

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

Nayra Grazielle da Silva

**TRICHODERMA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E NO
DESENVOLVIMENTO INICIAL COM VERMICOMPOSTO EM
HORTALIÇAS**

Santa Maria, RS
2018

Nayra Grazielle da Silva

**TRICHODERMA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E NO DESENVOLVIMENTO INICIAL
COM VERMICOMPOSTO EM HORTALIÇAS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Agrobiologia**.

Orientador: Dr. Antonio Carlos Ferreira da Silva

Santa Maria, RS
2018

da Silva, Nayra Grazielle
TRICHODERMA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E NO
DESENVOLVIMENTO INICIAL COM VERMICOMPOSTO EM HORTALIÇAS
/ Nayra Grazielle da Silva.- 2018.
48 p.; 30 cm

Orientador: Antonio Carlos Ferreira da Silva
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Agrobiologia, RS, 2018

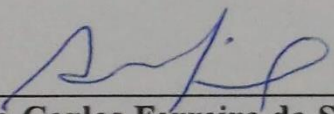
1. trichoderma 2. inibição 3. crescimento 4. altas
doses 5. vermicomposto I. Ferreira da Silva, Antonio
Carlos II. Título.

Nayra Grazielle da Silva

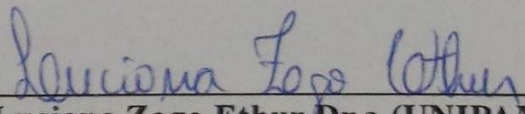
**TRICHODERMA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E NO DESENVOLVIMENTO
INICIAL COM VERMICOMPOSTO EM HORTALIÇAS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Agrobiologia**.

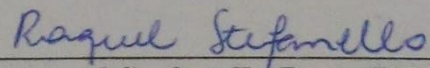
Aprovado em 10 de agosto de 2018:



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



Luciana Zago Ethur Dr.a (UNIPAMPA)



Raquel Stefanello D.ra (UFSM)

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação aos meus **pais** Gilcéa e Luis Antonio pelo incentivo incondicional aos meus estudos e por me ensinarem a importância da leitura, e à minha **irmã**, Najla, por ser um exemplo de sabedoria. Dedico também ao Luis Henrique, pelo apoio perene, parceria e companheirismo.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Antonio Carlos por ter me recebido de braços abertos, pelo constante incentivo, pela atenção e pelos conhecimentos passados que serão base da minha vida profissional e pessoal.

À Ana Paula, a qual sinto imensa gratidão pelo apoio durante os experimentos e pelos momentos de descontração, grande amiga e parceira e que logo também será uma grande mãe.

Ao Dhylan, bolsista de iniciação científica, por realizar as tarefas sempre que solicitado, pelo bom humor, pelos causos e gargalhadas.

Ao Laboratório de Análise de Tecidos, em especial à Alessandra, pela atenção e dedicação durante o período de análises.

Aos professores Nicoloso e Luciane por abrirem as portas do Laboratório de Fisiologia e ao Anderson e pelos ensinamentos e auxílio durante todo o processo de análises.

À Medianeira e ao Paulinho, servidores da área experimental de solos, esta por ceder gentilmente o vermicomposto utilizado nessa pesquisa, e aos dois pelo apoio durante a condução do experimento e pela boa companhia.

À empresa Ballagro por ceder o bioproduto à base de trichoderma e informações pertinentes.

Aos professores do PPGAgroBio pelas aulas sempre ricas em conteúdo.

À minha família pelo apoio incondicional, incentivo, compreensão, amor e dedicação durante todo esse longo processo e por sempre enfatizarem a importância da cultura, arte e conhecimento.

Ao Luis Henrique pelas noites em claro, pelas horas sentados ou em pé, no laboratório ou estufa. Pela parceria desde o primeiro dia, sempre incansável. Sua determinação e amor deixaram tudo mais fácil.

A todas e todos que de alguma forma me ajudaram nessa caminhada.

Muito obrigada!

“Although nature has proven season in and season out that if the thing that is planted bears at all, it will yield more of itself, there are those who seem certain that if they plant tomato seeds, at harvesttime they can reap onions.

Too many times for comfort I have expected to reap good when I know I have sown evil. My lame excuse is that I have not always known that actions can only reproduce themselves, or rather, I have not always allowed myself to be aware of that knowledge. Now, after years of observation and enough courage to admit what I have observed, I try to plant peace if I do not want discord; to plant loyalty and honesty if I want to avoid betrayal and lies.

Of course, there is no absolute assurance that those things I plant will always fall upon arable land and will take root and grow, nor can I know if another cultivator did not leave contrary seeds before I arrived. I do know, however, that if I leave little to chance, if I am careful about the kinds of seeds I plant, about their potency and nature, I can, within reason, trust my expectations.”

Maya Angelou

RESUMO

TRICHODERMA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E NO DESENVOLVIMENTO INICIAL COM VERMICOMPOSTO EM HORTALIÇAS

AUTORA: Nayra Grazielle da Silva
ORIENTADOR: Antonio Carlos Ferreira da Silva

O Brasil é o maior consumidor mundial de agrotóxicos e os avanços tecnológicos na área de produção vegetal não reduziram o seu uso e como consequência há uma oferta de alimentos contaminados à população. O presente projeto criará subsídios para avaliar o efeito de bioproduto à base de *Trichoderma harzianum* em cultivo em câmara de germinação e de forma associada ao vermicomposto em estufa agrônômica na germinação, desenvolvimento inicial e promoção de crescimento de hortícolas. No primeiro artigo, as doses de trichoderma foram os seguintes: D1) 0,0; D2) 10^8 ; D3) 10^9 ; D4) 10^{10} UFC.L⁻¹. Após a inoculação, as sementes foram distribuídas sobre duas folhas de papel de filtro umedecidos com água destilada estéril na quantidade de 2,5 vezes o peso do papel. Distribuíram-se uniformemente 20 sementes de cada espécie por tratamento. Após 72 horas, foi determinado o número de sementes germinadas e não germinadas e, após 7 dias, o número de sementes germinadas, medindo-se também o comprimento de parta aérea e sistema radicular e fitomassas frescas e secas das plântulas. No segundo artigo, os tratamentos (T) contendo substrato composto por mistura de vermicomposto e solo arenoso, foram os seguintes de acordo com as doses do bioproduto Ecotrich® à base de trichoderma: T1) 0,0; T2) 10^8 ; T3) 10^9 ; T4) 10^{10} UFC.L⁻¹. Após a inoculação, o substrato foi alocado em bandejas de germinação, onde foram semeadas três sementes de tomate cereja por célula, totalizando 90 sementes por tratamento. Aos 12 dias após a semeadura contou-se o número de plântulas emergidas e realizou-se o desbaste, havendo a manutenção de uma plântula por célula. Aos 30 dias após a semeadura, avaliou-se a altura, diâmetro do coleto, clorofilas a, b e total, fitomassas fresca e seca radicular e de parte aérea, volume e área radiculares, área foliar e análise química foliar. Conclui-se que as doses de trichoderma utilizadas no presente estudo apresentaram efeito inibidor da germinação de sementes de mostarda, tomate e rúcula em experimento *in vitro*. Sementes de melancia apresentaram incremento na germinação na presença de trichoderma e tendência de aumento do parâmetro com o aumento das concentrações. O desenvolvimento inicial das hortícolas também apresentou resultados inferiores quando comparado aos tratamentos sem trichoderma. O crescimento de tomate cereja inoculado com doses de trichoderma em estufa agrônômica em associação com concentrações de vermicomposto apresentou resultados semelhantes aos tratamentos sem trichoderma quando na presença de maiores concentrações do substrato orgânico.

Palavras-chave: promoção de crescimento. inibição. metabólitos secundários.

ABSTRACT

TRICHODERMA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E NO DESENVOLVIMENTO INICIAL COM VERMICOMPOSTO EM HORTALIÇAS

AUTHOR: Nayra Grazielle da Silva Silva
ADVISOR: Antonio Carlos Ferreira da Silva

Brazil is the world's largest consumer of agrochemicals and technological advances in the area of plant production have not reduced its use and as a consequence there is a supply of contaminated food to the population. The present project will create subsidies to evaluate the effect of bioproduct based on *Trichoderma harzianum in vitro* and isolated cultivation and associated vermicompost in agronomic greenhouse in the germination, initial development and promotion of horticultural growth. In the first article, the treatments (T) doses of trichoderma were as follows: T1) 0,0; T2) 108; T3) 109; T4) 1010 UFC.L-1. After inoculation, the seeds were distributed over two sheets of filter paper moistened with sterile distilled water in the amount of 2.5 times the paper weight. Twenty seeds of each species were evenly distributed per treatment. After 72 hours, the number of germinated and non-germinated seeds was determined and, after 7 days, the number of seeds germinated, being also measured the length of the aerial part and root system and fresh and dry plantlets of the seedlings. In the second article, the treatments (T) containing substrate composed of a mixture of vermicompost and sandy soil, were the following according to the doses of the Ecotrich® bioproduct based on trichoderma: T1) 0,0; T2) 108; T3) 109; T4) 1010 UFC.L-1. After inoculation, the substrate was placed in germination trays, where three cherry tomato seeds were sown per cell, totaling 90 seeds per treatment. Twelve days after sowing, the number of emerged seedlings was counted and the thinning was performed, and one seedling per cell was maintained. At 30 days after sowing, the height, collecting diameter, chlorophyll a, b and total, fresh and dry root and shoot phytomasses, root volume and area, leaf area and foliar chemical analysis were evaluated. It was concluded that the doses of trichoderma used in the present study had an inhibitory effect on the germination of mustard, tomato and arugula seeds in an in vitro experiment. Seeds of watermelon presented increase in germination in the presence of trichoderma and tendency of increase of the parameter with the increase of the concentrations. The initial development of vegetables also presented inferior results when compared to the treatments without trichoderma. The growth of cherry tomato inoculated with trichoderma doses in agronomic greenhouse in association with vermicompost concentrations presented similar results to the treatments without trichoderma when in the presence of higher concentrations of the organic substrate.

Keywords: growth promotion. inhibition. secondary metabolites.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 –Parâmetros de crescimento de seis espécies de hortícolas analisadas após inoculação de sementes com doses de *trichoderma*. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos para o teste de Scott-Knott com $p = 0,05$ 31
- Figura 2 – Comprimento radicular de quatro espécies de hortícolas analisadas após inoculação de sementes com doses de trichoderma. As sementes foram tratadas com as seguintes diluições de trichoderma A = 0, B= 108, C= 109 e D = 1010 conídios.mL⁻¹. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos para o teste de Scott-Knott com $p = 0,05$ 31
- Figura 3 – Comprimento de parte aérea de quatro espécies de hortícolas analisadas após inoculação de sementes com doses de trichoderma. As sementes foram tratadas com as seguintes diluições de trichoderma A = 0, B= 108, C= 109 e D = 1010 conídios.mL⁻¹. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos para o teste de Scott-Knott com $p = 0,05$ 32
- Figura 4 –Comprimento total de quatro espécies de hortícolas analisadas após inoculação de sementes com doses de trichoderma. As sementes foram tratadas com as seguintes diluições de trichoderma A = 0, B= 108, C= 109 e D = 1010 conídios.mL⁻¹. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos para o teste de Scott-Knott com $p = 0,05$ 32
- Figura 5 –Massa fresca de quatro espécies de hortícolas analisadas após inoculação de sementes com doses de trichoderma. As sementes foram tratadas com as seguintes diluições de trichoderma A = 0, B= 108, C= 109 e D = 1010 conídios.mL⁻¹. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos para o teste de Scott-Knott com $p = 0,05$ 33
- Figura 6 –Massa seca de quatro espécies de hortícolas analisadas após inoculação de sementes com doses de trichoderma. As sementes foram tratadas com as seguintes diluições de trichoderma A = 0, B= 108, C= 109 e D = 1010 conídios.mL⁻¹. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos para o teste de Scott-Knott com $p = 0,05$ 33

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Desdobramentos das interações significativas entre doses de trichoderma e concentrações de vermicomposto para os parâmetros germinação, altura de plântula, diâmetro do coleto, área radicular, massa seca radicular, massa seca da parte aérea, clorofila A e clorofila total. Santa Maria – RS, 2018 45
- Tabela 2. Valores médios do volume radicular (VR), massa fresca da parte aérea (MFPA), área foliar (AF), nitrogênio (N), fósforo (k), cálcio (Ca) e magnésio (Mg). Santa Maria – RS, 2018 46
- Tabela 3. Valores médios do volume radicular (VR), massa fresca da parte aérea (MFPA), área foliar (AF), nitrogênio (N), fósforo (P), cálcio (Ca) e magnésio (Mg). Santa Maria – RS, 2018 47

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	13
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
21	HORTICULTURA ORGÂNICA	15
22	TRICHODERMA	16
23	VERMICOMPOSTO E BIOINOCULAÇÃO	18
3	REFERÊNCIAS	21
	ARTIGO 1	25
	ARTIGO 2	36
	REFERÊNCIAS	43
	RESULTADOS	45
4	CONCLUSÃO GERAL	48

1 INTRODUÇÃO GERAL

A categoria de alimentos que mais se destaca na literatura científica e nos meios de comunicação em relação à contaminação por agrotóxicos aplicados durante seu processo de produção, são as hortaliças. O Brasil é o maior consumidor mundial de agrotóxicos e os avanços tecnológicos na área de produção vegetal não reduziram o seu uso, pelo contrário, entre 2000 e 2012, o consumo mundial apresentou um crescimento de 93%, enquanto no Brasil foi de 162% (ABRASCO, 2015). Como consequência, há uma oferta de alimentos contaminados para comercialização. Em tomate, por exemplo, das 246 amostras analisadas, 16% apresentaram contaminação, e destas, 11% possuíam resíduos agrotóxicos de uso não autorizado no país (ANVISA, 2013).

Como contraponto, a agricultura orgânica é entendida como um sistema de produção de alimentos em que não é permitido o uso de produtos químicos sintéticos prejudiciais à saúde humana e ao ambiente. Nesse sistema é essencial que os resíduos vegetais, os dejetos animais e outros materiais provenientes do processo de produção da propriedade agrícola sejam reincorporados no sistema, reduzindo os custos de produção e garantindo menor dependência do agricultor ao mercado.

Analíticos sociais afirmam que o grande desafio para a agricultura moderna será o de desenvolver sistemas agrícolas que possam produzir alimentos em quantidades e qualidades suficientes às necessidades humanas sem causar impactos negativos nos recursos solo e ambiente. No entanto, produzir alimentos na ausência de produtos químicos e agrotóxicos é um grande desafio para agricultores. Os conhecimentos básicos acerca do crescimento inicial de plantas sob sistema orgânico ainda são escassos, e essa falta desse conhecimento afeta diretamente a qualidade de produção de agricultores que adotam esse sistema de produção. Em apenas um ano, de abril de 2014 a abril de 2015, a adesão de agricultores à produção orgânica cresceu 34% (BRASIL, 2015). O modelo, ainda em expansão, apresentou em 2015 um crescimento expressivo de 31% comparado ao ano de 2014, sendo responsável pela movimentação de R\$ 2,5 bilhões no mesmo período (BRASIL, 2015). As principais dificuldades do sistema são relacionadas aos substratos e à adaptação de variedades e sementes ao sistema de produção orgânico (EMBRAPA, 2014).

Essa crescente atenção pela sustentabilidade populariza a utilização de bioprodutos na produção agrícola que possuem como princípio ativo microrganismos benéficos e ou seus metabólitos secundários que atuam como antagonistas a fitopatógenos em diversas culturas, bem como promotores do desenvolvimento vegetal. Trichodermas atuam na redução do tempo

de produção de mudas ao promover a precocidade da germinação de sementes, além de proporcionar à planta resistência aos estresses bióticos e abióticos, resultando no incremento de produtividade (HAJIEGHRARI, 2010). O isolado, a concentração e a forma de aplicação de trichoderma, a espécie vegetal e o tipo de substrato utilizado podem influenciar a atividade do trichoderma (HAJIEGHRARI, 2010).

O uso de vermicompostos e substratos orgânicos, a utilização de sementes de variedade crioula e a adição no sistema solo-planta de microrganismos promotores do crescimento vegetal e do biocontrole de doenças, convergem com a necessidade de uma produção agrícola de menor impacto ambiental e envolvida com as mudanças de hábitos e de consciência do mercado consumidor, mais exigente por alimentos livres de contaminantes.

A associação entre vermicomposto e microrganismos foi explorada por Basco et al. (2017) ao estudarem o biocontrole da fusariose em tomateiro por meio da biofortificação de vermicomposto com microrganismos *Trichoderma harzianum*, *Pseudomonas fluorescens* e *Bacillus subtilis* e verificam que na presença do fungo, a altura, a biomassa seca da planta e o comprimento de raiz apresentaram maiores resultados em comparação ao controle e aos tratamentos com as bactérias. Após contagem, os autores observaram que houve aumento significativo do número de microrganismos presentes no substrato após inoculação. Vermicomposto também permite a promoção de resistência às plantas sob condições abióticas estressantes, como na presença de substâncias de efeito fitotóxico (GARCÍA et al., 2014). Essas capacidades estão vinculadas à presença e ação de substâncias húmicas de vermicomposto, que ainda contribuem para a descontaminação de solos por meio de mecanismos de retenção e biodegradação de substâncias (PETTIT, 2004).

A compreensão das interações entre o bioagente, substratos orgânicos e espécies vegetais de interesse agrônomo torna-se fundamental para identificar os mecanismos de ação de bioprodutos em hortícolas submetidas a condições orgânicas de cultivo (BAREA, 2015), bem como expandir o uso de vermicomposto bioinoculado como alternativa viável de substrato para agricultura sustentável. Com base nesse contexto, o presente trabalho criará subsídios para avaliar o efeito de bioproduto à base de *Trichoderma harzianum* em cultivo em estufa de germinação e de forma associada a vermicomposto em estufa agrícola na germinação de sementes agroecológicas e no desenvolvimento inicial e promoção de crescimento de hortícolas.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

21 HORTICULTURA ORGÂNICA

Com área cultivada de aproximadamente 837 mil hectares e volume de produção em torno de 63 milhões de toneladas, a produção de hortaliças engloba mais de uma centena de espécies cultivadas em todas as regiões do país (CNA, 2016). Por outro lado, ainda que exista um alto índice de produção e a possibilidade de expansão do mercado, hortaliças estão frequentemente vinculadas entre os alimentos contaminados por resíduos agrotóxicos em virtude do intenso combate às pragas e doenças comuns durante o cultivo. A principal consequência do alto uso de agrotóxicos na cultura é a oferta de alimentos contaminados à população, como mostram os resultados do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos: em tomate, por exemplo, das 730 amostras analisadas, 62 (8,49%) apresentaram teores acima do Limite Máximo de Resíduo estabelecido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ainda, dos 63 agrotóxicos encontrados nas amostras, 13 (21%) não são autorizados para a cultura (ANVISA, 2015). Esses índices preocupantes demonstram que o controle de resíduos e a segurança alimentar devem ser os pontos norteadores da horticultura.

Somado a isso, a propaganda massiva nos meios de comunicação sobre os riscos ambientais, principalmente para a saúde humana no consumo de alimentos contaminados por resíduos agrotóxicos, e o esforço de entidades no combate ao uso indiscriminado destes produtos, tais como a Organização das Nações Unidas e a Organização das Nações Unidas para Saúde e Alimentação, despertam mudanças de hábito de consumo por parte da população brasileira (ONU, 2016). Em março de 2016, na sede da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), foi finalizado o documento “Diretrizes voluntárias para o manejo sustentável dos solos” (ONU, 2016). Após dois meses, a FAO e a Organização Mundial da Saúde publicaram novas diretrizes para redução do uso de agrotóxicos de alta toxicidade (ONU, 2016). Essa mobilização é resultado da preocupação com os riscos que a utilização desses produtos desencadeia sobre os recursos naturais e à saúde humana, principalmente, em países em desenvolvimento.

O enfoque ecológico que se estabeleceu na sociedade e fomentou o aumento do mercado consumidor mais exigente por alimentos frescos, naturais e pouco processados, oportuniza um cenário onde devem ser estabelecidas soluções agrotecnológicas mais sustentáveis, e que principalmente abordem a adaptação de variedades de sementes e o uso de insumos adaptados ao sistema de produção orgânico visando uma transição segura e rentável do sistema convencional para o sistema orgânico pelos agricultores.

Uma alternativa viável para a manutenção da alta produção aliada ao baixo impacto ecológico é o uso de vermicomposto e ainda, como permite a legislação brasileira referente ao sistema orgânico de produção, de microrganismos promotores do crescimento vegetal (GHINI & BETTIOL, 2000; PENTEADO, 2001). A Instrução Normativa 7/99 do MAPA estatui:

Sistema orgânico de produção agropecuária e industrial é aquele em que se adotam tecnologias que otimizam o uso dos recursos naturais e socioeconômicos, respeitando a integridade cultural e tendo por objetivo a auto sustentação no tempo e no espaço, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energias não-renováveis e a eliminação do emprego de agrotóxicos e outros insumos artificiais tóxicos, organismos geneticamente modificados ou radiações ionizantes em qualquer fase do processo de produção, armazenamento e de consumo, e entre os mesmos, privilegiando a preservação da saúde ambiental e humana e assegurando a transparência em todos os estágios da produção e de transformação de alimentos.

Esse sistema de produção deve resultar na utilização mais racional e na conservação dos recursos naturais, sobretudo do solo, quando se refere às matérias orgânicas e à vida microbiana do solo, mantendo sua estrutura e produtividade naturais. Assim, o uso de bioagentes, biofertilizantes e adubação orgânica é uma alternativa para a manutenção da alta produção aliada ao baixo impacto ecológico. Em razão da limitação do uso de defensivos e fertilizantes e da baixa produtividade, muito devido aos poucos esforços e baixo incentivo econômico para investigação científica e produção tecnológica sobre o tema, produtos orgânicos, em sua grande maioria, são oferecidos por preços, em média, 40% mais caros aos produtos convencionais, gerando lucro ao produtor (CNA, 2016).

O emprego de insumos orgânicos e microbianos e o estudo de suas relações busca uma horticultura comprometida com a segurança alimentar e a sustentabilidade ambiental. E além disso, se apresenta como um comprometimento com a sustentabilidade dos sistemas de produção, onde há menor dependência à insumos externos, otimizando os materiais provenientes dos processos agropecuários das propriedades rurais. Assim, a implantação de ações conservacionistas, dos recursos naturais, sobretudo dos solos, permite uma produção agrícola envolvida com as mudanças de hábito e de consciência da sociedade.

22 TRICHODERMA

Trichoderma corresponde a fase anamórfica do gênero *Hypocrea*, pertencente a classe dos fungos Mitospóricos, subclasse Hifomicetos, ordem Moniliales, família Moniliaceae (SAMUEL, 1996). São fungos filamentosos e estão presentes nos mais diversos tipos de solo e ecossistemas, na rizosfera e nas matérias orgânicas (HARMAN, 2000; HARMAN et al., 2004). A principal característica morfológica deste gênero é a presença de micélio que inicialmente

possui coloração branca e crescimento rápido, mas com o desenvolvimento apresenta aspecto aveludado e compacto com tufos de cor verde (DOMSCH et al., 1980).

Este fungo é bastante requerido como agente de controle biológico, considerado uma alternativa ecológica para resolução de problemas de fitossanidade e produtividade presentes na agricultura (SAITO, 2009). A aplicação de trichoderma proporciona aumentos significativos na percentagem e na precocidade de germinação de sementes, no biocontrole de patógenos, no peso seco e na altura de plantas, além de estimular o desenvolvimento das raízes laterais, promovendo incremento na produtividade de plantas (HARMAN, 2006; CONTRERAS-CORNEJO et al., 2009; MACHADO et al., 2015).

Trichoderma (*Trichoderma* spp.) é um fungo natural de solos que apresenta colonização rápida do habitat, boa adaptação nas variadas condições ambientais, agressividade contra fungos fitopatogênicos e, quando presente em bioprodutos agrícolas, possui versatilidade de aplicação, podendo ocorrer em substrato, sementes ou diretamente em raízes durante o transplântio de mudas (SCHUSTER & SCHMOLL, 2010). Promove o biocontrole de doenças e, segundo trabalhos mais atuais, é responsável por bioestimular o crescimento de espécies vegetais mesmo na ausência de fitopatógenos (MACHADO et al., 2012). Ao realizar o crescimento de plantas, apresenta dois mecanismos: coloniza a rizosfera e o sistema radicular de plantas e ainda produz auxinas e ácido indolacético, substâncias reguladoras do crescimento vegetal (CONTRERAS-CORTEJO et al., 2009).

Microrganismos rizosféricos são utilizados com sucesso em formulações de bioinoculantes com intuito de promover o biocontrole de doenças, crescimento vegetal e incrementar a produtividade de culturas (SINGH et al., 2011). A bioinoculação de microrganismos em meio de cultivo anterior à sementeira de tomate promoveu maior crescimento vegetativo das plantas e precocidade na formação de frutos (NZANZA et al., 2012). Além disso, contribui para maior sobrevivência e melhor estabelecimento de mudas aliada com precocidade de produção devido à estimulação do crescimento (SINGH et al., 2012). Essas características determinam o sucesso de trichoderma como uma alternativa de insumo natural e segura a ser utilizada no controle biológico de doenças e promoção de crescimento de culturas agronômicas.

No entanto, trichoderma nem sempre apresenta efeitos positivos ao ser utilizado como bioestimulante ou agente de biocontrole. Por exemplo, Hassan et al. (2013) verificaram que a superdosagem de trichoderma causou inibição da germinação de sementes de *Striga hermonthica*. Os autores relacionam o efeito negativo ao fato de trichoderma sintetizar metabólitos secundários que podem ter efeito fitotóxico em certas espécies vegetais e em certas

concentrações que podem se tornar malélicas. O resultado da ação de trichoderma será influenciado pelo tipo de isolado presente no bioproduto, concentração aplicada, forma de aplicação, espécie agrícola a ser tratada e pelo tipo de substrato de plantas utilizado (HAJIEGHRARI, 2010), fator este a ser discutido na próxima seção.

23 VERMICOMPOSTO E BIOINOCULAÇÃO

Comumente utilizado como substrato de mudas, vermicompostos são o produto da transformação de materiais orgânicos pela ação combinada de fracionamento e da atividade microbiana do trato digestivo de minhocas em um produto rico em nutrientes (ARANCON et al., 2006). Apesar de benéfico ao crescimento de plantas, é comumente encontrado associado a solos ou substratos comerciais, pois concentrações altas do substrato orgânico em meios de cultivos de plantas podem reduzir ou retardar o crescimento vegetal (LIM et al., 2014). O substrato ainda conta com a vantagem de possuir baixo custo de produção e principalmente por ser característico promotor de mudanças químicas, físicas e biológicas no solo que beneficiam a produção de plantas de interesse agrônômico (LIM et al., 2014).

A presença de oxigênio, umidade e a temperatura ideais do solo são os fatores abióticos que irão determinar a germinação de sementes e o uso de vermicomposto como substrato de mudas pode modificar características físicas do solo que irão contribuir em mudança positiva desses fatores para vegetais. O adubo atribui à mistura maior capacidade de retenção de água, bastante importante no período de embebição da semente durante o processo de germinação (PEREIRA et al., 2014).

A simbiose entre minhocas e microrganismos no sistema digestivo do anelídeo transformam materiais orgânicos sólidos, como palha restos de cultivos, materiais facilmente encontrados em zonas de cultivo vegetal, em um produto orgânico de coloração escura rico em matéria orgânica. A presença de matéria orgânica é responsável por melhorar a qualidade do solo e beneficiar o cultivo de alimentos.

Tejada e Benítez (2015) ao experimentar a utilização do vermicomposto como substrato no estágio inicial de crescimento de tomateiro em casa de vegetação observaram aumento significativo da germinação de sementes e emergência de plântulas, incremento dos conteúdos de clorofila e dos nutrientes nitrogênio, fósforo e potássio nas amostras foliares nos tratamentos com vermicomposto em comparação ao tratamento com substrato comercial. Lim et al. (2014) concluíram que a adubação por meio do vermicomposto foi mais efetiva em comparação à adubação inorgânica e a compostagem, pois permitiu maior presença de macro e micronutrientes nas amostras foliares.

Entretanto, a nutrição advinda do vermicomposto, apesar de ser importante no aumento do crescimento de plântulas, não responde totalmente esse incremento, o que demonstra que há necessidade de investigar outros envolvidos (LIM et al., 2014). Zucco et al. (2015), ao estudarem doses de vermicomposto aplicadas em solos de diferentes texturas, verificaram que concentrações de 0,4 e 0,8 g.g⁻¹ do adubo orgânico permitiram maior incremento da altura, fitomassas foliar e radicular, área foliar, clorofila e número de folhas e flores em tomateiro e repolho, quando comparadas às concentrações inferiores de 0,05, 0,1 e 0,2 g.g⁻¹. Entretanto, quando os solos foram comparados, o arenoso apresentou melhores respostas para os parâmetros de crescimento, em oposição aos solos com maior concentração de argila. Os autores sugerem que o fenômeno pode ser explicado pelo fato de solos arenosos possuírem textura grossa e maiores espaçamentos entre grãos, conferindo a estes maior porosidade, e assim maior crescimento de raízes, melhor difusão do oxigênio para as raízes e troca de gases entre solo e atmosfera. Dessa forma, a adição de vermicomposto, além de contribuir com aumento de nutrientes disponíveis às plantas, também confere a estas um meio de crescimento ótimo. O solo utilizado no presente trabalho de classe textural Franco Arenosa é bastante semelhante ao utilizado no trabalho de Zucco et al. (2015).

O incremento no crescimento também pode ser atribuído à capacidade do vermicomposto em promover transformações químicas do solo. Durante a vermicompostagem, compostos complexos orgânicos oriundos de materiais orgânicos são degradados em substâncias orgânicas alcalinas, como humatos e fosfatos, originando um produto básico que, ao ser misturado com solo, contribui para a neutralização da acidez (Goswami et al., 2017). Vale salientar que o pH do solo é de fundamental importância para que nutrientes essenciais ao crescimento do vegetal sejam extraídos pelas raízes.

Microrganismos rizosféricos e seus metabólitos secundários também são responsáveis por mudanças químicas no solo. Vermicomposto promove aumento significativo da presença de bactérias, actinomicetos e fungos pela liberação destes microrganismos presentes no sistema digestivo de minhocas ou pelo aumento da população de microrganismos devido ao aumento da superfície de contato de alimentos utilizados pelos microrganismos (PATHMA e SAKTHIVEL, 2012). Além do mais, vermicomposto dispõe de condições necessárias ao crescimento e sobrevivência de microrganismos e aumento da produtividade de espécies vegetais (Song et al., 2015).

A bioinoculação de vermicomposto com trichoderma tem sido proposta como alternativa de enriquecimento de substratos por diversos pesquisadores. A associação entre trichoderma e vermicomposto foi investigada por Haque et al. (2010), os quais verificaram que

a produção de sementes de mostarda apresentou aumento significativo sob regime de composto orgânico bioinoculado com trichoderma em relação ao tratamento estritamente constituído por dose recomendada de nitrogênio, fósforo e potássio. Basco et al. (2017) ao estudarem o bioenriquecimento de vermicomposto com os microrganismos *Trichoderma harzianum*, *Pseudomonas fluorescens* e *Bacillus subtilis*, verificaram que na presença do fungo, a altura, biomassa seca da planta e o comprimento radicular de plantas de tomate apresentaram respostas superiores em comparação ao controle não inoculado e aos tratamentos com as bactérias, o que comprova a eficiência superior de trichoderma e boa adaptação em vermicomposto em relação aos demais bioagentes testados.

3 REFERÊNCIAS

ABRASCO. **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde.** EPSJV/Expressão Popular. 2015.

ANVISA. **Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos para: relatório de atividades de 2011 e 2012.** 2013.

ARANCON, NQ; EDWARDS, CA; LEE, S; BYRNE, R. Effects of humic acids from vermicomposts on plant growth. **European journal of soil biology** 42: S65-S69. 2006.

BAREA, JM. Future challenges and perspectives for applying microbial biotechnology in sustainable agriculture based on a better understanding of plant-microbiome interactions. **Journal of soil science and plant nutrition** v. 15, n. 2, p: 261-282, 2015.

BASCO MJ, BISEN K, KESWANI C, SINGH HB. Biological management of *Fusarium wilt* of tomato using biofortified vermicompost. **Mycosphere** 8(3): 467-483. 2017.

BRASIL. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2015/03/em-um-ano-total-de-produtores-organicos-cresce-51>>. 2015. Acesso em: 20 jul. 2018.

CNA. **Confederação Nacional da Agricultura e Pecuária no Brasil.** <http://www.cnabrazil.org.br/sites/default/files/sites/default/files/uploads/11_hortalicas.pdf>. 2016. Acesso em: 20 de jul. 2018.

CONTRERAS-CORNEJO, HA; MACÍAS-RODRÍGUEZ, LM; CORTÉS-PENAGOS, C; LÓPEZ-BUCIO, J. 2009. *Trichoderma virens*, a Plant Beneficial Fungus, Enhances Biomass Production and Promotes Lateral Root Growth through an Auxin-Dependent Mechanism in *Arabidopsis*. **Plant Physiology** Vol. 149: pp. 1579–1592.

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

EMBRAPA. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/web/mobile/noticias/-/noticia/1884777/agricultura-organica-cresce-com-adocao-de-resultados-de-pesquisa>>. 2014. Acesso em 20 Jul. 2018.

GARCÍA AC; IZQUIERDO FG; BERBARA, RLL. Effects of humic materials on plant metabolism and agricultural productivity. In: **AHMAD P (ED.), Emerging technologies and management of crop stress tolerance**. 1. ed. New York: Elsevier. 1:449-466. 2014.

GHINI R; BETTIOL W. Proteção de plantas na agricultura sustentável. **Cadernos de Ciência & Tecnologia** 17: 61-70. 2000.

GOSWAMI, L; NATH, A; SUTRADHAR, S; BHATTACHARYA, SS; KALAMDHAD, A; VELLINGIRI, K; KIM, K. H. Application of drum compost and vermicompost to improve soil health, growth, and yield parameters for tomato and cabbage plants. **Journal of environmental management**, v. 200, p. 243-252, 2017.

HAIJEGHRARI, B. Effects of some Iranian *Trichoderma* isolates on maize seed germination and seedling vigor. **African Journal of Biotechnology**, 9(28): 4342–4347. 2010.

HAQUE, MM; HAQUE, MA; ILIAS, GNM; MOLLA, AH. Trichoderma-enriched biofertilizer: a prospective substitute of inorganic fertilizer for mustard (*Brassica campestris*) production. **The Agriculturists**, v. 8, n. 2, p. 66-73, 2010.

HARMAN, GE. Myth and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, St. Paul, v. 84, p.377-393, 2000.

HARMAN, GE. Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 190-194, 2006.

HARMAN, GE; HOWELL, CR; VITERBO, A; CHET, I; LORITO, M. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nat. Rev Microbiol** 2, 43–56. 2004.

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.

IPEA – INSTITUTO DE PESQUISA E ECONOMIA APLICADA. **Capítulo 7. Desenvolvimento Rural**. In: IPEA. Políticas sociais: acompanhamento e análise, n. 20, 2012.

LIM, SL; WU, TY; LIM, PN; SHAK, KPY. The use of vermicompost in organic farming: overview, effects on soil and economics. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 6, p. 1143-1156, 2015.

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

MACHADO, DFM; TAVARES, AP; LOPES, SJ; DA SILVA, ACF. *Trichoderma* spp. na emergência e crescimento de mudas de camará (*Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera). **Revista Árvore**, v. 39, n. 1, 2015.

NZANZA, B.; MARAIS, D.; SOUNDY, P. Response of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) to nursery inoculation with *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizal fungi under field conditions. **Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science** 62: 209-215. 2012.

ONU. **Relatório de Direitos Humanos da ONU**. Disponível em: <<https://documents-dds-ny.un.org/doc/UNDOC/GEN/G16/096/43/PDF/G1609643.pdf?OpenElement>>. 2016

PATHMA, J; SAKTHIVEL, N. Microbial diversity of vermicompost bacteria that exhibit useful agricultural traits and waste management potential. **SpringerPlus**, v. 1, n. 1, p. 26, 2012.

PENTEADO, S. R. **Agricultura orgânica**. Piracicaba, ESALQ. 41p. Série Produtor Rural, Edição Especial. 2001.

PEREIRA, MDG; CARDOSO DE SOUZA NETA, L; FONTES, MPF; SOUZA, AN; CARVALHO MATOS, T; DE LIMA SACHDEV, R; DOS SANTOS, AV; SOUZA, MOG; DE ANDRADE, MVAS; PAULO, GMM; RIBEIRO, JN; RIBEIRO, AVFN. An overview of the environmental applicability of vermicompost: From wastewater treatment to the development of sensitive analytical methods. **The Scientific World Journal** 2014: 917348. 2014.

PETTIT, RE. **Organic matter, humus, humate, humic acid, fulvic acid ad humin: their importance in soil fertility and plant health**. Texas: A & M University 1-17. 2004.

SAITO, LR. Aspectos dos efeitos do fungo *Trichoderma* spp. no biocontrole de patógenos de culturas agrícolas. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v.2, n.3 p.203-208, 2009.

SAMUEL, GJ. *Trichoderma*: A review of biology and systematics of the genus. **Journal of Mycology**, Columbus, v. 100, p. 923-935, 1996.

SCHUSTER, A; SCHMOLL, M. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. **Applied microbiology and biotechnology** v. 87, n. 3, p: 787-799, 2010.

SINGH, JS; PANDEY, VC; SINGH, DP. Efficient soil microorganisms: a new dimension for sustainable agriculture and environmental development. **Agriculture, ecosystems & environment** 140(3-4): 339-353. 2011.

SONG, X; LIU, M; WU, D; GRIFFITHS, BS; JIAO, J; LI, H; HU, F. Interaction matters: synergy between vermicompost and PGPR agents improves soil quality, crop quality and crop yield in the field. **Applied Soil Ecology**, v. 89, p. 25-34, 2015.

TEJADA, M; BENÍTEZ, C. Application of vermicomposts and compost on tomato growth in Greenhouses. **Compost Science and Utilization** 23(2): 94–103. 2015.

ZUCCO, MA; WALTERS, SA; CHONG, SK; KLUBEK, BP; MASABNI, JG. Effect of soil type and vermicompost applications on tomato growth. **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture**, v. 4, n. 2, p. 135-141, 2015.

ARTIGO 1

GERMINAÇÃO DE HORTALIÇAS INOCULADAS COM DOSES SUPERIORES DE TRICHODERMA

RESUMO

O tratamento de sementes possui grande importância na prevenção de danos causados principalmente por fungos e insetos praga durante o estabelecimento inicial na maioria das culturas e bioprodutos compostos por microrganismos vivos em sementes apresentam-se como método eficiente de introdução de bioprotetores. *Trichoderma* que incrementa a germinação de sementes e reduzem a presença de fitopatógenos. O trabalho teve por objetivo avaliar a interferência do tratamento de sementes de melancia, mostarda, rúcula e tomate cereja com bioformulado líquido à base de *Trichoderma harzianum*, marca comercial Ecotrich® na germinação em condições controladas. Os tratamentos (T) doses de trichoderma foram os seguintes: T1) 0,0; T2) 10^8 ; T3) 10^9 ; T4) 10^{10} UFC.L⁻¹. Após a inoculação, as sementes foram distribuídas sobre duas folhas de papel de filtro umedecidos com água destilada estéril na quantidade de 2,5 vezes o peso do papel. Distribuíram-se uniformemente 20 sementes de cada espécie por tratamento. Após 72 horas, foi determinado o número de sementes germinadas e não germinadas e, após 7 dias, o número de sementes germinadas, medindo-se também o comprimento de parta aérea e sistema radicular e fitomassas frescas e secas das plântulas. Conclui-se que a germinação de sementes e o desenvolvimento inicial de plântulas de hortícolas cultivadas *in vitro* na presença de altas concentrações trichoderma são mais propensas aos danos causados por metabólitos secundários excretados pelo microrganismo que adquirem natureza inibitória do desenvolvimento vegetal quando presentes em concentrações diferentes da ótima para a cultura.

Palavras-chave: Ecotrich, promoção de crescimento, inibição, superdosagem.

ABSTRACT

Seed treatment has great importance in preventing damage caused mainly by fungi and insect pest during initial establishment in most crops and bioproducts composed of live microorganisms in seeds are presented as an efficient method of introduction of bioprotectors. *Trichoderma* that increases seed germination and reduces the presence of phytopathogens. The objective of this work was to evaluate the interference of the treatment of seeds of watermelon, mustard, arugula and cherry tomatoes with liquid bioformula based on *Trichoderma harzianum*, trademark Ecotrich® in germination under controlled conditions. The treatments (T) doses of trichoderma were as follows: T1) 0,0; T2) 10^8 ; T3) 10^9 ; T4) 10^{10} UFC.L⁻¹. After inoculation, the seeds were distributed over two sheets of filter paper moistened with sterile distilled water in the amount of 2.5 times the paper weight. Twenty seeds of each species were evenly distributed per treatment. After 72 hours, the number of germinated and non-germinated seeds was determined and, after 7 days, the number of seeds germinated, being also measured the length of the aerial part and root system and fresh and dry plantlets of the seedlings. It is concluded that seed germination and the initial development of *in vitro* cultivated vegetable seedlings in the presence of high trichoderma concentrations are more prone to damage caused by secondary metabolites excreted by the microorganism which acquire an inhibitory nature of plant development when present in concentrations other than great for the culture.

Key Words: Ecotrich, growth promotion, inhibition, overdose.

INTRODUÇÃO

O tratamento de sementes possui grande importância na prevenção de danos causados principalmente por fungos e insetos praga durante o estabelecimento inicial na maioria das culturas (CARVALHO et al., 2011). Muitas doenças que se estabelecem na planta são transmitidas pela própria semente, o que exige que estas recebam um tratamento antes mesmo da semeadura. A proteção convencional de sementes tem sido predominantemente por tratamento químico, e mesmo sendo considerado muito eficiente, buscam-se alternativas de menor impacto ambiental, como a aplicação de bioprodutos compostos por microrganismos vivos em sementes.

Esses bioprodutos apresentam-se como método eficiente de introdução de bioprotetores para o controle biológico de doenças que causam a morte de sementes, podridões radiculares e tombamento de plântulas, promovendo a germinação e o crescimento saudáveis de culturas de interesse agrônomo (SABA et al., 2012), sendo *Trichoderma* o mais comumente utilizado para esta finalidade por apresentar, rápido crescimento, facilidade de operação e natureza agressiva contra inimigos naturais.

Trichoderma apresenta mecanismos de ação para o controle e supressão de fitopatógenos, essenciais para sua sobrevivência e proliferação, tais como o micoparasitismo e a antibiose. O micoparasitismo é a ação direta de parasitismo contra fitopatógenos por meio da competição por espaço e nutrientes, produção de substâncias antibióticas e enzimas hidrolíticas ou uma combinação dessas habilidades. Com a antibiose, *trichoderma* inibe ou suprime patógenos ao produzir substâncias voláteis ou não voláteis e ou tóxicas, como enzimas e antibióticos, a partir do início do desenvolvimento da planta (HUNG e BENNET, 2013). Esses mecanismos os tornam um dos mais bem-sucedidos colonizadores de diferentes habitats, seja pela utilização eficiente de substrato ou pela capacidade de secreção de metabólitos secundários (VINALE et al., 2014).

A produção dessas substâncias como mecanismo de sobrevivência também confere benefícios aos vegetais. *Trichoderma* promove a germinação de sementes e o crescimento de plântulas de inúmeras espécies agrícolas (MACHADO et al., 2012). Há também incremento da tolerância aos estresses bióticos, abióticos e fisiológicos que reduzem a sobrevivência de sementes e causam a morte de plântulas, como presença de substâncias fitotóxicas (GARCIA et al., 2014), salinidade, altas temperaturas e atuação de fitopatógenos (Mastouri et al., 2010).

No entanto, a ação eficiente de *trichoderma* em espécies vegetais irá depender da quantidade de esporos ativos que permanecerão no espermoplano ou espermosfera (PILL et al.,

2009). Estudos apontam que trichoderma pode ser promotor ou inibidor da germinação de sementes e do desenvolvimento inicial de plântulas, efeitos dependentes da concentração do bioagente em contato com as sementes. Há diversos relatos em que trichoderma propiciou melhores resultados de germinação e promoção de crescimento de vegetais (MACHADO et al., 2012). Machado e Silva (2012) verificaram que doses de trichoderma promoveram a precocidade e o aumento da velocidade de germinação de sementes de cambará. Contraditoriamente, Wiethan et al. (2018), ao estudarem o efeito de bioproduto à base de trichoderma no desenvolvimento inicial de plantas de alface em vermicomposto produzido sob altas doses (0,0; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 16,0x10¹¹ UFC kg⁻¹), verificaram que as doses acima de 4,0x10¹¹ UFC kg⁻¹ do produto biológico resultam em germinação de sementes inferior ao tratamento sem trichoderma.

A porcentagem de germinação de sementes e o número de plântulas normais emergidas pode estar relacionada ao equilíbrio entre as propriedades de trichoderma em inibir e promover o crescimento das estruturas vegetais por meio da produção de metabólitos secundários (OUSLEY et al., 1993). Os autores ainda afirmam que a promoção da germinação por meio do microrganismo irá depender de uma série de fatores bióticos e abióticos, como o estágio de desenvolvimento da cultura, o tipo e a concentração do isolado utilizado na aplicação.

Desta forma, este trabalho objetiva avaliar a interferência do tratamento de sementes de melancia, mostarda, rúcula e tomate cereja com bioformulado líquido à base de *Trichoderma harzianum*, marca comercial Ecotrich® na germinação em condições controladas.

MATERIAL E MÉTODOS

Os tratamentos consistiram-se na imersão das sementes agroecológicas provenientes da empresa Bionatur de melancia (*Citrillus lanatus*), mostarda (*Brassica alba*), rúcula (*Eruca sativa*) tomate (*Solanum lycopersicon*) por cinco minutos em suspensão de esporos de trichoderma nas concentrações 10⁸, 10⁹, 10¹⁰ UFC.L⁻¹, conseguidas por meio da diluição do bioproduto em água esterilizada, excetuando o controle, em que as sementes foram submergidas apenas em água destilada e esterilizada.

As sementes, após o tratamento com trichoderma, foram distribuídas uniformemente 20 sementes de cada espécie sobre duas folhas de papel de filtro umedecidos com água destilada estéril na quantidade de 2,5 vezes o peso do papel, feitos rolos que foram acondicionados em estufa de germinação do tipo B.O.D sob fotoperíodo de 12h e temperaturas diurnas de 25 °C e noturnas de 20 °C. Após 72 horas, foi determinado o número de sementes germinadas e não

germinadas e, após 7 dias, o número de sementes germinadas, medindo-se também o comprimento de parte aérea e sistema radicular e fitomassas frescas e secas das plântulas. Foram consideradas plântulas normais todas que apresentaram o hipocótilo e raiz primária desenvolvidos e ausentes de danos físicos e contaminações (BRASIL, 1999). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com três repetições e as unidades experimentais constituídas de um rolo de papel filtro com 20 sementes, totalizando 60 sementes por tratamento. Foi utilizada a análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa SISVAR 5.6.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As doses de trichoderma testadas ($0, 10^8, 10^9$ e 10^{10} UFC.mL⁻¹) apresentaram efeitos distintos nos parâmetros morfológicos avaliados das espécies vegetais utilizadas no estudo. Para a variável porcentagem de germinação, as concentrações do bioproduto não apresentaram diferença significativa para mostarda e rúcula (Figura 1). Em sementes de tomate, as doses 10^9 e 10^{10} UFC.mL⁻¹ reduziram a germinação, mas, em contrapartida, estimularam a de melancia. Maiores comprimentos de radícula em tomate e melancia ocorreram na ausência de trichoderma (controle), e as duas maiores doses reduziram esse parâmetro em mostarda (Figura 2). Não houve diferença significativa entre o controle e a dose inferior de trichoderma para as sementes de rúcula, únicos tratamentos em que as plântulas sobreviveram. Houve redução do comprimento de parte aérea de tomate em todas as doses de trichoderma utilizadas, já em melancia e mostarda não houve diferença significativa entre os tratamentos e o controle. A ausência de trichoderma promoveu o melhor resultado em rúcula para este parâmetro. Trichoderma propiciou efeito negativo no comprimento total de melancia, mostarda e tomate, nas quais os maiores resultados foram registrados na ausência de trichoderma, e apresentou uma tendência de redução do parâmetro com o aumento da concentração do bioproduto (Figura 4). Em plântulas de rúcula não houve variação de comprimento total entre o controle e a dose mais baixa. Fitomassas frescas e secas das hortícolas não variaram significativamente entre os tratamentos, exceto em tomate, em que houve maior produção de fitomassa seca na ausência de trichoderma (Figuras 5 e 6).

Contrariamente ao estabelecido no presente estudo, trichoderma apresenta inúmeras vantagens e benefícios para a agricultura e trabalhos posteriores demonstram a capacidade de trichoderma em incrementar a germinação e o vigor de sementes. Como exemplo, Ethur et al.

(2014) ao avaliarem o efeito de metabólitos secundários de isolados de trichoderma em sementes de arroz, verificaram que essas substâncias não interferiram negativamente no índice de germinação das cultivares testadas.

Por outro lado, Hassan et al. (2013) ao estudarem a germinação de sementes de *Striga hermonthica* e painço, correlacionaram o aumento da concentração de trichoderma à morte de todas as sementes. As variedades de painço quando inoculadas com concentrações de 6×10^1 e $1,2 \times 10^4$ conídios.mL⁻¹ tiveram todas as sementes germinadas, mas a concentração superior de $2,5 \times 10^6$ conídios.mL⁻¹ reduziu significativamente a porcentagem de germinação e os índices de vigor das sementes. Efeitos inibidores foram igualmente testemunhados por Hajieghrari (2010) ao avaliar o efeito de isolados de trichoderma na germinação de sementes e no vigor de plântulas de milho como ocorrido com as sementes de mostarda do presente estudo. Concentrações de 10^6 a 10^7 conídios.mL⁻¹ provocaram inibição do desenvolvimento inicial do cereal, o que demonstra que há uma dubiedade de efeito de trichoderma provavelmente estar relacionada com a concentração do microrganismo.

A redução da porcentagem de germinação de sementes pode ser efeito de diversos metabólitos secundários produzidos durante a fase de diferenciação morfológica e crescimento de trichoderma (KELLER et al., 2005). Trichosetina, substância antibiótica sintetizada por *T. harzianum*, acomete membranas celulares e, como consequência, inibe o crescimento radicular e de parte aérea de plântulas tomate, feijão, arroz, alfafa e pimenta como resultado de uma fitotóxicidade dependente de concentrações da substância (MARFORI et al., 2003). Entretanto, assim como ocorreu com os resultados da germinação de melancia do presente estudo, trichosetina não inibiu a germinação desses cultivos, o que pode ser resultado de maior tolerância de algumas espécies a uma maior densidade de trichoderma e seus metabólitos secundários (BAILEY e LUMSDEM, 1998).

Da mesma forma, o ácido harziânico, metabólito secundário igualmente excretado por isolado de *T. harzianum*, em doses ótimas promove a precocidade e o aumento da porcentagem da germinação de sementes e o desenvolvimento de plântulas, mas em concentrações mais elevadas possui efeito contrário (VINALE et al., 2009). Tais efeitos podem ser resultados da natureza das substâncias sintetizadas pelo microrganismo, que extremamente necessárias à sobrevivência e crescimento de fungos, apresentam efeito semelhante às auxinas quando em contato com órgãos e tecidos vegetais (VINALE et al., 2014). Assim como o hormônio vegetal, trichodermas em concentrações diferentes da dose ótima para a cultura são inibidores da germinação de sementes e do crescimento de plântulas (VINALE et al., 2008).

Em dois experimentos, Nieto-Jacobo et al. (2017) relacionaram a produção de metabólitos secundários por trichoderma e condições ambientais após observarem que concentrações do microrganismo proporcionavam resultados contrastantes em sementes de espécies vegetais cultivadas *in vitro* e em solo. Os autores sugerem que ocorre uma produção de diferentes substâncias por trichoderma de acordo com o meio ou metabólitos são produzidos em diferentes concentrações nos dois ambientes. Por outro lado, Singh et al. (2016) enfatizaram o efeito de concentrações de trichoderma na germinação e desenvolvimento de plântulas de seis hortícolas cultivadas *in vitro* e em estufa agrônômica e concluíram que os efeitos foram semelhantes. Os autores também relataram que cada cultura obteve uma dose definida para crescimento ótimo.

As doses de trichoderma utilizadas no presente estudo apresentaram efeito inibidor da germinação de sementes de mostarda, tomate e rúcula em experimento em câmara de germinação do tipo B.O.D. Sementes de melancia apresentaram incremento na germinação na presença de trichoderma e tendência de aumento do parâmetro com o aumento das concentrações. O desenvolvimento inicial das hortícolas também apresentou resultados inferiores quando comparado aos tratamentos sem trichoderma.

Como observado pelos resultados obtidos envolvendo a germinação de sementes e o desenvolvimento inicial de plântulas de hortícolas, as doses de trichoderma utilizadas no presente estudo apresentaram efeito inibidor da germinação de sementes de mostarda, tomate e rúcula em experimento em câmara de germinação do tipo B.O.D. Sementes de melancia apresentaram incremento na germinação na presença de trichoderma e tendência de aumento deste parâmetro com o aumento das concentrações. O desenvolvimento inicial das hortícolas também apresentou resultados inferiores quando comparado aos tratamentos sem trichoderma.

Figura 1 – Germinação de quatro espécies de hortícolas analisadas após inoculação de sementes com doses de trichoderma. As sementes foram tratadas com as seguintes diluições de trichoderma A = 0, B = 10^8 , C = 10^9 e D = 10^{10} conídios.mL⁻¹. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos para o teste de Scott-Knott com p = 0,05.

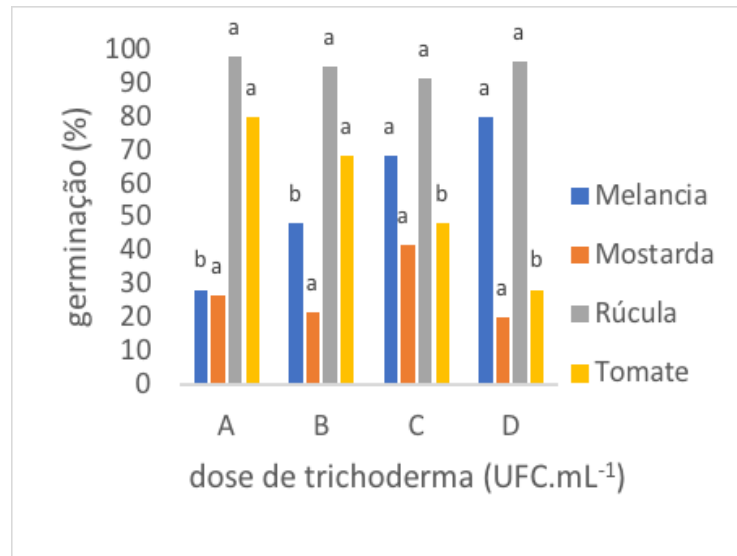


Figura 2 – Comprimento radicular de quatro espécies de hortícolas analisadas após inoculação de sementes com doses de trichoderma. As sementes foram tratadas com as seguintes diluições de trichoderma A = 0, B= 10⁸, C= 10⁹ e D = 10¹⁰ conídios.mL⁻¹. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos para o teste de Scott-Knott com p < 0,05.

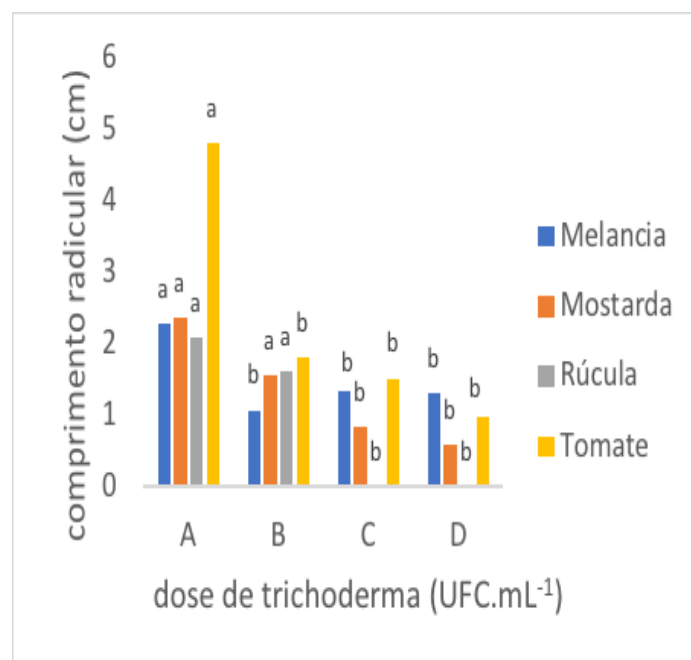


Figura 3 – Comprimento de parte aérea de quatro espécies de hortícolas analisadas após inoculação de sementes com doses de trichoderma. As sementes foram tratadas com as seguintes diluições de trichoderma A = 0, B= 10⁸, C= 10⁹ e D = 10¹⁰ conídios.mL⁻¹. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos para o teste de Scott-Knott com p < 0,05.

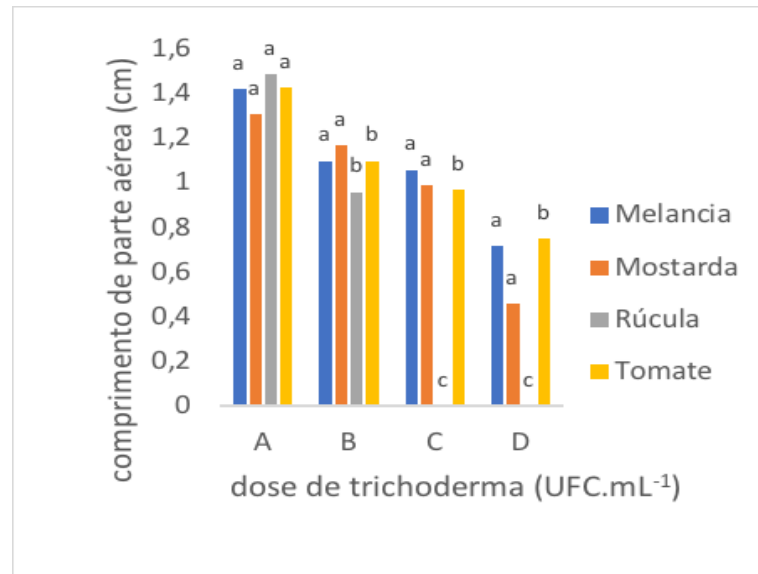


Figura 4 – Comprimento total de quatro espécies de hortícolas analisadas após inoculação de sementes com doses de trichoderma. As sementes foram tratadas com as seguintes diluições de trichoderma A = 0, B= 10^8 , C= 10^9 e D = 10^{10} conídios.mL⁻¹. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos para o teste de Scott-Knott com $p < 0,05$.

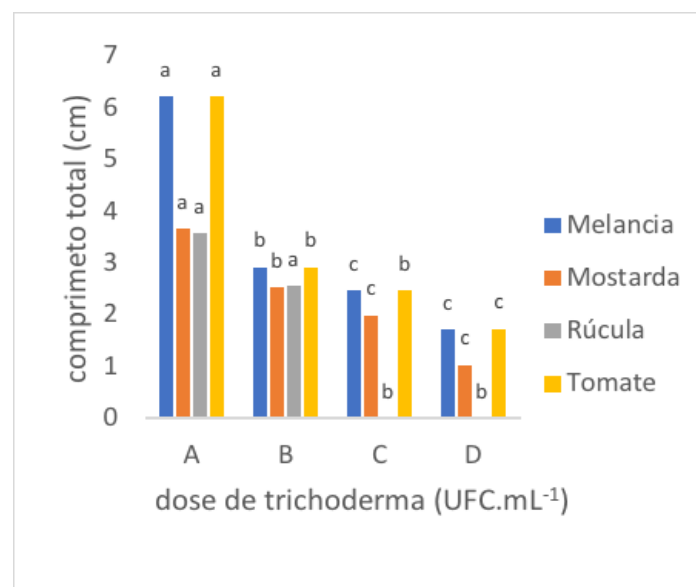


Figura 5 – Massa fresca de quatro espécies de hortícolas analisadas após inoculação de sementes com doses de trichoderma. As sementes foram tratadas com as seguintes diluições de trichoderma A = 0, B= 10^8 , C= 10^9 e D = 10^{10} conídios.mL⁻¹. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos para o teste de Scott-Knott com p = 0,05.

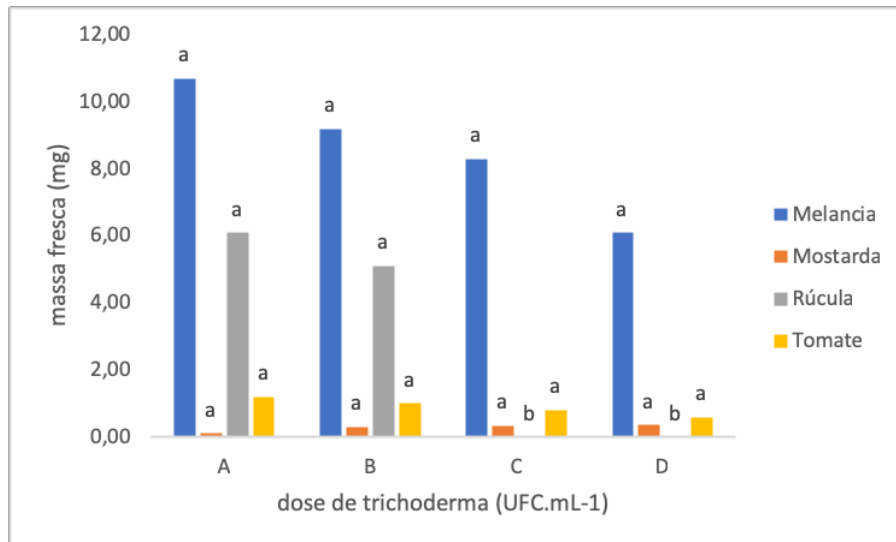
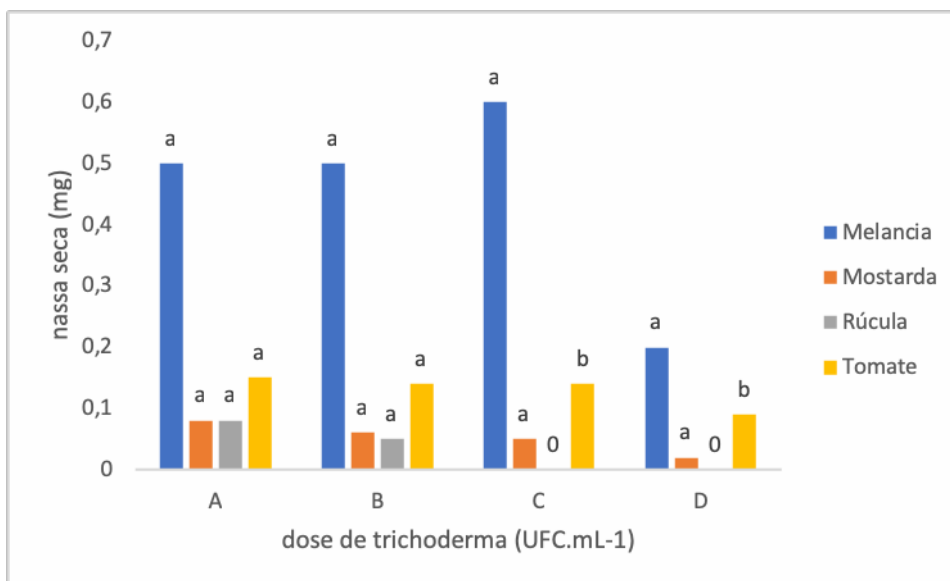


Figura 6 – Massa seca de quatro espécies de hortícolas analisadas após inoculação de sementes com doses de trichoderma. As sementes foram tratadas com as seguintes diluições de trichoderma A = 0, B= 10^8 , C= 10^9 e D = 10^{10} conídios.mL⁻¹. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos para o teste de Scott-Knott com p = 0,05.



Fonte: (Autora).

REFERÊNCIAS

- BAILEY, DJ; LUMSDEN, RD. Direct effects of *Trichoderma* and *Gliocladium* on plant growth and resistance to pathogens. In: Harman GE, Kubicek CP, eds. *Trichoderma* and *Gliocladium*, Vol. 2. **Enzymes, biological control and commercial applications**. London: Taylor & Francis, 185–204. 1998.
- BRASIL. **Regras de análise de sementes**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise_sementes.pdf>. Acesso em: 20 de jul. 2018.
- CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; JUNIOR, M. L.; GERALDINE, A. M. Biocontrol of seed pathogens and growth promotion of common bean seedlings by *Trichoderma harzianum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. vol.46 n.8. Brasília Aug. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2011000800006>>
- HAIJEGHRARI, B. Effects of some Iranian *Trichoderma* isolates on maize seed germination and seedling vigor. **African Journal of Biotechnology**, 9(28): 4342–4347. 2010.
- HUNG, R; LEE, S; BENNETT, JW. *Arabidopsis thaliana* as a model system for testing the effect of *Trichoderma* volatile organic compounds. **Fungal ecology** 6(1): 19-26. 2013.
- KELLER, NP; TURNER, G; BENNETT, JW. Fungal secondary metabolism—from biochemistry to genomics. **Nature Reviews Microbiology**, 3(12), 937. 2005.
- MACHADO, D. F. M.; SILVA, A. C. F. *Trichoderma* no controlo *in vitro* de fungos presentes em diásporos de *Gochnatia polymorpha*. **Revista de Ciências Agrárias** vol.36, n.2 Lisboa. 2012. Disponível em: < http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871-018X2013000200007>. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-67622015000100016>.
- MACHADO, DFM; PARZIANELLO, FR; SILVA, ACF, ANTONIOLLI, ZI. *Trichoderma* no Brasil: O fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias** 35: 274-288. 2012.
- MARFORI, E. C; KAJIYAMA, S. I; FUKUSAKI, E. I; KOBAYASHI, A. Phytotoxicity of the tetramic acid metabolite trichosetin. **Phytochemistry**, 62(5), 715-721. 2003.
- MASTOURI, F; BJÖRKMAN, T; HARMAN, GE. Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. **Phytopathology** 100(11): 1213-1221. 2010.
- MASTOURI, F; BJÖRKMAN, T; HARMAN, GE. Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. **Phytopathology** v. 100, n. 11, p: 1213-1221. 2010.
- NIETO-JACOBO, MF; STEYAERT, JM SALAZAR-BADILLO, FB; NGUYEN, DV; ROSTÁS, M; BRAITHWAITE, M; DE SOUZA, JT; JIMENEZ-BREMONT, JF; OHKURA, M; STEWART, A; MENDOZA-MENDOZA, A. Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. **Frontiers in plant science** 8: 102. 2017.

PILL, W. G; COLLINS, C. M; GOLDBERGER, B; GREGORY, N. Responses of non-primed or primed seeds of 'Marketmore 76'cucumber (*Cucumis sativus* L.) slurry coated with *Trichoderma* species to planting in growth media infested with *Pythium aphanidermatum*. **Scientia horticulturae**, 121(1), 54-62. 2009.

SABA, H; VIBHASH, D; MANISHA, M; PRASHANT, K. S; FARHAN, H; TAUSEEF, A. *Trichoderma*—a promising plant growth stimulator and biocontrol agent. **Mycosphere**, 3(4), 524-531. 2012.

SINGH, JS; PANDEY, VC; SINGH, DP. Efficient soil microorganisms: a new dimension for sustainable agriculture and environmental development. **Agriculture, ecosystems & environment** 140(3-4): 339-353. 2011.

SINGH, V; UPADHYAY, RS; SARMA, BK; SINGH, HB. *Trichoderma asperellum* spore dose depended modulation of plant growth in vegetable crops. **Microbiological research** v. 193: p. 74-86. 2016.

VINALE, F; FLEMATTI, G; SIVASITHAMPARAM, K; LORITO, M; MARRA, R; SKELTON, BW; GHISALBERTI, EL. Harzianic acid, an antifungal and plant growth promoting metabolite from *Trichoderma harzianum*. **Journal of Natural Products** 72(11): 2032-2035. 2009.

VINALE, F; SIVASITHAMPARAM, K; GHISALBERTI, EL; MARRA, R; WOO, SL; LORITO, M. *Trichoderma*—plant—pathogen interactions. **Soil Biology and Biochemistry** 40(1): 1-10. 2008.

VINALE, F; SIVASITHAMPARAM, K; GHISALBERTI, EL; WOO, SL; NIGRO, M; MARRA, R; LOMBARDI, N; PASCALE, A; RUOCCO, M; LANZUISE, S; MANGANIELLO, G. *Trichoderma* secondary metabolites active on plants and fungal pathogens. **The Open Mycology Journal** 8(1). 2014.

WIETHAN, MMS; BORTOLIN, GS; PINTO, RS; SILVA, ACF. Initial development of lettuce in vermicompost at higher *trichoderma* doses. **Horticultura Brasileira** (April), 69–74. 2018.

ARTIGO 2

Vermicomposto inibe os efeitos negativos de doses superiores de trichoderma em parâmetros de crescimento de tomate cereja

Resumo

Trichodermas são popularmente utilizados como agentes de biocontrole de doenças em plantas e mais recentemente como promotores de crescimento de diversos cultivos. Contudo, novas abordagens devem ser consideradas uma vez que algumas substâncias secretadas pelo bioagente podem causar efeitos maléficos em certas concentrações. O trabalho objetiva avaliar o efeito de concentrações de solo arenoso formulado com vermicomposto e bioenriquecido com doses superiores às recomendadas de trichoderma na germinação, desenvolvimento inicial e composição química da parte aérea de variedade crioula de tomate cereja. Os tratamentos (T) contendo substrato composto por mistura de vermicomposto e solo arenoso, foram os seguintes de acordo com as doses do bioproduto Ecotrich® à base de trichoderma: T1) 0,0; T2) 10^8 ; T3) 10^9 ; T4) 10^{10} UFC.L⁻¹. Após a inoculação, o substrato foi alocado em bandejas de germinação, onde foram semeadas três sementes de tomate cereja por célula, totalizando 90 sementes por tratamento. Aos 12 dias após a semeadura contou-se o número de plântulas emergidas e realizou-se o desbaste, havendo a manutenção de uma plântula por célula. Aos 30 dias após a semeadura, avaliou-se a altura, diâmetro do coleto, clorofilas a, b e total, fitomassas fresca e seca radicular e de parte aérea, volume e área radiculares, área foliar e análise química foliar. Nenhuma das doses do bioproduto testadas apresentou resultados superiores aos tratamentos sem trichoderma nos desenvolvimentos aéreo e radicular de mudas de tomate cereja aos 30 dias após a semeadura. Observou-se que plantas cultivadas na presença de maior concentração de vermicomposto foram menos afetadas negativamente com o uso de doses superiores do bioproduto.

Palavras Chaves: *Lycopersicon esculentum*, *Trichoderma harzianum*, substrato orgânico.

Abstract

Vermicompost inhibits the negative effect of high doses of trichoderma on cherry tomato growth parameters

Trichodermas are popularly used as biocontrol agents of plant diseases and more recently as growth promoters of various vegetal crops. However, new approaches must be considered since

some substances secreted by the bioagent may cause harmful effects at certain concentrations. The objective of this work was to evaluate the effect of concentrations of sandy soil formulated with vermicompost and bioenriched with higher doses than those recommended for trichoderma on germination, initial development and chemical composition of the shoot cherry tomato variety. The treatments (T) containing substrate composed of a mixture of vermicompost and sandy soil, were the following according to the doses of the Ecotrich® bioproduct based on trichoderma: T1) 0,0; T2) 10^8 ; T3) 10^9 ; T4) 10^{10} UFC.L-1. After inoculation, the substrate was placed in germination trays, where three cherry tomato seeds were sown per cell, totaling 90 seeds per treatment. Twelve days after sowing, the number of emerged seedlings was counted and the thinning was performed, and one seedling per cell was maintained. At 30 days after sowing, the height, collecting diameter, chlorophyll a, b and total, fresh and dry root and shoot phytomasses, root volume and area, leaf area and foliar chemical analysis were evaluated. None of the bioproduct doses tested showed superior results to the treatments without trichoderma in aerial and root development of cherry tomato seedlings at 30 days after sowing. It was observed that plants cultivated in the presence of higher vermicompost concentration were less negatively affected by the use of higher doses of the bioproduct.

Key words: *Solanum lycopersicum*, *Trichoderma harzianum*, organic substrate.

Introdução

A tomaticultura brasileira enfrenta atualmente uma situação paradoxal. A baixa ingestão de hortaliças no país e o fato de o consumo de tomates ainda não ter atingido o máximo apontam para uma possível ampliação do consumo. Por outro lado, existe uma inibição do mercado consumidor de tomates pela razão do fruto estar frequentemente listado entre os alimentos contaminados por resíduos agrotóxicos. A variedade cereja (*Solanum lycopersicum* var. cerasiforme) produz tomates pequenos, adocicados e muito apreciados na gastronomia, no entanto pode oferecer sérios riscos à saúde humana principalmente por ser geralmente consumida *in natura*. Como alternativa, o emprego de insumos orgânicos e microbianos e o estudo de suas relações vislumbra uma tomaticultura comprometida com a sustentabilidade ambiental e a segurança alimentar.

Bioinoculantes compostos por trichodermas (*Trichoderma* spp.) são popularmente utilizados como agentes de biocontrole de doenças em plantas e mais recentemente como promotores de crescimento de diversos cultivos (Vinale et al., 2014; Singh et al., 2016; Wiethan, 2018). Sob esse viés, trabalhos têm relacionado o aumento de órgãos vegetais e produtividade

de cultivos pelo fato de diversos isolados de trichoderma serem capazes de aumentar a absorção de nutrientes pelas plantas (Machado *et al.*, 2012) e de sintetizar inúmeros compostos secundários que são eficazes na defesa desse fungo contra inimigos naturais, mas que podem influenciar o metabolismo vegetal. Vinale *et al.* (2014) descreve inúmeras substâncias fúngicas sintetizadas por isolados de trichoderma com ação promotora de crescimento de cultivos.

Contudo, novas abordagens devem ser consideradas além do aspecto benéfico da aplicação de trichoderma na agricultura. Esse entendimento é baseado no fato de microrganismos serem a principal fonte de substâncias bioativas no solo e estas podem ser responsáveis por incrementar o crescimento e desenvolvimento de culturas por ação de antibióticos e reguladores de crescimento ou causar danos fitossanitários ou fisiológicos como resultado de fitotoxicidade e patogenicidade (Frankenberger & Muhammad, 1995). Neumann & Laing (2007), por exemplo, constataram que alta dose de trichoderma causa fitotoxidez em alface devido a capacidade do fungo em inibir bactérias conversoras de cátions amônio em nitrato e então contribuir para o aumento da concentração desses cátions que são redutores do comprimento de meristemas radiculares (Liu *et al.*, 2013).

Os efeitos de trichoderma em vegetais são influenciados pelas características do meio onde será aplicado (Hajieghrari, 2010; Marín-Guirao, 2016), e materiais com conteúdo de origem orgânica parecem ser substratos apropriados para evolução do microrganismo. De fato, a presença de matéria orgânica em associação com trichoderma se mostrou mais eficiente em Pang *et al.* (2017) no que tange à manutenção do microbioma no solo e ao crescimento de mudas de tomateiro. Por outro lado, a escassez de nutrientes em substratos com baixa concentração de material orgânico pode causar competição interespecífica com vantagem ao trichoderma por este possuir alta eficiência na absorção de nutrientes que plantas em situação de estresse (Li *et al.*, 2015). Benítez *et al.* (2004), contraditoriamente, afirmam que trichoderma proporciona melhores resultados em espécies vegetais cultivadas em solos pobres.

A ação de trichoderma em plantas também irá depender da quantidade de metabólitos secundários que estarão presentes no substrato (Vinale *et al.*, 2014) e vermicompostos são apontados como altamente capacitados em reduzir a concentração de diversas substâncias no meio de cultivo. Frações húmicas eletricamente carregadas de vermicomposto são capazes de adsorver e então estabilizar e inativar cátions, metais tóxicos e herbicidas (Pettit, 2004; García *et al.*, 2014) e em conjunto com a ação de microrganismos componentes de sua microfauna podem biodegradar poluentes (Pereira *et al.*, 2014). No entanto, apesar de indiscutível habilidade adsorvente de vermicomposto, a investigação acerca das relações intrínsecas entre vermicomposto

e trichoderma e, como afirma Pereira *et al.* (2014), sua aplicação na retenção de compostos orgânicos, como os sintetizados pelo bioagente, ainda é pouco explorada.

Diante do exposto, o trabalho objetivou avaliar o efeito de concentrações de substrato formulado com vermicomposto bioenriquecido com altas doses de trichoderma nos parâmetros de crescimento e composição química da parte aérea de variedade de tomate cereja.

Material e métodos

O trabalho foi desenvolvido em estufa agrícola e no Laboratórios de Análise de Tecidos do Departamento de Solos e Laboratórios de Interação Planta-Microrganismo e de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria. O vermicomposto à base de esterco bovino foi fornecido pelo minhocário do Departamento de Solos, UFSM. Como fonte do agente biológico, foi utilizado o bioproduto comercial Ecotrich[®] WP formulado em pó a base do fungo *Trichoderma harzianum* IBLF006, na concentração 10^{10} UFC g^{-1} de produto comercial registrado no MAPA sob o nº 04213 como fungicida microbiológico de contato, indicado para aplicação foliar para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum*. Em teste de eficiência, a empresa aplicou $150 g \cdot ha^{-1}$ em alface e 200 a $250 g \cdot p.c \cdot ha^{-1}$ em soja.

Para avaliar a porcentagem de emergência, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 (concentrações de vermicomposto) x 4 (doses de trichoderma), composto por seis repetições. As unidades experimentais foram representadas por bandejas de germinação de polietileno, cada uma composta por cinco células. Como substrato foi utilizado o vermicomposto produzido a base de esterco de bovino de leite nas concentrações $25 Kg \cdot Kg^{-1}$ (baixa), $50 Kg \cdot Kg^{-1}$ (média) e $75 Kg \cdot Kg^{-1}$ (alta) formulado com solo da região de classificação Argissolo vermelho distrófico típico e de classe textural Franco arenosa, composto de 60% de areia, 30% de silte e 10% de argila, ambos previamente peneirados em malha de 0,5 cm de espessura. Após diluição de trichoderma com água destilada, o substrato foi inoculado com solução de trichoderma nas concentrações de 10^8 , 10^9 e 10^{10} UFC L^{-1} de substrato, excetuando o controle, onde aplicou-se apenas água destilada. Após a alocação do substrato nas bandejas, um dia depois fez-se a semeadura de três sementes de tomate cereja por célula a 0,5 cm de profundidade, totalizando 90 sementes por tratamento. As unidades experimentais foram mantidas em estufa agrícolas sob condições controladas de temperatura ($28^\circ C$) e umidade (substrato e ambiente).

- Desenvolvimento de plantas de tomate cereja - Para determinar a porcentagem de emergência, fez-se o registro diário do número de plântulas emergidas até os 12 dias após a

semeadura (DAS). Após a etapa de avaliação do processo de emergência, realizou-se o desbaste, restando uma plântula por célula. Para fins de comparação e diferenciação do desenvolvimento, aos 30 DAS, mediu-se a altura e o diâmetro do coleto das mudas, com auxílio de régua e paquímetro digital, respectivamente, e a determinou-se o conteúdo foliar de clorofila com auxílio do medidor eletrônico clorofiLOG. Após, as mudas foram cortadas na altura do colo e pesadas para determinação de fitomassa fresca radicular e da parte aérea. Em seguida, todas as plantas foram analisadas com auxílio do scanner profissional Epson XL 10000, sendo utilizada uma definição de 600 dpi para medidas de morfologia de raiz e 400 dpi para medições foliares. As imagens obtidas em três dimensões foram analisadas pelo programa WinRHIZO Pro 2013, onde foram quantificadas as características área superficial de folhas e de raízes (cm²) e as características radiculares comprimento total (cm), volume (cm³) e diâmetro médio (mm). Após esta etapa, as partes aéreas foram acondicionadas em envelopes de papel e levados para estufa de secagem com sistema de ventilação forçada, a temperatura de 65°C. Após atingirem o peso constante, fez-se a pesagem do material para determinação da fitomassa seca.

- Análise química da parte aérea: Para determinação dos nutrientes Ca, Mg, N e K da parte aérea, o material após seco foi triturado com auxílio de cadinho e pistilo de porcelana e submetido a análise de tecidos vegetais, conforme metodologia proposta por Tedesco *et al.* (1995).

- Análise estatística: Foi utilizada a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Todos os parâmetros avaliados foram submetidos à análise de regressão. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa SISVAR 5.6.

Resultados e discussão

Os resultados observados para os parâmetros de crescimento emergência, altura, diâmetro do coleto, fitomassas seca radicular e da parte aérea e clorofila total de mudas de tomate cereja produzidas em concentrações crescentes de vermicomposto inoculado com doses crescentes de trichoderma demonstraram a interação entre os fatores doses de trichoderma e concentrações de vermicomposto de forma que ocorreu uma tendência de redução nesses parâmetros em mudas submetidas às concentrações do microrganismo e cultivadas em substrato com baixa concentração de vermicomposto. Na presença de maior conteúdo do adubo os parâmetros altura da plântula, diâmetro do coleto e clorofilas a e total foram semelhantes aos tratamentos sem trichoderma (Tabela 1).

O efeito de trichoderma na emergência de sementes e desenvolvimento de plantas parece ser dependente da concentração do bioproduto. Respostas sobre a quantidade de

trichoderma em espécies hortícolas foram evidenciadas por Singh et al. (2016), após verificarem que cada cultura apresentou um intervalo ótimo de concentração do bioproduto para promoção de desenvolvimento das plantas. Os autores observaram que doses mais baixas de 10^3 , 10^4 e 10^6 esporos.mL⁻¹ estimulam a germinação de sementes e o crescimento de tomate, berinjela, pimentão, quiabo, cabaça e guar, enquanto a dose mais alta de 10^8 esporos.mL⁻¹ inibe o comprimento de radícula de plântulas de tomate e a partir de 10^6 esporos.mL⁻¹ em berinjela, concentrações que também reduzem o posterior desenvolvimento dessas espécies em ambiente parcialmente controlado.

Ao avaliar metabólitos secundários, Contreras-Cornejo et al. (2009) sugeriram que trichoderma pode induzir o crescimento vegetal por meio de um mecanismo dependente das auxinas ao verificarem que o ácido indolacético biossintetizado pelo fungo aumenta o comprimento radicular em *Arapdopsis* em certas quantidades. Por outro lado, auxinas exógenas, como as secretadas por trichoderma, podem afetar o desenvolvimento de tecidos de alta sensibilidade, como os do sistema radicular (Tanimoto, 2005) e de caules jovens (Thimann, 1937). Contraditoriamente, no presente trabalho, a maior concentração de trichoderma, independentemente do conteúdo de vermicomposto, proporcionou maior área radicular nas mudas, o que, segundo Björkman (2004) pode ser explicado pelo fato das raízes de tomateiro não apresentarem sensibilidade às substâncias nas condições estabelecidas deste trabalho.

Resultados semelhantes ao presente estudo foram encontrados por Wiethan et al. (2018), os quais observaram que todas as doses de trichoderma testadas em mudas de alface cultivadas em mesma concentração vermicomposto apresentaram efeito redutor no desenvolvimento de raiz e parte aérea das mudas ao serem comparadas ao tratamento sem trichoderma. As doses acima da recomendada de 8 e 16.10^{11} conídios.Kg⁻¹ reduziram a germinação, a concentração desses nutrientes nas folhas e inibiram o desenvolvimento da hortaliça em relação aos demais tratamentos.

A presença de matéria orgânica parece estar relacionada com a biossíntese de auxinas por fungos (Nieto-Jacobo, 2017), e por outro lado, a quantidade do composto no substrato é aspecto determinante do potencial de redução da quantidade de substâncias que podem ser malféticas ao crescimento vegetal (Frankenberger e Muhammad, 1995). Semelhantemente ao presente trabalho, dados obtidos por Marín-Guirao et al. (2016) ao investigarem o efeito de trichoderma no crescimento de mudas cultivadas em substratos com diferentes conteúdos de material orgânico, demonstram aparecimento de patogenicidade em tomate e espinafre quando a dose máxima de trichoderma testada (10^8 conídios.mL⁻¹) foi associada ao substrato ausente de

matéria orgânica em comparação às hortaliças cultivadas em substrato rico em matéria orgânica e com doses inferiores do bioestimulante (10^7 e 10^6 conídios.mL⁻¹).

A relação entre a taxa de síntese e retenção ou biodegradação de metabólitos secundários de trichoderma determina o efeito do bioagente no crescimento de plantas (Vinale *et al.*, 2014). No entanto, esse processo será dependente das propriedades físicas e químicas dos compostos a serem adsorvidos (Pereira *et al.*, 2014). Diversos trabalhos demonstram a afinidade entre os dois tipos de substâncias. Canellas *et al.* (2002), após analisarem a estrutura de vermicomposto encontraram grupos auxínicos trocáveis na macroestrutura de substâncias húmicas de vermicomposto.

Substâncias húmicas também influenciam enzimas envolvidas na regulação do crescimento de plantas (Pettit, 2004). Frações de ácido húmico impedem a destruição do sistema enzimático de oxidase do ácido indolacético (AIA-oxidase), responsável pela degradação de ácido indolacético, por meio de mecanismo que envolve a ação de grupos fenólicos de ácidos húmicos e dessa forma o fitohormônio continua a estimular os processos de crescimento vegetal (Mato *et al.*, 1971).

Por outro lado, Muscolo (1999) demonstrou que estas substâncias húmicas também se ligam ao ácido indolacético. A adsorção de substâncias responsáveis pelo crescimento vegetal por vermicomposto é relatada por Arancon *et al.*, (2006) e posteriormente por Tejada e Benítez (2015), os quais determinam que os locais de ligação presentes em frações húmicas de vermicomposto são capazes de reter hormônios vegetais e então disponibilizá-los gradativamente às plantas. Auxinas, quinetas e giberelinas também foram relatadas por Kiyasudeen *et al.* (2016) como fitohormônios capazes de serem retidos em humatos e fulvatos de vermicompostos e liberados de forma que a ação bioestimulante dessas substâncias persista por maior período e sem que haja efeitos negativos durante crescimento das plantas.

Como observado pelos resultados obtidos envolvendo o desenvolvimento inicial de plantas de tomate cereja, plantas cultivadas na presença de maior conteúdo de vermicomposto são menos propensas aos danos causados por compostos bioativos secretados por trichoderma que adquirem caráter fitotóxico ou patogênico quando presentes em concentrações nocivas para a cultura provavelmente devido à capacidade de substâncias húmicas de vermicomposto em reduzir a concentração disponível às plantas de substâncias sintetizadas pelo bioagente que podem ter efeito nocivo ao desenvolvimento de tomate cereja quando em concentrações utilizadas neste trabalho.

Agradecimentos

Agradecemos à CAPES pela bolsa de pesquisa da primeira autora. Agradecemos à FIPE pela bolsa do terceiro autor. Agradecemos à empresa Ecotrich por fornecer do produto biológico à base de trichoderma e disponibilidade de suas informações técnicas.

Referências

- ARANCON, NQ; EDWARDS, CA; LEE, S; BYRNE, R. 2006. Effects of humic acids from vermicomposts on plant growth. *European journal of soil biology* 42: S65-S69.
- BENÍTEZ, T; RINCÓN, A. M; LIMÓN, M. C; CODON, A. C. 2004. Biocontrol mechanisms of Trichoderma strains. *International microbiology* 7(4): 249-260.
- BJÖRKMAN, T. 2004. Effect of Trichoderma colonization on auxin-mediated regulation of root elongation. *Plant Growth Regulation* 43: 89-92.
- CANELLAS, LP; OLIVARES, FL; OKOROKOVA, FAR. 2002. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence and plasma membrane H⁺ - ATPase activity in maize roots. *Plant Physiol* 130:1951–1957.
- CONTRERAS-CORNEJO, HA; MACÍAS-RODRÍGUEZ, LM; CORTÉS-PENAGOS, C; LÓPEZ-BUCIO, J. 2009. *Trichoderma virens*, a Plant Beneficial Fungus, Enhances Biomass Production and Promotes Lateral Root Growth through an Auxin-Dependent Mechanism in Arabidopsis. *Plant Physiology* Vol. 149: pp. 1579–1592.
- FRANKENBERGER JR, WT; MUHAMMAD, A. 1995. *Phytohormones in soils: microbial production and function*. Marcel Dekker Inc.
- GARCÍA AC; IZQUIERDO FG; BERBARA, RLL. 2014. Effects of humic materials on plant metabolism and agricultural productivity. In: AHMAD P (ED.), EMERGING TECHNOLOGIES AND MANAGEMENT OF CROP STRESS TOLERANCE. 1st. ed. New York: Elsevier. 1:449-466.
- HAIJEGHRARI, B. 2010. Effects of some Iranian Trichoderma isolates on maize seed germination and seedling vigor. *African Journal of Biotechnology* 9(28): 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.
- KIYASUDEEN, KS; IBRAHIM, MH, QUAIK, S, ISMAIL, SA. 2015. *Prospects of organic waste management and the significance of earthworms*. Springer.
- LI, RX; CAI, F; PANG, G; SHEN, QR; LI, R; CHEN, W. 2015. Solubilisation of phosphate and micronutrients by *Trichoderma harzianum* and its relationship with the promotion of tomato plant growth. *PLoS ONE* 10(6): 1–16.

LIU, Y; LAI, N; GAO, K; CHEN, F; YUAN, L; MI, G. 2013. Ammonium inhibits primary root growth by reducing the length of meristem and elongation zone and decreasing elemental expansion rate in the root apex in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One* 8(4): e61031.

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

MARÍN-GUIRAO, JI; RODRÍGUEZ-ROMERA, P; LUPIÓN-RODRÍGUEZ, B; CAMACHO-FERRE, F; TELLO-MARQUINA, JC. 2016. Effect of *Trichoderma* on horticultural seedlings' growth promotion depending on inoculum and substrate type. *Journal of Applied Microbiology* 121(4): 1095–1102.

MATO, MC; FABREGAS, R; MENDEZ, J. 1971. Inhibitory effect of soil humic acids on indoleacetic acid-oxidase. *Soil Biology and Biochemistry* 3(4): 285-288.

MUSCOLO, A; CULTRUPI, S; NARDI, S. 1998. IAA detection in humic substances. *Soil Biol Biochem* 30:1199–1201

NEUMANN, B; LAING, M. 2007. A mechanism for growth inhibition in plants, associated with *Trichoderma* application. *IOBC WPRS BULLETIN* 30(6/2): 265.

NIETO-JACOBO, MF; STEYAERT, JM SALAZAR-BADILLO, FB; NGUYEN, DV; ROSTÁS, M; BRAITHWAITE, M; DE SOUZA, JT; JIMENEZ-BREMONT, JF; OHKURA, M; STEWART, A; MENDOZA-MENDOZA, A. 2017. Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. *Frontiers in plant science* 8: 102.

PANG, G; CAI, F; LI, R; ZHAO, Z; LI, R; GU, X; SHEN, Q; CHEN, W. 2017. Trichoderma-enriched organic fertilizer can mitigate microbiome degeneration of monocropped soil to maintain better plant growth. *Plant and Soil* 416(1-2): 181-192.

PEREIRA, MDG; CARDOSO DE SOUZA NETA, L; FONTES, MPF; SOUZA, AN; CARVALHO MATOS, T; DE LIMA SACHDEV, R; DOS SANTOS, AV; SOUZA, MOG; DE ANDRADE, MVAS; PAULO, GMM; RIBEIRO, JN; RIBEIRO, AVFN. 2014. An overview of the environmental applicability of vermicompost: From wastewater treatment to the development of sensitive analytical methods. *The Scientific World Journal* 2014: 917348.

PETTIT, RE. 2004. *Organic matter, humus, humate, humic acid, fulvic acid ad humin: their importance in soil fertility and plant health*. Texas: A & M University 1-17.

SINGH, V; UPADHYAY, RS; SARMA, BK; SINGH, HB. 2016. *Trichoderma asperellum* spore dose depended modulation of plant growth in vegetable crops. *Microbiological research* v. 193: p. 74-86.

TANIMOTO, E. 2005. Regulation of root growth by plant hormones—roles for auxin and gibberellin. *Critical reviews in plant sciences* 24(4): 249-265.

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, 174p.

TEJADA, M; BENÍTEZ, C. 2015. Application of vermicomposts and compost on tomato growth in Greenhouses. *Compost Science and Utilization* 23(2): 94–103.

THIMANN, KV. 1937. On the nature of inhibitions caused by auxin. *American Journal of Botany* 24(7): 407-412.

VINALE, F; SIVASITHAMPARAM, K; GHISALBERTI, EL; WOO, SL; NIGRO, M; MARRA, R; LOMBARDI, N; PASCALE, A; RUOCCO, M; LANZUISE, S; MANGANIELLO, G. 2014. *Trichoderma* secondary metabolites active on plants and fungal pathogens. *The Open Mycology Journal* 8(1).

WIETHAN, MMS; BORTOLIN, GS; PINTO, RS; SILVA, ACF. 2018. Initial development of lettuce in vermicompost at higher trichoderma doses. *Horticultura Brasileira* (April): 69–74.

Resultados

Tabela 1. Desdobramentos das interações significativas entre doses de trichoderma e concentrações de vermicomposto para os parâmetros emergência, altura de planta, diâmetro do coleto, área radicular, massa seca radicular, massa seca da parte aérea, clorofila A e clorofila total. Santa Maria – RS, 2018.

Tratamentos	Doses de trichoderma (UFC.L ⁻¹)			
	0	10 ⁸	10 ⁹	10 ¹⁰
Doses de vermicomposto (g.g ⁻¹)	Emergência (dias)			
25	70,00 Aa ¹	66,66 Aa	35,00 Bb	43,33 Bb
50	61,67 Aa	63,33 Aa	55,00 Ab	58,33 Ab
75	58,33 Aa	73,33 Aa	71,67 Aa	80,00 Aa
CV (%) = 26,57%				
	Altura de planta (cm)			
25	9,560 Aa	8,596 Aa	7,075 Bb	6,213 Bb
50	9,603 Aa	10,030 Aa	8,392 Ab	10,673 Aa
75	10,627 Aa	11,076 Aa	11,205 Aa	12,057 Aa
CV (%) = 17,40				
	Diâmetro do coleto (cm)			
25	2,114 Ab	2,024 Ab	2,538 Ab	2,354 Ab
50	2,293 Bb	3,328 Aa	2,911 Ab	2,606 Bb
75	3,467 Aa	3,406 Aa	3,329 Aa	3,443 Aa

CV (%) = 12,89				
Área radicular (cm²)				
25	31,69 Ab	34,92 Ab	16,03 Ac	42,14 Aa
50	36,98 Ab	44,34 Ba	35,49 Bb	43,34 Aa
75	38,80 Ab	46,10 Ba	41,75 Cb	49,38 Aa
CV (%) = 7,43				
Clorofila a (ICF)				
25	277 Aa	187 Bb	212 Bb	242 Aa
50	247 Aa	255 Aa	261 Aa	243 Aa
75	249 Aa	267 Aa	263 Aa	264 Aa
CV= 12,5				
Clorofila total (ICF)				
25	351 Aa	238 Bc	265 Bc	300 Ab
50	314 Aa	317 Aa	321 Aa	321 Aa
75	314 Aa	338 Aa	330 Aa	306 Aa
CV = 12,25				
Massa seca radicular (g)				
25	0,023 Ab	0,032 Aa	0,021 Bb	0,022 Bb
50	0,028 Aa	0,026 Aa	0,026 Ba	0,025 Ba
75	0,026 Ab	0,024 Ab	0,035 Aa	0,036 Aa
CV (%) = 12,00				
Massa Seca da Parte Aérea (g)				
25	0,32 Aa	0,129 Ba	0,104 Ba	0,097 Ba
50	0,14 Ab	0,159 Aa	0,161 Aa	0,176 Aa
75	0,16 Ab	0,198 Aa	0,156 Aa	0,171 Aa
CV (%) = 52,63				

¹ Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna não diferem pelo teste de Scott-Sknott, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2. Valores médios do volume radicular (VR), massa fresca da parte aérea (MFPA), área foliar (AF), nitrogênio (N), potássio (k), cálcio (Ca) e magnésio (Mg). Santa Maria – RS, 2018.

Dose de vermicomposto (Kg Kg ⁻¹)	VR (cm ³)	MFPA (g)	Área foliar (cm ²)	N (g.Kg ⁻¹)	K (g.Kg ⁻¹)	Ca (g.Kg ⁻¹)	Mg (g.Kg ⁻¹)
25	0,54 a	1,32 c	6,70 b	30,35 b	33,77 b	4,20 a	30,33 a
50	0,53 a	2,00 b	6,86 b	38,56 b	40,94 a	3,93 a	31,98 a
75	0,50 a	2,73 a	13,86 a	43,38 a	42,75 a	3,20 a	31,85 a

CV (%)	33,25	22,75	103,3	32,60	16,04	33,15	31,56
--------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

¹Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna e letra maiúscula na linha não diferem pelo teste de Scott-Sknot, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 3. Valores médios do volume radicular (VR), massa fresca da parte aérea (MFPA), área foliar (AF), nitrogênio (N), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg). Santa Maria – RS, 2018.

Dose de tri-choderma (UFC L ⁻¹)	VR (cm ³)	MFPA (g)	Área foliar (cm ²)	N (g.Kg ⁻¹)	K (g.Kg ⁻¹)	Ca (g.Kg ⁻¹)	Mg (g.Kg ⁻¹)
0	0,4177 a	2,19 a	9,03 a	43,22 a	39,52 a	3,48 a	31,56 a
10 ⁸	0,5670 a	2,03 a	10,23 a	38,20 a	36,62 a	4,08 a	31,78 a
10 ⁹	0,4999 a	1,87 a	6,39 a	38,80 a	43,98 a	3,88 a	31,18 a
10 ¹⁰	0,6219 a	1,97 a	10,91 a	29,50 a	36,51 a	3,68 a	31,05 a
CV(%)	33,25	22,75	103,3	32,60	16,04	33,15	31,56

CONCLUSÃO GERAL

As doses de trichoderma utilizadas no presente estudo apresentaram efeito inibidor da germinação de sementes de mostarda, tomate e rúcula em experimento em câmara de germinação do tipo B.O.D. Sementes de melancia apresentaram incremento na germinação na presença de trichoderma e tendência de aumento do parâmetro com o aumento das concentrações. O desenvolvimento inicial das hortícolas também apresentou resultados inferiores quando comparado aos tratamentos sem trichoderma. O crescimento de tomate cereja inoculado com doses de trichoderma em estufa agrícola em associação com concentrações de vermicomposto apresentou resultados semelhantes aos tratamentos sem trichoderma para os parâmetros testados quando na presença de maiores concentrações do substrato orgânico.