

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

**Marisa Aparecida Binotto Abbad**

**TRICHODERMA NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DE *Luffa  
cylindrica* M. Roem. (Cucurbitaceae)**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2020**

**Marisa Aparecida Binotto Abbad**

**TRICHODERMA NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DE *Luffa cylindrica* M. Roem.  
(Cucurbitaceae)**

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

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

**Santa Maria, RS, Brasil  
2020**

Abbad, Marisa Aparecida Binotto  
Trichoderma no desenvolvimento inicial de Luffa  
cylindrica M. Roem. (Cucurbitaceae) / Marisa Aparecida  
Binotto Abbad.- 2020.  
43 p.; 30 cm

Orientador: Antonio Carlos Ferreira da Silva  
Coorientadora: Raquel Stefanello  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de  
Pós-Graduação em Agrobiologia, RS, 2020

1. Bucha 2. Trichoderma 3. Desenvolvimento 4.  
Bioproduto comercial 5. Microrganismos I. Ferreira da  
Silva, Antonio Carlos II. Stefanello, Raquel III.  
Título.

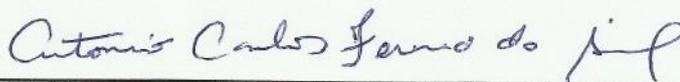
Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

**Marisa Aparecida Binotto Abbad**

**TRICHODERMA NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DE *Luffa cylindrica* M. Roem.  
(Cucurbitaceae)**

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

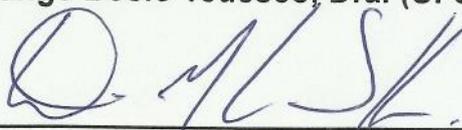
**Aprovado em 13 de outubro de 2020:**



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



**Solange Bosio Tedesco, Dra. (UFSM)**



**Danie Martini Sanchothene, Dr. (URI)**

**Santa Maria, RS  
2020**

“A mente que se abre a uma nova ideia, jamais voltará ao seu tamanho original”

Albert Einstein

DEDICO

Ao meu MARIDO Mario Sérgio, MEUS FILHOS Lorenzo e Camila

Fonte inesgotável de dedicação

De família e de amor.

Amo vocês!

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, à Deus pelo dom da vida, por tudo que sou e o que tenho; por me guiar e iluminar meu trajeto durante o curso.

À minha mãe Wilma (*in memoriam*) que sempre incentivou meus estudos e ao meu pai, Reinaldo (*in memoriam*) que nunca esqueceu de orar por mim, nenhum dia sequer. Ao meu marido Mario Sérgio, pelo incentivo, força, carinho e paciência nas horas difíceis; aos meus filhos, Lorenzo e Camila, pelo apoio, amor, auxílio e compreensão. Com eles, as pedras do caminho se tornaram flores!

Ao meu orientador, Antonio Carlos Ferreira da Silva, que insistiu e se dispôs a me orientar, embora estando a tanto tempo deslocada do meio acadêmico. Por toda a atenção, ensinamento, conselhos, paciência e sabedoria durante esta caminhada.

À minha colega e amiga de longa data, Solange Tedesco, por ter me estimulado a fazer o curso, pelo apoio, carinho e parceria.

À minha colega, amiga e coorientadora Raquel, a maior incentivadora para que eu fizesse mestrado, que sempre me auxiliou com muita disposição e alegria. Nunca demonstrou cansaço ou mau humor. Serei eternamente grata!

Às amigas e colegas Carmine Hister que me auxiliou nos trabalhos em citogenética, à Daiane Balconi, que me assessorou durante a realização dos experimentos, à Keiciane Marques, sempre disposta a auxiliar em todos os campos. Obrigada pela ajuda e apoio, por dividir meus cansaços e desânimos e ao mesmo tempo, pela força e encorajamento.

A todos colegas do PPG Agrobiologia por toda a ajuda e parceria durante esse período, principalmente à Vivian e Roberta, pela força, amizade, companheirismo e carinho.

À EMATER de Faxinal do Soturno, por ter fornecido as sementes de bucha, especialmente através do meu afilhado Zootecnista Igor Binotto Benetti e meu primo Roque Dalasta, muito obrigada! Também ao doutorando Nelto Almeida de Souza, do Departamento de Fitotecnia, pelo fornecimento das sementes, acesso Santa Maria.

Ao Prof. João Marcelo, pelo incentivo e compreensão e ao Prof. Sylvio Bidet, Chefe do Departamento de Biologia, por ter dado a oportunidade de fazer o curso.

A Universidade Federal de Santa Maria e ao programa de Pós-Graduação em Agrobiologia pela oportunidade.

Enfim, a todos que de alguma maneira contribuíram na realização deste trabalho. Muito Obrigada!

## RESUMO

### TRICHODERMA NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DE *Luffa cylindrica* M. Roem. (Cucurbitaceae)

AUTORA: Marisa Aparecida Binotto Abbad  
ORIENTADOR: Antonio Carlos Ferreira da Silva

*Luffa cylindrica* M. Roem., também conhecida por bucha, é uma espécie herbácea, escandente, anual, de caule longo e pertence à família Cucurbitaceae. Espécie produtora de fibras, com destaque no mercado agroindustrial, atualmente apresenta-se como uma alternativa econômica para pequenos agricultores sendo uma cultura sustentável e comercialmente viável. Mesmo com o aumento do cultivo no território brasileiro, carece de estudos, concernentes a aspectos de desenvolvimento vegetativo e interação planta-microrganismos. Os fungos do gênero *Trichoderma* são microrganismos naturais do solo, apresentando papel importante na agricultura como bioprotetores. Existem muitos estudos sobre uso de produtos formulados à base de trichoderma para o biocontrole, protegendo as sementes no solo, no entanto, são mais raras as pesquisas sobre a ação de diferentes doses deste bioproduto no desenvolvimento inicial em plantas. O presente trabalho teve por objetivo identificar a ação de diferentes doses de trichoderma no desenvolvimento inicial da bucha. Para tanto, sementes de dois acessos: Faxinal do Soturno/RS e Santa Maria/RS foram tratadas com diferentes doses de bioproduto à base de trichoderma, semeadas em papel *germitest*, incubadas em estufa (BOD) a 27 °C, com fotoperíodo de 12 horas. Em um segundo experimento, o solo (substrato comercial) foi tratado com as mesmas doses e distribuído em bandejas com dez células cada e as sementes foram semeadas e incubadas nas condições anteriores e submetidas aos seguintes testes: germinação, primeira contagem, índice de velocidade de germinação, comprimento da parte aérea e raiz, área superficial, diâmetro e volume de raiz, massa fresca e seca de plântulas e avaliação do índice mitótico. As sementes tratadas responderam negativamente à ação das doses aplicadas em relação ao tratamento controle em todas as variáveis analisadas, inclusive no índice mitótico, e o tratamento do substrato com as sementes do acesso Faxinal do Soturno apresentou o percentual de germinação aumentado, nos tratamentos T3 (0,10mL) e T4 (1,00mL), e em área, diâmetro e volume das raízes. No acesso Santa Maria, houve acréscimo na variável primeira contagem e um incremento na massa fresca de raiz no T4, de massa seca de raiz no T4 (1,00mL) e T5 (10,0mL) e em área, diâmetro e volume das raízes, quando comparados ao controle. Através destes resultados conclui-se que o bioproduto à base de *Trichoderma*, quando aplicado às sementes e em substrato, afeta positivamente ou negativamente o desenvolvimento inicial de *L. cylindrica*, devendo-se, no entanto, considerar a ação de fatores extrínsecos e intrínsecos diversos como o substrato, a variabilidade populacional dos diferentes acessos, as dosagens e o modo de aplicação do bioproduto.

**Palavras-chave:** Bucha, microrganismos, bioprodutos, desenvolvimento.

## ABSTRACT

### TRICHODERMA IN THE INITIAL DEVELOPMENT OF *Luffa cylindrica* M. Roem. (Cucurbitaceae)

AUTHOR: Marisa Aparecida Binotto Abbad

ADVISOR: Antonio Carlos Ferreira da Silva

*Luffa cylindrica* M. Roem., also known as bucha, is an annual herbaceous species, scandent, with a long stem and belongs to the family Cucurbitaceae. Fiber producing specie, with prominence in the agroindustrial market, currently presents itself as an economical alternative for small farmers, being a sustainable and commercially viable culture. There is still a lack of studies concerning aspects of vegetative development and plant-microorganism interaction, even with the increase in its cultivation in the Brazilian territory. Trichoderma genus fungi are natural soil microorganisms, playing an important role in agriculture as bioprotectors. There are many studies about the use of products formulated based on trichoderma for plant disease biocontrol, protecting seeds in the soil, however, research on the action of different doses of this bioproduct on the initial development in plants is rarer. The present study aimed to identify the action of different doses of trichoderma in the initial development of the bucha. Therefore, seeds from two accessions: Faxinal do Soturno / RS and Santa Maria / RS were treated with different doses of bio-product based on trichoderma, sown on germitest paper, incubated in a greenhouse (BOD) at 27 °C, with a photoperiod of 12 hours. In a second experiment, the substrate (soil/commercial substrate) was treated with the same doses and distributed in trays with ten cells each and the seeds were sown and incubated under the previous conditions and subjected to the following tests: germination, first count, speed index of germination, length of aerial part and root, surface area, diameter and volume of root, fresh and dry seedling mass and evaluation of mitotic index. The treated seeds responded negatively to the action of the doses applied in relation to the control treatment in all analyzed variables, including mitotic index, and substrate treatment with the seeds of the Faxinal do Soturno access showed the increased germination percentage, in the treatments T3 (0.10mL) and T4 (1.00mL), and in root area, diameter and volume. In the Santa Maria access, there was an increase in the variable first count, and an increase in fresh root mass in T4, dry root mass in T4 (1.00mL) and T5 (10.0mL) and in area, diameter and volume of roots, when compared to the control. It is concluded through these results that the bioproduct based on trichoderma, when applied to seeds and in substrate, affects positively or negatively the initial development of *L. cylindrica*, however, one must consider the action of different extrinsic and intrinsic factors as the substrate, the population variability of the different accesses, the dosages and the application mode of the bioproduct.

Keywords: Bucha, microorganisms, bioproducts, development.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** - Células em interfase (a), em divisão celular: metáfase (b), anáfase (c) e telófase (d), utilizadas no cálculo do índice mitótico de raízes secundárias de *Luffa cylindrica*, do acesso Faxinal do Soturno, em tratamentos com bioproduto à base de trichoderma .....32

**Figura 2** - Células em interfase (a), em divisão: prófase (b), metáfase (c), anáfase (d), utilizadas no cálculo do índice mitótico de raízes secundárias de *Luffa cylindrica*, do acesso Santa Maria em tratamentos com bioproduto à base de trichoderma .....32

**Figura 3** – Células em apoptose em raízes primárias (a) e raízes secundárias (b) de *Luffa cylindrica* tratadas com bioproduto à base de trichoderma .....33

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Germinação (G), Primeira contagem (PC), Índice de velocidade de germinação (IVG), Comprimento de parte aérea (CPA), Comprimento de Raiz (CR), Massa seca de parte aérea (MSPA) e Massa seca raiz (MSR) de plântulas de bucha dez dias após a semeadura em tratamentos de sementes com bioproduto à base de *Trichoderma harzianum* (Trichodermil®), dos acessos Faxinal do Soturno/RS e Santa Maria/RS. ....27
- Tabela 2** - Número de células meristemáticas de raízes primárias de bucha analisadas em interfase, divisão e os Índices Mitóticos (IM) em sementes tratadas com bioproduto à base de *Trichoderma harzianum* (Trichodermil®), dos acessos Faxinal do Soturno/RS e Santa Maria/RS.....29
- Tabela 3** - Número de células meristemáticas de raízes secundárias de bucha analisadas em interfase, divisão e os Índices Mitóticos (IM) em sementes tratadas com bioprodutos à base de *Trichoderma harzianum* (Trichodermil®), dos acessos Faxinal do Soturno/RS e Santa Maria/RS .....30
- Tabela 4** - Germinação (G), Primeira contagem (PC), Índice de velocidade de Emergência (IVE), Comprimento de parte aérea (CPA) e raiz (CR), Massa fresca de parte aérea (MFPA) e raiz (MFR), Massa seca de parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) de plântulas de bucha dez dias após a semeadura em substrato tratado com bioprodutos à base de *Trichoderma harzianum* (Trichodermil®), dos acessos Faxinal do Soturno/RS e Santa Maria/RS.....34
- Tabela 5** - Área superficial (ASR), Diâmetro (DR) e Volume de raiz (VR) de plântulas de bucha dez dias após a semeadura em solo tratado com bioproduto à base de *Trichoderma harzianum* (Trichodermil®), dos acessos Faxinal do Soturno/RS e Santa Maria/RS .....37

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>14</b>
<b>ARTIGO: Desenvolvimento inicial de <i>Luffa cylindrica</i> M. Roem. na presença de bioproduto comercial à base de trichoderma (Cucurbitaceae)</b>	
RESUMO.....	17
ABSTRACT.....	18
INTRODUÇÃO.....	19
MATERIAL E MÉTODOS.....	22
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
CONCLUSÃO.....	37
AGRADECIMENTOS.....	38
REFERÊNCIAS.....	39
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>43</b>

## INTRODUÇÃO

A bucha (*Luffa cylindrica* M. Roem.) é uma das espécies da família Cucurbitaceae Juss. O gênero *Luffa* compreende sete espécies, sendo que a *L. cylindrica* é a mais cultivada no mundo inteiro (SIQUEIRA; BRAS; DUFRESNE, 2010) possuindo uma grande plasticidade quanto ao clima (FERRÃO, 2001).

A bucha é uma planta anual, herbácea, trepadeira vigorosa, com caule anguloso e longo, liso ou escassamente pubescente, que pode alcançar até 15 m de comprimento, provido de gavinhas. Suas folhas são lobadas e dentadas. É uma planta monoica, com flores estaminadas em inflorescência racemosa e flores pistiladas solitárias, axilares (COSTA, 2012). Os frutos são tipo baga, fibrosos, cilíndricos ou trigonais, alongados ou elipsoides, que surgem em haste na axila foliar (JOSHI et al., 2004). Suas sementes são elipsoides, numerosas, pretas a cinzentas ou pardo-claras e apresentam forma geralmente achatada (JOSHI et al., 2004); sendo liberadas pelas duas extremidades do fruto. Seus frutos verdes são comestíveis quando jovens. É uma cultura de verão onde o plantio acontece na primavera, a colheita dos frutos de fevereiro ao final do outono e quando maduros podem ser colhidos e descascados para obtenção da esponja. Originária da Ásia, mais precisamente da Índia e África tropicais (D'ALMEIDA et al., 2005).

A bucha pode ser considerada uma alternativa sustentável, devido a procura crescente por produtos biodegradáveis e ecologicamente corretos. Atualmente apresenta um forte apelo de consumidores que apreciam produtos naturais, principalmente na higiene pessoal, por ser um esfoliante natural, auxiliando no processo de renovação celular. A área cultivada de bucha vegetal tem aumentado em várias regiões brasileiras, apresentando-se como importante atividade econômica e social, principalmente na agricultura familiar (BLIND et al., 2018).

No Estado de Minas Gerais, por exemplo, se concentra o maior polo de produção, com área plantada acima de 100 hectares onde os produtores se organizaram num sistema de APL (Arranjos Produtivos Locais) e hoje produzem, processam e comercializam bucha vegetal para diversas regiões do Brasil. Não existem estatísticas sobre área cultivada e produção em nível de nacional (MAROUELLI et al., 2013).

Planta de fácil cultivo, encontrada em todos os estados brasileiros, com as denominações de bucha, esfregão, esponja vegetal, bucha dos paulistas e pepino bravo (QUEIROZ, 2004).

Oboh e Aluyor (2009) descrevem que a nobreza da fibra e outras potencialidades do vegetal conferem sua importância na agricultura, medicina, engenharia de materiais e na biotecnologia. A esponja fibrosa da bucha tem diversos usos na indústria automotiva (CARVALHO, 2007); em limpeza doméstica, higiene corporal, palmilhas de calçados (MELO; MOREIRA, 2007) e artesanato. Na medicina popular é utilizada como purgativa, desobstruente e vermífuga (MATOS, 1997).

A bucha vem agregando um potencial econômico importante e crescente por ser comercialmente viável e biodegradável, bem como pelo aumento das áreas de seu cultivo no país. Fazendo parte da agricultura sustentável, o uso de produtos biológicos para tratar sementes e/ou solo, poderia ser agregado no intuito de reduzir perdas provocadas por patógenos e pragas, além de proporcionar melhora no seu desenvolvimento inicial e produtividade, sem agredir o meio ambiente. Para o cultivo desta e qualquer outra cultura, a utilização de sementes saudáveis é essencial, principalmente para um bom estande inicial de plantas. Nesse contexto, Menten e Moraes (2010) relatam que preservar a qualidade sanitária das sementes através de tratamentos é muito importante na promoção da germinação das sementes e estímulo ao desenvolvimento vegetativo inicial.

O uso de produtos biológicos, como formulados à base de trichoderma vem sendo amplamente estudado, pois este fungo além de atuar como agente de biocontrole (SAITO et al., 2009), protege as sementes no solo e propicia um maior crescimento inicial das plantas. No que se refere a dosimetria de bioprodutos utilizada, é de suma importância a realização de pesquisas com o objetivo de definir doses ideais de bioprodutos à base de trichoderma, observando a interação planta-microrganismo, que irão potencializar o desenvolvimento inicial desta planta. Em havendo carência de informações sobre recomendações da concentração de doses de bioproduto para a cultura da bucha, será utilizada a dose recomendada e aproximada para culturas da mesma família.

O resultado da interação microrganismo-planta poderá ser neutro, estimulante ou inibitório. Em experimento realizado por Wiethan et al. (2018) na produção de mudas de alface, as doses de bioproduto comercial à base de trichoderma, superiores

à recomendada, causaram menor comprimento da parte aérea de plantas de alface quando comparadas ao tratamento controle. Machado et al. (2011) descrevem que a colonização das raízes por este fungo pode influenciar de forma positiva, neutra ou negativa na produtividade da cultura, promover a resistência a estresses abióticos, potencializar o uso de nutrientes do solo devido ao estímulo do crescimento radicular, solubilizar fosfato e sintetizar ácido indolacético – AIA. Estudos feitos por Chagas et al. (2017) demonstraram o efeito positivo da inoculação de trichoderma, com aumento na biomassa da parte aérea em relação ao tratamento testemunha, das espécies vegetais, feijão caupi, arroz e soja.

A promoção de crescimento e germinação de sementes por isolados de trichoderma pode ocorrer principalmente por meio da produção de hormônios produzidos pelo fungo, e ou pelo aumento da eficiência de absorção de nutrientes, e estar associada ao controle de fitopatógenos agindo como parasita e produtor de metabólitos (MACHADO et al., 2012). Conforme Woo et al. (2006); Woo e Lorito (2007), diferentes classes de metabólitos, além de promover crescimento podem atuar como elicitores ou indutores de resistência durante a interação trichoderma-planta.

De acordo com Guzmán\_Guzmán et al. (2019), o fungo *Trichoderma* por ser simbiote de plantas, possui a característica de bioestimulante, podendo promover o crescimento e estimular as defesas das plantas através de regulação hormonal e a produção de muitos metabólitos secundários. A simbiose micorrízica consiste em uma relação mutualística entre plantas e fungos micorrízicos, onde, durante a interação, a planta fornece carboidratos procedentes da fotossíntese, que são trocados por nutrientes e minerais, captados a partir do solo pelos fungos (SMITH; READ, 2010). Os benefícios dessa simbiose são expressos principalmente pelo estímulo ao crescimento e desenvolvimento das plantas (MEYER,2020).

Mastouri et al. (2010) afirmam que *Trichoderma* spp. promovem crescimento e produtividade das plantas através da solubilização de micronutrientes insolúveis no solo, proporcionando maior absorção e translocação de minerais pouco disponíveis. Algumas cepas de *Trichoderma* são capazes de aumentar a biomassa de plantas promovendo crescimento de raízes secundárias através de mecanismos dependentes de auxina e/ou são capazes de produzir o ácido indolacético (AIA) ou análogos de auxina (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2009).

A ação positiva de trichoderma no crescimento de raízes pode ser observada indiretamente através do cálculo do índice mitótico em raízes de plantas, utilizado para identificar a proliferação celular ideal ou ação antiproliferativa das células vegetais, sendo uma das formas de avaliação em testes de citogenética (TEDESCO; LAUGHINGHOUSE, 2012). Em trabalho de Aguiar et al. (2015), observou-se o aumento no índice mitótico de raízes de *Allium cepa* para os tratamentos onde utilizou-se metabólitos de diferentes isolados de trichoderma demonstrando que estes metabólitos promoveram o aumento no crescimento radicular.

Nesse viés, o objetivo deste trabalho foi utilizar diferentes doses do bioproduto comercial à base trichoderma e avaliar a ação deste, na germinação, no crescimento inicial e no índice mitótico de raízes primárias e secundárias de plântulas de bucha.

## REFERÊNCIAS

AGUIAR, A.R. et al. Efeito de metabólitos produzidos por *Trichoderma* spp. sobre o índice mitótico em células das pontas de raízes de *Allium cepa*. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 3, p. 934-940, 2015.

BLIND, A.D. et al. Estimativa de parâmetros genéticos, análise de trilha e seleção em bucha vegetal para caracteres agrônômicos. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.13, n. 2, p. 1-8, 2018.

CARVALHO, J. D. V. **Dossiê técnico**: cultivo de bucha vegetal. Brasília: CDT/UnB, 2007. 18p. <http://www.respostatecnica.org.br/dossie-tecnico/downloadsDT/Mjl5>. 13 abr. 2007.

CHAGAS, L. F. B. et al. Trichoderma na promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 4, n. 3, p. 97-102, 2017.

CONTRERAS-CORNEJO, H. A. et al. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 149, n. 3, p. 1579-1592, 2009.

COSTA, G. A. G. **Cucurbitaceae Durande na Floresta Atlântica de terras baixas ao norte do Rio São Francisco**, 2012, 110 f. Dissertação (Mestrado) – Biologia Vegetal, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, 2012.

D'ALMEIDA, A. L. F. et al. Acetilação da fibra de bucha (*Luffa cylindrica*). **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 1, p. 59-62, 2005.

FERRÃO, J.E.M. **Fruticultura tropical**: espécies com frutos comestíveis. Lisboa: Instituto de Investigação Científica Tropical, 2001. 580p.

GUZMÁN\_GUZMÁN, P. et al. *Trichoderma* species: versatile plant symbionts. **Phytopathology**, v. 109, p. 6-16, 2019.

JOSHI, B. K. et al. **Descriptors for sponge gourd [(*Luffa cylindrica* (L.) Roem.)]**. NARC, LIBIRD, IPGRI, 2004.

LUCON, C. M. M. **Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma* spp.** 2009. Artigo em Hipertexto. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2009\\_1/trichoderma/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/trichoderma/index.htm)>. Acesso em 22 de abril de 2016.

MACHADO, D. F. M. et al. *Trichoderma* no Brasil: O fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v.35, p.274-288, 2012.

MACHADO, R.G. et al. Promoção de crescimento de *Lotus corniculatus* L. e *Avena strigosa* Schreb pela inoculação conjunta de *Trichoderma harzianum* e rizóbio. **Ciência e Natura**, v.33, n.2, 2011.

MARQUELLI, W. A.; SILVA, H. R.; LOPES, J. F. **Irrigação na cultura da bucha vegetal** – Circular Técnica, EMBRAPA, 2013, 12p.

MASTOURI, F.; BJÖRKMAN, T.; HARMAN, G.E. 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.

MATOS, F. J. A. **O formulário fitoterápico do professor Dias da Rocha**. 2.ed. Fortaleza: EUFC, 260 p, 1997.

MELO A. M. T.; MOREIRA S. R. **Recursos genéticos e caracterização de cucurbitáceas subutilizadas e/ou negligenciadas no IAC**. 2007. Disponível em: [http://www.abhorticultura.com.br/eventos/trabalhos/ev\\_1/curc19.pdf](http://www.abhorticultura.com.br/eventos/trabalhos/ev_1/curc19.pdf). Acesso em 10/03/2013.

MENTEN, J. O.; MORAES, M. H. D. Tratamento de sementes: Histórico, tipos, características e benefícios. **Informativo ABRATES**. v. 20, n. 3, 2010.

MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. (Ed.). ***Trichoderma*: uso na agricultura** – Brasília, DF. Embrapa, 2019. 538 p.

OBOH, O.; ALUYOR, E. O. *Luffa cylindrica* - an emerging cash crop. **African Journal of Agricultural Research**, v. 4, n. 8, p. 684-688, 2009.

QUEIROZ, M. A. Germplasm of Cucurbitaceae in Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 4, p.377-383, 2004.

SAITO, L. R. et al. Aspectos dos efeitos do fungo *Trichoderma* spp. no biocontrole de patógenos de culturas agrícolas. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v.2, n.3, 2009.

SIQUEIRA, G.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. *Luffa cylindrica* as a linocellulosic source of fiber, microfibrillated cellulose, and cellulose nanocrystals. **Bioresources**, v.5, n. 2, p. 727-740, 2010.

SMITH, S. E.; READ, D. J. Mycorrhizal symbiosis. 3th ed. **Academic press**, 2010, 800 p.

TEDESCO, S. B.; LAUGHINGHOUSE, H. D. Bioindicator of genotoxicity: The *Allium cepa* test. **Environmental Contamination**, 2012.

WIETHAN, M. M. S. et al. Initial development of lettuce in vermicompost at higher trichoderma doses. **Horticultura Brasileira**, v.36, n.1 p.77-82, 2018.

WOO, S. L.; LORITO, M. Exploiting the interactions between fungal antagonists, pathogens and the plant for biocontrol. In: VURRO, M.; GRESSEL, J. (Eds.). Novel biotechnologies for biocontrol agent enhancement and management. **Singapore: Springer**, 2007. p. 107-130.

WOO, S. L. et al. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 181-185, 2006.

## RESUMO

### DESENVOLVIMENTO INICIAL DE *Luffa cylindrica* M. Roem. NA PRESENÇA DE BIOPRODUTO COMERCIAL À BASE DE TRICHODERMA (Cucurbitaceae)

AUTORA: Marisa Aparecida Binotto Abbad  
ORIENTADOR: Antonio Carlos Ferreira da Silva

A bucha (*Luffa cylindrica* M. Roem.) tem se tornado uma cultura comum em várias regiões do Brasil, principalmente no modelo agricultura familiar sustentável e mostrando-se como alternativa economicamente viável. Há carência de estudos em torno do cultivo desta espécie, sendo necessárias pesquisas direcionadas ao maior desenvolvimento e rendimento da cultura, como tratamento de sementes com formulação biológica. Formulados comerciais à base deste fungo e suas variadas linhagens têm sido mais usados no biocontrole de doenças, no entanto, estudos recentes mostram importante interação microrganismo-planta que potencializam o desenvolvimento inicial. Em relação à dosimetria de bioprodutos, não há indicação de doses ideais para cultura da bucha, testando-se assim, diferentes doses que foram utilizadas em espécies da mesma família. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi aplicar diferentes doses do bioproduto comercial à base de trichoderma em sementes de bucha de dois acessos, Faxinal do Soturno e Santa Maria/RS e tratar o substrato comercial de semeadura com mesmas dosagens avaliando a germinação, desenvolvimento inicial das plântulas de bucha e índice mitótico das raízes. O primeiro experimento foi composto por cinco tratamentos para sementes de cada acesso, em quatro diferentes doses: T1 - 0,00mL (água destilada); T2 - 0,01mL; T3 - 0,10mL; T4 - 1,00mL e T5 - 10,0mL de Trichodermil® líquido (princípio ativo linhagens de *Trichoderma harzianum*, concentração de  $1.10^9$  UFC.mL<sup>-1</sup>) realizado em papel *germitest*, à temperatura de 27 °C, fotoperíodo de 12 horas, em delineamento inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos ao teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade do erro. No segundo experimento também conduzido em laboratório, foram utilizadas as mesmas doses do bioproduto no tratamento do solo de plantio para obtenção de mudas, sendo distribuído em bandejas de isopor contendo 10 células cada tratamento. Foram semeadas as sementes, com cinco repetições, para cada tratamento e colocadas para germinar nas mesmas condições do ensaio anterior. Com os resultados obtidos verificou-se que em substrato papel, o bioproduto mostrou efeito inibitório no desenvolvimento inicial de bucha refletindo-se no índice mitótico e em substrato comercial apresentou diversidade de resultados nas variáveis e entre os acessos. No entanto, observou-se influência positiva de algumas doses do bioproduto à base de trichoderma no percentual germinação do acesso Faxinal do Soturno, nos T3 (0,10mL) e T4 (1,00mL), em área, diâmetro e volume das raízes, bem como na primeira contagem e biomassa fresca e seca de raiz do acesso Santa Maria, nos T4 e T5 (10,0mL), sugerindo que o T4 e doses aproximadas responderam melhor para estas variáveis. Com base no exposto, pode-se inferir que as diferentes respostas pelo fungo *Trichoderma* estão associadas à planta e sua natureza, ao substrato, as dosagens e métodos de aplicação entre outros.

**Palavras-chave:** Bucha, *Trichoderma*, desenvolvimento, bioproduto comercial.

## ABSTRACT

### INITIAL DEVELOPMENT OF *Luffa cylindrica* M. Roem. THE PRESENCE OF A TRICHODERMA-BASED COMMERCIAL BIOPRODUCT (Cucurbitaceae)

AUTHOR: Marisa Aparecida Binotto Abbad

ADVISOR: Antonio Carlos Ferreira da Silva

The bucha (*Luffa cylindrica* M. Roem.) has become a common crop in several regions of Brazil and shows itself as an economically viable alternative mainly in the model of sustainable family farming. There is a lack of studies on the cultivation of this species, which requires research aimed at greater development and productivity of the culture, such as, for example, the treatment of seeds with biological formulation. Commercial formulations based on this fungus and its varied lineages have been used more in the biocontrol of plant diseases, however, recent studies show an important microorganism-plant interaction, that potentiate the initial development. Regarding the dosimetry of bioproducts, there is no indication of ideal doses for loofah culture, thus necessary the testing different doses that were used in species of the same family. Thus, the objective of this work was to apply different doses of the commercial bioproduct based on trichoderma in loofah seeds from two accessions, Faxinal do Soturno and Santa Maria / RS and to treat the commercial substrate for sowing with several dosages evaluated for germination, initial development seedlings and mitotic index of roots of bucha. The first experiment consisted of five seed treatments for each access, in four different doses: T1 - 0.00mL (distilled water); T2 - 0.01ml; T3 - 0.10mL; T4 - 1.00mL and T5 - 10.0mL of liquid Trichodermil® (active ingredient strains of *Trichoderma harzianum*, concentration of 1,109 CFU.mL<sup>-1</sup>) performed on germitest paper, at 27 °C, photoperiod of 12 hours, in completely randomized design. The data were submitted to the Scott-Knott test with a probability of error of 5%. In the second experiment conducted in the laboratory, the same doses of the bioproduct were used in the treatment of the planting soil to obtain seedlings, being distributed in Styrofoam trays containing 10 cells each treatment. The seeds were sown, with five replications, for each treatment and placed to germinate under the same conditions as the previous test. The results obtained showed that in paper substrate, the bioproduct had an inhibitory effect on the initial development of the loofah, reflected in the mitotic index and in commercial substrate apresented diversity of results in variables and between accessions. However, a positive influence of some doses of the trichoderma-based bioproduct was observed in the percentage of germination of the Faxinal do Soturno access, in T3 (0.10mL) and T4 (1.00mL), in area, diameter and volume of the roots, as well as in the first count and fresh biomass and root dryness of the Santa Maria access, at T4 and T5 (10.0mL), suggesting that T4 and approximate doses proved to be better for these variables. Based on the above, it can be inferred that the different responses by the fungus trichoderma are associated with the plant and its nature, with the substrate, dosages and application methods, among others.

**Keywords:** *Bucha*, *Trichoderma*, development, commercial bioproduct.

## INTRODUÇÃO

A bucha (*Luffa cylindrica* M. Roem.), Cucurbitaceae, é uma espécie anual, herbácea, escandente, originária da Ásia e África tropicais. Encontra-se distribuída de norte a sul do país, de fácil cultivo em vários estados, devido a uma grande plasticidade quanto ao clima (FERRÃO, 2001). O cultivo de bucha vegetal tem aumentado em várias regiões brasileiras tornando-se importante atividade econômica e social, principalmente na agricultura familiar (BLIND et al., 2018).

Popularmente é conhecida como bucha, esfregão, esponja vegetal e pepino bravo. Os frutos verdes são utilizados na alimentação em comunidades carentes e quando maduros podem ser colhidos e descascados para obtenção da esponja. Embora a bucha não tenha a mesma importância comercial de outros representantes da família, a esponja fibrosa da bucha tem se destacado, além de atividades de limpeza doméstica, na confecção de artesanatos, palmilhas de calçados, em produtos dermo-cosméticos, industriais, absorventes de fluidos, isolante térmico e acústico, estofamentos automotivos e industriais (FERREIRA et al., 2010; BLIND et al., 2013) e na medicina popular. Oboh e Aluyor (2009) comprovam a nobreza da fibra e potencialidades do vegetal, na agricultura, medicina, engenharia de materiais e na biotecnologia.

A interação entre plantas e microrganismos é alternativa sustentável que vem sendo pesquisada e aplicada (MACHADO et al., 2015), onde destacam-se estudos realizados com fungos trichoderma (*Trichoderma sp.*) Apesar da inestimável contribuição de espécies do gênero *Trichoderma* em culturas agrícolas, não se tem conhecimento de trabalhos realizados envolvendo este fungo na cultura de bucha, onde a resposta dessa interação poderá ou não, otimizar a produção de mudas. A produtividade desta cultura poderia ser aumentada com custo reduzido, utilizando produtos biológicos no tratamento das sementes e/ou solo, antes do plantio, evitando doenças e estimulando crescimento.

Espécies do fungo trichoderma (*Trichoderma spp.*) colonizam facilmente solo e raízes, competem com outros microrganismos, principalmente patógenos presentes no solo e apresentam uma capacidade de interação extraordinária com as plantas, estimulando seu desenvolvimento inicial e colaborando para que permaneçam saudáveis. Na rizosfera são atraídos pelos exsudatos das raízes, ocorrendo o

reconhecimento, adesão, penetração e colonização (LUCON, 2014). Milanesi et al. (2013) citam antibiose, produção de metabólitos secundários e competição por nutrientes e espaço, como mecanismos de ação do fungo *Trichoderma* para o controle dos patógenos na rizosfera, apresentando alta competência rizosférica. Estes fungos são bastante utilizados no campo porque ao produzir muitas enzimas que degradam a parede celular dos hospedeiros, controlam a proliferação de patógenos, estimulam o crescimento e defesa das plantas (CARVALHO et al., 2011).

Como o cultivo da bucha é considerado uma prática sustentável, onde os produtores familiares utilizam apenas adubação orgânica, a introdução de bioproduto à base de trichoderma no substrato, para produção de mudas, poderá aumentar as possibilidades de sobrevivência frente às adversidades do campo e apresentar um resultado promissor. Lucon (2014) relata que o trichoderma participa da decomposição da matéria orgânica no solo, aumentando a quantidade de nutrientes que podem ser absorvidos pelas raízes das plantas. O aumento da superfície total do sistema radicular, por algumas linhagens de trichoderma, possibilita um maior acesso aos elementos minerais presentes no solo (CHAGAS et al., 2017).

De acordo com Kavoo-Mwangi et al. (2013), este fungo também pode interagir com outros microrganismos, como as rizobactérias e os fungos micorrízicos arbusculares, possibilitando efeitos positivos no desenvolvimento das plantas. No entanto, Machado et al. (2012) alerta que este fungo ao colonizar as raízes poderá apresentar influência positiva, negativa ou neutra na produtividade da cultura. 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* ou solo.

As interações de fungos do gênero *Trichoderma* com a microbiota, nutrientes e raízes promovem o crescimento da planta mesmo sem patologia e, além de serem reconhecidos como biofungicidas, podem ser classificados também como biofertilizantes, bioestimulantes e potencializadores da resistência contra estresses bióticos e abióticos (WOO et al., 2018). Ainda é possível destacar a produção de substâncias promotoras de crescimento como hormônios (ácido indolacético, citocininas, giberelinas, ácido abscísico), melhoria na nutrição das plantas com aumento na solubilização de nutrientes (fosfato, ferro, cobre, manganês e zinco) e,

incrementos na eficiência do uso de nutrientes, como o nitrogênio (LUCON, 2014). Hermosa et al. (2012) destacam que a interação trichoderma-planta é um diálogo molecular entre os dois organismos e que as mudanças dramáticas induzidas pelo fungo benéfico na planta e a promoção de crescimento por espécies do gênero *Trichoderma*, ocorre pela produção de giberelinas e de auxinas como o AIA, que favorecem o desenvolvimento de raízes laterais.

Formulados à base das espécies *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma asperelum* são mais utilizados pela facilidade de isolamento em meio artificial, serem ótimas competidoras no solo, resistirem a drásticas variações ambientais e apresentarem múltiplos mecanismos contra fitopatógenos (MUKHERJEE et al., 2013). Espécies de trichoderma podem ter um papel tanto na regulação do crescimento das plantas quanto na ativação das respostas de defesa das plantas, pela produção de metabólitos secundários (PASCALE et al., 2017), mostrando evidente importância econômica para a agricultura.

A utilização de bioprodutos formulados à base de trichoderma requer conhecimento e esclarecimento sobre as doses aplicadas para não haver prejuízo na germinação e no desenvolvimento inicial da cultura. Em experimento de Junges et al. (2016), a aplicação de *Trichoderma* spp. em sementes de angico, levou a um efeito negativo, reduzindo a emergência das plântulas 35,9% em relação às sementes sem tratamento. Porém, houve divergência nos resultados de Fortes et al. (2007), ao verificar que isolados de *Trichoderma* spp. aplicados ao substrato aumentaram a porcentagem de enraizamento e sobrevivência de micro estacas de *Eucalyptus* sp.

Através do cálculo do índice mitótico em raízes de plantas, utilizado para identificar a proliferação celular, é possível observar a ação benéfica, neutra ou prejudicial do trichoderma no crescimento de raízes. Tedesco e Laughinghouse, (2012) afirmam que uma das formas de avaliação em testes de citogenética é o cálculo do índice mitótico onde se observa a ação adequada ou antiproliferativa das células vegetais. A técnica empregada pode estabelecer os efeitos de bioprodutos nas raízes, através do tratamento das sementes. Machado et al. (2012) citam que a promoção do desenvolvimento de plantas pelo gênero *Trichoderma* pode estar relacionada também à melhor assimilação de nutrientes, ao estímulo à multiplicação celular influenciada pela atuação de hormônios nas raízes das plantas.

A eficiência do uso de produtos à base de trichoderma em plantas cultivadas podem gerar resultados diferentes, dependendo da linhagem introduzida, métodos de aplicação e dosagens, práticas culturais, espécie vegetal, de solo, fatores ambientais, entre outros. Com base no exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de doses diferentes de bioproduto comercial à base de *Trichoderma harzianum* na germinação, desenvolvimento inicial e índice mitótico de plântulas de bucha.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Interação Planta – Microrganismos e no Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade, ambos do Centro de Ciências Naturais e Exatas, situados na Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul no segundo semestre de 2019. As sementes (acessos) foram cedidas pelo Departamento de Fitotecnia, Centro de Ciências Rurais, UFSM e EMATER de Faxinal do Soturno (RS). Para o tratamento das sementes dos dois acessos, utilizou-se o bioproduto comercial Trichodermil® (princípio ativo linhagens de *Trichoderma harzianum*, concentração de  $1.10^9$  UFC.g<sup>-1</sup>) na forma líquida, em diferentes doses.

No primeiro experimento utilizou-se o delineamento o inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e quatro repetições contendo 50 sementes para cada acesso, em que se estudou o efeito de diferentes doses do bioproduto à base de trichoderma (Trichodermil® líquido) na germinação e desenvolvimento inicial em sementes de bucha. Os tratamentos de sementes foram compostos por: T1 (Controle - ausência de bioproduto); T2 (Trichodermil® 0,01mL/25g sementes); T3 (Trichodermil® 0,10 mL/25g sementes); T4 (Trichodermil® 1,00mL/25g sementes); T5 (Trichodermil® 10,0 mL/25g sementes). As sementes tratadas foram semeadas em papel *germitest* umedecido com água destilada, enrolados e acomodados em sacos plásticos e acondicionados em B.O.D.

O segundo experimento foi conduzido no mesmo ambiente, tratando o substrato comercial Biomix, próprio para cultivo das mudas. Os tratamentos consistiram T1 (Controle - ausência de bioproduto); T2 (Trichodermil® 0,01mL/ 500 gramas de substrato); T3 (Trichodermil® 0,10mL/ 500 gramas de substrato); T4 (Trichodermil® 1,00mL/ 500 gramas de substrato); T5 (Trichodermil® 10,0mL/ 500

gramas de substrato). O bioproduto ficou encubado no solo, a temperatura ambiente, durante 7 dias antes do plantio com controle de umidade.

### **Teste de germinação e emergência**

Para a avaliação do teste de germinação em papel utilizou-se quatro repetições de cinquenta sementes, sendo estas tratadas conforme os tratamentos descritos anteriormente. O bioproduto foi aplicado sobre as sementes e armazenados em sacos plásticos para homogeneização entre o bioproduto e as sementes. As sementes foram semeadas em papel *germitest*, com umidade de 2,5 vezes o peso do papel seco; os rolos foram alocados em sacos plásticos e condicionados em B.O.D. calibrada para operar a uma temperatura constante de 27 °C e fotoperíodo de 12 horas. A primeira contagem das sementes foi realizada no quarto dia após a semeadura e a última contagem aos dez dias, seguindo as regras de análises de sementes (BRASIL, 2009).

No experimento com tratamento do substrato comercial Biomix o teste de germinação (emergência) foi realizado utilizando cinco repetições de 10 sementes cada tratamento (conforme descrito acima). Foi utilizada em média 500 g de substrato tratado com bioproduto para plantio de 50 sementes. As sementes foram semeadas em bandejas de isopor contendo 10 células cada, com uma semente por célula, condicionadas em estufa (B.O.D.), à temperatura de 27 °C, fotoperíodo de 12 horas e umedecidas diariamente. Foram realizados testes iguais ao experimento anterior, exceto índice mitótico, acrescentando massa fresca de parte aérea e raiz, avaliação da área, diâmetro e volume radicular.

### **Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Índice de Velocidade de Emergência (IVE)**

Em conjunto com o teste de germinação foi realizado o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Índice de Velocidade de Emergência (IVE), onde foi registrado diariamente, no mesmo horário, o número de plântulas que foram germinando até a estabilização do processo, conforme a equação proposta por Maguire (1962):  $IVG = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots + G_n/N_n$ , em que: IVG e IVE = Índice de Velocidade de Germinação;  $G_1, G_2, G_n$  = número de plântulas germinadas, computadas na primeira, segunda, até

a última contagem;  $N_1$ ,  $N_2$ ,  $N_n$  = número de dias da semeadura à primeira, segunda, até a última contagem.

### **Comprimento de plântulas**

Para avaliação do comprimento, as plântulas normais de bucha foram obtidas a partir da semeadura de quatro repetições de 20 sementes umedecidas com água destilada ou solução à base de trichoderma. Os rolos de papel contendo as sementes permaneceram em câmara de germinação por dez dias, à temperatura de 27 °C, quando então, foi avaliado, aleatoriamente, o comprimento total, da parte aérea e da raiz de 10 plântulas em cada repetição, com o auxílio de uma régua milimetrada. O comprimento médio das plântulas foi obtido somando-se as medidas de cada repetição e dividindo-se pelo número de plântulas normais mensuradas, com resultados expressos em centímetros (NAKAGAWA, 1999). No tratamento de substrato, as 10 raízes medidas e pesadas frescas foram utilizadas para avaliação das variáveis morfológicas área, diâmetro e volume radicular no Scanner EPSON Expression 11000 equipado com luz adicional (TPU), com definição de 600 dpi para raízes acoplado a um computador contendo o software WinRHIZO.

### **Massa fresca e seca de plântulas**

Para avaliação da massa fresca e seca, a parte aérea e a raiz de dez plântulas normais de cada repetição, resultantes do teste de comprimento, foram pesadas frescas e posteriormente secas em estufa à temperatura de 60 °C em sacos de papel, até a obtenção de massa constante (48 h). Foram pesadas em balança de precisão, com resolução de 0,001g, sendo os resultados expressos em miligramas (NAKAGAWA, 1999).

### **Análise dos dados**

Os dados foram submetidos à análise de variância e quando significativos, as variáveis foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade pelo programa Sisvar (FERREIRA, 2011).

## **Avaliação do Índice Mitótico**

Primeiramente foi realizado o teste de germinação conforme descrito anteriormente. Dez dias após a semeadura foram selecionadas, ao acaso, oito raízes por tratamento, separadas e acondicionadas em frascos contendo fixador Carnoy 3:1 (etanol:ácido acético) por 24 horas para cessar a divisão celular. Em seguida as raízes foram armazenadas em etanol 70% perante refrigeração até a elaboração das lâminas para análise. Foram elaboradas 4 lâminas cada tratamento e analisadas 250 células por lâmina, totalizando mil células de raízes primárias e mil de raízes secundárias por tratamento.

As lâminas foram preparadas através da técnica de esmagamento adaptada de Guerra e Souza (2002), que consiste primeiramente na hidrólise das raízes em ácido clorídrico (HCl) 1N por 5 minutos e posterior lavagem em água destilada. Logo após seccionou-se, separadamente, a região meristemática das raízes secundárias e primárias, sendo colocadas sobre a lâmina e coradas com uma gota de orceína acética 2%, esmagando com auxílio de bastão de vidro e colocando as lamínulas sobre o material. As lâminas foram observadas em microscópio óptico com aumento de 40X.

A análise das células levou em consideração a fase do ciclo celular, podendo ser interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. O cálculo do índice mitótico (IM) se deu pela razão do número de células em divisão celular pelo número total de células analisadas. A análise estatística dos dados foi realizada pelo teste  $\chi^2$  (Qui-quadrado), com probabilidade de 5%, pelo programa estatístico BioEstat 4.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Quanto aos resultados da interação trichoderma-bucha, observou-se que a influência da aplicação do bioproduto à base de *Trichoderma harzianum* em sementes de bucha, no ensaio que teve como substrato papel, de dois acessos, Faxinal do Soturno e Santa Maria/RS, foi negativa na totalidade dos tratamentos (T2-0,01mL, T3-0,10mL, T4-1,00mL e T5-10mL), para todas variáveis em relação ao tratamento controle (T1 - tratamento sem adição do bioproduto).

De acordo com os dados da Tabela 1, na avaliação da porcentagem de germinação (G%), dos acessos Faxinal do Soturno e Santa Maria, observou-se diferença estatística significativa entre o tratamento controle (T1), 92% e 63% respectivamente, aos demais tratamentos (T2, T3, T4 e T5). Esta diferença estatística também foi observada na avaliação da germinação na primeira contagem (PC), ao quarto dia da semeadura, onde T1, acesso Faxinal, obteve 34% e Santa Maria 15%, e, a partir da menor dose aplicada houve interação negativa do trichoderma presente no bioproduto com a semente, inibindo ou retardando a germinação. Junges et al. (2016) revelam que a aplicação de *Trichoderma* spp. em sementes de angico reduziu a emergência das plântulas 35,9% em relação às sementes sem tratamento. O mesmo aconteceu com a variável IVG, onde o valor referente ao tratamento controle (T1) obteve melhor média, nos dois acessos (11,95% e 31%) respectivamente, quando comparado aos tratamentos subsequentes.

Durante a avaliação dos tratamentos ocorreram eventos como inibição da emissão de radícula ou parte aérea e/ou atrofia e deformidade nas raízes e parte aérea. Estes resultados podem estar atrelados à forma de cultivo submetida no experimento, papel *germitest*, um substrato inerte, que não fornece nutrientes ao desenvolvimento do trichoderma. Ethur et al. (2012) relatam que trichoderma, naturalmente isolados de solo, fora do seu ambiente, como em contato com sementes pode danificá-las ou apodrecê-las, prejudicando a germinação. Lucon (2009) sugere que agentes de biocontrole usados para tratar sementes podem colonizar a semente usando-a como substrato e eventualmente afetar a germinação.

A produção de metabólitos secundários por trichoderma e condições ambientais proporcionaram resultados contrastantes, quando em diferentes concentrações, em sementes de espécies vegetais cultivadas *in vitro* ou solo, em experimentos executados por Nieto-Jacobo et al. (2017). Assim pode-se inferir que estes metabólitos podem ter efeito fitotóxico, dependendo do ambiente e da espécie vegetal, e estas toxinas atuarem de forma desfavorável em contato direto com a semente. Bernardo e Bettioli (2010) destacaram que o *T. harzianum* isolado do solo, não foi eficiente devido a não adaptação ao ambiente de parte aérea que foi aplicado, ou ainda, que o isolado não apresentaria eficiência para aquele patossistema que foi testado.

**Tabela 1** – Germinação (G), Primeira contagem (PC), Índice de velocidade de germinação (IVG), Comprimento de parte aérea (CPA), Comprimento de Raiz (CR), Massa seca de parte aérea (MSPA) e Massa seca de raiz (MSR) de plântulas de bucha dez dias após a semeadura (no papel *germitest*) das sementes tratadas com bioproduto à base de *Trichoderma harzianum* (Trichodermil®), dos acessos Faxinal do Soturno/RS e Santa Maria/RS.

## FAXINAL DO SOTURNO

TRATAMENTOS	G (%)	PC (%)	IVG	CPA (cm)	CR (cm)	MSPA (mg)	MSR (mg)
T1 Controle	92 a	34 a	11,95 a	3,86 a	9,30 a	3,27 a	4,37 a
T2 Trichodermil® 0,01mL	35 b	5 b	2,61 b	1,79 b	2,16 b	2,06 b	2,26 b
T3 Trichodermil® 0,10mL	30 b	6 b	2,96 b	1,86 b	2,08 b	2,36 b	2,56 b
T4 Trichodermil® 1,00mL	26 b	1 b	1,72 c	1,55 b	2,15 b	1,80 b	2,51 b
T5 Trichodermil® 10,0mL	16 b	1 b	1,19 c	1,63 b	2,20 b	1,10 b	2,10 b
CV%	21,4	35,5	23,0	12,8	8,4	28,7	32,2

## SANTA MARIA

TRATAMENTOS	G (%)	PC (%)	IVG	CPA (cm)	CR (cm)	MSPA (mg)	MSR (mg)
T1 Controle	63 a	15 a	31,00 a	3,66 a	7,14 a	9,67 a	6,67 a
T2 Trichodermil® 0,01mL	9 b	0 b	5,42 b	1,83 c	1,79 c	5,50 c	2,20 c
T3 Trichodermil® 0,10mL	11 b	0 b	6,90 b	1,52 c	1,96 c	6,50 c	2,70 c
T4 Trichodermil® 1,00mL	18 b	0 b	7,60 b	2,15 b	2,08 b	8,05 b	3,90 b
T5 Trichodermil® 10,0mL	16 b	0 b	4,85 b	2,08 b	2,26 b	6,50 c	2,70 c
CV%	32,9	38,5	31,7	9,1	5,7	7,4	11,3

\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Para os demais parâmetros referentes ao desenvolvimento inicial como comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR), nos dois acessos, os valores referentes ao tratamento controle (T1 – ausência de bioproduto) obtiveram melhor média quando comparados aos tratamentos (T2, T3, T4 e T5). Estes resultados são semelhantes com os do experimento de Silva et al. (2020) que aplicaram diferentes doses de bioproduto à base de trichoderma, independente do teor de vermicomposto, em sementes de tomate cereja propiciando efeito redutor no comprimento total em relação ao controle. Diferentemente dos resultados encontrados por Carvalho et al. (2011) que, avaliando o biocontrole de patógenos em sementes e promoção do crescimento de plântulas de feijão comum, utilizando *Trichoderma harzianum*, obtiveram valores superiores ao da testemunha, no comprimento de parte aérea.

Embora o T1 (controle) tenha se sobressaído em todas as variáveis analisadas, nota-se intrinsecamente aos tratamentos, que no acesso Santa Maria, maiores doses (T4-1,00mL e T5-10,0mL) proporcionaram um ganho maior em comprimento de parte

aérea (CPA) e comprimento de raiz (CR), e também em biomassa seca de parte aérea e de raiz no T4 (1,00mL), sugerindo uma melhor resposta do trichoderma nestas aplicações. A desuniformidade de resposta das variáveis e da espécie vegetal nos tratamentos é esclarecida pela existência de variabilidade entre linhagens de *Trichoderma* spp. e sua relação com atividade de biocontrole, adaptabilidade ecológica e ambiental, influenciando seu desempenho bioprotetor e promotor de crescimento (SILVA et al., 2015). Roberts et al. (2005) afirmam que atualmente são mais aceitos e considerados mais eficazes, produtos que contenham combinações de agentes biocontroladores, do que formulações simples no controle a fitopatógenos e promoção de crescimento das plantas.

No período de realização do experimento, não foi observada contaminação ou crescimento de outros fungos nas sementes dos dois acessos, tratadas com bioprodutos, e para tanto, Carvalho et al. (2011) afirmam que o tratamento de sementes por alguns isolados de *Trichoderma harzianum* possui maior potencial no controle biológico. Também, é possível perceber diferenças nas médias de algumas variáveis analisadas entre os acessos Faxinal do Soturno e Santa Maria. Bisognin (2002) e Joshi et al. (2010) explicam que a planta de bucha apresenta variações morfológicas e biométricas de acordo com a origem dos acessos. Diversos trabalhos têm relatado variabilidade entre acessos de bucha tanto na Ásia como nas Américas (ZHANG et al., 2008; FERREIRA et al., 2010; PRAKASH et al., 2013).

A Tabela 2 apresenta os dados referentes ao índice mitótico (IM) em células de pontas de raízes primárias de bucha, dos dois acessos. Nas pontas das raízes encontram-se células meristemáticas que sofrem divisão intensa, proliferando-se rapidamente em prol do crescimento destas. O cálculo do índice mitótico (IM) foi realizado baseado na porcentagem de células em divisão em relação ao número total de células analisadas (1000) em cada lâmina. Na avaliação citogenética das lâminas de ponta de raiz primária foram analisadas células em interfase e em divisão celular, onde nem todas as fases estavam presentes.

O índice mitótico (IM) das células, em todos os tratamentos se mostrou inferior ou neutro às médias do tratamento controle, isto observado pela relação direta nas menores médias obtidas no comprimento das raízes primárias, conforme apresentado na Tabela 1.

**Tabela 2** – Número de células meristemáticas de raízes primárias de bucha analisadas em interfase, divisão e os Índices Mitóticos (IM) em sementes tratadas com bioproduto à base de *Trichoderma harzianum* (Trichodermil®), dos acessos Faxinal do Soturno/RS e Santa Maria/RS.

## FAXINAL DO SOTURNO

TRATAMENTOS	Células em interfase	Células em divisão	IM (%)
T1 Controle (ausência de bioprodutos)	980	20	2,0 a
T2 Trichodermil® 0,01 mL	996	4	0,4 c
T3 Trichodermil® 0,10 mL	985	15	1,5 b
T4 Trichodermil® 1,00 mL	982	18	1,8 ab
T5 Trichodermil® 10,0 mL	995	5	0,5 c

## SANTA MARIA

TRATAMENTOS	Células em interfase	Células em divisão	IM (%)
T1 Controle (ausência de bioprodutos)	988	12	1,2 a
T2 Trichodermil® 0,01 mL	995	5	0,5 c
T3 Trichodermil® 0,10 mL	989	11	1,1 ab
T4 Trichodermil® 1,00 mL	987	13	1,3 a
T5 Trichodermil® 10,0 mL	992	8	0,8 bc

\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste X<sup>2</sup> (Qui-Quadrado) ao nível de 5% de probabilidade.

Embora, apresentem efeito neutro ao T1 (controle), as doses do T3 e T4 mostram resultado melhores no índice mitótico. Medeiros (2019) obteve em seu experimento, resultados inferiores às médias do tratamento controle no índice mitótico de raízes primárias de lentilha, quando usou no T4, *Bacillus* sp. (Rizos® 10,0 mL) e no T13, *Trichoderma* spp. (Majestic® 10,0g) associado à *Bacillus* sp. (Rizos® 1,00 mL) justificando que a ação antiproliferativa destes tratamentos teve efeito redutor no comprimento radicular.

A análise do índice mitótico das células de pontas de raízes secundárias de bucha, também levou em consideração as diferentes fases do ciclo celular (Tabela 3). Todas as fases da divisão celular foram encontradas, porém em número bem reduzido em relação à interfase (Figuras. 1 e 2). A interação trichoderma-bucha mostrou efeito neutro em algumas doses, T4 (4,8%) do acesso Faxinal e no T3 (1,9%) do acesso Santa Maria, em relação ao tratamento sem bioproduto (5,1% e 2,0% respectivamente) no cálculo de índice mitótico e efeito redutor nas demais doses (T2 e T5).

Assim, pode-se inferir que a ação antiproliferativa das células meristemáticas prejudicou o crescimento das raízes secundárias interferindo no desenvolvimento

inicial das plântulas de bucha. Mesmo sem diferença significativa do controle, alguns tratamentos (T3 e T4) apresentaram melhores índices de multiplicação celular e as fases do ciclo foram encontradas. Resultados semelhantes obtiveram Cadore et al. (2020) no trabalho com soja, quando tratamentos utilizando *Trichoderma* sp. associado à *Bradyrhizobium japonicum* líquido apresentaram uma redução no índice mitótico, quando comparados ao tratamento controle de 45,96% e 37,26%, respectivamente, embora na análise da proliferação celular todas as fases da divisão celular tenham sido encontradas.

**Tabela 3** – Número de células meristemáticas de raízes secundárias de bucha analisadas em interfase, divisão e os Índices Mitóticos (IM) em sementes tratadas com bioprodutos à base de *Trichoderma harzianum* (Trichodermil®), do acesso Faxinal do Soturno/RS e Santa Maria/RS.

FAXINAL DO SOTURNO			
TRATAMENTOS	Células em interfase	Células em divisão	IM (%)
T1 Controle (ausência de bioprodutos)	949	51	5,1 a
T2 Trichodermil 0,01 mL	959	41	4,1 bc
T3 Trichodermil® 0,10 mL	958	42	4,2 b
T4 Trichodermil® 1,00 mL	952	48	4,8 a
T5 Trichodermil® 1 0,0 mL	966	34	3,4 d

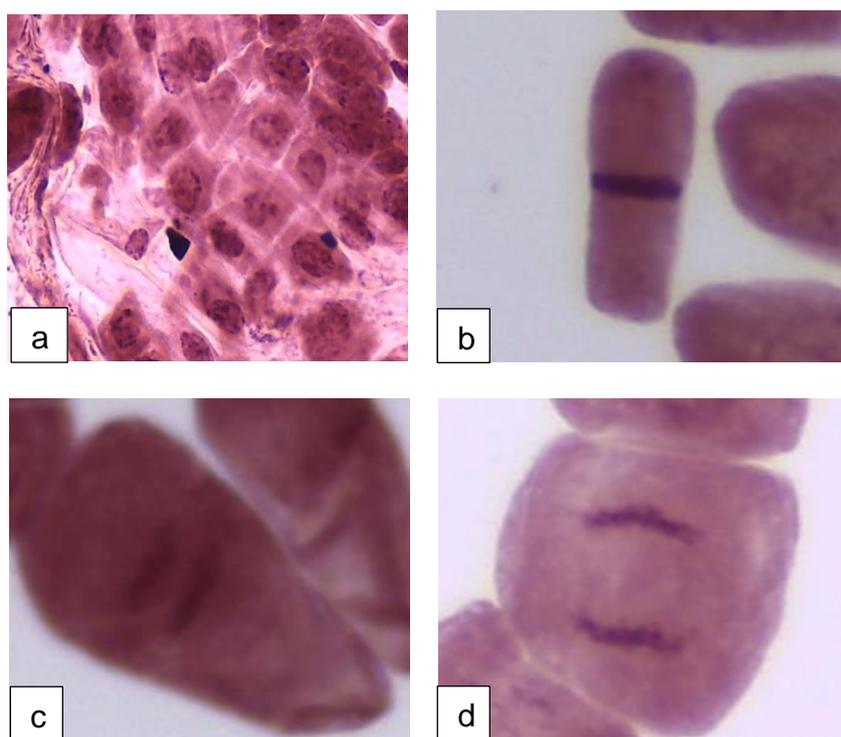
SANTA MARIA			
TRATAMENTOS	Células em interfase	Células em divisão	IM (%)
T1 Controle (ausência de bioprodutos)	980	20	2,0 a
T2 Trichodermil 0,01 mL	995	5	0,5 c
T3 Trichodermil® 0,10 mL	981	19	1,9 a
T4 Trichodermil® 1,00 mL	988	12	1,2 b
T5 Trichodermil® 1 0,0 mL	993	7	0,7 bc

\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste X<sup>2</sup> (Qui-Quadrado) ao nível de 5% de probabilidade.

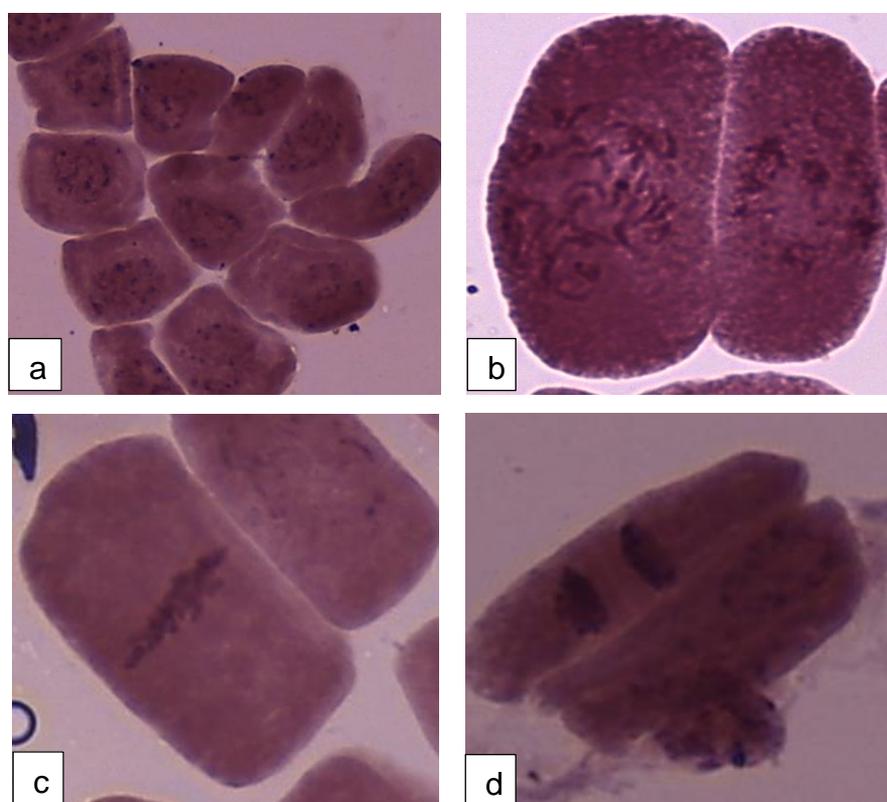
No entanto, Cadore et al. (2020) observaram resultados com melhor desenvolvimento radicular pela análise do índice mitótico das células meristemáticas de plântulas de soja, nos tratamentos utilizando *T. harzianum* associado a *B. japonicum* líquido e *T. harzianum* associado à turfa *B. japonicum*. Também Medeiros (2019), observou que alguns tratamentos com bioproduto à base do fungo *Trichoderma* combinado ou não com *Bacillus* sp se mostraram superiores no cálculo do índice mitótico em comparação ao tratamento controle, em raízes secundárias de lentilha.

Nesta análise também foram detectadas algumas células em apoptose (Figura 3) e isto significa que o contato do fungo com a semente mostrou mais uma reação negativa como a morte celular.

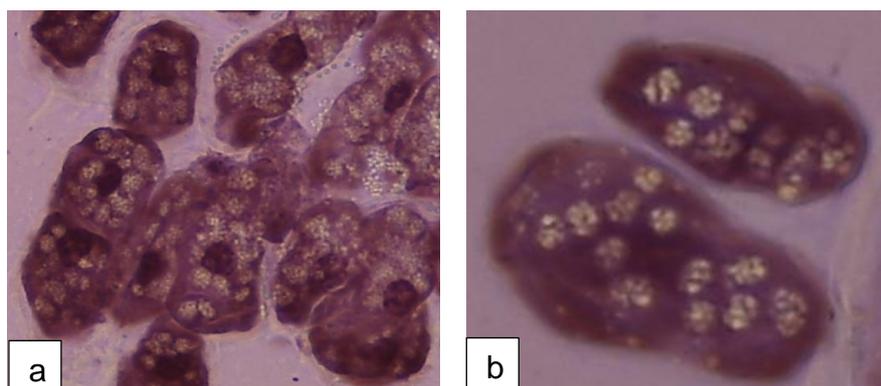
Eventos como o aumento do índice mitótico por influência do fungo trichoderma podem ser explicados por Contreras-Cornejo et al. (2009), que em um sistema de interação planta-fungo, estudaram a função da auxina, um regulador vegetal, observando que mudas de *Arabidopsis* do tipo selvagem, depois de inoculadas com *Trichoderma virens* ou *Trichoderma atroviride* responderam positivamente ao desenvolvimento de raízes laterais e aumentaram a produção da biomassa radicular pelo efeito estimulador da auxina produzida pelos microrganismos presentes. Diversos trabalhos mostram que determinados isolados, linhagens ou cepas de trichoderma, encontrados naturalmente ou em formulados comerciais podem promover o desenvolvimento de plantas ou não. Quando atuam favorecendo o desenvolvimento um dos seus maiores efeitos é o estímulo ao crescimento de raízes pela produção de metabólitos que induzem a multiplicação celular e a avaliação do índice mitótico é a forma utilizada para comprovar esta ação proliferativa. Ao avaliar o índice mitótico das pontas de raízes de *Allium cepa* foi possível selecionar cepas de trichoderma que induzem a divisão celular em pontas de raízes promovendo o crescimento radicular por ação de metabólitos e verificar variabilidade entre as cepas (AGUIAR et al., 2015).



**Figura 1** - Células em interfase (a), em divisão celular: metáfase (b), anáfase (c) e telófase (d) utilizadas no cálculo do índice mitótico de raízes secundárias de *Luffa cylindrica*, do acesso Faxinal do Soturno, em tratamentos com bioproduto à base de trichoderma. Escala de 10 $\mu$ m.



**Figura 2** - Células em interfase (a), em divisão: prófase (b), metáfase (c), anáfase (d), utilizadas no cálculo do índice mitótico de raízes secundárias de *Luffa cylindrica*, do acesso Santa Maria em tratamentos com bioproduto à base de trichoderma. Escala de 10 $\mu$ m



**Figura 3** - Células em apoptose em raízes primárias (a) e raízes secundárias (b) de *Luffa cylindrica* tratadas com bioproduto à base de trichoderma. Escala de 10µm

Nas tabelas 4 e 5 são apresentados dados referentes à germinação e desenvolvimento inicial de mudas de bucha. Na avaliação da variável germinação do acesso Faxinal do Soturno, houve resposta significativa ( $<0,05$ ) na inoculação de trichoderma no solo em comparação ao T1 (controle – 32%) com um acréscimo nos tratamentos T3 (74%) e T4 (80%). Pode-se inferir que a utilização de bioformulados à base de trichoderma nas doses intermediárias e superiores utilizadas neste experimento proporcionaram incremento no percentual de germinação das sementes. Do mesmo modo, Cadore et al. (2016) concluíram em seu trabalho, que as doses 0,10 mL de Trichodel® e 0,05mL de Masterfix®, bem como a combinação das mesmas, aumentaram a percentagem de germinação de sementes de arroz CV IRGA 424RI nas condições testadas.

A variável primeira contagem (PC) não apresentou diferença significativa em relação ao controle e, nos tratamentos (T3-0,10mL e T4-1,00mL) as doses do bioproduto à base de trichoderma não interferiram no IVE das plântulas de bucha. No T5 (10,0mL), a maior dose induziu a redução do comprimento de parte aérea, média significativa a 5% do teste Scott-Knott, em relação ao controle. Explicado por alguns autores, como Wiethan et al. (2018) que observaram em seu experimento o efeito negativo do trichoderma em doses superiores no crescimento de mudas de alface. Machado et al. (2015) utilizaram Trichodermil® (*Trichoderma harzianum*) na emergência e crescimento de mudas de cambará e também observaram que não houve incremento na altura das plântulas. De acordo com Machado et al. (2012), a ação do fungo trichoderma é específica e pode variar de acordo com a cultura, substratos, microrganismos presentes no solo, temperatura e umidade.

De um modo geral, aos dez dias após a germinação, não houve incremento da biomassa seca e fresca de parte aérea e de raiz, como revela a Tabela 4, mostrando ainda uma redução de massa fresca de parte aérea no T5 (22,76 mg), maior dose aplicada. Esses dados corroboram com os obtidos no ensaio de Cadore et al. (2016) quando não ocorreu incremento na massa de matéria fresca e seca de parte aérea de plantas de arroz CV IRGA 424 RI, aos 14 dias após a germinação. Resultados diferentes foram encontrados por Azevedo et al. (2017) onde observaram que além de atuar no biocontrole de fitopatógenos, o uso de duas espécies de *Trichoderma*, foram capazes de promover o desenvolvimento das mudas de eucalipto. Machado et al. (2015), nas análises em substrato não esterilizado, tratado com formulado comercial Trichodermil® também descrevem que não houve diferença significativa em relação à massa fresca de parte aérea e de raiz de mudas de cambará (*Gochnatia polymorpha*). Pedro et al. (2012) relatam que o aumento na produção de matéria seca e fresca pode variar de acordo com o isolado de trichoderma utilizado e a cultura.

**Tabela 4** - Germinação (G), Primeira contagem (PC), Índice de velocidade de Emergência (IVE), Comprimento de parte aérea (CPA) e raiz (CR), Massa fresca de parte aérea (MFPA), Massa fresca de raiz (MFR), Massa seca de parte aérea (MSPA) e Massa seca de raiz (MSR) de plântulas de bucha dez dias após a sementeira em solo tratado com bioprodutos à base de *Trichoderma harzianum*.

FAXINAL DO SOTURNO									
TRATAMENTOS	G (%)	PC (%)	IVE	CPA (cm)	CR (cm)	MFPA (mg)	MFR (mg)	MSPA (mg)	MSR (mg)
T1 Controle	32 b	12 a	5,59 a	9,04 a	7,30a	48,98 a	12,94 a	14 a	3,5 a
T2 Trichodermil® 0,01mL	18 c	4 a	2,50 b	8,66 a	6,99 a	50,56 a	12,48 a	16,6 a	3,5 a
T3 Trichodermil® 0,10mL	74 a	2 a	5,10 a	7,27 b	5,73 a	40,30 a	12,86 a	14,3 a	3,2 a
T4 Trichodermil® 1,00mL	80 a	2 a	7,42 a	8,63 a	5,48 a	43,28 a	13,60 a	13,6 a	3,6 a
T5 Trichodermil® 10,0mL	12 c	0 a	1,00 b	5,11 c	7,78 a	22,76 b	12,22 a	10,2 a	3,8 a
CV%	28,1	>30	>30	24,5	19,0	24,7	15,5	23,2	20,9
SANTA MARIA									
TRATAMENTOS	G (%)	PC (%)	IVE	CPA (cm)	CR (cm)	MFPA (mg)	MFR (mg)	MSPA (mg)	MSR (mg)
T1 Controle	72 a	18 b	12,14 a	4,65 a	6,04 a	26,10 a	13,08 b	8,8 a	4,9 b
T2 Trichodermil® 0,01mL	44 a	2 b	7,18 a	1,50 c	4,57 b	10,99 b	6,23 c	5,9 b	3,4 c
T3 Trichodermil® 0,10mL	66 a	10 b	12,20 a	3,47 b	4,72 b	20,90 a	11,63 b	8,3 a	5,5 b
T4 Trichodermil® 1,00mL	54 a	38 a	13,08 a	5,38 a	6,65 a	23,72 a	17,22 a	9,8 a	7,8 a
T5 Trichodermil® 10,0mL	50 a	6 b	9,86 a	3,56 b	5,19 b	20,55 a	11,42 b	8,2 a	6,8 a
CV%	33,2	>30	>30	26,0	14,6	19,0	15,4	14,2	20,6

\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Conforme os dados do acesso Santa Maria na Tabela 4, o percentual de germinação e o IVE, apresentaram efeito neutro nos tratamentos do solo com bioproduto comercial. Resultados semelhantes aos deste trabalho também foram encontrados por Martini et al. (2014) na cultura do arroz, em que tratamentos com a utilização de trichoderma não influenciaram de forma significativa o processo de germinação de sementes.

Já para a variável primeira contagem (PC), ao quarto dia após a semeadura, o efeito do T4 (1,00mL) superou o controle e os outros tratamentos, com média significativa pelo teste Scott-Knott ( $>0,05$ ) e para comprimento de parte aérea (CPA) mostrou que o tratamento T4 (1,00mL) não diferiu do controle (T1) e nos outros tratamentos houve redução do comprimento de parte aérea. Resultado diferente como promoção do crescimento de *Jacarandá micranta* foi obtido por Amaral et al. (2017) ao utilizar espécies de *Trichoderma* sp. combinado com vermicomposto no solo.

As variáveis massa fresca (MFPA) e seca de parte aérea (MSPA) não apresentaram dados satisfatórios no incremento da biomassa nas doses maiores (T3, T4 e T5) quando comparados ao tratamento sem trichoderma (T1). Este parâmetro sugere que não houve interação benéfica entre o microrganismo e a planta de bucha, que estimulasse o crescimento da parte aérea. Em contrapartida, Pedro et al. (2012) afirmam que isolados de *Trichoderma* spp., adicionados ao substrato proporcionaram aumentos superiores a 30% na produção de matéria seca da parte aérea das plantas de feijoeiro.

Para massa fresca (MFR) e seca (MSR) de raiz, o bioproduto agiu de forma significativa, ampliando os valores médios dos tratamentos T4 (1,00mL) com 17,22 mg ao T1 (controle) com 13,08 mg; e os tratamentos T4 com 0,78 mg e T5 (10,0mL) com 0,68 mg ao T1 com 0,49 mg, respectivamente. De acordo com estes dados, pode-se confirmar que as sementes de bucha do acesso Santa Maria, responderam melhor ao crescimento das raízes, nos tratamentos maiores (T4 e T5) deduzindo que o fungo *Trichoderma harzianum*, presente no bioproduto, no ambiente natural, pode comportar-se de maneira diferente por estar interagindo com a microbiota e nutrientes presente no solo e diretamente com o sistema radicular da planta. Diversos estudos revelam que espécies ou cepas de trichoderma, induzem a alongação radicular, aumentam a superfície de absorção e o crescimento de raízes secundárias. Hermosa et al. (2012) afirmam que espécies de trichoderma favorecem o desenvolvimento de

raízes laterais pela produção de fitohormônios como giberelinas e auxinas (AIA – ácido indolacético) estimulando o crescimento nas plantas. Fortes et al. (2007) relatam que houve promoção do desenvolvimento e melhor sanidade radicular em mudas de eucalipto quando aplicaram trichoderma no substrato para produção das mudas. Kleifeld e Chet (1992) reforçam que a habilidade de *T. harzianum* em promover o crescimento de plantas varia com o tipo de substrato, como nutrientes ou matérias orgânicas disponíveis e com a habilidade de competir com patógenos na rizosfera.

As disparidades observadas entre as variáveis dos acessos Faxinal do Soturno e Santa Maria podem ser esclarecidas por Blind et al. (2020) que em seu trabalho pesquisou a diversidade genética de acessos de *Luffa cylindrica* (bucha) e afirmou que o elevado grau de diversidade entre acessos de bucha foram demonstrados através de características quantitativas e de várias categorias morfológicas, evidenciando diferenças genéticas com ampla variabilidade em seus materiais. Portanto, as diferentes respostas que o fungo trichoderma pode gerar em tratamentos não estão associadas tão somente às espécies hospedeiras, mas aos componentes genéticos intraespecíficos.

Os dados apresentados na Tabela 5, do acesso Faxinal do Soturno, para avaliação da variável área superficial da raiz obteve-se melhores resultados nos T4 (31,9 cm<sup>2</sup>) e T5 (30,1 cm<sup>2</sup>), para diâmetro e volume o T4 (0,63 mm) e (0,50 cm<sup>3</sup>), respectivamente. No acesso Santa Maria houve aumento no incremento da superficial radicular (T5= 73,2 cm<sup>2</sup>), diâmetro (T5= 0,59 mm) e volume (T5= 1,08 cm<sup>3</sup>). A interação benéfica entre fatores como doses do bioproduto e planta de bucha correu para estas variáveis. Pode-se inferir que os resultados mostram que as doses dos tratamentos 4 e 5 se aproximam das ideais no desenvolvimento inicial da bucha.

Chagas et al. (2017) relatam que algumas cepas de trichoderma aumentam a área total do sistema radicular, permitindo maior acesso das raízes aos elementos minerais, porém, Bortolin et al. (2019) encontraram em *Paspalum regnellii* Mez, decréscimo nos valores de volume e área superficial de raiz, comparando aos demais tratamentos, na aplicação da dose superior em sementes, de um bioproduto à base de *Trichoderma harzianum*

**Tabela 5** - Área superficial (ASR), Diâmetro (DR) e Volume de raiz (VR) de plântulas de bucha dez dias após a semeadura em solo tratado com bioproduto à base de *Trichoderma harzianum* (Trichodermil®), dos acessos Faxinal do Soturno/RS e Santa Maria/RS.

FAXINAL DO SOTURNO			
TRATAMENTOS	ASR (cm <sup>2</sup> )	DR (mm)	VR (cm <sup>3</sup> )
T1 - Controle	25,47	0,55	0,35
T2 -Trichodermil®(0,01mL)	26,89	0,56	0,38
T3 -Trichodermil®(0,10mL)	21,44	0,54	0,32
T4 -Trichodermi®(1,00mL)	31,9	0,63	0,5
T5 -Trichodermil®(10,0mL)	30,13	0,55	0,41

SANTA MARIA			
TRATAMENTOS	ASR (cm <sup>2</sup> )	DR (mm)	VR (cm <sup>3</sup> )
T1 - Controle	29,1	0,47	0,34
T2 – Trichodermil®(0,01mL)	20,54	0,49	0,29
T3 – Trichodermil®(0,10mL)	36,22	0,53	0,41
T4 – Trichodermil®(1,00mL)	30,85	0,54	0,48
T5 - Trichodermil ®(10,0mL)	73,25	0,59	1,08

No trabalho de Silva et al. (2020), a maior concentração do bioproduto comercial à base de trichoderma (Ecotric WP), independente do teor de vermicomposto, proporcionou maior área radicular nas mudas de tomate cereja. Também Cadore et al. (2020) na avaliação da área superficial e volume radicular no uso de bioformulados com trichoderma, como princípio ativo, apresentou as maiores médias, proporcionando melhor desenvolvimento inicial para a cultura da soja.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos na realização deste trabalho, em papel *germitest*, utilizando bioproduto comercial à base de trichoderma (Trichodermil® x10<sup>9</sup> UFC de *Trichoderma harzianum*) em diferentes doses, em sementes de bucha de dois acessos, mostram influência negativa em todos os tratamentos para germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas na interação trichoderma-bucha. A análise do índice mitótico retrata o resultado apresentando ação neutra ou antiproliferativa das células em relação ao controle tanto em raízes primárias quanto secundárias.

Para tratamento de substrato a ação do bioproduto Trichodermil® apresentou diversidade de resultados nas variáveis analisadas e entre os acessos. No acesso Faxinal do Soturno a aplicação do bioproduto estimulou a germinação no T3 (0,10mL)

e T4 (1,00mL), estes não diferiram significativamente no índice de velocidade de emergência do T1 (controle) e mostrou efeito neutro na primeira contagem e na biomassa fresca de raiz e seca de parte aérea. No comprimento de parte aérea e raiz, massa fresca de parte aérea e seca de raiz, apenas o T5 (10,0mL) apresentou efeito redutor comparando com T1 e demais tratamentos. No acesso Santa Maria a germinação e o IVE mostraram efeito neutro. Tamanho de plântula, biomassa fresca e seca de parte aérea sem diferença significativa em alguns tratamentos (T3, T4 e T5), enquanto as variáveis PC, MFR e MSR tiveram influência positiva nos T4 e T5 em relação ao controle (T1). Pode-se inferir que o T4 (1,00mL) destacou-se como dose que respondeu melhor para algumas variáveis principalmente no acesso Santa Maria e para o acesso Faxinal do Soturno, a dose 10,0mL (T5) na maioria das variáveis mostrou efeito redutor. Nas variáveis área superficial da raiz obteve-se o melhor resultado nos T4 e T5, no diâmetro e volume o T4, para o acesso Faxinal do Soturno. No acesso Santa Maria houve aumento no incremento da superficial radicular, diâmetro e volume no T5. Houve uma interação favorável entre fatores como doses do bioproduto e planta de bucha no desenvolvimento inicial, relativo a estes parâmetros.

A partir deste estudo foi possível perceber que doses maiores aplicadas no substrato contribuíram no desenvolvimento da bucha, em alguns aspectos. Mesmo assim não foi possível determinar a dose ideal para a cultura porque os resultados não foram uniformes e serão necessárias mais pesquisas para confirmar a eficiência destas e outras doses aproximadas para compreender melhor a interação microrganismo-planta.

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Santa Maria e ao programa de Pós-Graduação em Agrobiologia pela formação acadêmica proporcionada.

À chefia do Departamento de Biologia, por dar a oportunidade de poder fazer o curso de Pós-Graduação.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, A.R. et al. Efeito de metabólitos produzidos por *Trichoderma* spp. sobre o índice mitótico em células das pontas de raízes de *Allium cepa*. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 3, p. 934-940, 2015.
- AMARAL, P. P. et al. Promotores de crescimento na propagação de caroba. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 37, n. 90, 2017.
- AZEVEDO, G. B. et al. Effect of *Trichoderma* spp. on *Eucalyptus camaldulensis* clonal seedlings growth. **Scientia Forestalis**, v. 45, n. 114, p. 343-352, 2017. DOI: [dx.doi.org/10.18671/scifor.v45n114.10](https://doi.org/10.18671/scifor.v45n114.10)
- BERNARDO, E. R. A.; BETTOL, W. Controle da pinta preta dos frutos cítricos em cultivo orgânico com agentes de biocontrole e produtos alternativos. **Tropical Plant Pathology**, v.35, n.1, 2010.
- BLIND, A.D. et al. Estimativa de parâmetros genéticos, análise de trilha e seleção em bucha vegetal para caracteres agronômicos. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.13, n. 2, p. 1-8, 2018.
- BLIND, A. D.; BLIND, M. R.; BLIND, E. J. 2013. Produtos e compósitos naturais de esponja vegetal (*Luffa cylindrica*) com aplicação dermo-cosmética, industrial e doméstica. **1ª Competição de Planos de Negócios Inovadores do Amazonas - FUCAPI/FAPEAM/SECTI**, 1. ed. Manaus-AM, 24 p (Plano vencedor - 1º lugar).
- BLIND, A. D. et al. Marcadores moleculares e descritores morfo-agronômicos na avaliação da diversidade genética de bucha (*Luffa cylindrica*) **Colloquium Agrariae**, v,16, n. 1, p.66-76., 2020.
- BISOGNIN, D. A. Origin and evolution of cultivated cucurbits. **Ciência Rural**, v.32, n.5, p.715- 723, 2002.
- BORTOLIN, G. S. et al. *Trichoderma* na promoção do desenvolvimento de plantas de *Paspalum regnellii* Mez. **Revista de Ciências Agrárias**, v.42, n.1, p.135-145, 2019.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, p.399, 2009.
- CADORE, L. S. et al. Inoculação de sementes com *Trichoderma harzianum* e *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento inicial de arroz. **Enciclopédia Biosfera**, v.13, n.24, p.1725-1730, 2016.
- CADORE, L. S. et al. Crescimento e divisão celular radicular em soja na presença de trichoderma de base e bioprodutos de *Bradyrhizobium japonicum*. **Ciência e Natura**, v. 42, 2020.
- CADORE, L. S. et al. *Trichoderma* and *Bradyrhizobium japonicum* bioformulates on soy initial growth. **Ciência e Natura**, v. 42, 2020.

CARVALHO, D.D.C. et al. Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in vitro e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, v..36, n.1, p.28-34, 2011.

CHAGAS, L. F. B. et al. *Trichoderma asperellum* efficiency in soybean yield components. **Comunicata Scientiae**, v.8, n.1, p.165-169, 2017.

CONTRERAS-CORNEJO, H. A. et al. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 149, n. 3, p. 1579-1592, 2009.

ETHUR, L. Z. et al. *Trichoderma asperellum* na produção de mudas contra a fusariose do pepineiro. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.11, n.4, p.73-84, 2012.

FERRÃO, J.E.M. **Fruticultura tropical**: espécies com frutos comestíveis. Lisboa: Instituto de Investigação Científica Tropical, 2001. 580p.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.

FERREIRA, I. C. P. V. et al. Caracterização morfológica de frutos de 17 acessos de bucha vegetal cultivados no Norte de Minas Gerais. **Horticultura Brasileira**, v.28, n.2, p.2192-2198, 2010.

FORTES, F. O. et al. Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. por *Trichoderma* spp. **Revista Árvore**, v.31, p.221-228, 2007.

GUERRA, A.; SOUZA, M.J. **Como observar os cromossomos**: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002.

HERMOSA, R. et al. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, v. 158, p. 17-25, 2012.

JOSHI, B.K. et al. Evaluation of sponge gourd landraces in line with the reliability of names given by farmers. nepal **Journal of Science and Technology**, v.11, p. 9-16, 2010. <https://doi.org/10.3126/njst.v11i0.4083>

JUNGES, E. et al. *Trichoderma* spp. na produção de mudas de espécies florestais. **Floresta e Ambiente**, v.23, n.2, p.233-244, 2016.

KLEIFELD, O.; CHET, I. *Trichoderma harzianum* – interaction with plants and effect on growth response. **Plant and Soil, Australia**, v.144, p.267-272, 1992.

KAVOO-MWANGI, A. M. et al. Growth effects of microorganisms based commercial products inoculated to tissue cultured banana cultivated in three different soils in Kenya. **Applied Soil Ecology**, v. 64, p. 152-162, 2013.

LUCON, C. M. M. **Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma* spp.** 2009. Artigo em Hipertexto. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2009\\_1/trichoderma/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/trichoderma/index.htm)>. Acesso em 22 de abril de 2016.

LUCON, C. M. M. ***Trichoderma*: o que é, para que serve e como usar corretamente na lavoura.** São Paulo: Instituto Biológico, p. 35, 2014.

MACHADO, D. F. M. et al. *Trichoderma* no Brasil: O fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v.35, p.274-288, 2012.

MACHADO, R.G. et al. Promoção de crescimento de *Lotus corniculatus* L. e *Avena strigosa* Schreb pela inoculação conjunta de *Trichoderma harzianum* e rizóbio. **Ciência e Natura**, v.33, n.2, 2011.

MACHADO, D.F.M. et al. *Trichoderma* spp. na emergência e crescimento de mudas de Cambará (*Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera). **Revista Árvore**, v. 39, n. 1, p, 167-176, 2015.

MAGUIRE, J.D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, p. 176-177, 1962.

MARTINI, L. B., ETHUR, L. Z., DORNELES, K. R.; Influência de metabólitos secundários de *Trichoderma* spp. no desenvolvimento de fungos veiculados pelas sementes e na germinação de sementes de arroz. **Ciência e Natura**, v. 36, n. 2, p. 86-91, 2014.

MEDEIROS, L. B. **Bioprodutos com *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp. no desenvolvimento inicial de lentilha.** 2019. 53f. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) – Universidade Federal de Santa Maria, Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Santa Maria, 2019.

MILANESI, P. M. et al. Detecção de *Fusarium* spp. e *Trichoderma* spp. e antagonismo de *Trichoderma* sp. em soja sob plantio direto. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 3219-3233, 2013.

MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M. Secondary metabolism in *Trichoderma*—a genomic perspective. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 35-45, 2012.

NAKAGAWA, J. Teste de vigor baseado no desempenho das plântulas. In: KRZYZAMOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (ed.). **Vigor de sementes: conceito e testes.** Londrina: ABRATES, p.1-24, 1999.

NIETO-JACOBO, M. F. et al. A. Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. **Frontiers in Plant Science**, v.8, p.102, 2017. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00102>

OBOH, O.; ALUYOR, E. O. *Luffa cylindrica* - an emerging cash crop. **African Journal of Agricultural Research**, v. 4, n. 8, p. 684-688, 2009.

PASCALE A. et al. *Trichoderma* and its secondary metabolites improve yield and quality of grapes. **Crop Protection**, v. 92, p.176-181, 2017.

PEDRO, E.A.S. et al. Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.47, n.11, p.1589-1595, 2012.

PRAKASH, K. et al. Morphological variability in cultivated and wild species of *Luffa* (Cucurbitaceae) from Índia. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 60, n. 8, p. 2319-2329, 2013.

ROBERTS, D. P. et al. Biocontrol agents applied individually and in combination for suppression of soilborne diseases of cucumber. **Crop Protection**, v. 24, p. 141-155, 2005.

SILVA, G. B. P. et al. Identificação e utilização de *Trichoderma* spp. armazenados e nativos no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Revista Caatinga**, v. 2, p. 33-42, 2015.

SILVA, N. G. et al. Vermicompost and trichoderma in the development of cherry group tomato seedlings. **Ciência e Natura**, v. 42, 2020.

TEDESCO, S. B.; LAUGHINGHOUSE, H. D. Bioindicator of genotoxicity: The *Allium cepa* test. **Environmental Contamination**, 2012.

WIETHAN, M. M. S. et al. Initial development of *Lettuce* in vermicompost at higher trichoderma doses. **Horticultura Brasileira**, v.36, n.1, p.77-82, 2018.

WOO S. L. et al. *Trichoderma*-based biostimulants modulate rhizosphere microbial populations and improve n uptake efficiency, yield, and nutritional quality of leafy vegetables. **Frontiers in Plant Science**, v.9, p. 743, 2018.

ZHANG, S.; HU, J.; XU, S. Developmental genetic analysis of fruit shape traits under different environmental conditions in sponge gourd (*Luffa cylindrica* (L) Roem. Violales, Cucurbitaceae). **Genetics and Molecular Biology**, v.31, n.3, p. 704-710, 2008.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na realização deste trabalho verificou-se que interação planta-microrganismo acontece obedecendo a condições ideais para o fungo trichoderma, atuando favoravelmente ou não no desenvolvimento inicial da planta, de acordo com o ambiente, com as peculiaridades da planta e com a linhagem envolvida. A planta de bucha oriunda de acessos diversos apresentou variabilidade entre populações, para parâmetros morfológicos e biométricos estudados. Assim o bioproduto comercial contendo *Trichoderma harzianum* respondeu de forma diferente às variáveis estudadas no que tange aos tratamentos em ambos experimentos: tratamento de sementes com diferentes doses do bioproduto com semeadura em substrato papel *germitest* e tratamento de solo (substrato comercial) com mesmas doses do bioproduto e semeadura para obtenção de mudas de bucha. De acordo com o exposto, como houve variação nos parâmetros estudados em resposta às doses de trichoderma em interação com acessos de bucha, não foi possível determinar a dose ideal para a cultura, sendo necessárias mais pesquisas para confirmar a dosimetria e compreender melhor a interação trichoderma-bucha. Experimentos testando mais de uma linhagem de trichoderma, individualmente ou associadas com esta espécie vegetal, em casas de vegetação e a campo, poderão trazer resultados mais promissores.

A realização deste trabalho espera contribuir com futuros trabalhos de pesquisa que auxiliem os pequenos agricultores na utilização de doses eficazes de produtos biológicos a base de trichoderma, de baixo custo e menos danosos à saúde e ao meio ambiente, visando a produção de mudas de bucha.