300 g do substrato, foram coletados 138 casulos, vinte e oito dias após a inoculação das minhocas, demonstrando a eficiência reprodutiva de *E. fetida* para esse material. A maturidade sexual das minhocas está relacionada com as condições do meio em que se encontram, resultando em uma maior ou menor multiplicação em determinado tempo (Aquino et al., 1994).

Os tratamentos com as altas doses  $4,0 \times 10^{11}$  UFC  $\text{kg}^{-1}$  e  $8,0 \times 10^{11}$  UFC  $\text{kg}^{-1}$  apresentaram índices de multiplicação de 0,96 e 0,41, respectivamente, significativamente inferiores às três primeiras doses (Figura 3A). No estudo de Sadykova e Kurakov (2013), foi utilizada a dose de  $10^6$  UFC  $\text{kg}^{-1}$  do isolado *Trichoderma asperellum* MG 97 em vermicomposto produzido a partir de esterco, restos vegetais e serragem, demonstrando que a adição do antagonista comparativamente em dose mais baixa permitiu uma forma eficaz de reciclar resíduos orgânicos com aumento do efeito supressor de fitopatógenos e efeito promotor de crescimento em plantas bem como o aumento da produção de minhocas e a proporção de indivíduos maduros em sua população. A referida dose utilizada pelos autores acima foi muito inferior comparada à menor dose utilizada neste experimento, isto é,  $0,5 \times 10^{11}$  UFC  $\text{kg}^{-1}$  de ICB Nutrisolo trichoderma, em 6 kg de vermicomposto, a partir de esterco bovino. Estas doses superiores podem ter ocasionado o decréscimo no número de indivíduos na população das minhocas, sensíveis a compostos voláteis e não voláteis, os quais podem ser produzidos por isolados de trichoderma (Dennis e Webster, 1971a, b, c). Entre os metabólitos voláteis produzidos por trichoderma há gases como o etileno e cianeto de hidrogênio (Campbell, 1989), bem como acetaldeído, acetona, etanol e dióxido de carbono (Tamimi e Hutchinson, 1975). As minhocas, por serem sensíveis a tais compostos e gases, são consideradas bioindicadores em contaminações ambientais. A liberação dessas substâncias tóxicas pode estar relacionada às doses elevadas do produto biológico no presente estudo, quando em contato com a matéria orgânica, no caso esterco bovino.

Estudos sobre efeitos de substâncias voláteis, não voláteis e gases produzidos por trichoderma no desenvolvimento e multiplicação de minhocas, são raros, entretanto, é relatado que trichoderma quando adicionado em altas doses na região das raízes e em presença de íons de amônio, interfere com o processo de nitrificação, ocorrendo o risco de toxicidade às plantas (Neumann e Laing, 2006). Alguns isolados de trichoderma produzem o composto volátil 6-pentil- $\alpha$ -pirone (6-PP), uma lactona, que possui atividade fungicida, (Collins e Halim, 1972; Serrano-Carreón et al., 2004). De acordo com Mangenot e Diem

(1979), o CO<sub>2</sub> é uma das substâncias voláteis produzidas por antagonistas mais estudadas e seus efeitos em fungos são bastante variáveis, podendo ser estimulantes ou inibitórios, o mesmo ocorrendo com a amônia. O etileno facilita a formação de derivados inibidores, como o alil-álcool. A produção de metabólitos por antagonistas no solo não é bem esclarecida, e baseia-se grandemente em suposições (Claydon et al., 1987).

Os resultados obtidos para peso seco total de minhocas (Figura 3B) mostram variação entre os tratamentos nas doses testadas de ICB, sendo que, doses superiores à dose 2,0 (Figura 3B) provocou a diminuição no peso seco total de *E. andrei*, para essas doses. Essa diminuição está diretamente relacionada com o índice de multiplicação e o número de minhocas apresentados nas Figuras 3A, 1A, 1B e 1C, respectivamente. Resultados de Schirmer (2010) em relação ao parâmetro peso de indivíduos adultos não mostraram diferença significativa tanto para lodo de esgoto e esterco bovino (3/1) como para lodo de esgoto e esterco bovino (1/1).

Observou-se variação nos parâmetros pH, e porcentagens de P, K e Mg, entretanto para porcentagens de C, N, Ca não verificou-se diferença significativa entre os tratamentos (Quadro 1). A presença de trichoderma nos tratamentos pode ter elevado o pH do vermicomposto, pois este parâmetro foi superior para todos os tratamentos nas doses de ICB Nutrisolo trichoderma em comparação aos tratamentos controle com e sem minhocas. No entanto, os valores de pH não variaram entre si dentro dos tratamentos com ICB (Quadro 1) e ficaram dentro da faixa encontrada para materiais de natureza semelhante (Pequeno et al. 2008; Vidal et al. 2007; Antonioli et al. 2002). Elevações do pH ou da temperatura deslocam o equilíbrio químico no sentido da amônia não-ionizada (Reis e Mendonça, 2009). Entretanto, Soares et al. (2004) afirmam que os valores de pH próximos à neutralidade sugerem que o vermicomposto, quando incorporado ao solo, pode apresentar ação corretiva de acidez, uma vez que possui propriedade de tamponamento. Efeito contrário de pH foi observado por Neumann e Leigh (2008) onde doses elevadas de trichoderma e nitrogênio amoniacal proporcionaram o aumento da acidificação do meio.

Caracterizando quimicamente vermicomposto comercial, Soares et al (2004) obtiveram valores de fósforo variando entre 1,0 e 1,2 % nas amostras analisadas, sendo inferiores aos valores encontrados na Quadro 1. Lazcano et al. (2008), como observado no presente trabalho (Quadro 1), também descrevem que o fósforo aparece aumentado na presença das minhocas em trabalho de vermicompostagem. Para as porcentagens de potássio (Quadro 1), as quais variaram entre 0,08 e 0,09 nos tratamentos com trichoderma e minhoca, foi observado aumento significativo quando comparadas ao tratamento controle sem minhoca

e sem trichoderma (0,05 %). A porcentagem de magnésio (0,41) foi inferior no tratamento controle sem minhocas e sem trichoderma comparado aos demais que não apresentaram variação entre si. Resultados apresentados para vermicompostagem com esterco bovino por Lamim (1998) mostraram-se inferiores para K (0,02 %) e superiores para Mg (0,44 %) ao tratamento controle sem trichoderma e minhoca, embora ambos os resultados tenham sido inferiores aos demais tratamentos.

O processo de decomposição e transformação dos resíduos para a maioria dos tratamentos resultou numa relação C/N em torno de 12/1 (Quadro 1), abaixo da relação 18/1 o que, segundo Kiehl (1985), indica a maturidade do composto. Resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho foram obtidos por Soares et al. (2004) que indicaram valores entre 9,02 e 13,74. Estudando diversos vermicompostos oriundos exclusivamente de esterco bovino, produzidos em diferentes cidades do Rio Grande do Sul, Antonioli et al. (2002) encontraram variações entre 7 e 33 para C/N.

## CONCLUSÕES

Os resultados observados no teste de letalidade, conforme a curva de sobrevivência de indivíduos de *E. andrei* mostram que somente a partir de  $4,0 \times 10^{11}$  UFC kg<sup>-1</sup> de ICB, há decréscimo do número de minhocas.

Doses altas até  $1,0 \times 10^{11}$  UFC kg<sup>-1</sup> do produto Biológico ICB nutrisolo Trichoderma não alteram o número de minhocas adultas e número de casulos de *E. andrei* em vermicompostagem com esterco bovino, entretanto, o índice de multiplicação é inferior em todos os tratamentos com o produto.

Doses acima de  $2,0 \times 10^{11}$  UFC kg<sup>-1</sup> diminuem o peso seco total.

O pH foi superior no tratamentos com ICB e houve aumento na porcentagem de P, K e Mg nos tratamentos com a presença de minhocas.

A relação C/N em todos os tratamentos indica maturidade do vermicomposto, dentro de resultados aceitáveis para compostos orgânicos.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos à empresa ICB BIOAGRITEC LTDA pelo fornecimento e disponibilidade das informações a respeito do produto biológico.

## REFERÊNCIAS

Albanell E, Plaixats J, Cabrero T. Chemical changes during vermicomposting (*Eisenia fetida*) of sheep manure mixed with cotton industrial wastes. *Biol Fert Soils*.1998; 6: 266-9.

Antoniolli ZI, Giracca, EMN, Barcellos LA, Venturini SF, Venturini EF, Wiethan MMS, Carlosso SJT, Benedetti T, Senhor TC, Santi GR. Minhocultura e vermicompostagem. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2002. (Boletim técnico, 3).

Antoniolli ZI, Steffen GPK, Steffen RB. Utilização de casca de arroz e esterco bovino como substrato para a multiplicação de *Eisenia fetida* Savigny (1826).*Ci Agrotec*. 2009; 33: 824-30.

Aquino AM, Almeida DL, Freire LR, DE-Polli H. Reprodução de minhocas (Oligochaeta) em esterco bovino e bagaço de cana-de-açúcar. *Pesq Agropec Bras*. 1994; 29: 161-8.

Atiyeh RM, Domínguez J, Subler S, Edwards CA. Changes in biochemical properties of cow manure during processing by earthworms (*Eisenia andrei*, Bouché) and the effects on seedling growth. *Pedobiologia*. 2000; 44: 709-24.

Ayres M, Ayres MJr, Ayres DL, Santos SA. BioEstat 4.0: Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas. 4ª ed. Belém: Sociedade Civil Mamirauá; 2005.

Campbell R. Biological control of microbial plant pathogens. Cambridge, Massachusetts: Cambridge Univ. Press; 1989.

Claydon N, Allan ML, Hanson JR, Avent GA. Antigungal alkyl pyrones of *Trichoderma harzianum*. *Trans Brit Mycol Soc*.1987; 88: 503-13.

Collins RP, Halim AF. Characterization of the major aroma constituent of the fungus *Trichoderma viride* (Pers.). *J.Agric Food Chem*. 1972; 20: 437-8.

Dennis C, Webster J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. 1- Production of non volatile metabolites. *Trans Brit Mycol Soc.*; 1971a; 57:25-39.

Dennis C, Webster J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. 2- Production of non volatile metabolites. *TransBrit Mycol Soc*, 1971b; 57:41-8.

Dennis C, Webster J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. 3- Hiphal Interaction. *TransBrit Mycol Soc* 1971c; 57;363-9.

Erickson RJ. An evaluation of mathematical models for the effects of pH and temperature on ammonia toxicity to aquatic organisms. *Water Res.* 1985;19:1047-58.

Domínguez J, Pérez-Losada M. *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) and *Eisenia andrei* Bouché, 1972 are two different earthworm species. *Acta ZoolMex (n.s.)*. 2010; Número Especial 2: 321-31.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Pecuária Municipal, 2009. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso ago de 2015.

International Organization for Standardization-ISO, ISO 11268-1. Soil quality – Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*) – Part 1: determination of acute toxicity using artificial soil substrate. Geneva,1993.

International Organization for Standardization-ISO, ISO 11268-2. Soil quality – Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*) – Part 2: determination of effects on reproduction. Geneva,1998.

Kiehl EJ. Fertilizantes orgânicos. Piracicaba: *Editora Agronômica Ceres*; 1985.

Lamim SSM, Jordão CP, Brune W, Pereira JL. Caracterização química e física de vermicomposto e avaliação de sua capacidade em adsorver cobre e zinco. *Quim Nova*. 1998; 21: 278-83.

Lavelle P, Pashanasi B, Charpentier F, Gilot C, Rossi JP, Derouard L, Andre J, Ponge J F, Bernier N. Effects of earthworms on soil organic matter and nutrient dynamics at a landscape scale over decades. In: Edwards CA, editor. *Earthworm ecology*. 2nd. ed. Boca Raton, CRC Press, 2004. p.145-60.

Lazcano C, Gomez-Brandon M, Dominguez J. Comparison of the effectiveness of composting and vermicomposting for the biological stabilization of cattle manure. *Chemosphere*. 2008; 72: 1013-19.

Mangenot F, Diem HG. Fundamentals of biological control. In: Krupa SV, Dommergues YR, editors. *Ecology of root pathogens*, Amstenolam: Elsevier. 1979. p. 207-65

Martins PRG, Silva CA, Fischer V, Ribeiro MER, Gomes JF, Stumpf Jr W, Zanela M B. Produção e qualidade do leite na bacia de Pelotas-RS em diferentes meses do ano. Ci Rural. 2006; 36: 209-14.

Melo IS. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. Ann Rev Phytopathol. 1996; 4: 261-95.

Neumann B, Laing M. A mechanism for growth inhibition in plants, associated with *Trichoderma* application. In Proceedings of the Meeting Fundamental and Practical Approaches to Increase Biocontrol Efficacy; September 2006; Spa; Belgica; Spa; Elad Y, Ongena M, Höfte M, Haïssam JM (Eds); 2007. p. 265.

Oliveira, SD. Avaliação das técnicas de bioaumento fúngico e bioestímulo em processos de biorremediação utilizando solo contaminado por petróleo [Dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2008.

Oliveira SJC; Costa SD, Leão AC; Araujo MS; Queiroz MF. Minhoca vermelha da Califórnia (*Eisenia fetida*): um estudo de preferência alimentar. In: Brown GG, Fragoso C. editores-. Minhocas na América Latina: Biodiversidade e ecologia. Londrina, Embrapa Soja; 2007. p.533-6.

Paoletti MG. The role of earthworms for assessment of sustainability and as bioindicators. Agric Ecosyst Environ. 1999; 74: 137-55.

Pereira EW, Azevedo CMSB. Produção de vermicomposto em diferentes proporções de esterco bovino e palha de carnaúba. Caatinga. 2005; 18: 112-6.

Pequeno PLL, Mendes JRN, Schelindwein JA, Serrado A, Locatelli M. Caracterização Química do lodo de esgoto tratado (biossólido) para uso agrícola e florestal no Estado de Rondônia. In: Seminário de Pesquisa e Extensão Rural - Sepex, 2, 2008, Porto Velho. A agricultura familiar no agronegócio: anais. Porto Velho: UNIR, 2008.

Reis JAT, Mendonca ASF. Análise técnica dos novos padrões brasileiros para amônia em efluentes e corpos d'água. Eng.Sanit.Amb. 2009; 14: 353-62. doi: org/10.1590/S1413-41522009000300009

Sadykova S, Kurakov AV. Prospects for the use of strains of the genus *Trichoderma* to obtain vermicomposts with fungicides and growth stimulating properties. Russian Agric Sci. 2013; 39: 257–60.

Schiavon GA, Schiedeck G, Araújo JMG, Fonseca RMF, Schwengber JE. Produção de casulos e crescimento de minhocas *Eisenia fetida* Savigny em condição de isolamento. In: Anais do 8º

Congresso de Ecologia do Brasil [CD-ROM]; 23-28 Set 2007. Caxambu.Caxambu: SEB; 2007.

Schirmer GK. Utilização do lodo de esgoto na Vermicompostagem e como substrato para a produção de mudas de *Pinus elliottii* Engelm.[ Dissertação]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2010.

Serrano-Carreón L, Flores C, Rodriguez B, Galindo, E. *Rhizoctoniasolani*, anelicitor of 6-pentyl- $\alpha$ -pyrone production by *Trichoderma harzianum* in a two liquid phases, extractive fermentation system. *Biotechnol Lett.* 2004; 26°, 1403-6.

Soares JP, Souza JA, Cavalheiro ETG. Caracterização das amostras comerciais de vermicomposto de esterco bovino e avaliação da influência do pH e do tempo na adsorção de Co(II), Zn(II) e Cu(II). *Quim Nova.* 2004; 27: 5-9.

Steffen GPK. Substratos à base de casca de arroz e esterco bovino para a multiplicação de minhocas e produção de mudas de alface, tomateiro e boca-de-leão.[Dissertação]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2008.

Tamimi KM, Hutchinson SA. Differences between the biological effects of culture gases from several species of *Trichoderma*. *Trans Brit Mycol Soc.* 1975; 64: 455-63.

Tedesco MJ, Gianello C, Bissani CA, Bohnen H, Volkweiss SJ. Análises de solo, plantas e Outros materiais. Ed 2a. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 1995. (Boletim técnico, 5).

Tomati U, Galli E, Pasetti L, Volterra E. Bioremediation of olive-mill wastewaters by composting. *Waste Manage Res.* 1995; 13: 509-18.

Van Horn HH, Wilkie AC, Powers WJ, Nordstedt RA. Components of dairy manure management systems. *J.Dairy Sci.* 1994; 77: 2008-30.

Vidal VM, Vitti MR, Morselli TBGA. Caracterização química de vermicompostos de diferentes substratos orgânicos. *R Bras Agroecol.* 2007; 2: 1321-4.



Quadro 1: Análise química para pH em água, relação C/N e as porcentagens de N total, C, P, K, Ca e Mg, em vermicomposto de esterco bovino em altas doses do produto comercial ICB Nutrisolo Trichoderma em esterco bovino (ICB).

Doses ICB*	pH água 1/1	C(%)	N(%)	C/N	P (%)	K (%)	Ca(%)	Mg(%)
0,5	7,86 a	26,3 a	1,90 a	13/1	2,95 b	0,08 a	1,82 a	0,60 a
1,0	7,94 a	26,7 a	2,07 a	12/1	2,90 b	0,08 a	1,78 a	0,60 a
2,0	7,88 a	24,5 a	2,70 a	9/1	2,91 b	0,08 a	1,96 a	0,63 a
4,0	7,92 a	27,0 a	2,16 a	12/1	3,38 a	0,09 a	2,24 a	0,62 a
8,0	7,91 a	25,5 a	1,98 a	12/1	3,14 b	0,09 a	2,26 a	0,55 a
0,0 (com minhocas)	7,73 c	25,1 a	2,19 a	11/1	3,45 a	0,08 a	2,15 a	0,56 a
0,0 (sem minhocas)	7,78 b	23,2 a	1,78 a	13/1	2,23 c	0,05 b	1,71a	0,41 b
CV %	0,63	8,30	9,06		3,23	0,59	6,80	3,0

Médias seguidas por uma mesma letra, em coluna, não diferem a 5% de significância pelo teste de Scott-Knott.

\* Doses x10<sup>11</sup> UFC.kg<sup>-1</sup>

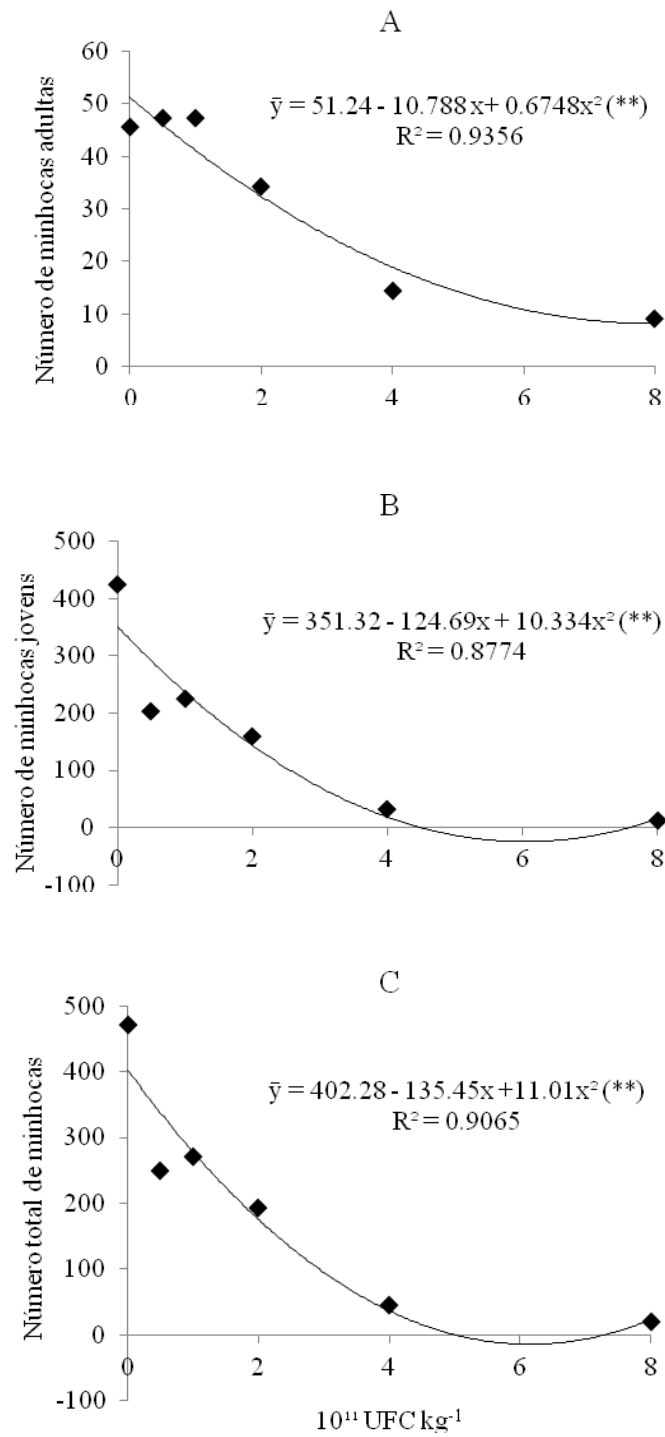


Figura 1. Número de minhocas adultas (A), minhocas jovens (B) e número de minhocas totais sob altas doses de ICB Nutrisolo Trichoderma. (\*\*) significativo a 0,01 % de probabilidade, pelo teste F.

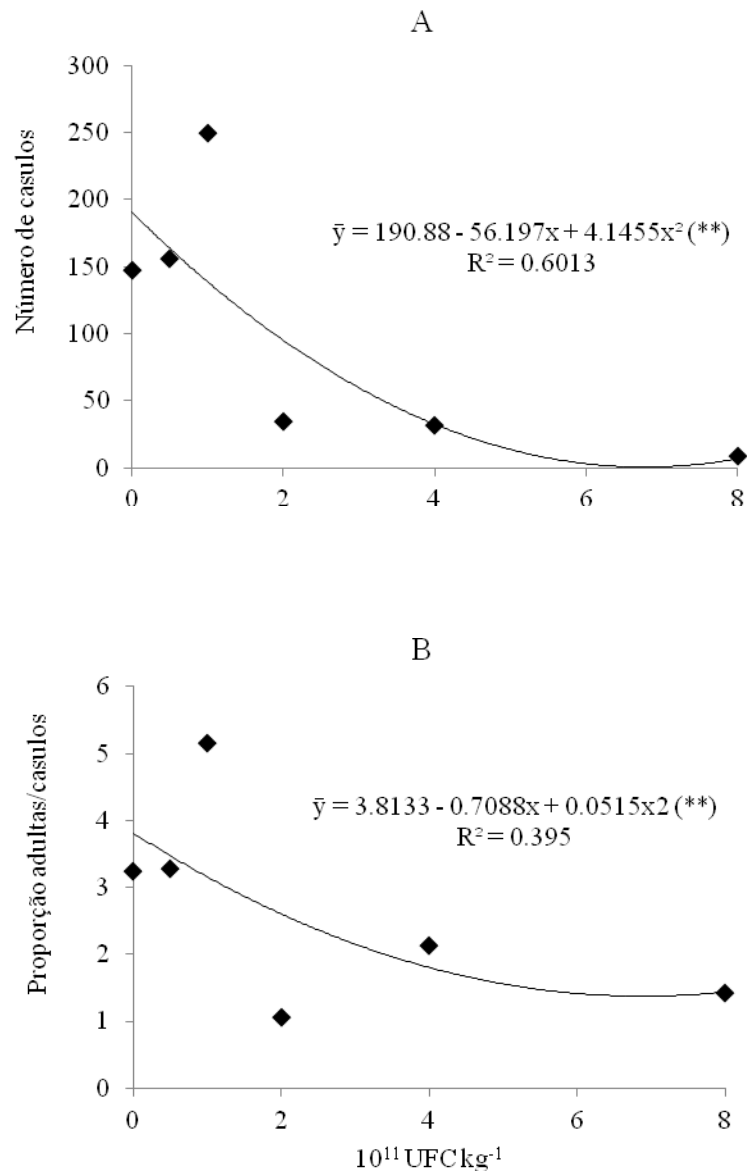


Figura 2. Número total de casulos (A) e proporção adultas/casulos (B) sob altas doses de ICB Nutrisolo *Trichoderma*. (\*\*) significativo a 0,01 % de probabilidade, pelo teste F.

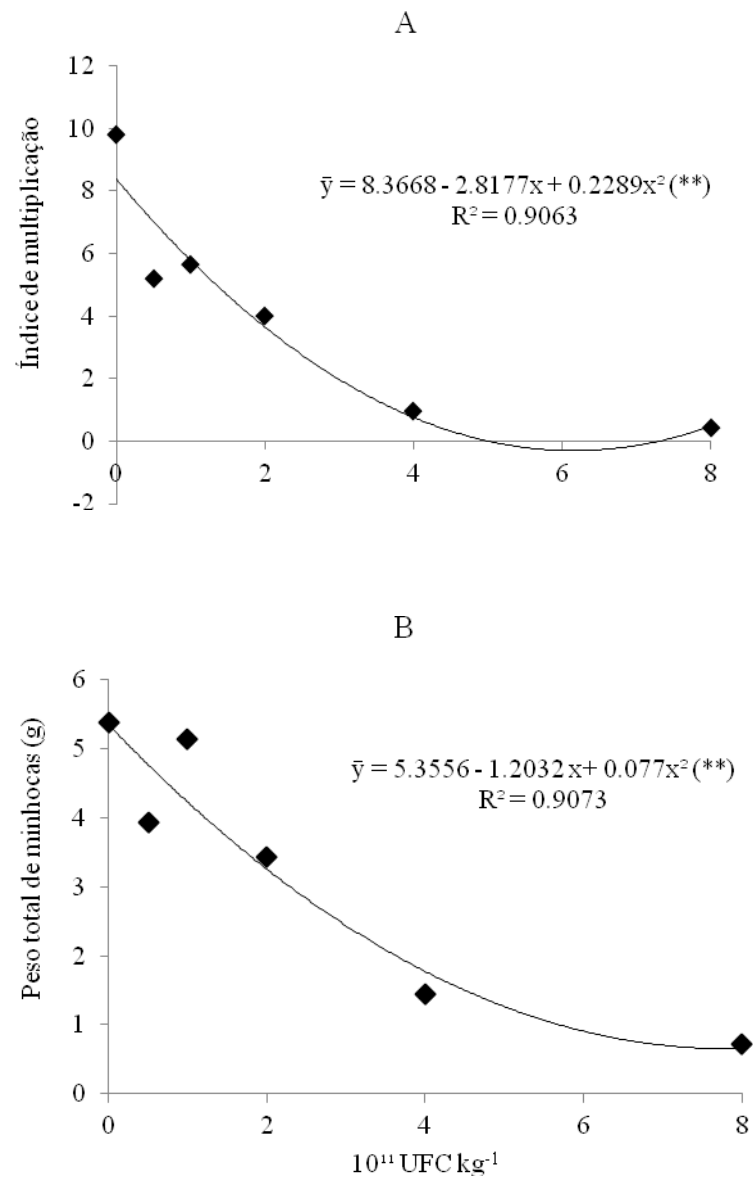


Figura 3. Índice de multiplicação (A) e peso total de minhocas (B) sob altas doses de ICB Nutrisolo Trichoderma. (\*\*) significativo a 0,01 % de probabilidade, pelo teste F.

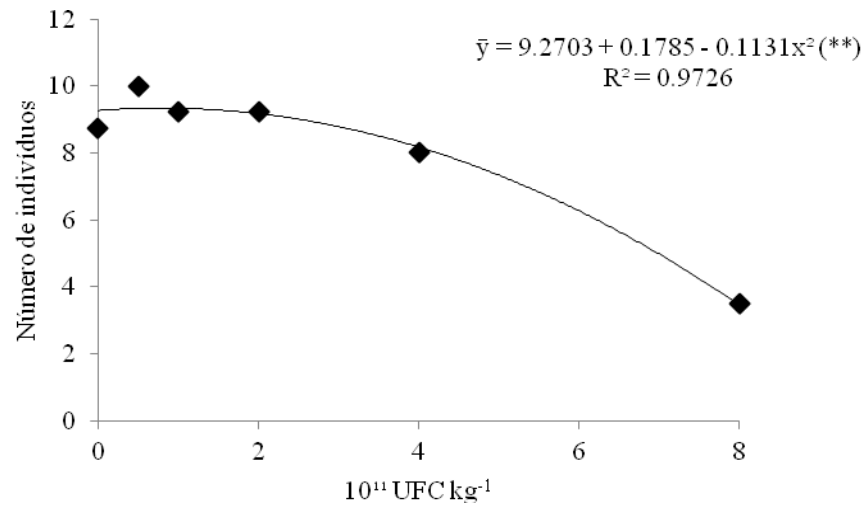


Figura 4- Curva de sobrevivência de indivíduos de *Eisenia andrei* em altas doses de ICB Nutrisolo Trichoderma em esterco bovino. (\*\*) significativo a 0,01 % de probabilidade, pelo teste F.

## ARTIGO 2

### DESENVOLVIMENTO INICIAL DE ALFACE EM VERMICOMPOSTO SOB DOSES SUPERIORES DE TRICHODERMA

Maria Medianeira Saccol Wiethan<sup>1</sup>, Gabriel Streck Bortolin<sup>2</sup>, Renata Soares Pinto<sup>3</sup>, Antonio Carlos Ferreira da Silva<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Bióloga, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. mediasaccol@gmail.com, (55) 9943-8392\*

<sup>2</sup>Eng<sup>o</sup> Agrônomo, Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. gabrielbortolin91@gmail.com

<sup>3</sup>Tecnóloga em Gestão Ambiental, Pós-Graduada em Especialização em Educação Ambiental, Universidade Federal de Santa Maria, Programa de Pós-Graduação em Educação Ambiental, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. renatasoares261@gmail.com

<sup>4</sup> Eng<sup>o</sup> Agrônomo, Professor Titular da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. acfsilva2@uol.com.br

## RESUMO

Alguns isolados do gênero *Trichoderma* são considerados importantes sapróbios que em doses ótimas promovem a germinação e o desenvolvimento de hortaliças como a alface. Há poucos estudos em relação à ação de doses superiores às comercialmente recomendadas desse bioproduto na germinação e desenvolvimento de plantas em vermicomposto. A partir deste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar a emergência e o desenvolvimento inicial de plântulas de alface em vermicomposto tratado com doses superiores às recomendadas do produto comercial ICB Nutrisolo *Trichoderma* (ICB). O experimento foi conduzido em casa de vegetação, sendo que o substrato utilizado foi uma mistura de 50% de vermicomposto e 50% de substrato comercial da marca Plantmax<sup>®</sup>. Foram utilizadas as seguintes doses do produto ICB em substrato: T1 (1,0); T2 (2,0); T3 (4,0); T4 (8,0); T5 (16,0) e T6 (0,0) sendo todas as concentrações em  $10^{11}$  UFC kg<sup>-1</sup> do produto. O substrato tratado foi colocado em bandejas de germinação compostas por cinco sementes de alface cv. Regina por célula e quatro repetições, totalizando 40 plântulas por tratamento após desbaste. As variáveis avaliadas foram porcentagem de germinação, índice de velocidade de emergência, altura, massa fresca e seca da parte aérea, área foliar, volume e área superficial de raiz e porcentagens de P, K, Ca e Mg nas folhas das plantas aos 28 dias. Os dados obtidos foram submetidos à análise de regressão. Todas as doses estudadas influenciaram negativamente o desenvolvimento aéreo e radicular das plantas. A porcentagem de germinação de sementes e o índice de velocidade de emergência de plântulas foram menores em doses acima de  $4,0 \times 10^{11}$  UFC kg<sup>-1</sup> do produto biológico. A porcentagem de nutrientes nas folhas foi superior nos tratamentos com ICB.

Palavras Chaves: Germinação, crescimento, *Lactuca sativa*, *Trichoderma* spp., minhoca.

## ABSTRACT

### INITIAL LETTUCE DEVELOPMENT IN VERMICOMPOST SUBJECTED TO HIGHER TRICHODERMA DOSES

Some isolates from genus *Trichoderma* are considered to be important saprobes, which promote the germination and development of vegetables such as lettuce when they are used in optimal doses. There are few studies about the effect of doses higher than those commercially

recommended for this byproduct on plant germination and development in vermicompost. Thus, the current study aims to evaluate the emergence and the initial development of lettuce seedlings in vermicompost treated with doses higher than those recommended for the commercial product Nutrisolo Trichoderma (ICB). The experiment was conducted in greenhouse and the used substrate was a mixture of 50% vermicompost and 50% Plantmax<sup>®</sup> commercial substrate. The following ICB product doses were used in the substrate: T1 (1.0); T2(2.0); T3 (4.0); T4 (8.0); T5 (16.0) and T6 (0.0) and all concentrations were  $10^{11}$  CFU kg<sup>-1</sup> of the product. The treated substrate was placed in germination trays composed of five Regina cultivar lettuce seeds per cell and four replications, totaling 40 seedlings per treatment, after thinning. The evaluated variables were germination percentage, emergence speed index, height, shoot fresh and dry weight, leaf area, root volume and surface area, and percentages of P, K, Ca and Mg in the leaves of plants at 28 days. Data were subjected to regression analysis. All studied doses negatively influenced the plants' shoot and root development. The percentage of seed germination and the seedling emergence speed index were lower in doses above  $4,0 \times 10^{11}$  CFU kg<sup>-1</sup> of the biological product. The nutrient percentage in the leaves was higher in ICB-based treatments.

Keywords: Germination, growth, *Lactuca sativa*, *Trichoderma* spp., earthworm.

## INTRODUÇÃO

O cultivo orgânico tem sido amplamente difundido no Brasil nos últimos anos por apresentar opções de uma alimentação mais saudável aliada à crescente preocupação com a preservação do meio ambiente, e apresenta alternativas para diminuição do uso de agrotóxicos substituindo-os por agentes menos agressivos ao ambiente. A produção de hortaliças orgânicas concentra-se principalmente nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, sendo a alface uma das principais hortaliças folhosas produzidas em sistema orgânico no Brasil. Por ser mundialmente consumida *in natura* apresenta altos riscos de contaminação por agrotóxicos utilizados no controle químico de fitopatógenos (Brasil, 2006). Portanto, a utilização de agentes de controle biológico torna-se uma ferramenta indispensável.

O uso limitado de trichoderma (*Trichoderma* spp.) como produto biológico justifica a sua menor aplicabilidade para o biocontrole de doenças e promoção de crescimento vegetal na agricultura, estando limitado à disponibilidade de produtos comerciais legalmente registrados (Machado *et al.*, 2012). Há muitos estudos que visam a caracterização de aspectos



biológicos através da inibição do desenvolvimento do patógeno pelo parasitismo, competição e antibiose (Verma *et al.*, 2007; Howell, 2003). Recentemente, várias tentativas têm sido tomadas para pesquisa de trichoderma na promoção do desenvolvimento de plantas e controle de doenças em culturas, como algodão (Shanmugaiah *et al.*, 2009), feijão (Hoyos-Carvajal *et al.*, 2009) e legumes (Celar & Valic, 2005). Entretanto, existem poucos trabalhos relacionados ao uso de altas doses de antagonistas e seus efeitos sobre o desenvolvimento de plantas em vermicomposto, o qual é rico em substâncias húmicas e pode conter reguladores de crescimento vegetal como o hormônio auxina, responsável, entre outros fenômenos, pela expansão e turgescência das células vegetais e pelo crescimento de raízes laterais (Zandonadi *et al.*, 2007; 2010). O isolado MG 97 de *Trichoderma asperellum* quando inoculado em dose ótima em vermicomposto produzido a partir de esterco, restos vegetais e serragem, permitiu uma forma eficaz de reciclar resíduos orgânicos com aumento do efeito supressor de fitopatógenos e efeito promotor de crescimento em plantas (Sadykova & Kurakov, 2013).

Trichoderma é um agente promissor de biocontrole de fitopatogênese um fungo natural do solo encontrado especialmente em solos orgânicos, que pode viver saprofiticamente ou parasitando outros fungos (Melo, 1996). Alguns isolados de trichoderma são utilizados devido a sua versatilidade de ação, como parasitismo, antibiose e competição, além de atuarem como indutores de resistência das plantas contra doenças. Essas características tornam trichoderma um dos fungos mais pesquisados em condições de laboratório, casa de vegetação e campo, no Brasil e outros países (Machado *et al.* 2012).

Há muitos fatores abióticos e bióticos que podem ter influência sobre a ação de trichoderma, entre outros podemos citar o substrato, tipo de cultura vegetal, microrganismos rizosféricos, bem como isolados, formas de inóculo, e concentrações do antagonista (Hajjegrari, 2010). Hassan *et al.* (2013) mostraram efeitos negativos na germinação de sementes quando uma grande quantidade de inóculo de *Trichoderma viride* foi utilizada em *Striga hermonthica* e painço.

Alguns estudos têm mostrado que o N pode influenciar negativamente a germinação e o desenvolvimento precoce em algumas plantas. Neumann & Laing (2006) observaram toxicidade associada à inibição do crescimento em vegetais pelo aumento da concentração de íons amônio quando trichoderma foi adicionado em altas doses na região das raízes. Experimentos confirmam que o nitrogênio na forma de amônio é mais inibitório que na forma de nitrato, mas concluiu-se que o efeito desse amônio foi mais negativo no alongamento da radícula do que na germinação de sementes (Celar & Valic, 2005). Trabalhos relatam ainda que isolados de trichoderma podem produzir compostos indutores de auxinas ou substâncias

semelhantes que possuem efeito inibidor na germinação de sementes e no desenvolvimento de plântulas em concentrações maiores do que as doses ótimas (Vinale *et al.*, 2008 a; Vinale *et al.*, 2008 b). A inoculação de grandes quantidades de inoculo de trichoderma reduziu parcialmente a germinação de sementes de beterraba sacarina e inibiu o crescimento da raiz, fato este relacionado com a formação de alquil-pironas que podem inibir o desenvolvimento de algumas espécies de plantas e possuir efeitos fitotóxicos (Kohl & Schlosser, 1989). Observou-se, também, que o metabolito koningin-A produzido por *Trichoderma koningii* inibiu o crescimento de coleótilos de trigo (Cutler *et al.*, 1989)

A partir deste contexto o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de doses superiores às recomendadas de ICB Nutrisolo Trichoderma na germinação, desenvolvimento inicial e composição química da parte aérea em alface.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Biologia do Solo, de Análise de Tecidos e casa de vegetação do Departamento de Solos, Centro de Ciências Rurais, e Laboratórios de Interação Planta-Microrganismo e de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. As minhocas adultas e cliteladas da espécie *Eisenia andrei* foram obtidas a partir do minhocário do Departamento de Solos, UFSM. Como fonte do agente biológico trichoderma, utilizou-se o produto comercial ICB Nutrisolo Trichoderma na forma de fluído, composto por oito cepas das espécies *Trichoderma koningiopsis*, *Trichoderma asperellum* e *Trichoderma harzianum*, na concentração de  $10^{11}$  UFC mL<sup>-1</sup> e registro no MAPA: RS12734/10000-4 (artigo 15 do anexo ao Decreto 4954/2004), cedido pela ICB BIOAGRITEC LTDA.

### **Produção de substrato vermicomposto em altas doses de trichoderma**

Para testar doses superiores às recomendadas do produto comercial ICB Nutrisolo Trichoderma (ICB) na germinação e desenvolvimento inicial em mudas de alface, cv Regina, foram utilizadas doses crescentes e superiores à dose  $10^6$  UFC kg<sup>-1</sup> descrita para *T. asperullum* por Sadykova & Kurakov (2013) em vermicomposto, e também superiores as doses  $10^3$  a  $10^6$  UFC g<sup>-1</sup> descritas para produtos biológicos ICB Nutrisolo (Trichoderma, Paecilomyces e Bacillus) recuperados em solo (Guimarães *etal.* 2013). O esterco bovino *in natura* utilizado para a produção do vermicomposto foi proveniente de gado de leite e obtido

em propriedade rural no município de Santa Maria, RS. Após o esterco ser homogeneizado e autoclavado a 121°C por duas vezes em um intervalo de 24 horas, efetuou-se a montagem dos tratamentos em caixas multiuso de polipropileno com dimensões 20 x 40 x 50cm e capacidade para 10 L, às quais foram adicionados 6 kg de substrato por repetição em cada um dos seguintes tratamentos com doses na ordem de  $10^{11}$  UFC kg<sup>-1</sup> de ICB NutrisoloTrichoderma: T1 (1,0); T2 (2,0); T3 (4,0); T4 (8,0); T5 (16,0) e controle T6 (0,0) todos em presença de minhocas. Para o processo de vermicompostagem as caixas contendo esterco bovino, minhocas e trichoderma ficaram cobertas com papel pardo. Em cada caixa inoculou-se 48 minhocas adultas e cliteladas da espécie *E. andrei*. A temperatura foi mantida a 28°C, a umidade entre 60 e 70% e ausência de luz durante todo o processo. Foi feito o revolvimento uniforme do material a cada sete dias para a aeração do mesmo e controle de umidade. O substrato utilizado para a germinação de sementes e produção de mudas de alface constou de mistura de 50% do vermicomposto proveniente de cada tratamento e 50% de substrato comercial Plantmax<sup>®</sup>. Após homogeneizado o substrato foi colocado em bandejas de germinação compostas por 10 células por unidade experimental. As doses descritas para os tratamentos com ICB Nutrisolo Trichoderma foram aplicadas em duas épocas, sendo 50% aos sete dias antes do início do processo de vermicompostagem e outros 50% aplicadas após 60 dias, no momento da semeadura.

### **Índice de Velocidade de Emergência (IVE)**

Para testar o IVE, o substrato foi colocado em bandejas de germinação compostas por 10 células por unidade experimental para cada um dos respectivos tratamentos. Em cada célula foram semeadas cinco sementes de alface cv. Regina, a uma profundidade de 0,5 cm totalizando 200 sementes por tratamento. As unidades experimentais foram mantidas em casa de vegetação, em condições controladas de temperatura (25°C) e umidade (substrato e ambiente). Para determinar o IVE, foram registradas diariamente o número de plântulas emergidas, com parte aérea formada, até o dia que houve estabilização da emergência e este foi calculado pela fórmula proposta por Maguire (1962):  $IVE = E1/N1 + E2/N2 + \dots + En/Nn$ . Onde: IVE = índice de velocidade de emergência. E1, E2,... En = número de plântulas normais computadas na primeira contagem, na segunda contagem e na última contagem. N1, N2,... Nn = número de dias da semeadura da primeira à última contagem.

Após a avaliação do processo de germinação realizou-se um desbaste, deixando uma planta por célula, totalizando 10 plantas por repetição. As variáveis agrônômicas avaliadas, após 28 dias de cultivo foram altura, massa fresca e seca da parte aérea, área foliar, área

superficial e volume de raiz. A altura foi medida com régua milimetrada a partir da superfície do solo, mantendo-se as folhas unidas na orientação vertical. Para as variáveis massa fresca e massa seca de folhas, bem como para área superficial e volume de raiz, as plantas foram cortadas na altura do colo, em seguida feito à pesagem da parte aérea e o escaneamento das raízes. As partes aéreas foram acondicionadas em envelopes de papel, devidamente identificados e levados para estufa de secagem com sistema de ventilação forçada, a temperatura de 65°C. Após atingirem o peso constante foi feito a pesagem novamente para determinação da massa seca. O sistema radicular e a parte aérea foram escaneados e as imagens obtidas foram analisadas com o auxílio do software WinRHIZO Pro 2013a (Régent Instrument Inc., 2013), sendo quantificadas as características de morfologia radicular e foliar, área de superfície total (cm<sup>2</sup>) e volume (cm<sup>3</sup>) da raiz e área foliar (cm<sup>2</sup>).

#### **Análise química da parte aérea**

Para determinação dos nutrientes Ca, Mg, P e K da parte aérea, o material após seco foi moído e submetido a análise segundo metodologia para tecidos vegetais proposta por Tedesco *et al.* (1995).

#### **Delineamento experimental e análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento e a análise de variância ANOVA foi utilizada para comparar as diferenças nos tratamentos. Todos os dados obtidos foram submetidos à análise de regressão como o auxílio do programa BioEstat 4.0 (Ayres *et al.*, 2005).

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados observados para porcentagem de emergência, índice de velocidade de emergência (IVE), altura, e massa fresca e seca da parte aérea de plantas de alface em substrato inoculado com doses superiores e crescentes de ICB Nutrisolo Trichoderma (Figura 1A, B, C, D, E) mostraram uma tendência de redução nesses parâmetros em relação ao controle. Para porcentagem (Figura 1A) e índice de velocidade (Figura 1B) de emergência nas doses iniciais 1, 2 e 4 (10<sup>11</sup> UFC mL<sup>-1</sup>) não observou-se diminuição significativa nos resultados desses parâmetros quando comparados ao controle. Os resultados para altura das plantas de alface aos 28 dias após a semeadura (Figura 1C), foram inferiores em relação ao controle, o mesmo

ocorrendo para área foliar (Figura 2A) massa fresca (Figura 1D) e seca (Figura 1E) da parte aérea das plantas, área superficial e volume de raiz (Figura 2B, 2C) em todas as doses.

O efeito de trichoderma na porcentagem de germinação de sementes e o IVE parece ser dependente do isolado, pois diferentes concentrações de uma variedade de metabólitos secundários produzidos podem estar envolvidas. Por exemplo, o viridiol é uma fitotoxina produzida por algumas espécies de trichoderma (Moffatt *et al.*, 1969) e tem efeito retardante na germinação de sementes em alface (Jones *et al.*, 1988). Em contraste, a forma de um óleo que consiste de ácidos graxos e glicerol promoveu o crescimento de plantas de trigo por trichoderma (Ghisalberti *et al.*, 1990). Resultados semelhantes obtidos por Hassan *et al.* (2013) foram observados com a utilização de *Trichoderma viride*, na concentração  $6 \times 10^1$  esporos  $\text{mL}^{-1}$ , em presença de bioestimulante GR24, o qual melhorou significativamente a germinação de sementes de *Striga hermonthica* (90,3%) em relação ao controle (85,4%), entretanto na dose elevada  $2,5 \times 10^6$  esporos  $\text{mL}^{-1}$ , em presença de GR24, inibiu totalmente a germinação. O mesmo isolado quando utilizado nas concentrações  $6 \times 10^1$  e  $1,2 \times 10^4$  esporos  $\text{mL}^{-1}$ , para as variedades Mallit e El-Fasher de painço, respectivamente, proporcionou 100% de germinação de sementes, e na concentração elevada  $2,5 \times 10^6$  esporos  $\text{mL}^{-1}$ , um decréscimo da porcentagem germinação (78,6 e 92,9%, respectivamente), bem como dos índices de vigor. Ozbay e Newman (2004) demonstraram, através da inoculação em substrato de dois isolados de *T. harzianum* (T-22 e T-95) na concentração  $10^7$  esporos  $\text{mL}^{-1}$  que não teve nenhum efeito sobre a emergência em tomate quando comparado ao controle. Culturas de filtrados de *Trichoderma longibrachiatum* e *T. viride* reduziram significativamente a primeira e a última contagem de germinação de sementes de cebola (Celar & Valic, 2005).

Estudo realizado por Hajieghrari (2010) teve como objetivo avaliar isolados de trichoderma na germinação de sementes de milho e o vigor de plântulas através da análise de alguns fatores e observaram que os isolados de trichoderma reduziram a porcentagem de germinação de sementes e diminuíram significativamente o comprimento de raízes em comparação com a forma não inoculada (controle), concordando com os resultados obtidos neste trabalho para os parâmetros porcentagem de germinação, área superficial e volume de raiz (Figura 1A, 2B, 2C). Nesse mesmo estudo, quando as sementes de milho foram expostas à suspensão de esporos de trichoderma ( $10^6$  a  $10^7$  esporos  $\text{mL}^{-1}$ ), observou-se a inibição na germinação das sementes, bem como diminuição no desenvolvimento da radícula, parte aérea, área foliar, peso fresco de raiz e peso de massa fresca quando comparado ao controle. Embora os mecanismos pelos quais os isolados de trichoderma possam atuar como promotores de desenvolvimento de plantas não estejam completamente elucidados, existem evidências da

produção de ácido indolacético (AIA), cujas principais funções nos vegetais superiores consistem na regulação do crescimento por alongamento de caules jovens (Gravel, 2007). Algumas espécies de trichoderma podem produzir compostos indutores de auxina que têm efeito inibidor em concentrações mais elevadas do agente biológico do que as doses ótimas (Vinale *et al.*, 2008a; Vinale *et al.*, 2008b). De acordo com Bjorkman (2004), as taxas de crescimento de raízes de milho com alta sensibilidade a AIA podem ser reduzidas com adição desse fitohormônio, enquanto que a adição de AIA exógeno nas raízes de milho com baixa sensibilidade a esse fitohormônio pode resultar em maior taxa de crescimento. Gravel *et al.* (2007) observaram-se diferenças na produção de AIA entre os isolados de trichoderma, entretanto, outros fatores podem estar envolvidos na promoção ou inibição de crescimento como controle de microrganismos deletérios de raízes e solubilização de nutrientes por agentes de controle biológico.

Os resultados encontrados neste trabalho (Figuras 1C e D; 2A) reforçam os encontrados por Resende *et al.* (2004), que trabalhando com sementes de milho inoculadas com *T. harzianum* não obtiveram resultados significativos para altura de plantas e aumento de massa fresca da parte aérea. Sadykova & Kurakov (2013) utilizaram dose de trichoderma bem inferior ( $10^6$  UFC  $\text{kg}^{-1}$ ) às utilizadas no presente trabalho em vermicomposto, na cultura de pepino, e obtiveram aumento da biomassa e do sistema radicular, o que justifica a eficácia da utilização de doses mais baixas do citado agente promotor de crescimento não observada nos resultados obtidos para todas as doses nos parâmetros relativos a parte aérea e raiz (Figura 1C, 1D, 1E, 2A, 2B e 2C, respectivamente). Em relação à massa fresca e seca, e altura da parte aérea de tomate, Ozbay & Newman (2004), observaram valores menores que a testemunha para as plantas cujas sementes tinham sido tratadas com isolados T22 e T95 de *T. harzianum*, numa concentração  $10^7$  esporos  $\text{mL}^{-1}$ .

A análise química da parte aérea das mudas de alface indicou maior porcentagem de P, K, Ca e Mg em todas as doses estudadas de trichoderma quando comparadas ao controle, porém observou-se alguma diminuição na porcentagem desses nutrientes com o aumento das doses a partir de  $8,0 \times 10^{11}$  UFC  $\text{kg}^{-1}$  de ICB Nutrisolo Trichoderma. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Beninni (2005), em trabalho na ausência de trichoderma, que detectou os valores para P, K, Ca e Mg iguais a 0,87; 0,23; 1,26 e 2,02%, respectivamente. Sendo, portanto, os valores para P e K do referido autor, inferiores (1,21% e 0,40%, respectivamente, Figura 3A, 3B) e o valor para Mg superior (Figura 3B) aos encontrados no presente trabalho em todas as doses. Entretanto, para o elemento Ca a porcentagem foi

comparativamente superior até a dose  $4,0 \times 10^{11}$  UFC  $\text{kg}^{-1}$  de ICB Nutrisolo Trichoderma no presente trabalho.

O aumento na porcentagem de fósforo observado com a presença de trichoderma, concorda com os estudos de Gravel, (2007) que cita a solubilização de fosfato por trichoderma e consequente disponibilização deste elemento. Prates *et al.* (2007) testaram a aplicação de trichoderma no substrato, juntamente com a pulverização quinzenal, a qual promoveu maior concentração de K nas folhas de mudas enxertadas de laranja, mas não houve efeito dos tratamentos sobre a concentração de P, Ca e Mg.

## CONCLUSÕES

O uso de doses superiores às doses recomendadas de ICB Nutrisolo Trichoderma, como pode ser observado pelos resultados obtidos envolvendo o desenvolvimento inicial de plantas de alface cv. Regina demonstra que todas as doses estudadas influenciam negativamente o desenvolvimento aéreo e radicular das plantas aos 28 dias da semeadura, no entanto, para os parâmetros que envolvem a germinação de sementes, a influência negativa pode ser observada consistentemente em doses acima de  $4,0 \times 10^{11}$  UFC  $\text{kg}^{-1}$  do produto biológico. A análise química foliar demonstra que as doses superiores aumentam a porcentagem de todos os nutrientes analisados.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos à empresa ICB BIOAGRITEC LTDA pelo fornecimento e disponibilidade das informações a respeito do produto biológico.

## REFERÊNCIAS

- AYRES M; AYRES M.Jr; AYRES DL; SANTOS SA. 2005. *BioEstat 4.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas*. Belém:Sociedade Civil Mamirauá. 324p.
- BENINNI ERY; TAKAHASHI HW; NEVES CSVJ. 2005. Concentração e acúmulo de macronutrientes em alface cultivada em sistemas hidropônico e convencional. *Ciências Agrárias* 26: 273-282.
- BJORKMAN T. 2004. Effect of Trichoderma colonization on auxin-mediated regulation of root elongation. *Plant Growth Regulation* 43: 89-92.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. 2006 Estatísticas: situação da produção orgânica. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 22 ago. 2015.

CELAR F; VALIC N. 2005. Effects of *Trichoderma* spp and *Gliocladium roseum* culture filtrates on seed germination of vegetables and maize. *Journal of Plant Diseases and Protection* 112: 343-350.

CUTLER HG; HIMMELSBACH DS; ARRENDALE RF; COLE PD; COX RH. 1989. Koninginin A: a novel plant growth regulator from *Trichoderma koningii*. *Agricultural and Biological Chemistry* 53:2605-2611.

GHISALBERTI EL; NARBAY M.J; DEWAN MM.; SIVASITHAMPARAM K. 1990. Variability among strains of *Trichoderma harzianum* in their ability to reduce take-all and to produce pyrones. *Plant and Soil* 121: 287-291.

GRAVEL V; ANTOUN H; TWEDDELL RJ. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biology and Biochemistry* 39:1968–1977.

GUIMARÃES AM.; PAZ ICP; SCHERER JRL; MISSIAK M; SANTIN RCM; SILVA ME; MATSUMURA ATS. 2013. Compatibilidade entre *Trichoderma* spp., *Paecilomyces lilacinus* e *Bacillus Amyloliquefaciens* em inoculação conjunta no solo In: SIMPOSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 13. Ouro Preto: SICONBIOL. P. 293.

HAIJEGHRARI B. 2010. Effects of some Iranian *Trichoderma* isolates on maize seed germination and seedling vigor. *African Journal of Biotechnology* 9: 4342-4347.

HASSAN MM; DAFFALLA HM; MODWI HI; OSMAN MG; AHMED II; GANI MEA; BABIKER AGE. 2013. Effects of Fungal Strains on Seeds Germination of Millet and *Striga hermonthica*. *Universal Journal of Agricultural Research* 2:83-88.

HOWELL CR. 2003. - Mechanisms Employed by *Trichoderma* species in the Biological Control of Plant Disease: The History and Evolution of Current Concepts. *Plant Disease* 87:4-10.

HOYOS-CARVAJAL L; ORDUZ S; BISSETT J. 2009. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. *Biological Control* 51:409–416.

JONES RW; LANINI WT; HANCOCK JG. 1988. Plant growth response to the phytotoxin viridiol produced by the fungus *Gliocladium virens*. *Weed Science* 36:683-687.

KOHL J; SCHLÖSSER E. 1989. Effect of *Trichoderma* spp. on seedlings of sugar beet during the biological control of pathogens. *Medicine Faculty Landbouww, Rijksuniv* 54:707-714.

MACHADO DFM; PARZIANELLO FR; SILVA ACF, ANTONIOLLI ZI. 2012. *Trichoderma* no Brasil: O fungo e o bioagente. *Revista de Ciências Agrárias* 35: 274-288.



- MAGUIRE JD. 1962. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedlings emergence and vigor. *Crop Sciences* 2:176-177.
- MELO IS. 1996. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. *Revisão anual de patologia de plantas*4:261-296.
- MOFFATT JS; BULLOCK JD; YUEN TH. 1969. Viridiol, a steroid-like product from *Trichoderma viride*. *Journal of the Chemical Society D Chemical Communications*. DOI: 10.1039/C2969000839A
- Neumann B, Laing M. 2007. A mechanism for growth inhibition in plants, associated with *Trichoderma* application. In PROCEEDINGS OF THE MEETING FUNDAMENTAL AND PRACTICAL APPROACHES TO INCREASE BIOCONTROL EFFICACY; September 2006; Spa; Belgica; Spa; Elad Y, Ongena M, Höfte M, Haïssam JM (Eds); p. 265.
- OZBAY N; NEWMAN SE. 2004. Effect of *Trichoderma harzianum* strains to colonize tomato roots and improve transplant growth. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 7:253-257.
- PRATES HS; LAVRES JrJ; Rossi ML. 2007. Composição mineral de mudas cítricas com aplicações de *Trichoderma* spp. *Informações Agrônomicas n°118*.
- RÉGENT INSTRUMENTS INC. 2013. *WinRHIZO 2013 Basic, Reg, Pro & Arabidopsis for root measurement*.
- RESENDE ML; OLIVEIRA JA.; GUIMARÃES RM; PINHO RGV; VIEIRA AR. 2004. Inoculação de Sementes de Milho Utilizando o *Trichoderma harzianum* como Promotor de Crescimento. *Ciência e Agrotecnologia* 28:793-798.
- SADYKOVA S; KURAKOV AV. 2013. Prospects for the use of strains of the genus *Trichoderma* to obtain vermicomposts with fungicides and growth stimulating properties. *Russian Agricultural Sciences*39:257–260.
- SHANMUGAIAH V; BALASUBRAMANIAN N; GOMATHINAYAGAM S; MONOHARAN PT; RAJENDRAN A. 2009. Effect of single application of *Trichoderma viride* and *Pseudomonas fluorescens* on growth promotion in cotton plants. *African Journal of Agricultural Research* 4:1220-1225.
- TEDESCO MJ; GIANELLO C; BISSANI CA; BOHNEN H; VOLKWEISS SJ. 1995. *Análise de solo, plantas e outros materiais*. 2ª ed. Porto Alegre: Departamento de solos, UFRGS, 174 p. (Boletim Técnico, 5).
- VERMA M; BRAR SK; TYAGI RD; SURAMPALLI RY; VALERO JR. 2007. Antagonistic fungi *Trichoderma* spp: Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal* 37:1-20.
- VINALE F; SIVASITHAMPARAM K; GHISALBERTI EL; MARRA R; BARBETTJM; LI H; WOO SL; LORITO M. 2008a. A noel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 72: 80-86.

VINALE F; SIVASITHAMPARAM K; GHISALBERTI EL; MARRA R; BARBETTI MJ; LI H; WOO SL; LORITO M. 2008b. *Trichoderma* -plant -pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry* 40:1-10.

ZANDONADI DB; CANELLAS LP; FAÇANHA AR. 2007. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H<sup>+</sup>-pumps activation. *Planta* 225:1583–1595.

ZANDONADI DB; SANTOS MP; DOBBSS LB; OLIVARES FL; CANELLAS LP; BINZEL ML; OKOROKOVA-FAÇANHA AL; FAÇANHA AR. 2010. Nitric oxide mediates humic acids-induced root development and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activation. *Planta* 231:1025- 1036.

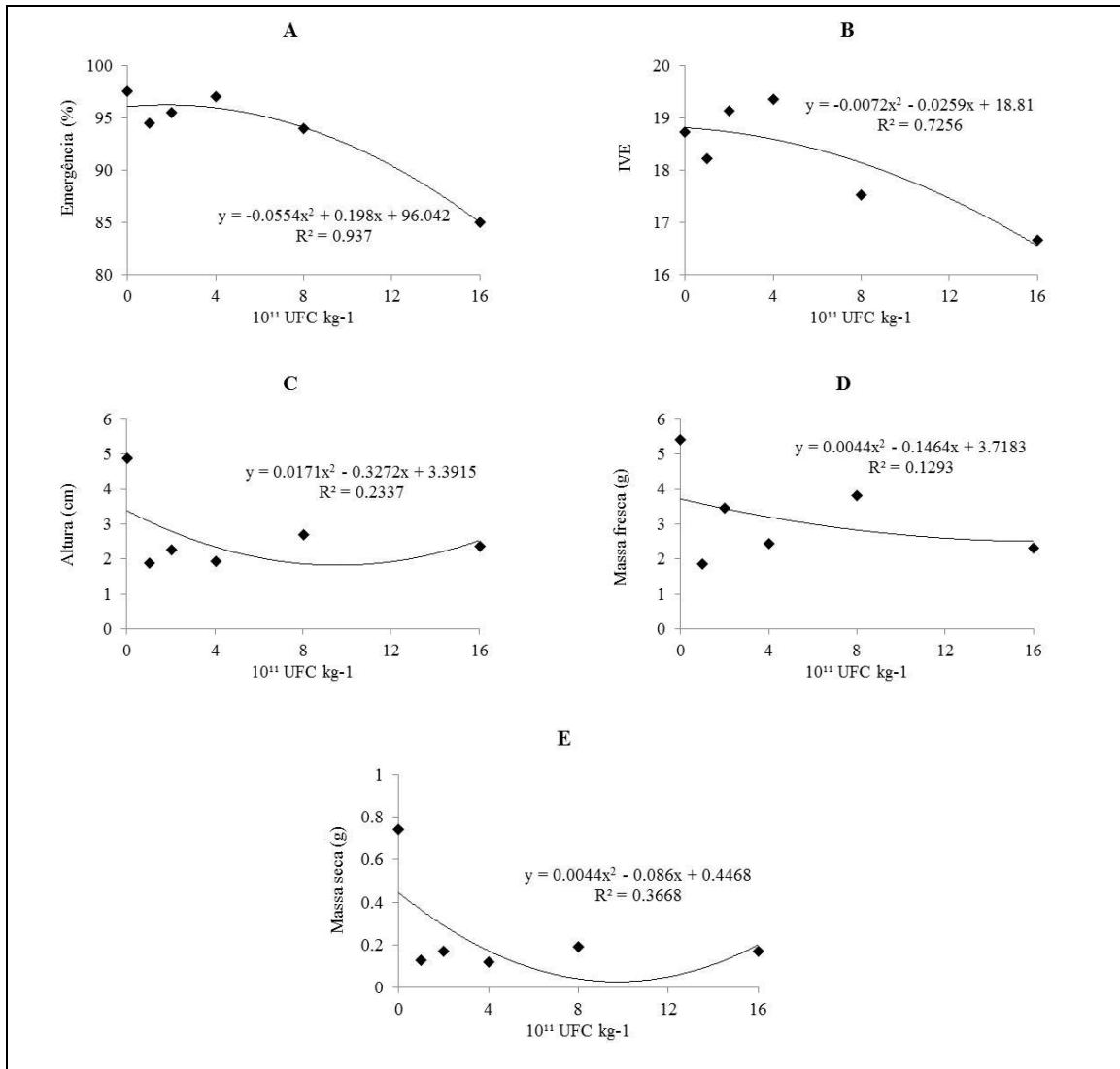


Figura 1: Resultados de porcentagem de emergência (A), índice de velocidade de emergência (B) altura (C), massa seca (D) e fresca (E) de mudas de alface cultivar Regina cultivadas com doses crescentes de ICB Nutrisolo Trichoderma.

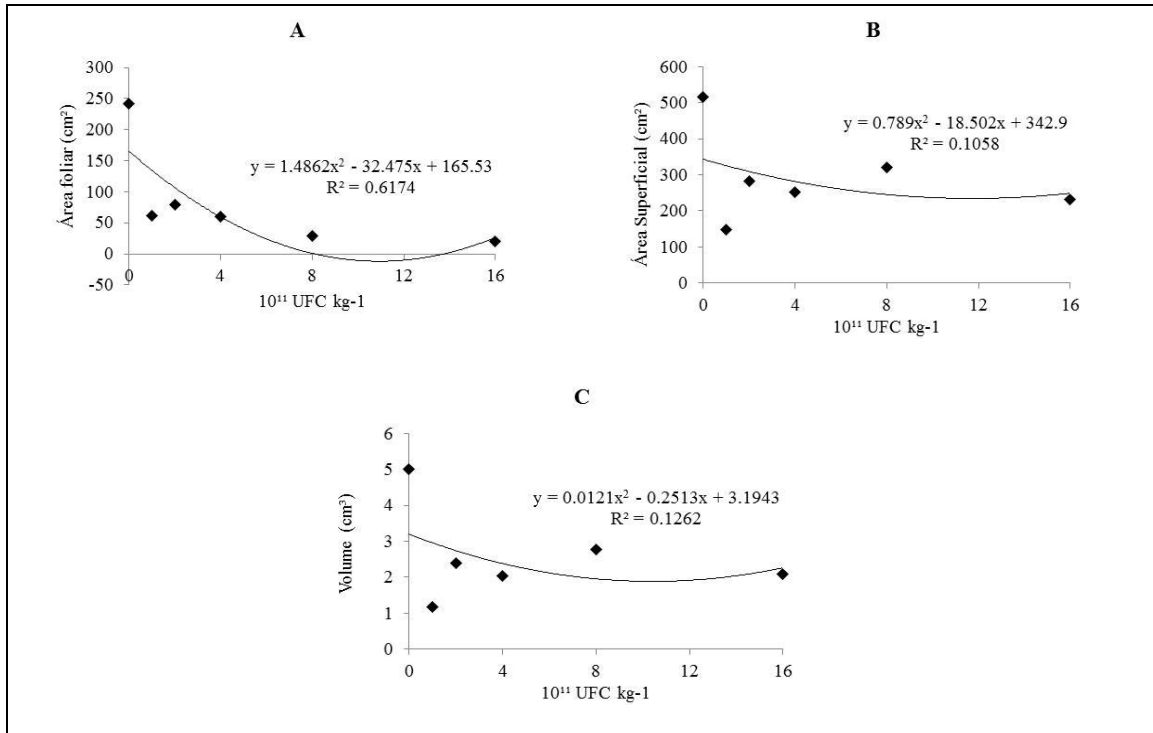


Figura 2: Resultados de área foliar (A), área superficial (B) e volume de raiz(C) de alface cultivar Regina cultivadas com doses crescentes de ICB Nutrisolo Trichoderma.

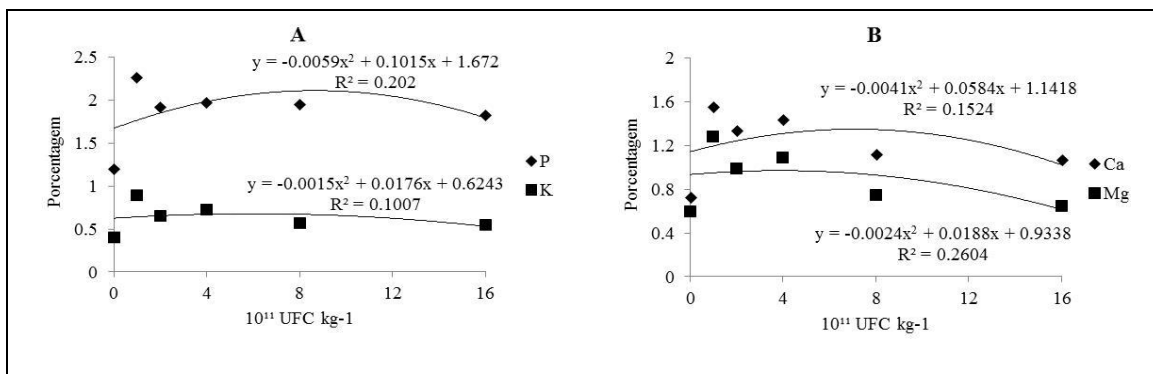


Figura 3. Teores de fósforo e potássio (A), cálcio e magnésio (B) em folhas de alface cultivar Regina cultivadas com doses crescentes de ICB Nutrisolo Trichoderma.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Doses superiores às recomendadas do produto biológico comercial ICB Nutrisolo Trichoderma, que tem como princípio ativo uma mistura de oito isolados das espécies *T. koningiopsis*, *T. asperellum* e *T. harzianum*, interferiram negativamente na multiplicação e desenvolvimento de *E. Andrei*. O mesmo ocorreu com a germinação de sementes e o desenvolvimento inicial de plantas de alface cv. Regina aos 28 dias da sementeira.

Observou-se que não houve interferência do produto biológico em doses abaixo ou iguais a  $1,0 \times 10^{11}$  UFC Kg<sup>-1</sup> quanto à alteração no número de minhocas adultas e número de casulos de *E. andrei* em vermicompostagem. Houve decréscimo no número de minhocas a partir da dose  $4,0 \times 10^{11}$  UFC Kg<sup>-1</sup> de ICB.

O índice de multiplicação de *E. andrei* foi inferior em todos os tratamentos com o produto biológico. Doses acima de  $2,0 \times 10^{11}$  UFC Kg<sup>-1</sup> diminuíram o peso seco total das minhocas.

O pH do vermicomposto foi superior nos tratamentos com ICB e houve aumento na percentagem de P, K e Mg nos tratamentos em presença de minhocas.

A relação C/N em todos os tratamentos indicou maturidade do vermicomposto dentro de resultados aceitáveis para compostos orgânicos.

A germinação de sementes de alface cv. Regina foi influenciada negativamente quando em doses superiores a  $4,0 \times 10^{11}$  UFC Kg<sup>-1</sup> do produto biológico.

Os resultados para a análise química foliar demonstrou que as doses superiores do bioproduto aumentaram a percentagem de todos os nutrientes analisados.