UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

FATORES DA PRODUÇÃO DE MILHO EM FUNÇÃO DA ADUBAÇÃO ORGÂNICA E DE *Trichoderma* spp.

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Miria Rosa Durigon

Santa Maria, RS, Brasil
2012

FATORES DA PRODUÇÃO DE MILHO EM FUNÇÃO DA ADUBAÇÃO ORGÂNICA E DE *Trichoderma* spp.

Miria Rosa Durigon

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

Orientador: Prof[a]. Ph.D. Elena Blume

Santa Maria, RS, Brasil
2012

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática
da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Durigon, Miria Rosa
Fatores da produção de milho em função da adubação orgânica e de Trichoderma spp. / Miria Rosa Durigon.-2012.
83 f.; 30cm

Orientadora: Elena Blume
Coorientadora: Marlove Fátima Brião Muniz
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, RS, 2012

1. Produtividade 2. Matéria seca 3. Podridões de colmo 4. Dejetos 5. Controle biológico I. Blume, Elena II. Brião Muniz, Marlove Fátima III. Título.

Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Agronomia

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

FATORES DA PRODUÇÃO DE MILHO EM FUNÇÃO DA ADUBAÇÃO ORGÂNICA E DE *Trichoderma* spp.

elaborada por
Miria Rosa Durigon

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Agronomia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Elena Blume, Ph.D.
(Presidente/Orientador) – UFSM

Marlove Fátima Brião Muniz, Dra.
(Co-orientadora) – UFSM

Luciana Zago Ethur, Dra.
(Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA)

Santa Maria, 23 de fevereiro de 2012.

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais Mario Celino e Maria Lucia pelo auxílio, compreensão, carinho e incentivo durante toda minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

À Deus, pelo dom da vida.

À minha família, pelo apoio, incentivo e compreensão.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade oferecida de realização do mestrado.

À CAPES, pela concessão de bolsa de mestrado.

À minha orientadora, prof. Ph.D. Elena Blume, por ter acreditado em meu trabalho e pelo apoio e auxílio prestados durante os cinco anos de convivência, essenciais para minha formação pessoal e profissional.

Ao prof. Dr. Carlos Alberto Ceretta, por ter possibilitado a realização do presente trabalho.

À prof. Dra. Marlove Muniz, co-orientadora do trabalho e membro da banca examinadora, pelas contribuições e colaboração.

À Dra. Luciana Zago Ethur, membro da banca examinadora, pela disponibilidade em contribuir com meu trabalho.

A Jackson Berticelli Cerini, Felipe Lorensini, Mateus Trindade, Dênis Schapanski e Michael Klering, pela colaboração no planejamento e realização do trabalho.

Ao pessoal do Laboratório de Fitopatologia, em especial a Paola Milanesi, Ricardo Feliciano, Leise Heckler, Emanuele Junges, Geísa Finger, Marciéli Bovolini, Letícia Frizzo, Marília Lazarotto e Gerarda Beatriz Pinto, pelo apoio no planejamento e realização das atividades, pela amizade e pelos ótimos momentos passados juntos. Levarei sempre vocês em meu coração.

À Maria Weber, pela colaboração durante a execução do trabalho, enriquecendo-o, e pelas palavras de apoio quando tudo parecia tão difícil. Você tornou meus dias mais alegres!

A Fernando Saccol Gnocato, pela ajuda e amizade.

Aos demais que, de alguma forma, participaram dessa etapa de minha vida, meu sincero agradecimento.

Não passo pela vida. E você também não deveria passar. Viva! Bom mesmo é ir à luta com determinação, abraçar a vida com paixão, perder com classe e vencer com ousadia, porque o mundo pertence a quem se atreve e a vida é muito para ser insignificante."

Augusto Branco

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

FATORES DA PRODUÇÃO DE MILHO EM FUNÇÃO DA ADUBAÇÃO ORGÂNICA E DE *Trichoderma* spp.

AUTORA: MIRIA ROSA DURIGON
ORIENTADORA: ELENA BLUME
Local e Data da Defesa: Santa Maria, 23 de fevereiro de 2012.

A expansão da área cultivada com milho (*Zea mays* L.) e a utilização do plantio direto sem uma rotação de culturas adequada têm aumentado a incidência de podridões de colmo nessa cultura, devido à sobrevivência dos patógenos causadores da doença (*Fusarium* spp., *Diplodia* spp., *Colletotrichum graminicola*, entre outros) no solo e em restos culturais. A adubação tem apresentado efeitos positivos sobre a cultura, mas pouco se sabe sobre sua relação com esses patógenos e os organismos que promovem seu controle. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito a curto e longo prazos da adubação orgânica e o efeito do tratamento de sementes de milho com *Trichoderma* spp. sobre a população de fungos totais, *Fusarium* spp. e *Trichoderma* spp. no solo e a produção de matéria seca (MS), acúmulo de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) no tecido e nos grãos, a incidência de podridões de colmo e a produtividade de milho. O experimento foi conduzido na área experimental do Departamento de Solos da Universidade Federal de Santa Maria, que possui histórico de seis anos de aplicação de adubos orgânicos e mineral, e constituiu-se em um fatorial 5 (tratamentos de adubação) X 2 (tratamento das sementes), com parcelas subdivididas em faixas, sendo utilizado o delineamento blocos casualizados. Os tratamentos de adubação (dejeto líquido de suínos; cama sobreposta de suínos; dejeto líquido de bovinos; adubação mineral; tratamento testemunha) foram aplicados nas parcelas e o tratamento das sementes (com e sem *Trichoderma* spp.) nas subparcelas (faixas). Foi utilizado o híbrido 30F53 Y, da empresa Pioneer®, espaçamento entre linhas de 45 cm e população final de 78000 plantas por hectare. Amostras de solo foram coletadas antes, para análise química, e antes e após a aplicação dos tratamentos para caracterização da população fúngica do solo. Em laboratório, foi realizada a diluição serial das amostras e quantificação dos fungos presentes. No estádio de florescimento foram coletadas três plantas de milho por subparcela para a avaliação da produção de matéria seca e acúmulo de nutrientes no tecido. No estádio de maturação fisiológica, foram realizadas a avaliação da incidência de podridões de colmo e a colheita das espigas para o cálculo da produtividade. Também foi determinado o teor de nutrientes nos grãos de milho. Os adubos orgânicos dejeto líquido de suínos e cama sobreposta de suínos, em longo prazo, aumentaram a população de *Fusarium* spp. no solo. Os adubos orgânicos e mineral aumentaram a produção de MS e a produtividade de milho. *Trichoderma* spp. aumentou a produção de MS de milho, porém não teve reflexo sobre a produtividade. Os adubos orgânicos aumentaram a incidência de podridões de colmo no milho. A cama sobreposta de suínos e o dejeto líquido de bovinos aumentaram o teor de P e K no tecido das plantas de milho. Conclui-se que: os adubos orgânicos podem ser utilizados para aumentar a produção de MS e a produtividade de milho e; *Trichoderma* spp. pode ser utilizado quando se objetiva maior produção de MS.

Palavras-chave: Produtividade. Matéria seca. Podridões de colmo. Dejetos. Controle biológico.

ABSTRACT

Master of Science Dissertation
Graduate Program in Agronomy
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

FACTORS OF CORN PRODUCTION AS A FUNCTION OF ORGANIC FERTILIZER AND *Trichoderma* spp.

AUTHOR: MIRIA ROSA DURIGON
ADVISOR: ELENA BLUME
Location and Date of Presentation: Santa Maria, 23 February 2012.

The expansion of area under maize (*Zea mays* L.), and the use of no-till without a proper crop rotation have increased the incidence of stalk rot on this crop, due to the survival of this disease-causing pathogens (*Fusarium* spp., *Diplodia* spp., *Colletotrichum graminicola*, among others) in soil and crop residues. Fertilization has shown positive effect on the crop, but little is known about its relation to these pathogens and the organisms that control them. The objective of this study was to evaluate the effect of short and long-term of organic and mineral fertilizers and the effect of treatment of corn seeds with *Trichoderma* spp. Persson on the population of total fungi, *Fusarium* spp., and *Trichoderma* spp. in the soil and the production of dry matter (DM), accumulation of nitrogen (N), phosphorus (P) and potassium (K) in the tissue and grains, the incidence of stalk rot and corn yield. The experiment was conducted at the experimental area of the Soils Department, Federal University of Santa Maria, which has a history of six years application of organic and mineral fertilizers, and consisted in a factorial 5 (fertilization treatments) X 2 (seeds treatment) with split-plot in strips, using the randomized block design. The fertilization treatments (pig slurry; swine deep bedding; cattle slurry; mineral fertilizer; control treatment) were applied to the plots and the seeds treatment (with and without *Trichoderma* spp.) in the subplots (strips). It was used the hybrid Pioneer ® 30F53 Y, with 45 cm row spacing and final population of 78,000 plants per hectare. Soil samples were collected before application of treatments, for chemical analysis, and before and after, to characterize the soil fungal population. In the laboratory, dilution of samples and quantification of the fungi present was performed. At the flowering stage, three corn plants per subplot were collected for the assessment of DM production and nutrient accumulation in the tissue. At physiological maturity stage, the incidence of stalk rot was assessed, and the ears of corn harvested for productivity assessment. Nutrient content in corn kernels was also determined. The organic fertilizers pig slurry and swine deep bedding, in the long-term, increased population of *Fusarium* spp. in the soil. The organic and mineral fertilizers increased the production of DM and productivity of corn. *Trichoderma* spp. increased the production of DM of corn, but had no reflection on productivity. Both factors increased the incidence of stalk rot in corn. The swine deep bedding and cattle slurry increased the content of P and K in the tissue of corn plants. It is concluded that: the organic fertilizers can be used to increase the production of DM and productivity of corn and; *Trichoderma* spp. can be used if the objective is greater DM production.

Keywords: Productivity. Dry matter. Stalk rot. Wastes. Biological control.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Homogeneização dos dejetos líquidos para aplicação nas parcelas. Santa Maria, RS. 2010. 32
Figura 2 – Irrigação, por aspersão, do experimento. Santa Maria, RS. 2010..... 34
Figura 3 – Homogeneização, em agitador, da suspensão de solo contida nos frascos. 36
Figura 4 – Material utilizado para as diluições de solo, em câmara de fluxo laminar..... 37
Figura 5 – Observação visual dos entrenós inferiores dos colmos de milho, para identificação de plantas sintomáticas. Santa Maria, RS. 2011. 40
Figura 6 – Exemplos de (A) colmo sadio; (B), (C) e (D) colmos doentes. Santa Maria, RS. 2011. 40
Figura 7 – Colmos de milho apresentando os fungos (A) *Fusarium* spp. e (B) *Diplodia* spp., neste com os cirros de conídios. Santa Maria, RS. 2011. 59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química e teor de matéria seca dos dejetos líquidos de suínos e de bovinos e da cama sobreposta de suínos e quantidades adicionadas nas parcelas. Santa Maria, RS. 2010..... 29
Tabela 2 – Características químicas do solo no início do experimento (outubro/2010). Santa Maria, RS. 2010. 31
Tabela 3 – Fungos totais no solo (UFC g^{-1} de solo) em função da adubação orgânica e mineral após 6 anos. 42
Tabela 4 – *Fusarium* spp. no solo (UFC g^{-1} de solo) em função da adubação orgânica e mineral após 6 anos. 43
Tabela 5 – Fungos totais no solo (UFC g^{-1} de solo) em função da adubação orgânica e mineral e das épocas de coleta. 45
Tabela 6 – *Fusarium* spp. no solo (UFC g^{-1} de solo) em função da adubação orgânica e mineral e das épocas de coleta. 46
Tabela 7 – *Trichoderma* spp. no solo (UFC g^{-1} de solo) em função da adubação orgânica e mineral e das épocas de coleta..... 47
Tabela 8 – Matéria seca (kg ha^{-1}) de parte aérea das plantas de milho em função da adubação orgânica e mineral e do tratamento das sementes com *Trichoderma* spp..... 49
Tabela 9 – Teor (%) de nitrogênio no tecido de plantas de milho em função da adubação orgânica e mineral e do tratamento das sementes com *Trichoderma* spp. 51
Tabela 10 – Teor (%) de fósforo no tecido de plantas de milho em função da adubação orgânica e mineral e do tratamento das sementes com *Trichoderma* spp..... 52
Tabela 11 – Teor (%) de potássio no tecido de plantas de milho em função da adubação orgânica e mineral e do tratamento das sementes com *Trichoderma* spp..... 53
Tabela 12 – Teor (%) de nitrogênio nos grãos de milho em função da adubação orgânica e mineral e do tratamento das sementes com *Trichoderma* spp. 55
Tabela 13 – Incidência (%) de podridões de colmo do milho em função da adubação orgânica e mineral e do tratamento das sementes com *Trichoderma* spp..... 57
Tabela 14 – Produtividade (kg ha^{-1}) do milho em função da adubação orgânica e mineral e do tratamento das sementes com *Trichoderma* spp..... 61

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice A – Análise de variância para as variáveis respostas referentes à população fúngica do solo. 77
Apêndice B – Análise de variância para as variáveis respostas referentes aos fatores de produção em milho..... 78

LISTA DE ANEXOS

Anexo A – Análise do solo nas parcelas com histórico de aplicação de adubos orgânicos e mineral na área experimental, anteriormente à realização do experimento..... 80
Anexo B – Meio de cultura seletivo para *Trichoderma* spp. (MST). 81
Anexo C – Meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA). 82
Anexo D – Meio de cultura Nash-Snyder (NS). 83

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 15
1.1 Objetivo geral 16
1.2 Objetivos específicos 17
1.3 Hipóteses 17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 18
2.1 A cultura do milho 18
2.2 Doenças do milho 18
2.3 Podridões de colmo no milho 19
2.3.1 *Fusarium* spp. 20
2.3.2 *Diplodia macrospora* e *D. maydis* 20
2.3.3 *Colletotrichum graminicola* 21
2.4 Controle químico 21
2.5 Métodos de controle alternativo 21
2.5.1 Controle biológico 22
2.5.1.1 *Trichoderma* spp. 22
2.5.2 Adubação orgânica 23
2.5.2.1 Aporte de nutrientes ao solo 24
2.6 População fúngica do solo 25
3 MATERIAL E MÉTODOS 27
3.1 Localização, solo e histórico da área 27
3.2 Delineamento experimental, tratamentos e procedimento estatístico 27
3.3 Características dos dejetos 28
3.4 Coleta e análise das amostras de solo 30
3.5 Adubação do solo 31
3.6 Tratamento das sementes de milho com *Trichoderma* spp. 32
3.7 Semeadura do milho 33
3.8 Tratamentos fitossanitários 33
3.9 Irrigação 34
3.10 Avaliações 34
3.10.1 População de fungos totais, *Fusarium* spp. e *Trichoderma* spp. no solo 35
3.10.2 Produção de matéria seca e acúmulo de N, P e K no tecido e grãos de milho 38
3.10.3 Incidência de doenças causadas por patógenos radiculares 39
3.10.3.1 Estádio plantular 39
3.10.3.2 Estádio de maturação fisiológica 39
3.10.4 Identificação dos agentes causais das podridões de colmo 41
3.10.5 Produtividade 41
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 42
4.1 População de fungos totais, *Fusarium* spp. e *Trichoderma* spp. no solo 42
4.1.1 Efeito da adubação orgânica e mineral em longo prazo 42
4.1.2 Efeito da adubação orgânica e mineral e das épocas de coleta 44
4.1.3 Efeito da adubação orgânica e mineral e do tratamento das sementes com *Trichoderma* spp. 47
4.2 Matéria seca das plantas de milho 48
4.3 Acúmulo de N, P e K no tecido das plantas de milho 50
4.4 Acúmulo de N, P e K nos grãos de milho 54
4.5 Incidência de doenças causadas por patógenos radiculares 56
4.5.1 Estádio plantular 56

4.5.2 Estádio de maturação fisiológica.....56
4.5.3 Identificação dos agentes causais das podridões de colmo.....58
4.6 Produtividade.....60
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS 63
6 CONCLUSÕES 64
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 65
APÊNDICES 76
ANEXOS..... 79

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor de milho no mundo, tendo alcançado uma produção de 56,10 milhões de toneladas na safra 2009/10, ficando atrás somente da China, com 163,97 milhões de toneladas, e dos Estados Unidos, com 332,55 milhões de toneladas (USDA, 2011). Apesar dessa grande produção, a produtividade média no Brasil ainda é considerada baixa, tendo sido de 4158 kg ha^{-1} na mesma safra, enquanto nos Estados Unidos foi de 10340 kg ha^{-1} (CONAB, 2010; USDA, 2011). Essa baixa produtividade média de milho no Brasil indica que ainda há uma longa caminhada a fim de que se possam alcançar os níveis de produtividade e rentabilidade potenciais da cultura.

Dentre os fatores que se constituem num entrave ao aumento da produtividade da cultura do milho estão as doenças, que tiveram um aumento nos últimos anos principalmente devido a adoção do sistema de semeadura direta, que mantém os restos culturais na superfície do solo, possibilitando a sobrevivência de fitopatógenos nos mesmos, de forma saprofítica; utilização de cultivos sucessivos de milho, não respeitando um dos princípios da semeadura direta, que é o uso da rotação de culturas; a utilização de irrigação, que proporciona uma microclima mais favorável a maioria dos fitopatógenos que causam doenças na cultura; a seleção de híbridos visando maior produtividade, deixando de lado a resistência a doenças, entre outros. Todos esses fatores levaram a um aumento na incidência de doenças causadas por patógenos radiculares, em especial, as podridões de colmo.

A maioria das podridões de colmo do milho é causada por fungos que provocam lesões na casca e no tecido interno do colmo, principalmente nos entrenós inferiores da planta, podendo levar a uma redução do tamanho e peso de grãos, tombamento e/ou morte prematura de plantas. O controle químico de tais doenças não é eficiente, já que os patógenos encontram-se no solo, dificultando o contato do produto com os mesmos. Além disso, os produtos químicos estão sendo cada vez mais evitados pelo fato de causarem efeitos negativos sobre o meio ambiente e os seres vivos, contaminando espelhos d’água e, muitas vezes, intoxicando seres humanos e animais. Dessa forma, métodos alternativos no controle de tais doenças são cada vez mais pesquisados, visando uma maior sustentabilidade da produção de milho.

Dentre os métodos estudados para o controle de doenças causadas por patógenos radiculares está o controle biológico, que pode ser realizado através da utilização de agentes microbianos (fungos ou bactérias). Um dos agentes mais estudados atualmente e que vem

sendo muito utilizado é *Trichoderma* spp. Persson, um habitante natural do solo, que sobrevive saprofiticamente, nutrindo-se da matéria orgânica, e que possui algumas propriedades antimicrobianas, dentre as quais se destacam: a capacidade de parasitar fungos (micoparasitismo), a liberação de antibióticos tóxicos a micro-organismos, a liberação de enzimas que degradam a parede celular de fungos, além de sua facilidade de crescimento e reprodução, que o torna um grande competidor no solo, especialmente por espaço e nutrientes. Além disso, espécies do gênero *Trichoderma* são, comprovadamente, capazes de aumentar o crescimento de algumas espécies de plantas, proporcionando maior produção de matéria seca e produtividade, além de induzir resistência a doenças.

A sobrevivência de *Trichoderma* spp. no solo depende, entre outros fatores, de um substrato favorável ao seu crescimento e reprodução. Nesse sentido, a adição de compostos orgânicos ao solo pode ser uma alternativa visando manter suas populações em níveis elevados no solo e, em contrapartida, reduzindo as populações de fitopatógenos. Além dos compostos orgânicos constituírem-se numa fonte de alimento para os antagonistas como *Trichoderma* spp., alguns deles também são responsáveis pela liberação de compostos tóxicos a fitopatógenos durante o processo de degradação da matéria orgânica, reduzindo suas populações, o que pode resultar em uma menor incidência de doenças nas plantas.

Existem muitos trabalhos que foram realizados objetivando associar métodos de controle biológico e a adubação orgânica, sendo que a maioria deles alcançou sucesso, promovendo redução na incidência de doenças de plantas. Entretanto, tais trabalhos envolvem os mais diferentes micro-organismos, compostos orgânicos e patossistemas e, por isso, é necessário que a associação de tais métodos de controle de doenças seja estudada para doenças específicas de uma dada espécie de planta. Além disso, é fundamental que além de reduzir a incidência de determinada doença, a integração de ambos os métodos mantenha os níveis de produtividade da cultura e, dessa forma, a rentabilidade da atividade agrícola.

1.1 Objetivo geral

O objetivo geral do presente trabalho foi avaliar o uso da adubação orgânica e de *Trichoderma* spp. no acúmulo de nutrientes, na incidência de podridões de colmo e na produtividade de milho.

1.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito em curto e longo prazos da adubação orgânica e mineral sobre a população de fungos totais, *Fusarium* spp. e *Trichoderma* spp. no solo;
- avaliar o efeito em curto prazo da adubação orgânica e mineral associadas à utilização de *Trichoderma* spp. sobre a população de fungos totais, *Fusarium* spp. e *Trichoderma* spp. no solo;
- avaliar o efeito da adubação orgânica e mineral, aliada à utilização de *Trichoderma* spp., sobre a produção de matéria seca (MS), acúmulo de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) na parte aérea e nos grãos de milho;
- avaliar o efeito da adubação orgânica e mineral na incidência de podridões de colmo e na produtividade do milho.

1.3 Hipóteses

I. *Trichoderma* spp. promove maior produtividade e produção de matéria seca na cultura do milho e menor incidência de podridões de colmo.

II. Diferentes adubos orgânicos provocam alteração na população de *Trichoderma* spp. e de patógenos radiculares no solo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura do milho

O milho (*Zea mays* L.) é amplamente cultivado em todo o mundo, possuindo múltiplos usos, dentre os quais o consumo animal, principal destino do grão, industrial (indústrias químicas, farmacêuticas, de papéis, têxtil, entre outras) e humano. Duarte et al. (2010) cita que na cadeia produtiva de suínos e aves são consumidos aproximadamente 70% do milho produzido no mundo e entre 70 e 80% do milho produzido no Brasil. A composição média do grão de milho em base seca é de 72% de amido, 9,5% de proteínas, 9% de fibras e 4% de óleo e, devido à essa composição predominantemente de carboidratos (amido) e lipídios (óleo), é considerado um alimento energético para as dietas humana, especialmente às populações de baixa renda, e animal (PAES, 2006). A mais antiga espiga de milho foi encontrada há 7000 anos, na região onde hoje se localiza o México e os centros de origem do milho conhecidos atualmente são o México e a Guatemala (LERAYER, 2006).

A área cultivada com milho no Brasil na safra 2010/2011 ultrapassou 13 milhões de hectares, o que corresponde a um aumento de 6,2% em relação à safra passada, devendo-se principalmente à recuperação das áreas semeadas nas regiões Norte e Nordeste e ao aumento da área semeada na segunda safra. A produtividade média nacional foi de 4156 kg ha^{-1}, um pouco inferior (-0,05%) à produtividade média da safra passada, que foi de 4158 kg ha^{-1}. Isso é resultado da semeadura tardia por consequência do atraso no início das chuvas na segunda safra, falta de umidade nos estados de Mato Grosso e Goiás e ocorrência de geadas, no período crítico de vulnerabilidade da cultura, nos estados do Paraná, Mato Grosso do Sul e São Paulo. A produção na safra 2010/2011 foi de 57,5 milhões de toneladas (CONAB, 2011).

2.2 Doenças do milho

A cultura do milho pode ser afetada por várias doenças, que podem comprometer a produção, a qualidade e o valor nutritivo dos grãos e da forragem. Dentre elas, estão as

doenças foliares, como cercosporiose, mancha branca e ferrugens, e as podridões de colmo. A adoção do sistema de semeadura direta sem a utilização de uma rotação de culturas adequada aliada ao uso de genótipos suscetíveis favorece a ocorrência das podridões de colmo na cultura do milho, já que os patógenos causadores de tais doenças são capazes de sobreviver no solo e/ou em restos culturais, proporcionando aumento na quantidade de inóculo nas áreas de cultivo (CASELA et al., 2006). Costa et al. (2008) afirmam que tais fatores têm contribuído para o aumento na expressividade das doenças de colmo no milho, especialmente na região Centro-Oeste do país, sendo relatada incidência acima de 70% e perda de produtividade de 50% em cultivares suscetíveis sob condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento dos patógenos causadores das doenças.

2.3 Podridões de colmo no milho

Durante a fase de enchimento de grãos, as espigas são os principais drenos de carboidratos na planta de milho e, quando qualquer tipo de estresse ocorre nesse período, tal como estresse hídrico, temperaturas elevadas, desequilíbrios nutricionais, redução da radiação solar e perda de área foliar pelo ataque de pragas e doenças, haverá comprometimento do processo de fotossíntese (COSTA et al., 2008). Dessa forma, o autor cita que ocorrerá a translocação de carboidratos do colmo, órgão de reserva da planta, em direção às espigas, enfraquecendo seus tecidos e tornando-os mais suscetíveis ao ataque de patógenos causadores de podridão. Sendo assim, fatores que provoquem redução na atividade fotossintética e, consequentemente, na produção de carboidratos irão predispor as plantas à ocorrência de podridões de colmo.

Os principais sintomas das podridões de colmo são alteração na coloração externa do colmo e parte interna dos nós e desintegração da medula, permanecendo intactos os feixes vasculares (CASA et al., 2006). As podridões de colmo na cultura do milho podem ocorrer antes da fase de enchimento de grãos ou após a maturação fisiológica. Quando ocorrem antes do enchimento de grãos, as perdas se devem à morte prematura de plantas, menor tamanho e peso de grãos, por consequência da menor absorção de água e nutrientes, e tombamento de plantas. Após a maturação fisiológica, o principal problema da ocorrência das doenças de colmo se refere ao tombamento de plantas, que resulta em dificuldades na colheita

mecanizada e também expõe as espigas à ação de fungos presentes no solo e roedores (FERNANDES et al., 2006).

As podridões de colmo no milho podem ser causadas por *Fusarium graminearum* Schwabe, *F. moniliforme* Sheld., *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wilson (forma teleomórfica: *Glomerella graminicola* Politis), *Diplodia maydis* (Berk.) Sacc. (forma teleomórfica: *Stenocarpella maydis* (Berkeley) Sutton), *D. macrospora* Earle (forma teleomórfica: *S. macrospora* (Earle) Sutton), *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. e *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp., além de algumas bactérias (CASELA et al., 2006). Entretanto, os principais agentes causais são *Fusarium* spp., *Diplodia macrospora*, *D. maydis* e *Colletotrichum graminicola* e, portanto, serão mais discutidos no presente trabalho.

2.3.1 *Fusarium* spp.

Fusarium graminearum e *F. moniliforme* são capazes de sobreviver em restos culturais e também no solo, de forma saprofítica, nutrindo-se da matéria orgânica. O principal sintoma de podridões de colmo causadas por esses fungos é a coloração avermelhada do tecido dos entrenós inferiores, que progride de forma uniforme, da base em direção à parte superior da planta (CASELA et al., 2006). Tais fungos podem também afetar a germinação e vigor de sementes de milho e causar o tombamento de plântulas, principalmente nos casos em que a semeadura for realizada em condições subótimas, proporcionando atraso na germinação e/ou emergência das plântulas e expondo as sementes ao seu ataque (PINTO, 1993).

2.3.2 *Diplodia macrospora* e *D. maydis*

A podridão de colmo causada pelos fungos *D. macrospora* e *D. maydis* é uma doença antiga na cultura do milho, porém, teve sua incidência agravada pela expansão da área cultivada (CASA et al., 2006). Quando as condições de temperatura encontram-se na faixa de 28 a 30 ^{o}C e a umidade está elevada após o florescimento, aumentam as possibilidades de ocorrência dessa doença, que causa sintomas caracterizados por lesões marrons e podridão aquosa da medula (PINTO, 1993).

2.3.3 *Colletotrichum graminicola*

A podridão de colmo causada por *C. graminicola* é caracterizada pela formação de lesões estreitas e elípticas na casca que evoluem para manchas escuras a negras, ocorrendo a formação de acérvulos do patógeno, enquanto o tecido interno do colmo apresenta coloração marrom escura, podendo desintegrar-se e levar a planta à morte prematura (COTA et al., 2009). Esta doença é favorecida por longos períodos de altas temperaturas e umidade, especialmente após o florescimento (CASELA et al., 2006).

2.4 Controle químico

Os patógenos causadores de podridões de colmo na cultura do milho dificilmente são controlados por produtos químicos, principalmente devido às limitações na aplicação que impedem que o produto atinja essa parte da planta (PINTO et al., 2007). Alguns resultados indicam a existência de respostas diferentes à aplicação de fungicidas sobre a incidência de podridões de colmo para genótipos suscetíveis e resistentes e que efeitos positivos do uso de fungicidas sobre a incidência de podridões de colmo podem estar relacionados ao controle de patógenos causadores de doenças foliares, preservando a capacidade fotossintética das plantas (COSTA et al., 2008). Dessa forma, devido à baixa eficiência de produtos químicos no controle de tais patógenos e ao impacto dos mesmos sobre o meio ambiente e organismos vivos, formas alternativas no controle de doenças são cada vez mais discutidas e pesquisadas.

2.5 Métodos de controle alternativo

Métodos de controle alternativo que visem diminuir custos e reduzir o impacto negativo causado pela utilização de produtos químicos sobre o meio ambiente estão se tornando o foco de muitas pesquisas na agricultura contemporânea (BONANOMI et al., 2008). Dentre eles, pode-se citar o controle biológico e a adubação orgânica, os quais serão discutidos mais detalhadamente nesta revisão.

2.5.1 Controle biológico

O controle biológico de patógenos de solo, pela utilização de agentes microbianos, é um componente ecologicamente correto e de baixo custo no programa de manejo integrado de doenças (MAO et al., 1997). O controle biológico engloba uma série de interações entre os micro-organismos, dentre as quais o hiperparasitismo, a supressão de fitopatógenos pela ação de antibióticos, denominada de antibiose, secreção de enzimas que interferem no crescimento ou atividade de fitopatógenos, competição por nutrientes e indução de respostas de defesa na planta hospedeira (PAL; GARDENER, 2006).

Uma ampla gama de gêneros bacterianos (*Pseudomonas, Bacillus* e *Serratia*) e fúngicos (*Trichoderma, Penicillium, Gliocladium* e espécies não patogênicas de *Fusarium*) têm sido identificada como antagonista de fitopatógenos de solo (GARBEVA et al., 2004). Um dos organismos mais utilizados para essa finalidade é o fungo *Trichoderma* spp., devido principalmente à sua facilidade de crescimento e ampla gama de hospedeiros (WHIPPS; LUMSDEN, 2001).

2.5.1.1 *Trichoderma* spp.

Trichoderma spp. é um fungo amplamente utilizado no controle biológico de doenças, sendo que seu potencial antagônico a fitopatógenos foi primeiramente reconhecido em 1930 e, a partir dessa data, o controle de muitas doenças tem sido registrado, como por exemplo aquelas causadas por *Rhizoctonia solani* Kühn, *Rhizopus oryzae*, *Phytophthora* spp., *Pythium ultimum* Trow, entre outros fitopatógenos (HOWELL, 2003).

A ação de *Trichoderma* spp. pode se dar de forma direta contra fitopatógenos, pela competição por nutrientes, antibiose e micoparasitismo, e de forma indireta, induzindo a resistência de plantas e/ou promovendo seu crescimento (WHIPPS, 2001). Algumas espécies do gênero *Trichoderma* spp. são capazes de promover o crescimento de plantas devido à produção de hormônios e solubilização de nutrientes, tais como fosfato e micronutrientes que, tornando-se disponíveis às plantas, podem estimular seu crescimento (HARMAN, 2000; BENÍTEZ et al., 2004; ALTOMARE et al., 1999). Através de tais mecanismos, *Trichoderma* spp. é capaz de promover aumento na produção de matéria seca e no rendimento de algumas

culturas. Alguns exemplos que podem ser citados são o aumento de produção de matéria seca de raízes de milho provenientes de plantas inoculadas com um isolado de *T. harzianum* (RESENDE et al., 2004), aumento do peso fresco de alface por *Trichoderma* spp. (LYNCK, 1992) e aumento do peso fresco e seco de plantas de tomate tratadas com *Trichoderma koningii* (TSAHOURIDOU; THANASSOULOPOULOS, 2002).

2.5.2 Adubação orgânica

Em função da existência de grande variabilidade espacial entre os fitopatógenos, não existe um agente de controle biológico capaz de ser efetivo universalmente (MISHRA et al., 2010). Devido a isso, para que o antagonista possa ter condições de sobreviver no solo por um longo período de tempo após sua aplicação, este deve ter um substrato favorável ao seu desenvolvimento, a fim de melhorar sua eficiência de controle (EL-HASSAN; GOWEN, 2006). Nesse sentido, a utilização de compostos orgânicos torna-se uma ferramenta importante, pois além de poder favorecer o antagonista, serve também como nutrição às plantas, promovendo o seu crescimento (RAVIV et al., 1998). Os adubos orgânicos podem fornecer carbono e outros nutrientes aos micro-organismos antagônicos, assegurando que esses sobrevivam e aumentem sua população em solos tratados (BORRERO et al., 2006; EL-HASSAN; GOWEN, 2006).

A adubação orgânica pode contribuir de forma direta para o crescimento da cultura e para a expressão do potencial anti-fitopatogênico dos solos, o que constitui uma característica importante no manejo de doenças fúngicas, principalmente as que causam tombamento de plântulas, como aquelas causadas pelos gêneros *Rhizoctonia*, *Fusarium* e *Pythium* (LAMPKIN, 1990). Também apresenta efeitos indiretos, como melhoria das propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, podendo contribuir para a supressividade dos mesmos à fitopatógenos, promove um ambiente mais diverso no solo e serve como fonte de alimento para os antagonistas que competem com os fitopatógenos e para micro-organismos que produzem antibióticos (SULLIVAN, 2004). Ghorbani et al. (2008) citam, ainda, que a degradação dos adubos orgânicos resulta na liberação de dióxido de carbono que, em altas concentrações, é prejudicial a alguns fitopatógenos. Além de promover supressão a fitopatógenos, a adubação orgânica é uma alternativa à adubação mineral, promovendo um destino mais adequado aos dejetos produzidos pelas atividades de suinocultura, bovinocultura

e avicultura, reduzindo os riscos de poluição ao meio ambiente e a dependência pelos insumos químicos.

2.5.2.1 Aporte de nutrientes ao solo

Estercos na forma sólida geralmente apresentam maior relação carbono/nitrogênio e menores quantidades de nutrientes na forma mineral, sendo decompostos mais lentamente no solo e liberando menores quantidades de nutrientes para as plantas. Porém, favorecem o acúmulo de matéria orgânica no solo em relação aos estercos líquidos, que apresentam maior quantidade de nutrientes minerais prontamente disponíveis às plantas (CQFS, 2004). Tais fatores, aliados às quantidades de nutrientes presentes em cada adubo, às condições ambientais e ao histórico da área quanto à ocorrência de doenças, devem ser levados em consideração no momento da escolha do adubo a ser aplicado na área, pois sabe-se que o excesso/escassez de determinados nutrientes podem aumentar/reduzir a incidência de doenças nas culturas.

A quantidade do adubo orgânico a ser adicionada ao solo é normalmente calculada com base na quantidade de nitrogênio presente no mesmo, sendo observado na maioria dos casos um grande aporte de fósforo e, principalmente, de potássio ao solo, o que é observado para adubos como dejetos líquidos e sólidos de bovinos e suínos. Isso se deve ao fato de que os nutrientes presentes em tais adubos encontram-se em quantidades diferentes daquelas necessárias ao desenvolvimento das plantas, podendo provocar um desequilíbrio nutricional das plantas. Plantas com estresse nutricional podem ser mais suscetíveis às doenças, pois os nutrientes, quando em quantidades necessárias e balanceadas, maximizam a resistência de plantas a determinadas doenças, facilitam a evasão, em função do desenvolvimento e maturidade de determinados órgãos, e alteram o ambiente externo, atuando na sobrevivência, germinação e penetração dos patógenos, interferindo assim na interação entre a planta, o patógeno e o ambiente (ZAMBOLIM et al., 2001).

Apesar de ser importante a quantidade de nitrogênio, geralmente é a forma disponível no adubo que irá afetar a severidade ou a resistência à doença, principalmente devido a condição de pH criada no solo. Nitrogênio na forma amoniacal (NH_4^+) tende a diminuir o pH do solo, já que os íons amônio são absorvidos pelas raízes das plantas através da troca com íons H^+, que são liberados no meio circundante, enquanto que nitrogênio na forma nítrica

(NO_3^-) tende a fazer a zona radicular mais alcalina (GHORBANI et al., 2008). Quando ocorre absorção de nitrogênio amoniacal por gramíneas, uma zona radicular ácida é criada, o que leva a uma melhor absorção de manganês, reduzindo, por exemplo, a incidência de podridões de colmo na cultura do milho (SULLIVAN, 2004).

Altos níveis de fósforo podem reduzir a fase vegetativa da planta e reduzir o período de suscetibilidade às ferrugens, enquanto altos níveis de nitrogênio provocam aumento do período vegetativo, aumentando o período de exposição das plantas ao ataque do patógeno (ZAMBOLIM et al., 2001). Potássio, em quantidades adequadas, pode induzir resistência sistêmica e aumentar a quantidade de compostos fenólicos em algumas nas plantas (SULLIVAN, 2004). Entretanto, determinado nutriente pode reduzir a severidade de uma doença, mas pode aumentar a de outra, sendo assim de fundamental importância considerar cada doença de forma isolada dentro do sistema de produção utilizado (YAMADA, 2002).

2.6 População fúngica do solo

Ambas as formas alternativas, adubação orgânica e controle biológico com *Trichoderma* spp., possíveis de serem utilizadas no controle de doenças, podem causar alterações na população de fungos antagônicos e fitopatogênicos, bem como demais micro-organismos, no solo. Dessa forma, o estudo da dinâmica de micro-organismos no solo também é de extrema importância para que possam ser adotadas medidas no controle de doenças radiculares, tais como as podridões de colmo no milho. A microbiota do solo é responsável por manter as funções do solo devido ao seu envolvimento em alguns processos-chave na formação da estrutura do solo, decomposição da matéria orgânica, remoção de toxinas, ciclagem de carbono, nitrogênio, fósforo e enxofre (VAN ELSAS et al., 1997) e também na supressão de patógenos causadores de doenças, além de promover o crescimento de plantas e mudanças na vegetação (DORAN et al., 1996). Muitos estudos têm demonstrado a relação entre o grau de supressividade do solo às doenças de plantas e a diversidade ou abundância das comunidades de micro-organismos do solo (ABAWI; WIDMER, 2000; NITTA, 1991).

Estudos a fim de elucidar a dinâmica da população fúngica de solos são essenciais, principalmente quando se deseja aliar métodos de controle alternativo de doenças, como a adubação orgânica e o controle biológico, buscando uma combinação dos mesmos que

promova a sobrevivência e uma melhor eficiência do antagonista e condições desfavoráveis ao patógeno. Aliado a isso deve ser realizado o estudo da interferência de ambos os métodos de controle alternativo de doenças sobre parâmetros da cultura a ser utilizada, buscando aumentar seu rendimento.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização, solo e histórico da área

O experimento foi realizado na área experimental do Departamento de Solos da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, na região da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul, localizada a uma latitude de 29° 45’ S, longitude de 53° 42’ W e altitude de 95 m. O solo é classificado como Argissolo Vermelho Distrófico arênico e pertence à Unidade de Mapeamento São Pedro (BRASIL, 1973). O clima é subtropical úmido, tipo Cfa 2, conforme classificação de Köppen. As médias anuais de temperatura, precipitação e umidade relativa do ar são de 19,3 °C, 1561 mm e 82%, respectivamente.

A área onde foi realizado o experimento tem um histórico de aplicação de adubos orgânicos e mineral desde o ano de 2004, cada parcela com seu respectivo tratamento. Os adubos orgânicos e mineral foram aplicados todos os anos somente antes da implantação da cultura de verão (milho), excetuando o inverno de 2010, quando também foi realizada a aplicação antes da semeadura da aveia (*Avena strigosa* Shreb.) no outono. Durante o verão, sempre foi utilizada a cultura do milho e, no inverno, foi utilizado o nabo ou a aveia.

3.2 Delineamento experimental, tratamentos e procedimento estatístico

Foi utilizado o delineamento experimental em blocos ao acaso e o experimento constituiu-se de um fatorial 5 (adubos orgânicos e mineral) X 2 (com e sem *Trichoderma* spp.), com parcelas subdivididas em faixas. Foi realizada a aplicação dos adubos orgânicos e mineral (dejeto líquido de suínos – DLS; cama sobreposta de suínos – CSS; dejeto líquido de bovinos – DLB; fertilizante mineral – NPK; tratamento testemunha) na parcela principal e o tratamento do milho (sementes tratadas e não tratadas com *Trichoderma* spp.) nas subparcelas (faixas). Para o tratamento das sementes de milho com *Trichoderma* spp. foi utilizado o produto comercial Agrotrich Plus®, da empresa Agrihaus do Brasil Ltda. A adubação mineral foi utilizada como tratamento padrão, em função de ser o tipo de adubação mais utilizado

tradicionalmente. Cada tratamento contou com quatro repetições (quatro blocos) e cada parcela do experimento possuía 5 m de comprimento e 5 m de largura, totalizando uma área útil de 25 m^2 por parcela.

Para análise dos dados, primeiramente foi checado o atendimento aos pressupostos do modelo matemático, sendo utilizado para isso o programa STATISTICA, versão 6.0, da empresa StatSoft® (STATSOFT, 2011). Nos casos em que o pressuposto de normalidade dos resíduos não foi atendido, a transformação raiz (x + 0,5) foi utilizada para os dados de população fúngica e a transformação $\log_{10}(x)$ para os dados de produtividade. Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey, a 5% de significância, para discriminação dos tratamentos, utilizando o pacote estatístico SISVAR, versão 5.3 (FERREIRA, 1998).

Dentro do mesmo experimento, os dados referentes à população de fungos totais, *Fusarium* spp. e *Trichoderma* spp. foram analisados de três formas distintas. Na primeira, foi considerado somente o fator adubos (unifatorial: adubos) na primeira época de coleta de solo, para avaliar o efeito em longo prazo dos adubos. Após, foram analisados os dados dos fatores adubos e épocas (bifatorial: adubos X épocas de coleta), provenientes das parcelas sem tratamento das sementes com *Trichoderma* spp., a fim de verificar a influência em curto e longo prazo dos adubos. Na terceira, analisaram-se os dados da segunda época de coleta, dos fatores adubos e tratamento das sementes (bifatorial: adubos X tratamento das sementes), que representam o efeito em curto prazo de ambos. A análise de variância feita para as variáveis respostas do experimento pode ser visualizada nos apêndices A e B.

3.3 Características dos dejetos

Os dejetos de suínos na forma líquida foram coletados em esterqueira anaeróbia, com tempo de fermentação variando de um a 60 dias, sendo compostos por fezes, urina, sobras de alimentação, água da chuva, pêlos e poeira. O dejeto suíno na forma sólida (cama sobreposta) foi coletado após criação de suínos sobre uma cama de casca de arroz, sendo composto por fezes, urina, sobras de alimentação e de água, água das chuvas, pêlos, poeira e casca de arroz. O dejeto líquido de bovinos foi coletado em uma propriedade localizada no Distrito de Arroio Grande (Santa Maria, RS), sendo os dejetos provenientes da atividade leiteira, armazenados em tanques de coleta.

Anteriormente à aplicação dos dejetos (suínos e bovinos, sólidos e líquidos) ao solo, foi determinada sua composição química e o teor de matéria seca no material *in natura* (Tabela 1), conforme metodologia descrita por Almeida (2000). Para a cama sobreposta de suínos, os teores de N total e N amoniacal foram quantificados em 1 g de material, utilizando os mesmos métodos empregados para os dejetos líquidos, enquanto os teores de N nítrico foram quantificados através da adição de 0,2 g de Liga de Devarda e nova destilação, nos mesmos tubos em que foram quantificados os teores de N amoniacal (TEDESCO et al., 1995).

Tabela 1 – Composição química e teor de matéria seca dos dejetos líquidos de suínos e de bovinos e da cama sobreposta de suínos e quantidades adicionadas nas parcelas. Santa Maria, RS. 2010.

Material	MS[1]	C	N-mineral		N-total	P	K	Ca	Mg	C/N	pH
			$N\text{-}NH_4^+$	$N\text{-}NO_3^-$							
	g kg^{-1}										
DLS[2]	9	0,7	0,03	0,28	2,48	0,98	3,71	0,7	0,3	0,3	7,8
CSS[3]	563	274,0	0,52	0,05	8,32	3,94	14,71	10,8	4,2	33,2	7,8
DLB[4]	60	1,0	0,57	0,14	1,79	0,42	4,40	0,8	0,3	0,5	7,3
	kg ha^{-1}										
DLS	476	37,0	1,6	14,8	105,0	46,7	196,3	37,0	15,9	-	-
CSS	14210	6915,8	13,1	1,3	105,0	79,5	371,3	272,6	106,0	-	-
DLB	7039	117,3	66,9	16,4	105,0	39,4	516,2	93,8	35,2	-	-
NPK[5]					105,0	60,0	70,0				

[1]MS: matéria seca; [2]DLS: dejeto líquido de suínos; [3]CSS: cama sobreposta de suínos; [4]DLB: dejeto líquido de bovinos; [5]NPK: adubação mineral.

3.4 Coleta e análise das amostras de solo

Foram realizadas duas coletas de solo, uma delas antes da semeadura do milho e a outra após. A primeira coleta foi realizada no dia 06/10/10, 26 dias antes da semeadura, com a finalidade de determinar a composição química e a população fúngica do solo. A segunda coleta foi realizada no dia 18/11/10, 17 dias após a semeadura, quando as plantas de milho se encontravam no estádio V3 da escala proposta por Ritchie et al. (1993), a fim de avaliar a população fúngica do solo. Foi escolhido o estádio V3 da cultura do milho para realização da segunda coleta de solo porque nesse momento havia o efeito em curto prazo dos adubos e do tratamento das sementes com *Trichoderma* spp. sobre a população fúngica do solo. Além disso, nesse estádio pode ocorrer o tombamento de plantas de milho causado, na maioria das vezes, por fungos, o que poderia ser explicado e relacionado aos resultados da população dos mesmos no solo.

Na primeira época, somente foram coletadas amostras nas parcelas, que possuíam histórico de seis anos de aplicação de adubos orgânicos, enquanto na segunda época também foram coletadas amostras nas subparcelas, semeadas com sementes de milho tratadas ou não com produto à base de *Trichoderma* spp. Foram realizadas somente duas coletas de solo para a determinação da população fúngica porque este experimento foi realizado em conjunto com outro, o qual seria prejudicado caso fossem realizadas mais coletas, devido à demasiada perfuração do solo.

Três subamostras por unidade experimental foram coletadas, com o auxílio de um trado calador, a uma profundidade de 10 cm, já que a maioria dos micro-organismos presentes no solo encontra-se nessa camada, as quais foram homogeneizadas para compor a amostra da repetição. Entre as amostragens nos diferentes tratamentos, o trado calador foi lavado com água, hipoclorito 1,25% e álcool 70%. As amostras destinadas à determinação da composição química do solo foram encaminhadas ao Laboratório de Análises de Solo da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e o resultado pode ser visualizado na tabela 2 e no anexo A, enquanto as amostras destinadas à determinação da população fúngica foram acondicionadas em sacos plásticos e encaminhadas ao Laboratório de Fitopatologia, onde foram armazenadas sob refrigeração.

Tabela 2 – Características químicas do solo no início do experimento (outubro/2010). Santa Maria, RS. 2010.

Tratamento	$CTC_{pH\ 7,0}$ ($cmol_c\ dm^{-3}$)	pH H_2O	índice SMP	P ($mg\ dm^{-3}$)	K ($mg\ dm^{-3}$)	Al^{+3} ($cmol_c\ dm^{-3}$)	MO[1] %
TEST[2]	6,3	5,3	6,3	14,4	48,0	0,3	1,5
DLS[3]	7,0	5,4	6,3	72,0	64,0	0,2	1,8
CSS[4]	7,6	5,6	6,5	76,0	88,0	0,0	2,1
DLB[5]	7,7	5,5	6,2	43,3	68,0	0,0	1,7
NPK[6]	7,1	5,3	6,1	24,8	52,0	0,4	1,6

[1]MO: matéria orgânica; [2]TEST: testemunha; [3]DLS: dejeto líquido de suínos; [4]CSS: cama sobreposta de suínos; [5]DLB: dejeto líquido de bovinos; [6]NPK: adubação mineral.

3.5 Adubação do solo

A aplicação dos adubos orgânicos e mineral foi realizada juntamente com a semeadura do milho, na safra 2010/2011. Para o cálculo da quantidade de adubo a ser aplicada, tomou-se como base a análise de solo e as recomendações para a cultura do milho contidas no Manual de Adubação e Calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (CQFS, 2004), sendo a aplicação realizada a lanço. Foi utilizada a estimativa de produtividade de 5 t ha^{-1} para o cálculo das quantidades necessárias de nutrientes a serem aplicadas por meio dos adubos. Para os adubos orgânicos, a quantidade aplicada baseou-se no teor de N-total e no índice de eficiência de N para cada adubo (0,8 para o DLS e de 0,5 para a CSS e o DLB). Para a adubação mineral, as quantidades necessárias de N, P e K foram ajustadas utilizando-se a mistura de ureia, superfosfato triplo (SFT) e cloreto de potássio (KCl). Para todos os tratamentos, foi aplicada a quantidade de 105 kg de N ha^{-1}.

Anteriormente à aplicação, cada dejeto líquido foi misturado em um tanque para melhor homogeneização (Figura 1). Para sua aplicação foram utilizados regadores, sendo aplicada a quantidade necessária em cada parcela.

Figura 1 – Homogeneização dos dejetos líquidos para aplicação nas parcelas. Santa Maria, RS. 2010.

3.6 Tratamento das sementes de milho com *Trichoderma* spp.

Para o tratamento das sementes de milho com *Trichoderma* spp. foi utilizado o produto comercial Agrotrich Plus®, formulado a partir de linhagens do fungo, e seguiu as recomendações fornecidas pela empresa fabricante, utilizando 1 g do produto para 1 kg de sementes. O tratamento das sementes com o produto foi realizado imediatamente antes da semeadura, a fim de manter a máxima viabilidade do mesmo.

Foi realizado um teste de diluição serial para verificar a concentração do produto, utilizando para isso o meio de cultura seletivo para *Trichoderma* spp. (MST) (DHINGRA; SINCLAIR, 1995) (Anexo B), sendo encontrado um valor de 2×10^3 UFC de *Trichoderma* spp. g^{-1}. Entretanto, esse baixo valor pode ter sido obtido devido ao fato de que o teste de diluição serial foi realizado três meses após a utilização do produto no tratamento das sementes de milho, o que pode ter comprometido a viabilidade dos propágulos fúngicos, mesmo o produto tendo permanecido em geladeira durante esse período de tempo, já que, conforme o rótulo do produto, a concentração era de 10^8 esporos por grama.

3.7 Semeadura do milho

Anteriormente ao processo de semeadura da cultura do milho foi realizada a dessecação da área, utilizando o produto glifosato (Gliz® 480 SL), na dosagem de 4 L ha^{-1}. A semeadura do milho foi feita manualmente, com auxílio de um saraquá, nas parcelas já demarcadas no experimento, no dia 01/11/10. Metade da parcela foi semeada com sementes tratadas com *Trichoderma* spp. e metade com sementes não tratadas com o produto, totalizando doze linhas de semeadura por parcela e seis por subparcela. A semeadura foi realizada conforme as indicações técnicas para o cultivo do milho (REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DO MILHO E SORGO, 2009). Foi utilizada a cultivar 30F53 Y, da empresa Pioneer®, por ser uma cultivar amplamente utilizada atualmente, sendo adotado o espaçamento entre linhas de 45 cm e população final de 78000 plantas por hectare. As sementes foram tratadas para controle de fungos de armazenamento com o produto Maxim® XL (ingrediente ativo: fludioxonil + metalaxyl-M), que não apresenta efeito negativo sobre *Trichoderma* spp.

3.8 Tratamentos fitossanitários

Foi necessário fazer aplicação do produto Primatop® SC a fim de controlar plantas daninhas presentes no experimento, na dosagem de 7 L ha^{-1}. O produto é seletivo à cultura do milho, utilizado para o controle de várias espécies de plantas daninhas, tendo como ingrediente ativo a simazina. Não foi necessária a utilização de produtos para controle de insetos, já que o híbrido utilizado possui a tecnologia Bt, diminuindo significativamente o ataque de lagartas nos estádios iniciais da cultura, e também não foi necessário o uso de produtos para o controle de doenças foliares.

3.9 Irrigação

Durante todo o ciclo da cultura do milho, quando necessário, foi realizada a irrigação, por aspersão, do experimento (Figura 2).

Figura 2 – Irrigação, por aspersão, do experimento. Santa Maria, RS. 2010.

3.10 Avaliações

No decorrer do ciclo da cultura foram avaliados a população fúngica do solo, a produção de matéria seca, o acúmulo de N, P e K no tecido e grãos, a produtividade do milho

e a incidência de doenças radiculares no estádio plantular e no estádio de maturação fisiológica.

3.10.1 População de fungos totais, *Fusarium* spp. e *Trichoderma* spp. no solo

A partir das amostras de solo coletadas, foram realizadas diluições seriais para a quantificação das Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por grama de solo de fungos totais, *Fusarium* spp. e *Trichoderma* spp. Para isso, o solo contido em cada amostra foi primeiramente homogeneizado e, posteriormente, foram pesados 10 g de cada amostra, que foram colocados em frascos contendo 90 mL de água destilada e esterilizada em autoclave (121 ^{o}C e 1 atm). Duas gotas do dispersante Tween® foram colocadas dentro de cada um dos frascos, que posteriormente foram agitados, em agitador do tipo Thys 2 – MLW®, por 30 min (Figura 3). De cada frasco foi retirada uma alíquota de 1 mL da suspensão, que foi colocada em um tubo de ensaio contendo 9 mL de água esterilizada, para compor a diluição 10^{-2}. Após agitação do tubo, em agitador do tipo Vortex – VELP Scientifica®, transferiu-se a quantidade de 1 mL dessa diluição para outro tubo de ensaio, para compor a diluição 10^{-3}, e assim sucessivamente até a diluição 10^{-6}. De cada uma das diluições retirou-se a quantidade de 0,5 mL que foi pipetada para placas de Petri contendo meio de cultura específico para cada fungo, em número de seis repetições, para que se pudesse encontrar a melhor diluição para quantificação dos fungos, que deve apresentar entre 30 e 300 colônias de fungos por placa de Petri. Tal intervalo justifica-se pelo fato de que uma quantidade menor que 30 colônias por placa não proporciona confiabilidade aos resultados e maior que 300 dificulta a contagem, além de despender muito tempo. Dessa forma, a diluição que melhor se adequou foi a 10^{-2}, sendo esta utilizada para todas as amostras de solo. As placas foram incubadas por sete dias em câmara climatizada, a 25 ^{o}C e fotoperíodo de 12 h.

Figura 3 – Homogeneização, em agitador, da suspensão de solo contida nos frascos.

Para a avaliação de fungos totais, foi utilizado o meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) (DHINGRA; SINCLAIR, 1995) (Anexo C), para *Fusarium* spp., o meio Nash-Snyder (NASH; SNYDER, 1962) (Anexo D), e para *Trichoderma* spp., o meio MST (DHINGRA; SINCLAIR, 1995). Na figura 4, pode ser visualizado o material preparado para a realização das diluições, em câmara de fluxo laminar.

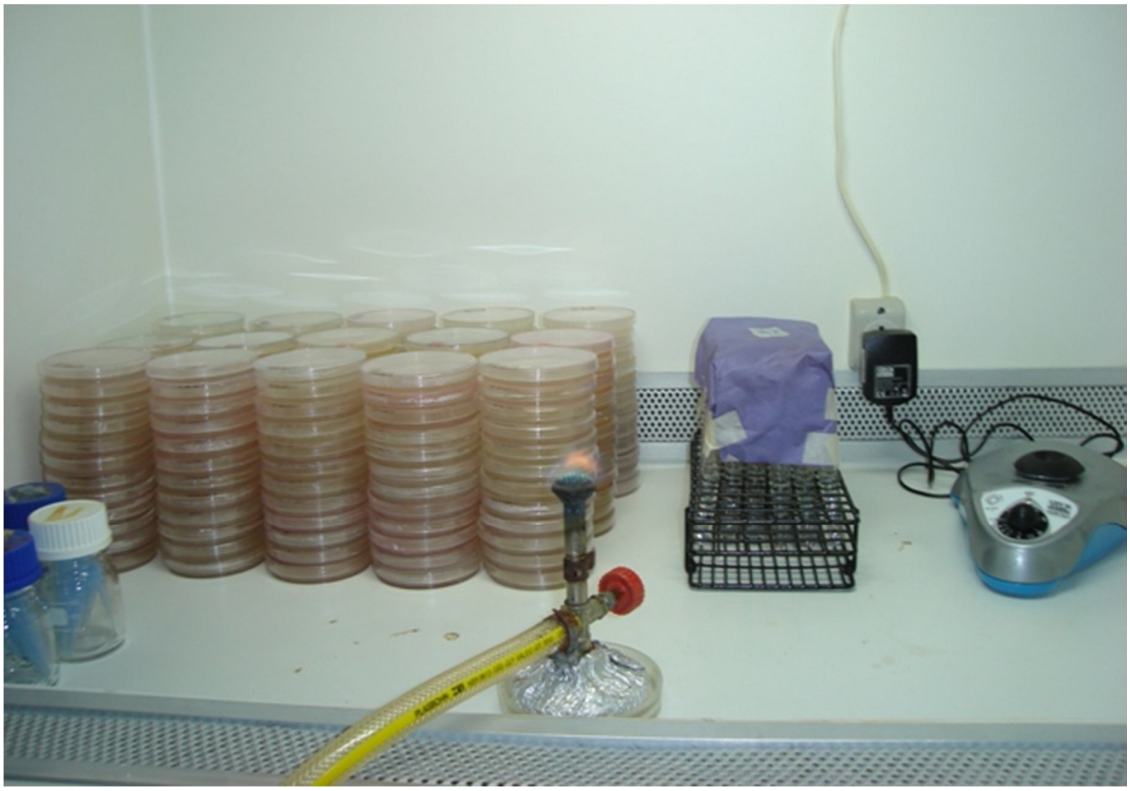

Figura 4 – Material utilizado para as diluições do solo, em câmara de fluxo laminar.

Após o período de incubação das placas, foram contadas as colônias de fungos totais e os fungos dos gêneros *Fusarium* e *Trichoderma* foram identificados através de observação das placas em microscópio estereoscópico e confecção de lâminas para observação em microscópio ótico, conforme literatura (BARNETT; HUNTER, 1999). Para o cálculo do número de UFC g^{-1} de solo, foram utilizadas as seguintes equações, propostas por Carter (1993):

$$FD = Di \; x \; Ds \; x \; Q$$, em que:

FD: Fator de Diluição

Di: Diluição inicial

Ds: Diluição subsequente

Q: Quantidade colocada na placa

$$UFC = \frac{1}{FD} x\ n$$, em que:

UFC: Unidades Formadoras de Colônia por grama de solo

FD: Fator de Diluição

n: Número de colônias contadas na placa

Para ajuste dos dados da população fúngica para UFC g^{-1} de solo seco, foi determinada a umidade do solo das amostras no Laboratório de Fitopatologia, conforme metodologia utilizada pela Embrapa (EMBRAPA, 1997). Para isso, 5 g de solo de cada amostra foram colocados em placas de Petri, sendo essas acondicionadas em forno com ventilação forçada de ar, a 105 ^{o}C até peso constante. Para o cálculo da percentagem de umidade das amostras, foi utilizada a seguinte equação:

$$U\ (\%) = \frac{SU-SS}{SS} x\ 100$$, em que:

U: umidade, em percentagem

SU: quantidade de solo úmido (g)

SS: quantidade de solo seco (g)

3.10.2 Produção de matéria seca e acúmulo de N, P e K no tecido e grãos de milho

Para a avaliação da produção de MS e do acúmulo de N, P e K foi realizada a amostragem de três plantas de milho por subparcela, quando as plantas encontravam-se no estádio R1 (florescimento). Para a análise da produção de MS, a raiz foi descartada a fim de se obter somente a MS da parte aérea, e as plantas foram colocadas para secar, em estufa, a 65 ^{o}C, até peso constante. Após a determinação da produção de MS, o material seco foi moído em triturador de forragens, subamostrado e moído novamente em moinho Willey, equipado com peneira de 40 mesh. Após, foi realizada a digestão, sendo o N total determinado em destilador de arraste de vapor semi-micro Kjeldhal (TEDESCO et al., 1995). Usando uma amostra da alíquota da digestão, foram determinados os teores totais de P e K, por

fotocolorimetria e fotômetro de chama, respectivamente. Para a determinação do conteúdo de N, P e K nos grãos de milho, foi seguida a mesma metodologia.

3.10.3 Incidência de doenças causadas por patógenos radiculares

3.10.3.1 Estádio plantular

Durante a realização do experimento foi feito um monitoramento contínuo das doenças presentes na cultura do milho, em especial aquelas causadas por patógenos radiculares. Foram avaliadas as quatro linhas centrais das subparcelas, deixando as duas linhas externas como bordadura. No estádio V2, foi realizado o monitoramento a fim de identificar e quantificar plântulas apresentando tombamento pós-emergência.

3.10.3.2 Estádio de maturação fisiológica

Para a avaliação das podridões de colmo do milho no estádio de maturação fisiológica, nas quatro linhas centrais de cada subparcela foi contado o número de colmos sintomáticos em um total de 40 plantas, sendo posteriormente amostrados, de forma aleatória, quatro colmos com sintomas para posterior identificação do agente causal, em laboratório. A avaliação foi realizada através da observação visual dos entrenós inferiores da planta (Figura 5) e foram consideradas plantas sintomáticas aquelas que apresentaram descoloração do primeiro ou segundo entrenós e/ou aquelas com menor resistência à pressão dos dedos polegar e indicador (RIBEIRO et al., 2005). Na figura 6, pode ser visualizada a diferença entre um colmo sadio e colmos apresentando sintomas de podridão.

Figura 5 – Observação visual dos entrenós inferiores dos colmos de milho, para identificação de plantas sintomáticas. Santa Maria, RS. 2011.

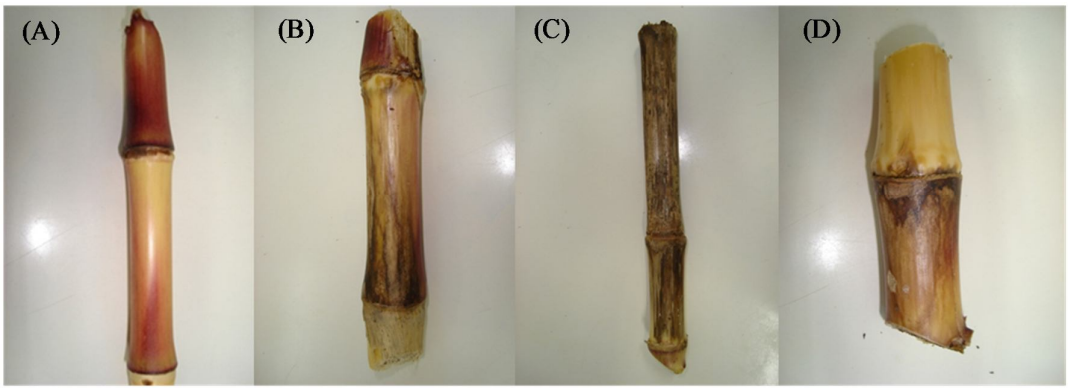

Figura 6 – Exemplos de (A) colmo sadio; (B), (C) e (D) colmos doentes. Santa Maria, RS. 2011.

3.10.4 Identificação dos agentes causais das podridões de colmo

Os colmos apresentando podridões, que foram coletados e encaminhados ao Laboratório de Fitopatologia, foram colocados em uma câmara úmida, em caixas do tipo "gerbox". Para isso, primeiramente os colmos foram lavados em água corrente e secos em papel-toalha. Posteriormente, foram cortados ao meio, com auxílio de uma tesoura de poda, desinfestada com álcool e hipoclorito de sódio. Então, foram submetidos a um banho asséptico em álcool 70%, hipoclorito de sódio a 1% e água estéril, permanecendo um minuto em cada um deles, a fim de eliminar contaminantes presentes na superfície dos colmos. Os colmos foram alocados nas caixas gerbox, contendo papel filtro umedecido com água estéril, sendo essas armazenadas em sala de incubação, a 25 ^{o}C e fotoperíodo de 12 h, e os colmos avaliados quatro dias após. Para identificação dos agentes causais das podridões de colmo, esses foram observados em microscópio estereoscópico e ótico e os fungos identificados conforme literatura (BARNETT; HUNTER, 1999).

3.10.5 Produtividade

Para obtenção dos dados de produtividade, foram colhidos os 3 m centrais das linhas de cada subparcela, excetuando as bordaduras, sendo as espigas debulhadas e os grãos pesados. Foi determinada a umidade dos grãos e os dados de produtividade foram ajustados para a umidade de 13%, para padronização, sendo os dados expressos em quilogramas de grãos por hectare (kg ha^{-1}).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 População de fungos totais, *Fusarium* spp. e *Trichoderma* spp. no solo

4.1.1 Efeito da adubação orgânica e mineral em longo prazo

Na primeira época de coleta de solo, que representa o efeito em longo prazo da aplicação dos adubos orgânicos e mineral, observou-se menor população de fungos totais no solo para o DLS, não diferindo estatisticamente da CSS e do tratamento testemunha (Tabela 3). Os demais adubos orgânicos, CSS e DLB, também não diferiram do tratamento testemunha e somente a adubação mineral levou a uma maior população de fungos totais no solo. Pratt (2008) observou que a aplicação de dejetos suínos durante três anos consecutivos, em áreas com histórico de oito anos de aplicação, não teve impacto negativo ou positivo sobre a população de fungos totais no solo, concluindo que os fungos capazes de serem cultivados em meio de cultura se constituem em um componente altamente estável da microflora do solo. Tal resultado corrobora com o obtido no presente trabalho, indicando que a aplicação de dejetos suínos e bovinos em longo prazo não influencia a população de fungos no solo, já que esta foi semelhante à população obtida no tratamento testemunha.

Tabela 3 – Fungos totais no solo (UFC g^{-1} de solo) em função da adubação orgânica e mineral após 6 anos.

Tratamento	**Fungos totais (UFC g^{-1} de solo) (10^3)**	
Testemunha	5,9	bc*
Dejeto líquido de suíno	2,1	c
Cama sobreposta de suíno	8,1	abc
Dejeto líquido de bovino	14,2	ab
Adubação mineral	17,2	a

* Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey, a 5% de significância.

A morte de microesclerócios de *Verticillium dahliae* foi observada em pH 5,0, mas não em pH 6,5, com a aplicação de DLS (CONN; LAZAROVITS, 2000). Em solo ácido, ocorre a transformação de nitrito em ácido nitroso, que é tóxico e provoca a mortalidade de micro-organismos (LOFFLER et al., 1986; MICHEL; MEW, 1998; TSAO; OSTER, 1981). Neste trabalho, como o pH do solo era semelhante em todos os tratamentos e não inferior a 6,3, tal efeito tóxico, relatado pelos autores acima, não ocorreu. A menor população de fungos totais com a aplicação do DLS, embora não tenha ocorrido diferença significativa em relação ao tratamento testemunha, pode ter ocorrido devido a outros efeitos tóxicos, diretos ou indiretos, desse adubo sobre a população fúngica do solo.

A CSS resultou em maior população de *Fusarium* spp., não diferindo dos demais adubos orgânicos. O DLS e a CSS tiveram maior população desse fungo em relação ao tratamento testemunha, indicando que tal gênero fúngico é favorecido, a longo prazo, pela aplicação dos mesmos (Tabela 4). A ação tóxica do DLS, que possivelmente tenha sido a causa da redução na população de fungos totais no solo, não foi observada para micro-organismos do gênero *Fusarium*, já que sua população foi alta em solo adubado com tal composto orgânico. Sendo assim, o DLS não exerce efeito tóxico aos fungos do gênero *Fusarium* presentes no solo.

Tabela 4 – *Fusarium* spp. no solo (UFC g^{-1} de solo) em função da adubação orgânica e mineral após 6 anos.

Tratamento	***Fusarium* spp. (UFC g^{-1} de solo) (10^2)**	
Testemunha	5,0	c*
Dejeto líquido de suíno	12,0	ab
Cama sobreposta de suíno	16,4	a
Dejeto líquido de bovino	9,0	abc
Adubação mineral	7,8	bc

* Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey, a 5% de significância.

Não houve influência dos adubos orgânicos e mineral, em longo prazo, sobre a população de *Trichoderma* spp. no solo (dados não mostrados), indicando que sua população é capaz de se manter em níveis semelhantes em solos adubados com diferentes compostos por um longo período de tempo. Pratt (2008) não observou aumento significativo na população de

Trichoderma spp. no solo com aplicação comercial de dejeto de suínos e afirma que a maioria dos experimentos que avaliam o efeito da aplicação em longo prazo de resíduos animais parece corresponder aos resultados obtidos por ele, onde a mesma situação foi representada. Assim, pode-se afirmar que a população de fungos do gênero *Trichoderma* é estável no solo, já que não foi influenciada pela aplicação dos diferentes adubos em longo prazo e pela consequente diferença na concentração de nutrientes gerada por esses, especialmente de P e K, conforme foi apresentado na tabela 2.

4.1.2 Efeito da adubação orgânica e mineral e das épocas de coleta

Foi observada interação significativa entre adubos e épocas de coleta de solo para a variável fungos totais, com maior número de UFC g^{-1} de solo obtido na segunda época de coleta, para os tratamentos testemunha e DLS (Tabela 5). Devido ao aumento na quantidade de fungos totais no tratamento testemunha, pode-se afirmar que esse foi um fenômeno ocasionado em decorrência da própria implantação da cultura na área. Lenc et al. (2011) cita que a microbiota presente na rizosfera é determinada por alguns fatores, dentre eles os exsudatos radiculares, que variam de forma quantitativa e qualitativa ao longo do ciclo de desenvolvimento da planta cultivada, a utilização de fertilizantes orgânicos e inorgânicos, as propriedades físicas e químicas do solo, que variam continuamente devido à práticas culturais, a aplicação de pesticidas e a relação entre os micro-organismos. No presente trabalho, possivelmente a liberação de exsudatos radiculares pelas plântulas de milho tenha sido o principal fator que contribuiu para o aumento da população fúngica do solo nos tratamentos em que se encontrava em quantidades inicialmente baixas em relação aos demais.

Tabela 5 – Fungos totais no solo (UFC g^{-1} de solo) em função da adubação orgânica e mineral e das épocas de coleta.

Tratamento	Fungos totais (UFC g^{-1} de solo) (10^3)		
	1ª época	2ª época	Média
TEST[1]	5,9 B* bc	13,9 A a	**9,9 ns**
DLS[2]	2,1 B c	21,3 A a	**11,7 ns**
CSS[3]	8,1 A b	12,2 A a	**10,1 ns**
DLB[4]	14,2 A ab	13,0 A a	**13,6 ns**
NPK[5]	17,2 A a	15,6 A a	**16,4 ns**
Média	**9,5 ns**	**15,2 ns**	

[1]TEST: testemunha; [2]DLS: dejeto líquido de suínos; [3]CSS: cama sobreposta de suínos; [4]DLB: dejeto líquido de bovinos; [5]NPK: adubação mineral.
*Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha e minúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância. ns: não significativo.

É importante observar que a população de fungos totais nos tratamentos testemunha e DLS na primeira época foi baixa em relação aos demais tratamentos e, na segunda época, praticamente se igualou ou foi superior aos demais, demonstrando a instabilidade da população fúngica total em ambos os tratamentos. Nos demais tratamentos, CSS, DLB e NPK, houve maior equilíbrio da população de fungos totais, não havendo alterações significativas quando as condições de solo foram modificadas como, por exemplo, pela liberação dos exsudatos das plântulas de milho. Além disso, mudanças no tipo de substrato podem provocar mudanças na estrutura da comunidade microbiana do solo (BOSSIO; SCOW, 1998; FONTAINE et al., 2004), já que os micro-organismos diferem quanto à sua especificidade ao substrato (JIN et al., 2010).

Estudos recentes mostram que a entrada de carbono no solo nas diversas formas pode impactar significativamente a biomassa microbiana do solo, a composição e a atividade de micro-organismos (BARDGETT et al., 1999; BOSSIO; SCOW, 1998; BRANT et al., 2006; GRIFFITHS et al., 1999; TU et al., 2006), devido ao aumento da disponibilidade de energia no sistema. A adição de carbono, através da utilização de adubos orgânicos, culturas de cobertura e pela rizosfera de plantas pode também ter influência sobre a diversidade e densidade da comunidade microbiana do solo (LENC et al., 2011). Tais autores verificaram que a concentração de frações solúveis de carbono possui uma correlação positiva com a densidade microbiana do solo. Ainda, a forma de N presente no adubo aplicado ao solo pode

afetar a produção de aminas, amida e proteínas nas plantas e a composição dos exsudatos radiculares (HUBER, 1980, 1981, 1989; HUBER; WATSON, 1974; SMILEY, 1974).

Não houve interação entre os fatores adubos e épocas para a variável *Fusarium* spp. Porém, houve efeito isolado do fator épocas sobre sua população, que foi maior na segunda época (Tabela 6). Apesar da interação não ter sido significativa, observa-se que a população de *Fusarium* spp. no solo aumentou na segunda época principalmente nos tratamentos testemunha e NPK, o que provavelmente contribuiu para que houvesse diferença entre as épocas avaliadas, enquanto nos adubos orgânicos a população desse fungo na segunda época foi semelhante àquela encontrada na primeira. Dessa forma, pode-se afirmar que os adubos orgânicos mantiveram em equilíbrio a população de *Fusarium* spp., conferindo maior estabilidade ao solo.

Tabela 6 – *Fusarium* spp. no solo (UFC g^{-1} de solo) em função da adubação orgânica e mineral e das épocas de coleta.

Tratamento	***Fusarium* spp. (UFC g^{-1} de solo) (10^2)**					
	1ª época		**2ª época**		**Média**	
TEST[1]	5,0	ns	14,4	ns	**9,7**	**ns**
DLS[2]	12,0	ns	11,8	ns	**11,9**	**ns**
CSS[3]	16,4	ns	14,8	ns	**15,6**	**ns**
DLB[4]	9,0	ns	11,0	ns	**10,0**	**ns**
NPK[5]	7,8	ns	16,9	ns	**12,3**	**ns**
Média	**10,0**	**B***	**13,8**	**A**		

[1]TEST: testemunha; [2]DLS: dejeto líquido de suínos; [3]CSS: cama sobreposta de suínos; [4]DLB: dejeto líquido de bovinos; [5]NPK: adubação mineral.
*Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem entre si pelo Teste de Tukey, a 5% de significância. ns: não significativo.

Yergeau et al. (2010) verificaram que houve maior abundância de fungos do gênero *Fusarium* em lavouras que tiveram maior quantidade de matéria orgânica (MO) no solo, além de uma alta concentração de NH_4^+. Considerando que na segunda época houve maior quantidade de propágulos de *Fusarium* spp., possivelmente a adição de MO e a liberação dos exsudatos radiculares pelas plântulas de milho tenha favorecido o aumento da sua população no presente trabalho.

Para *Trichoderma* spp., não foi observada interação entre adubos e épocas de coleta, porém, houve diferença significativa entre os níveis do fator épocas (Tabela 7). O maior número de UFC g^{-1} de solo de *Trichoderma* spp., verificado na segunda época de coleta, se deve em grande parte pelo efeito a curto prazo do DLB e da adubação mineral, que aumentaram a população do antagonista no solo em 89,4 e 223,9%, respectivamente.

Tabela 7 – *Trichoderma* spp. no solo (UFC g^{-1} de solo) em função da adubação orgânica e mineral e das épocas de coleta.

Tratamento	***Trichoderma* spp. (UFC g^{-1} de solo) (10^2)**		
	1ª época	**2ª época**	**Média**
TEST[1]	10,6 ns	10,4 ns	**10,5 ns**
DLS[2]	11,2 ns	9,5 ns	**10,3 ns**
CSS[3]	11,8 ns	15,6 ns	**13,7 ns**
DLB[4]	9,4 ns	17,8 ns	**13,6 ns**
NPK[5]	4,6 ns	14,9 ns	**9,7 ns**
Média	**9,5 B***	**13,6 A**	

[1]TEST: testemunha; [2]DLS: dejeto líquido de suínos; [3]CSS: cama sobreposta de suínos; [4]DLB: dejeto líquido de bovinos; [5]NPK: adubação mineral.
*Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem entre si pelo Teste de Tukey, a 5% de significância. ns: não significativo.

4.1.3 Efeito da adubação orgânica e mineral e do tratamento das sementes com *Trichoderma* spp.

Na segunda época de coleta, que representa o efeito a curto prazo da aplicação dos adubos e do tratamento com *Trichoderma* spp., não houve interação entre os fatores e, também, não houve efeito isolado dos mesmos para os fungos avaliados (dados não mostrados), indicando que ambos os fatores não apresentam efeitos em curto prazo, sobre a população de fungos totais, *Fusarium* spp. e *Trichoderma* spp. no solo. Uma possível explicação para isso é que a segunda amostragem de solo foi realizada muito precocemente, impossibilitando uma maior decomposição dos adubos e maior efeito de *Trichoderma* spp. sobre os demais fungos do solo, já que a maioria dos trabalhos demonstra modificações na

composição da microbiota do solo quando são utilizados compostos orgânicos aliados a micro-organismos.

Diversos trabalhos mostram efeito da utilização de compostos bio-orgânicos sobre a população de fungos no solo, especialmente por reduzirem populações de fungos fitopatogênicos. A aplicação de fertilizante bio-orgânico reduziu a população de *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* em solo rizosférico, cultivado com melancia, possivelmente devido à aplicação de micro-organismos antagônicos juntamente com os fertilizantes orgânicos (ZHAO et al., 2010). Ha e Huang (2007), em trabalho realizado objetivando controle da murcha de *Fusarium* em feijoeiro-de-metro (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) através de adições de compostos orgânicos e micro-organismos, observaram que a população de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* foi reduzida de forma significativa após adição, no solo, de pó de casca de caranguejo e camarão, em comparação com o tratamento testemunha, enquanto os tratamentos com casca de arroz ou farelo de soja foram ineficientes em reduzir as populações do patógeno no solo. A aplicação de fertilizante bio-orgânico em solo cultivado com pepino em monocultura contínua reduziu o número de UFC de *F. oxysporum* g^{-1} de solo, em comparação ao tratamento testemunha (ZHANG et al., 2008).

4.2 Matéria seca das plantas de milho

Não houve interação entre os fatores adubos e tratamento das sementes com *Trichoderma* spp. para a variável MS do milho, porém houve diferença significativa entre os níveis de ambos os fatores avaliados (Tabela 8). No fator adubos, maior produção de MS foi obtida no tratamento DLS, que não diferiu do tratamento NPK. Todos os tratamentos tiveram produção de MS superior ao tratamento testemunha. O incremento na produção de MS utilizando o DLS foi de 79,4%, 21,9% e 22,4% em relação aos tratamentos testemunha, CSS e DLB, respectivamente.

Tabela 8 – Matéria seca (kg ha^{-1}) de parte aérea das plantas de milho em função da adubação orgânica e mineral e do tratamento das sementes com *Trichoderma* spp.

Tratamento	**Matéria seca (kg ha^{-1})**					
	Sem *Trichoderma* spp.		**Com *Trichoderma* spp.**		**Média**	
TEST[1]	6959	ns	7516	ns	**6988**	**c***
DLS[2]	12447	ns	12630	ns	**12538**	**a**
CSS[3]	10042	ns	10524	ns	**10283**	**b**
DLB[4]	10590	ns	9889	ns	**10240**	**b**
NPK[5]	10721	ns	11108	ns	**10914**	**ab**
Média	**10052**	**B**	**10333**	**A**		

[1]TEST: testemunha; [2]DLS: dejeto líquido de suínos; [3]CSS: cama sobreposta de suínos; [4]DLB: dejeto líquido de bovinos; [5]NPK: adubação mineral.
*Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha e minúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância. ns: não significativo.

Ceretta et al. (2005) constataram que o uso de DLS proporcionou incremento na produção de MS de aveia preta, milho e nabo forrageiro em todas as doses utilizadas (20, 40 e 80 m^3 ha^{-1}), em relação ao tratamento testemunha. Aita et al. (2006) verificaram aumento na produção de MS em aveia preta, consórcio de aveia preta e ervilhaca comum e vegetação espontânea da área quando foi aplicado DLS e incremento de 109%, em relação ao tratamento testemunha, na produção de MS na cultura da aveia preta solteira, utilizando 80 kg ha^{-1} de DLS.

Aumento na produção de MS em pastagem com a utilização de DLS foi observado em dois anos de cultivo e, quando utilizada a dosagem de 120 m^3 ha^{-1}, o incremento foi de 112% aos 108 dias após a emergência (DAE), no primeiro ano, e 185% aos 129 DAE, no segundo ano (ASSMANN et al., 2009). Aumento de 109 e 155% foi obtido, em relação ao tratamento testemunha, na produção de MS em pastagem natural adubada com 20 e 40 m^3 ha^{-1} de DLS, respectivamente, aos 48 meses após instalação do experimento, tendo sido realizadas 28 aplicações de DLS durante esse período (DURIGON et al., 2002).

Para o fator tratamento das sementes, maior produção de MS foi obtida com *Trichoderma* spp., em que foi observado incremento de 2,8% na produção de MS. Resende et al. (2004), utilizando *T. harzianum* em sementes de milho, como promotor de crescimento, observaram diferença significativa entre sementes tratadas e não tratadas somente para a variável MS de raízes, não havendo efeito significativo para a altura e MS de parte aérea. Foi verificado um maior crescimento de plantas de milho (HARMAN, 1989), de alface (LYNCK,

1992) e de pimentão (MENEZES, 1992) oriundas de sementes tratadas com *Trichoderma* spp. Cassiolato (1995) observou promoção do crescimento de plantas de alface por *Trichoderma* spp. e Paulitz (1990) verificou aumento na MS de plântulas de pepineiro, em casa de vegetação. Aumento de 24% e 40% foi verificado na MS de raízes e da parte aérea de plantas de pepineiro, respectivamente, quando as plantas foram tratadas com *Trichoderma harzianum*, em relação ao tratamento testemunha, em cultivo hidropônico (YEDIDIA et al., 2001).

Carvalho Filho et al. (2008), avaliando cinco isolados de *Trichoderma* spp. na promoção de crescimento de mudas de eucalipto, observaram aumento no peso seco de raiz e de parte aérea quando utilizados os isolados CEN 162 (*T. asperellum*) e CEN 262 (*T. harzianum*), no clone G-100 de eucalipto, e o isolado CEN 262, em mudas de *Eucalyptus camadulensis*, comparativamente aos demais isolados e ao tratamento testemunha.

4.3 Acúmulo de N, P e K no tecido das plantas de milho

Com relação à quantidade de N presente no tecido de plantas de milho, não houve interação entre os fatores adubos e tratamento das sementes, mas houve diferença significativa entre os níveis do fator adubos (Tabela 9). O tratamento NPK proporcionou maior teor de N no tecido, não diferindo dos tratamentos DLS e DLB. O incremento no teor de N nos tratamentos NPK, DLB e DLS, em relação ao tratamento testemunha, foi de 29,6, 7,1 e 4,8%, respectivamente.

Tabela 9 – Teor (%) de nitrogênio no tecido de plantas de milho em função da adubação orgânica e mineral e do tratamento das sementes com *Trichoderma* spp.

Tratamento	**Nitrogênio (%)**					
	Sem *Trichoderma* spp.		**Com *Trichoderma* spp.**		**Média**	
TEST[1]	1,087	ns	1,347	ns	**1,217**	**b***
DLS[2]	1,228	ns	1,321	ns	**1,275**	**ab**
CSS[3]	1,155	ns	1,263	ns	**1,209**	**b**
DLB[4]	1,352	ns	1,254	ns	**1,303**	**ab**
NPK[5]	1,631	ns	1,524	ns	**1,577**	**a**
Média	**1,291**	**ns**	**1,342**	**ns**		

[1]TEST: testemunha; [2]DLS: dejeto líquido de suínos; [3]CSS: cama sobreposta de suínos; [4]DLB: dejeto líquido de bovinos; [5]NPK: adubação mineral.
*Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância. ns: não significativo.

Giacomini e Aita (2008) obtiveram resultados semelhantes, em que menor quantidade de N foi observada no tecido de plantas de milho submetidas à adubação com CSS, não diferindo estatisticamente do tratamento sem aplicação de adubos. Os autores atribuíram tal resultado à baixa disponibilidade deste nutriente no solo, que se aproximou daquela obtida no tratamento testemunha, sem a aplicação de adubos, enquanto o DLS apresentou valores significativamente maiores de disponibilidade de N. O mesmo pode ter ocorrido no presente trabalho, que apesar de terem sido aplicadas as mesmas quantidades de N ao solo em todos os tratamentos, a CSS pode ter ocasionado uma menor disponibilidade desse nutriente no solo, impossibilitando um maior acúmulo no tecido das plantas de milho.

Para a variável P no tecido, não houve interação entre os fatores (Tabela 10). Ocorreu diferença significativa somente entre os níveis do fator adubos, em que maior teor de P ocorreu no tratamento CSS, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos e havendo incremento de 108,3% com relação ao tratamento testemunha. Observando as quantidades de cada nutriente fornecidas pelos adubos ao solo, conforme apresentado anteriormente na tabela 1, nota-se que houve um aporte maior de P ao solo (79,5 kg ha^{-1}) pela CSS que nos demais tratamentos. Isso pode ter possibilitado maior acúmulo do nutriente no tecido das plantas de milho. Menor absorção de P em aveia preta e nabo forrageiro no segundo ano do experimento foi constatada por Ceretta et al. (2005), em relação ao primeiro ano, o que foi justificado pela menor quantidade de P adicionada via dejeto. Tais autores afirmam que além das características químicas do solo, na análise de resultados referentes ao acúmulo de nutrientes

em plantas após a aplicação de dejetos, devem-se levar em consideração as diferenças na composição dos mesmos, assim como as condições de clima de cada ano.

Tabela 10 – Teor (%) de fósforo no tecido de plantas de milho em função da adubação orgânica e mineral e do tratamento das sementes com *Trichoderma* spp.

Tratamento	**Fósforo (%)**		
	Sem *Trichoderma* spp.	**Com *Trichoderma* spp.**	**Média**
TEST[1]	0,129 ns	0,086 ns	**0,108 c***
DLS[2]	0,128 ns	0,161 ns	**0,145 bc**
CSS[3]	0,217 ns	0,232 ns	**0,225 a**
DLB[4]	0,137 ns	0,200 ns	**0,168 b**
NPK[5]	0,125 ns	0,143 ns	**0,134 bc**
Média	**0,147 ns**	**0,165 ns**	

[1]TEST: testemunha; [2]DLS: dejeto líquido de suínos; [3]CSS: cama sobreposta de suínos; [4]DLB: dejeto líquido de bovinos; [5]NPK: adubação mineral.
*Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância. ns: não significativo.

Não houve efeito tratamento com *Trichoderma* spp. sobre os níveis de P no tecido. Bernal-Vicente et al. (2009) observaram que o conteúdo de P no tecido de plântulas de meloeiro nos tratamentos com *T. harzianum* foi similar aos valores encontrados no tratamento testemunha, não havendo diferença estatística entre esses. Porém, os autores atribuíram tal resultado ao fato de que, como todos os tratamentos continham turfa e o nível de P contido na mesma pode ter sido suficiente para o desenvolvimento tanto da planta quanto dos micro-organismos, não houve competição entre ambos.

Entretanto, Altomare et al. (1999), buscando determinar se *T. harzianum* seria capaz de solubilizar nutrientes *in vitro*, comprovou que o isolado T-22 foi capaz de solubilizar fosfato natural (principalmente fosfato de cálcio) em meio líquido de extrato de levedura e sacarose. Os autores constataram, ainda, que esse mesmo isolado tem a capacidade de solubilizar outros nutrientes, tais como Fe^{+3}, Cu^{+2}, Mn^{+4} e Zn^{0}, disponibilizando-os às plantas. No presente trabalho possivelmente não foi observada diferença entre o tratamento com e sem *Trichoderma* spp. para o acúmulo de P no tecido porque as cepas do fungo utilizadas não foram eficientes em solubilizar P presente na forma insolúvel no solo, já que a grande maioria dos trabalhos verifica um efeito positivo do tratamento com o antagonista sobre essa variável.

Rudresh et al. (2005), estudando a habilidade de isolados de *Trichoderma* spp. na solubilização de fosfato tricálcico em relação à absorção de P em plantas de grão-de-bico, observaram um aumento na absorção de P, no crescimento e rendimento das plantas no tratamento com *Trichoderma* spp. comparativamente com os tratamentos testemunha e fosfato natural, o que sugere que esse fungo é capaz de solubilizar fosfato natural insolúvel e fornecer P em uma forma solúvel às plantas, juntamente com a ação como agente de controle biológico e com a produção de substâncias promotoras do crescimento de plantas. Yedidia et al. (2001) observaram aumento na concentração de P nas raízes e na parte aérea de plantas de pepineiro, cultivadas tanto em sistema hidropônico quanto no solo, tratadas com *T. harzianum*, comparativamente ao tratamento testemunha.

Assim como ocorreu para o P, não houve interação entre os fatores para o teor de K, entretanto, houve efeito dos fatores isoladamente sobre essa variável (Tabela 11). A resposta das plantas aos adubos para o teor de K foi semelhante à observada para P, havendo maior teor na CSS e menor no tratamento testemunha. O incremento no teor de K proporcionado pela CSS foi de 150,7% em relação ao tratamento testemunha, 71% em relação ao DLS e 34,8% em relação ao DLB. Aumentos de 38% na absorção de P e 6% na absorção de K pelo tecido de plantas de milho foram verificados com a aplicação de 40 m^3 ha^{-1} de DLS, em relação ao tratamento testemunha (BARCELLOS, 1991).

Tabela 11 – Teor (%) de potássio no tecido de plantas de milho em função da adubação orgânica e mineral e do tratamento das sementes com *Trichoderma* spp.

Tratamento	**Potássio (%)**					
	Sem *Trichoderma* spp.		**Com *Trichoderma* spp.**		**Média**	
TEST[1]	0,079	ns	0,064	ns	**0,071**	**c***
DLS[2]	0,088	ns	0,120	ns	**0,104**	**bc**
CSS[3]	0,173	ns	0,184	ns	**0,178**	**a**
DLB[4]	0,106	ns	0,158	ns	**0,132**	**b**
NPK[5]	0,101	ns	0,115	ns	**0,108**	**bc**
Média	**0,109**	**B**	**0,128**	**A**		

[1]TEST: testemunha; [2]DLS: dejeto líquido de suínos; [3]CSS: cama sobreposta de suínos; [4]DLB: dejeto líquido de bovinos; [5]NPK: adubação mineral.
*Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha e minúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância. ns: não significativo.

O maior teor de K no tecido para a CSS e, posteriormente, para o DLB pode estar associado às altas quantidades de K fornecidas pelos tratamentos (371,3 kg ha^{-1} para a CSS e 516,2 kg ha^{-1} para o DLB), pois o K é um elemento que se torna rapidamente disponível às plantas quando fornecido através de adubos orgânicos, possuindo um índice de eficiência igual a um (CQFS, 2004). Ceretta et al. (2005), considerando os dois anos de cultivo avaliados, observaram aumentos expressivos no acúmulo de P e K no tecido de plantas de nabo forrageiro quando aplicados 80 m^3 ha^{-1} de DLS, comparativamente ao tratamento testemunha, sendo de 478% para P e 520% para K.

Trichoderma spp. aumentou de forma significativa o teor de K no tecido das plantas, sendo o incremento de 58,7% em relação ao tratamento sem *Trichoderma* spp. Yedidia et al. (2001) observaram aumento no teor de K nas raízes de pepineiro de plantas cultivadas no solo quando tratadas com *T. harzianum*, enquanto na parte aérea não foi observada diferença significativa no teor de K entre plantas tratadas e não tratadas. Porém, quando as plantas foram cultivadas em sistema hidropônico não foi observada diferença entre plantas tratadas e não tratadas com o antagonista para os teores de K tanto da raiz quanto da parte aérea das plantas de pepineiro. Yildirim et al. (2006) constataram que em plantas de abóbora transplantadas, o tratamento com *T. harzianum* proporcionou aumento na concentração de K nas folhas na ausência de estresse salino e também quando havia estresse salino, estabelecido pela adição 100 mM de NaCl, em relação ao tratamento testemunha, sem o antagonista. Entretanto, quando foi realizada a semeadura direta, somente houve diferença no teor de K nas folhas entre plantas tratadas e não tratadas com o antagonista na presença de estresse salino, com a adição de 50 mM de NaCl.

4.4 Acúmulo de N, P e K nos grãos de milho

Diferentemente do observado para a quantidade de N no tecido das plantas de milho, em que não houve interação entre os fatores, para a variável percentagem de N nos grãos de milho, observou-se a interação (Tabela 12). O teor de N nos grãos de milho, no tratamento com *Trichoderma* spp., diferiu entre os adubos. Maior valor ocorreu no tratamento testemunha, que somente diferiu do DLB.

Tabela 12 – Teor (%) de nitrogênio nos grãos de milho em função da adubação orgânica e mineral e do tratamento das sementes com *Trichoderma* spp.

Tratamento	**Nitrogênio (%)**		
	Sem *Trichoderma* spp.	**Com *Trichoderma* spp.**	**Média**
TEST[1]	1,194 B* a	1,592 A a	**1,393 ns**
DLS[2]	1,252 A a	1,357 A ab	**1,304 ns**
CSS[3]	1,318 A a	1,397 A ab	**1,357 ns**
DLB[4]	1,249 A a	1,256 A b	**1,252 ns**
NPK[5]	1,073 B a	1,361 A ab	**1,217 ns**
Média	**1,217 ns**	**1,392 ns**	

[1]TEST: testemunha; [2]DLS: dejeto líquido de suínos; [3]CSS: cama sobreposta de suínos; [4]DLB: dejeto líquido de bovinos; [5]NPK: adubação mineral.
*Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha e minúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância. ns: não significativo.

Nos tratamentos testemunha e NPK, o tratamento das sementes com *Trichoderma* spp. proporcionou aumento significativo no teor de N nos grãos de milho. Yedidia et al. (2001) encontrou resultados semelhantes, havendo aumento na assimilação de N em plantas de pepineiro tratadas com diferentes isolados de *Trichoderma* spp. Harman et al. (2004) e Pascual et al. (2002) afirmam que *Trichoderma* spp. provoca um aumento na absorção de N, devido à capacidade de mineralização de N por este micro-organismo. Harman (2000) e Harman e Bjorkman (1998) verificaram uma resposta positiva de *Trichoderma* spp. no crescimento de milho doce sob condições de estresse, como seca ou baixos teores de N no solo. No presente trabalho o antagonista favoreceu a mineralização de N presente no solo, aumentando de forma significativa seus teores nos grãos de milho provenientes do tratamento testemunha, que possuía baixa quantidade de MO no solo. Com relação ao tratamento adubação mineral possivelmente esse aumento no teor de N nos grãos de milho tratado com *Trichoderma* spp. tenha ocorrido casualmente, já que o N presente nos adubos está prontamente disponível para a planta e para o antagonista, indicando que o mesmo não influenciou na sua assimilação.

Não houve interação nem diferença significativa entre os níveis dos fatores avaliados para as variáveis P e K nos grãos de milho (dados não mostrados), o que indica que essas variáveis não são influenciadas pela utilização de adubos orgânicos e/ou tratamento das sementes com *Trichoderma* spp.

4.5 Incidência de doenças causadas por patógenos radiculares

4.5.1 Estádio plantular

No estádio V3, não foram observadas plântulas apresentando tombamento pós-emergência. Possivelmente isso tenha ocorrido devido ao efeito residual do produto utilizado no tratamento de sementes para seu armazenamento que, conforme descrição, é indicado para controle de doenças da semente e do solo que causam tombamento em milho, como por exemplo, *Fusarium moniliforme* e *Pythium aphanidermatum* (MAPA, 2011). Além disso, fatores edafoclimáticos, desde o momento da semeadura até a emergência das plantas, possibilitaram uma rápida germinação das sementes, diminuindo seu tempo de exposição aos patógenos presentes no solo e reduzindo a probabilidade de ocorrência de doenças radiculares nesse estádio.

4.5.2 Estádio de maturação fisiológica

Quanto à incidência de podridões de colmo no milho, não houve interação entre os fatores adubos e tratamento das sementes (Tabela 13). Foi observada diferença apenas para os níveis do fator adubos, em que menor incidência de podridões de colmo foi verificada no tratamento testemunha, sendo que a incidência foi 23,5, 12,5 e 17,8% menor que nos tratamentos DLS, CSS e NPK, respectivamente. Esse resultado pode estar associado à menor população de *Fusarium* spp. no solo para o tratamento testemunha em relação aos demais tratamentos, conforme foi apresentado na tabela 4.

Tabela 13 – Incidência (%) de podridões de colmo do milho em função da adubação orgânica e mineral e do tratamento das sementes com *Trichoderma* spp.

Tratamento	**Incidência de podridões de colmo (%)**					
	Sem *Trichoderma* spp.		**Com *Trichoderma* spp.**		**Média**	
TEST[1]	3,1	ns	2,5	ns	**2,8**	**c***
DLS[2]	26,9	ns	25,6	ns	**26,3**	**a**
CSS[3]	16,9	ns	13,8	ns	**15,3**	**ab**
DLB[4]	11,3	ns	12,5	ns	**11,9**	**bc**
NPK[5]	25,0	ns	16,3	ns	**20,6**	**ab**
Média	**16,6**	**ns**	**14,1**	**ns**		

[1]TEST: testemunha; [2]DLS: dejeto líquido de suínos; [3]CSS: cama sobreposta de suínos; [4]DLB: dejeto líquido de bovinos; [5]NPK: adubação mineral.
*Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância. ns: não significativo.

A maior incidência de podridões de colmo foi observada no tratamento DLS, que não diferiu estatisticamente da CSS e do NPK. A alta incidência da doença no DLS pode estar relacionada à alta população de *Fusarium* spp. e baixa população de fungos totais observada para esse tratamento na primeira época de coleta. Uma menor quantidade de fungos totais tende a favorecer o desenvolvimento dos fitopatógenos, devido à existência de pouca competição entre esses e à menor quantidade de micro-organismos antagônicos. Com uma maior diversidade de espécies de micro-organismos, um fitopatógeno pode não se desenvolver de forma tão eficaz quanto em um solo empobrecido biologicamente.

Trichoderma spp. não provocou modificações significativas na incidência de podridões de colmo no milho. Sabe-se que existem cepas de *Trichoderma* spp. com competência de rizosfera, ou seja, capazes de se desenvolver e permanecer na rizosfera das plantas até o final do seu ciclo, enquanto outras não possuem tal capacidade. É possível que as cepas utilizadas não tenham sido capazes de colonizar a rizosfera da planta e, portanto, não exerceram seu potencial anti-fitopatogênico, pois a maioria dos trabalhos existentes nessa área demonstra uma redução na incidência de doenças quando utilizado *Trichoderma* spp. em diversas culturas.

Segarra et al. (2010) constataram que o isolado T34 de *T. asperellum* protege as plantas da ocorrência da murcha de *Fusarium* em tomateiro através da competição por ferro (Fe) e também exerce um efeito de proteção contra a toxicidade por Fe^{3+}. Stevens et al. (2003), buscando estudar a integração da solarização do solo, com baixo nível de

pentacloronitrobenzeno (fungicida), e a aplicação de *T. virens* após a solarização, visando o controle da podridão-de-esclerócio (*Sclerotium rolfsii*) e do nematóide de galhas do tomateiro (*Meloidogyne* spp.), concluíram que a adição do antagonista após a solarização do solo reduziu a podridão-de-esclerócio de tomateiro em 100% em 1991 e 71% em 1992. Martínez-Medina et al. (2010) observaram que os mecanismos envolvidos no controle da murcha de *Fusarium* por *T. harzianum* em plantas de meloeiro parecem estar relacionados não somente com a indução de resistência na planta, mas também com sua capacidade de atenuar a disfunção hormonal ocasionada pela doença.

A interação entre os fatores, não observada no presente trabalho, em contrapartida, foi observada em estudos realizados por outros autores. Lang et al. (2011), testando a utilização conjunta de um fertilizante orgânico e o tratamento com *Bacillus subtilis* para controle da murcha de *Verticillium* em algodoeiro, concluíram que a aplicação de fertilizante bio-orgânico reduziu de forma significativa os sintomas da doença. Zhao et al. (2011) concluíram que a utilização de fertilizantes bio-orgânicos, contendo os fungos *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. e as bactérias *Paenibacillus polymyxa* e *Bacillus subtilis*, antagonistas a fitopatógenos, provocou supressão à murcha de *Fusarium* (*F. oxysporum* f. sp. *melonis*) em meloeiro, assim como levou a uma menor incidência da doença. Maior eficácia de biocontrole de murcha de *Fusarium* em melancia foi obtida através da adição de biofertilizante, composto por aminoácidos, dejetos de suínos e a bactéria *Paenibacillus polymyxa*, no solo do viveiro de mudas e no solo transplantado (LING et al., 2010).

4.5.3 Identificação dos agentes causais das podridões de colmo

Quanto à identificação dos agentes causais das podridões de colmo no milho, observou-se a presença simultânea dos gêneros fúngicos *Fusarium* e *Diplodia* na maioria dos colmos avaliados. A seguir podem ser observados colmos de milho com ambos os fungos (Figura 7). Também, Sangoi et al. (2000) encontraram *F. moniliforme*, *C. graminicola* e *D. maydis* simultaneamente na maioria das lesões em colmos de milho apresentando podridão. O fungo *Colletotrichum graminicola*, que também é capaz de causar podridão de colmo no milho, não foi encontrado nos colmos avaliados. Ribeiro et al. (2005) também identificaram os fungos *Fusarium* spp. e *Diplodia* spp. em colmos de milho apresentando podridão, porém, o principal agente causal identificado foi o fungo *C. graminicola*. Os autores citam que a

predominância deste fungo provavelmente foi devido ao cultivo de aveia preta antes do milho, que conforme Harder e Haber (1992) é hospedeira do patógeno e sobrevive em restos culturais e que a menor ocorrência de *Fusarium* spp. possivelmente foi resultado de uma maior tolerância dos genótipos ao patógeno.

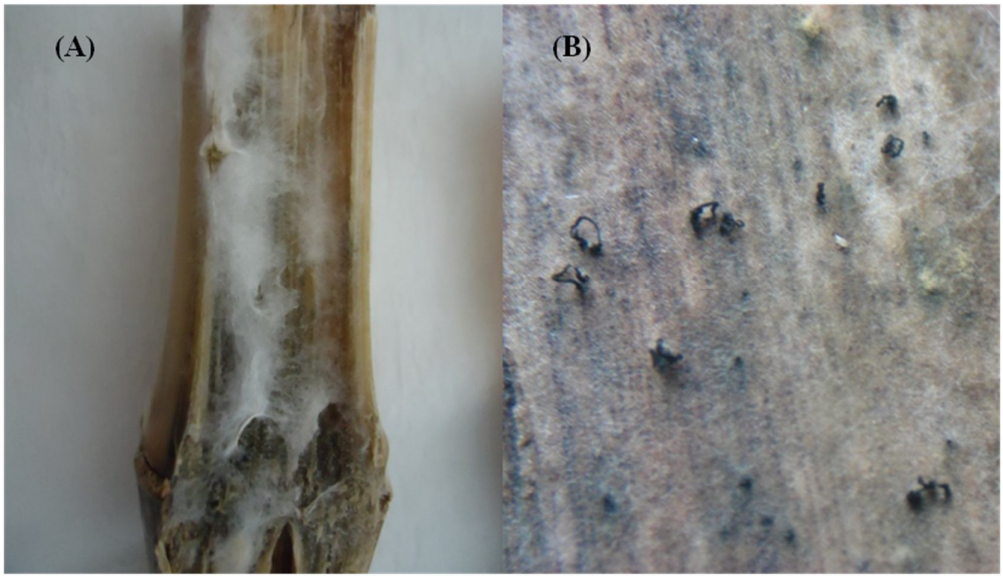

Figura 7 – Colmos de milho apresentando os fungos (A) *Fusarium* spp. e (B) *Diplodia* spp., neste com os cirros de conídios. Santa Maria, RS. 2011.

No presente trabalho, a não ocorrência do fungo *C. graminicola* nos colmos de milho apresentando podridão pode ter sido devido à ausência do patógeno na área de cultivo ou maior resistência do genótipo ao fungo. O híbrido utilizado no presente experimento é descrito como moderadamente suscetível a podridões de colmo. Entretanto, conforme as Indicações Técnicas para o Cultivo do Milho e do Sorgo no RS (FEPAGRO; EMATER/RS, 2011) são escassas as informações referentes à reação de um híbrido específico a um determinado patógeno causador de podridão de colmo ou espiga. Isso porque existe grande variabilidade genética dos agentes causais, do sistema de cultivo, da pressão de inóculo na área e das condições climáticas, podendo fazer com que os híbridos não expressem a reação designada. Por isso, as informações existentes atualmente são encontradas na forma de escala de notas ou generalizadas a uma determinada doença, sem diferenciar quanto aos patógenos causadores da mesma.

Denti e Reis (2003), avaliando a incidência de fungos associados às podridões de colmo do milho nas safras 1997/98 e 1998/99, nas regiões do Planalto Médio do RS e Campos Gerais do PR, observaram maior incidência de *C. graminicola* (22,6%) e *D. maydis* (20,0%) na 1ª safra e *F. graminearum* (18,0%) e *F. moniliforme* (15,2%) na 2ª safra. Os autores atribuíram maior ocorrência de *C. graminicola* na 1ª safra à maior precipitação acumulada, pois esse patógeno é favorecido por excesso de chuvas. A menor incidência de *D. maydis* na 2ª safra foi atribuída ao maior período de insolação, que pode ter levado os conídios à desidratação, conforme observado por Deacon (1988), para *D. macrospora*.

4.6 Produtividade

Para a variável produtividade de milho, não houve interação entre os fatores (Tabela 14) e não houve diferença entre os tratamentos com e sem *Trichoderma* spp., embora tenha sido observada maior produção de MS quando houve o tratamento das sementes com *Trichoderma* spp. e, ainda, a maioria dos autores relate aumento na produtividade das culturas com a utilização do antagonista. Benítez et al. (2004) afirmam que a adição de *T. hamatum* ou *T. koningii* pode aumentar em até 300% a produtividade de culturas no campo. Em experimentos conduzidos em casas de vegetação, Chet et al. (1997) citam que há um aumento considerável no rendimento quando as sementes das plantas são previamente tratadas com esporos de *Trichoderma* spp. A mesma justificativa para os resultados da incidência de podridões de colmo pode ser aplicada aos dados de produtividade, ou seja, que as cepas utilizadas de *Trichoderma* spp. podem não ter sido eficientes em colonizar a rizosfera e, portanto, não exerceram seus efeitos contra os fitopatógenos presentes no solo e, também, não exerceram efeitos positivos suficientes sobre a planta para que esta pudesse aumentar a produtividade.

Tabela 14 – Produtividade (kg ha^{-1}) do milho em função da adubação orgânica e mineral e do tratamento das sementes com *Trichoderma* spp.

Tratamento	**Produtividade (kg ha^{-1})**					
	Sem *Trichoderma* spp.		**Com *Trichoderma* spp.**		**Média**	
TEST[1]	4411	ns	3683	ns	**4047**	**d***
DLS[2]	8606	ns	7884	ns	**8245**	**b**
CSS[3]	7070	ns	7270	ns	**7170**	**c**
DLB[4]	6521	ns	7049	ns	**6785**	**c**
NPK[5]	9601	ns	9351	ns	**9476**	**a**
Média	**7242**	**ns**	**7047**	**ns**		

[1]TEST: testemunha; [2]DLS: dejeto líquido de suínos; [3]CSS: cama sobreposta de suínos; [4]DLB: dejeto líquido de bovinos; [5]NPK: adubação mineral.
*Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância. ns: não significativo.

Considerando somente o fator fontes de adubos, maior produtividade foi alcançada com a adubação mineral. Todos os tratamentos alcançaram produtividade significativamente superior ao tratamento testemunha, sendo observados incrementos de 68, 77, 104 e 134% nos tratamentos DLB, CSS, DLS e NPK, respectivamente, em relação ao tratamento testemunha. Giacomini e Aita (2008), estudando o efeito da cama sobreposta e dejetos líquidos de suínos sobre a produtividade de milho, em sistema plantio direto, encontraram resultados semelhantes aos obtidos neste trabalho. Maior produtividade foi obtida com adubação mineral e dejetos líquidos de suínos, em relação ao tratamento testemunha, enquanto a cama sobreposta não apresentou tal efeito. Também, Berenguer et al. (2008) constataram que milho adubado com dejeto líquido de suínos em uma taxa de 60 m^3 ha^{-1}, sem adição de qualquer outro tipo de fertilizante mineral nitrogenado em cobertura, produziu o máximo rendimento de grãos, o que sugere que é possível se obter um rendimento ótimo de grãos, somente utilizando dejeto líquido de suíno. Carter e Campbell (2006) verificaram que o DLS teve efeito similar à adubação mineral nitrogenada sobre o rendimento de cevada, quando aplicada a taxa de N equivalente. Foi observado efeito residual da adubação com DLS sobre a cultura da soja, que em maiores taxas do adubo orgânico proporcionou maior rendimento de grãos.

A aplicação de dejetos de forma isolada ou combinada com adubação mineral resultou em rendimentos significativamente maiores de milho e, ainda, no crescimento do rendimento da cultura a longo-prazo (HUANG et al., 2010). Tal fato foi relacionado à melhoria da qualidade do solo, ou seja, aumento na quantidade de carbono orgânico e N total e maior

disponibilidade de P e K no solo. Com isso, os autores concluíram que a aplicação de fertilizantes inorgânicos de forma não balanceada não pôde sustentar o rendimento do milho em longo prazo e, também, causou séria acidificação do solo durante a realização do experimento.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos, pode-se afirmar que *Trichoderma* spp. proporcionou aumento na produção de matéria seca da parte aérea do milho, independentemente do adubo utilizado, sendo seu uso indicado quando o objetivo é produção de forragem. Porém, quando o objetivo é a produção de grãos, pode-se dispensar o uso de *Trichoderma* spp., já que este não provocou aumento na produtividade de milho.

Os adubos orgânicos e mineral provocaram aumento na incidência de doenças na cultura do milho, porém, apesar disso, os mesmos apresentaram produtividade superior àquela encontrada para o tratamento testemunha. O tratamento que proporcionou maior incremento na produtividade de milho foi a adubação mineral. Entretanto, considerando o esforço recente na busca por uma agricultura mais sustentável, que utilize o mínimo possível de produtos químicos e sintéticos, a adubação mineral deve ser vista no presente trabalho como uma testemunha positiva, a fim de avaliar o desempenho dos adubos orgânicos em relação a mesma. Dentre os adubos orgânicos, o dejeto líquido de suínos foi o que proporcionou maior produtividade e, também, maior produção de matéria seca de parte aérea no milho e, portanto, o mais adequado para utilização nessa cultura.

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir:

1. A aplicação em longo prazo dos adubos orgânicos dejeto líquido de suínos e cama sobreposta de suínos provoca aumento na densidade populacional de *Fusarium* spp. no solo.
2. Adubos orgânicos aplicados em longo prazo aumentam a produção de matéria seca e a produtividade de milho.
3. *Trichoderma* spp. proporciona aumento na produção de matéria seca em milho, o que não se reflete sobre a produtividade.
4. Os adubos orgânicos e mineral aumentam a incidência de podridões de colmo em milho.
5. *Trichoderma* spp. não reduz a incidência de podridões de colmo no milho.
6. Os tratamentos cama sobreposta de suínos e dejeto líquido de bovinos, aplicados em longo prazo, aumentam o teor de fósforo e potássio no tecido de plantas de milho.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAWI, G. S.; WIDMER, T. L. Impact of soil health management practices on soilborne pathogens, nematodes and root diseases of vegetable crops. **Applied Soil Ecology**, v. 15, p. 37-47, 2000.

AITA, C.; PORT, O.; GIACOMINI, S. J. Dinâmica do nitrogênio no solo e produção de fitomassa por plantas de cobertura no outono/inverno com o uso de dejetos de suínos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, n. 5, p. 901-910, 2006.

ALMEIDA, A. C. R. **Uso associado de esterco líquido de suínos e plantas de cobertura de solo na cultura do milho.** 2000. 114 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2000.

ALTOMARE, C. et al. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 7, p. 2926-2933, jul. 1999.

ASSMANN, J. M. et al. Produção de matéria seca de forragem e acúmulo de nutrientes em pastagem anual de inverno tratada com esterco líquido de suínos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 8, p. 2408-2416, nov. 2009.

BARCELLOS, L. A. R. **Avaliação do potencial fertilizante do esterco líquido de bovinos.** 1991. 108 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1991.

BARDGETT, R. D. et al. Seasonal changes in soil microbial communities along a fertility gradient of temperate grasslands. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 31, p. 1021–1030, 1999.

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Ilustrated genera of imperfect fungi**. 4. ed. Minnesota: American Phytopathology Society, 1999. 218 p.

BENÍTEZ, T. et al. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v. 7, p. 249-260, 2004.

BERENGUER, P. et al. Fertilisation of irrigated maize with pig slurry combined with mineral nitrogen. **European Journal of Agronomy**, v. 28, p. 635-645, 2008.

BERNAL-VICENTE, A.; ROS, M.; PASCUAL, J. A. Increased effectiveness of the *Trichoderma harzianum* isolate T-78 against *Fusarium* wilt on melon plants under nursery conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, p. 827-833, 2009.

BONANOMI, G. et al. Soil solarization with biodegradable materials and its impact on soil microbial communities. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, p. 1989-1998, 2008.

BORRERO, C. et al. Tomato fusarium wilt suppressiveness. The relationship between the organic plant growth media and their microbial communities as characterized by Biology (R). **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, p. 1631–1637, 2006.

BOSSIO, D. A.; SCOW, K. M. Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns. **Microbial Ecology**, v. 35, p. 265–278, 1998.

BRANT, J. B.; SULZMAN, E. W.; MYROLD, D. D. Microbial community utilization of added C substrates in response to long-term C input manipulation. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, p. 2219–2232, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Levantamento de reconhecimento de solos do Estado do Rio Grande do Sul**. Departamento Nacional de Pesquisa Agropecuária. Divisão de Pesquisa Pedológica. Recife, 1973. 431p. (Boletim Técnico, 30).

CARTER, M. R. (Ed.). **Soil sampling and methods of analisys**. Boca Raton: CRC Press, 1993.

CARTER, M. R.; CAMPBELL, A. J. Influence of tillage and liquid swine manure on productivity of a soybean-barley rotation and some properties of a fine sandy loam in Prince Edward Island. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 86, p. 741-748, 2006.

CARVALHO FILHO, M. R. C. et al. **Avaliação de isolados de *Trichoderma* na promoção de crescimento, produção de ácido indolacético in vitro e colonização endofítica de mudas de eucalipto.** Brasília: [s.n.], 2008, 16 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 226).

CASA, R. T.; REIS, E. M.; ZAMBOLIM, L. Doenças do milho causadas por fungos do gênero *Stenocarpella*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 5, p. 427-439, set./out. 2006.

CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S.; PINTO, N. F. J. A. **Doenças na cultura do milho.** Sete Lagoas: [s.n.], 2006, 14 p. (Circular Técnica, 83).

CASSIOLATO, A. M. R. **Parasitismo de *Sclerotinia slerotiorum* (Lib) de Bary por mutantes de *Trichoderma harzianum rifai***. 1995. 133 f. Tese (Doutorado em Genética e melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1995.

CERETTA, C. A. et al. Produtividade de grãos de milho, produção de matéria seca e acúmulo de nitrogênio, fósforo e potássio na rotação aveia preta/milho/nabo forrageiro com aplicação de dejeto líquido de suínos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1287-1295, nov./dez. 2005.

CHET, I.; INBAR, J.; HADAR, I. Fungal antagonists and mycoparasites. In: WICKLOW, D. T.; SÖDERSTRÖM, B. (Eds.). **The Mycota IV:** Environmental and microbial relationships. Berlin: Springer-Verlag, 1997. p. 165-184.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Porto Alegre, SBCS, 2004. 400p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos.** Oitavo levantamento, 2010. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/8graos_6.5.10.pdf>. Acesso em: 25 mai. 2010.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos.** 1º levantamento, 2011. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_10_11_14_19_05_boletim_outubro-2011.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2011.

CONN, K. L.; LAZAROVITS, G. Soil factors influencing the efficacy of liquid swine manure added to soil to kill *Verticillium dahliae*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 22, p. 400–406, 2000.

COSTA, R. V. et al. **Podridões fúngicas de colmo na cultura do milho.** Sete Lagoas: [s.n.], 2008, 7 p. (Circular Técnica, 100).

COTA, L. V. et al. **Efeito da podridão de colmo, causada por *Colletotrichum graminicola*, na produção da cultura do milho.** Sete Lagoas: [s.n.], 2009, 5 p. (Circular Técnica, 120).

DEACON, J. W. **Introducción a la micologia moderna.** México: Limusa, 1988. 350 p.

DENTI, E. A.; REIS, E. M. Levantamento de fungos associados às podridões do colmo e quantificação de danos em lavouras de milho do Planalto Médio Gaúcho e dos Campos Gerais do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 6, p. 585-590, nov./dez. 2003.

DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic plant pathology methods**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 1995. 434 p.

DORAN, J. W.; SARRANTONIO, M.; LIEBIG, M. A. Soil health and sustainability. **Advances in Agronomy**, v. 56, p. 2-54, 1996.

DUARTE, J. O. et al. **Cultivo do milho:** economia da produção. Embrapa Milho e Sorgo, Sistema de Produção, n. 1, 6. ed., set. 2010.

DURIGON, R. et al. Produção de forragem em pastagem natural com o uso de esterco líquido de suínos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 26, p. 983-992, 2002.

EL-HASSAN, S. A.; GOWEN, S. R. Formulation and delivery of the bacterial antagonist *Bacillus subtilis* for management of lentil vascular wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*. **Phytopathology**, v. 154, p. 148–155, 2006.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de Métodos de Análise de Solo**. v. 1., 2 ed., Rio de Janeiro. 1997. 212 p.

FEPAGRO; EMATER/RS. **Indicações técnicas para o cultivo do milho e do sorgo no Rio Grande Do Sul.** RODRIGUES, L. R.; SILVA, P. R. F. (Org.). Porto Alegre: FEPAGRO, 2011. 140 p.

FERNANDES, F. T. et al. **Cultivo do milho:** doenças. Embrapa Milho e Sorgo, Sistemas de Produção, n. 1, 2. ed., dez. 2006.

FERREIRA, D. F. **Sisvar** – Sistema de análise de variância para dados balanceados. Lavras: UFLA, 1998. 19 p.

FONTAINE, S. et al. Carbon input to soil may decrease soil C content. **Ecology Letters**, v. 7, p. 314–320, 2004.

GARBEVA, P.; VAN VEEN, J. A.; VAN ELSAS, J. D. Microbial diversity in soil: selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. **Annual Review of Phytopathology**, v. 42, p. 243-270, 2004.

GHORBANI, R. et al. Soil management for sustainable crop disease control: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 6, p. 149-162, 2008.

GIACOMINI, S. J.; AITA, C. Cama sobreposta e dejetos líquidos de suínos como fonte de nitrogênio ao milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 195-205, 2008.

GRIFFITHS, B. S. et al. Soil microbial community structure: effects of substrate loading rates. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 31, p. 145–153, 1999.

HA, M. T.; HUANG, J. W. Control of *Fusarium* wilt of asparagus bean by organic soil amendment and microorganisms. **Plant Pathology**, v. 16, p. 169-180, 2007.

HARDER, D. E.; HABER, S. Oat diseases and pathology techniques. In: MARSHALL, H. G.; SORRELLS, M. E. (Eds). **Oat Science and Technology**, Madison: American Society of Agronomy, 1992. p.354-357.

HARMAN, G. E. Deployment tactics for biocontrol agents in plant pathology. In: BAKER, R.; DUNN, P. E. (Eds.) **New directions in biological control.** Alternatives for suppressing agricultural pests and diseases. New York: Liss, 1989. p.779-792.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v. 84, n. 4, p. 377-393, abr. 2000.

HARMAN, G. E. et al. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 2, p. 43-56, jan. 2004.

HARMAN, G. E.; BJORKMAN, T. Potential and existing uses of *Trichoderma* and *Gliocladium* for plant disease control and plant growth enhancement. In: HARMAN, G. E.; KUBICEK, C. P. (Eds.). ***Trichoderma* and *Gliocladium***. London: Taylor and Francis, 1998. v. 2, p. 229–265.

HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, v. 87, n. 1, p. 4-10, jan. 2003.

HUANG, S. et al. Effects os long-term fertilization on corn productivity and its sustainability in an Ultisol of southern China. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 138, p. 44-50, 2010.

HUBER, D. M. The role of mineral nutrition in defense. **Plant Disease**, New York: Academic Press, v. 5, p. 381–406, 1980.

HUBER, D. M. The role of nutrition in the take-all disease of wheat and other small grains. In: ENGELHARD, A. W. (Ed.). **Soilborne Plant Pathogens:** Management of Diseases with Macro- and Microelements. St. Paul: APS Press, p. 46–74, 1989.

HUBER, D. M. The use of fertilizers and organic amendments in the control of plant disease. In: PIMENTEL, D. (Ed.). **Handbook of Pest Management in Agriculture**, Boca Raton: CRC Press, v. 1, p. 357–394, 1981.

HUBER, D. M.; WATSON, R. D. Nitrogen form and plant disease. **Annual Review of Phytopathology**, v. 12, p. 139–165, 1974.

JIN, H.; SUN, O. J.; LIU, J. Changes in soil microbial biomass and community structure with addition of contrasting types of plant litter in a semiarid grassland ecosystem. **Journal of Plant Ecology**, v. 3, n. 3, p. 209-217, set. 2010.

LAMPKIN, N. **Organic farming**. Ipswich, UK: Farming Press, 1990.

LANG, J. et al. Control of cotton *Verticillium* wilt and fungal diversity of rhizosphere soils by bio-organic fertilizer. **Biology and Fertility of Soils**, Original Paper, 2011.

LENC, L.; KWASNA, H.; SADOWSKI, C. Dynamics of the root/soil pathogens and antagonists in organic and integrated production of potato. **European Journal of Plant Pathology**, v. 131, n. 4, p. 603-620, dez. 2011.

LERAYER, A. (Coord.). **Guia do milho:** tecnologia do campo à mesa. Jul. 2006. 16 p.

LING, N. et al. Development of a mode of application of bioorganic fertilizer for improving the biocontrol efficacy to *Fusarium* wilt. **Biocontrol**, v. 55, p. 673-683, 2010.

LOFFLER, H. J. M. et al. Nitrite as a factor in the decline of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* in soil supplemented with urea or ammonium chloride. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v. 92, p. 153–162, 1986.

LYNCK, J. Pesquisa inglesa com agentes biológicos. **Jornal Agroceres**, São Paulo, v. 212, p. 2, maio/jun. 1992.

MAO, W. et al. Seed treatment with a fungal or a bacterial antagonist for reducing corn damping-off caused by species of *Pythium* and *Fusarium*. **Plant Disease**, v. 81, n. 5, p. 450-454, maio 1997.

MARTÍNEZ-MEDINA, A. et al. *Trichoderma harzianum* and *Glomus intraradices* modify the hormone disruption induced by *Fusarium oxysporum* infection in melon plants. **Phytopathology**, v. 100, n. 7, p. 682-688, 2010.

MENEZES, M. Avaliação de espécies de *Trichoderma* no tratamento de feijão e do solo, visando o controle de *Macrophomina phaseolina*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 25, 1992, Gramado. **Anais...** Brasília: Fitopatologia Brasileira, v. 17, n. 2, 1992. p. 159.

MICHEL, V. V.; MEW, T. W. Effect of a soil amendment on the survival of *Ralstonia solanacearum* in different soils. **Phytopathology**, v. 88, p. 300–305, 1998.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. **Agrofit.** Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários, 2011. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 17 set. 2011.

MISHRA, K.; KUMAR, A.; PANDEY, K. RAPD based genetic diversity among different isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and their comparative biocontrol. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, p. 1079–1085, 2010.

NASH, S. M.; SNYDER, W. C. Nash & Snyder Medium. **Phytopathology**, v. 52, p. 567-572, 1962.

NITTA, T. Diversity of root fungal floras: its implications for soil-borne diseases and crop growth. **Japan Agricultural Research Quarterly**, v. 25, p. 6-11, 1991.

PAES, M. C. D. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho.** Sete Lagoas: [s.n.], 2006. 6 p. (Circular Técnica, 75).

PAL, K. K.; GARDENER, B. M. Biological control of plant pathogens. **The Plant Health Instructor**, p. 1-25, 2006. Disponível em: <http://www.apsnet.org/edcenter/advanced/topics/Pages/BiologicalControl.aspx>. Acesso em: 29 out. 2011.

PASCUAL, J. A. et al. Long-term suppression of *Pythium ultimum* in arid soil using fresh and composted municipal waster. **Biology and Fertility of Soils**, v. 30, p. 478-484, 2002.

PAULITZ, T. C. Biochemical and ecological aspects of competition in biological control. In: BAKER, R. R. (Ed.). **New directions in biological control**: alternatives for suppressing agricultural pests and diseases. New York: Liss, p. 713-724, 1990.

PINTO, N. F. J. A.; OLIVEIRA, E.; FERNANDES, F. T. Manejo das principais doenças do milho. Sete Lagoas: [s.n.], 2007, 16 p. (Circular Técnica, 92).

PINTO, N. F. J. A. Tratamento de sementes com fungicidas. In: PINTO, N. F. J. A. **Tecnologia para produção de sementes de milho**. Sete Lagoas: Embrapa/CNPMS, 1993. p. 43-47. (Circular Técnica, 19).

PRATT, R. G. Fungal population levels in soils of commercial swine waste disposal sites and relationships to soil nutrient concentrations. **Applied Soil Ecology**, v. 38, p. 223–229, 2008.

RAVIV, M.; REUVENI, R.; ZAIDMAN, B. Z. Improved médium for organic transplant. **Biology, Agriculture and Horticulture**, v. 16, p. 53-64, 1998.

RESENDE, M. L. et al. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 4, p. 793-798, jul./ago. 2004.

REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DO MILHO E SORGO (54 e 36: 2009: Veranópolis, RS). **Indicações técnicas para o cultivo de milho e de sorgo no Rio Grande do Sul – safras 2009/2010 e 2010/2011.** RODRIGUES, L. R.; GUADAGNIN, J. P.; PORTO, M. P. (Org.). Veranópolis: FEPAGRO-Serra, 2009. 180 p.

RIBEIRO, N. A. et al. Incidência de podridões do colmo, grãos ardidos e produtividade de grãos de genótipos de milho em diferentes sistemas de manejo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 5, p. 1003-1009, set./out. 2005.

RITCHIE, S. W. HANWAY, J. J. BENSON, G. O. How a corn plant develops. Special Report n. 48, Iowa State University of Science and Technology, Ames, Iowa, 1993. Traduzido por: Potafós, Informações Agronômicas n. 103, set./2003. Disponível em: <http://www.potafos.org/ppiweb/brazil.nsf/$webindex/article=A687D81283256DCD006F37C8BC5FFFEF>. Acesso em: 31 mai. 2010.

RUDRESH, D. L.; SHIVAPRAKASH, M. K.; PRASAD, R. D. Tricalcium phosphate solubilizing abilities of *Trichoderma* spp. in relation to P uptake and growth and yield parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Canadian Journal of Microbiology**, v. 51, p. 217-222, 2005.

SANGOI, L. et al. Incidência e severidade de doenças de quatro híbridos de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 1, p. 17-21, 2000.

SEGARRA, G. et al. *Trichoderma asperellum* strain T34 controls *Fusarium* wilt disease in tomato plants in soilless culture through competition for iron. **Microbial Ecology**, v. 59, p. 141-149, 2010.

SMILEY, R. W. Forms of nitrogen and the pH in the root zone, and their importance to root infections. In: BRUEHL, G. W. (ed.). **Biology and Control of Soil-Borne Plant Pathogens**. St. Paul: APS Press, 1974. p. 55–62.

STATSOFT – **Statistica**. Disponível em: <www.statsoft.com>. 2011. Acesso em: 20 mar. 2011.

STEVENS, C. et al. Integration of soil solarization with chemical, biological and cultural control for the management of soilborne diseases of vegetables. **Plant and Soil**, v. 253, p. 493-506, 2003.

SULLIVAN, P. Sustainable management of soil-borne plant diseases. **ATTRA**, USDA's Rural Business Cooperative Service. 2004.

TEDESCO, M. J. et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre, Departamento de Solos, UFRGS, 1995.

TSAHOURIDOU, P. C. THANASSOULOPOULOS, C. C. Proliferation of *Trichoderma koningii* in tomato rhizosphere and the suppression of damping-off by *Sclerotium rolfsii*. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 34, p. 767-776, 2002.

TSAO, P. H.; OSTER, J. J. Relation of ammonia and nitrous acid to suppression of *Phytophthora* in soils amended with nitrogenous organic substances. **Phytopathology**, v. 71, p. 53–59, 1981.

TU, C.; RISTAINO, J. B.; HU, S. Soil microbial biomass and activity in organic tomato farming systems: effects of organic inputs and straw mulching. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, p. 247–255, 2006.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. **Corn area, yield, and production.** 2011. Disponível em: <http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdHome.aspx>. Acesso em: 24 out. 2011.

VAN ELSAS, D.; TREVORS, J. T.; WELLINGTON, E. M. H. (Eds.). **Modern Soil Microbiology**. New York: Marcel Dekker. 1997.

WHIPPS J. M.; LUMSDEN, R. D. Commercial use of fungi as plant disease biological control agents: status and prospects. In: BUTT, T.; JACKSON, C.; MAGAN, N. (eds.). **Fungal biocontrol agents**: progress, problems and potential. Wallingford: CAB International (in press). 2001.

WHIPPS, J. M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, Roots Special Issue, p. 487-511, 2001.

YAMADA, T. Relação entre nutrição de plantas e incidência de doenças é tema de workshop. **Informações Agronômicas**, n. 98, jun. 2002.

YEDIDIA, I.; SRIVASTVA, K. Y.; CHET, I. Effect of *Trichoderma* harzianum on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 235, n. 2, p. 235-242, ago. 2001.

YERGEAU, E. et al. Patterns of Fusarium community structure and abundance in relation to spatial, abiotic and biotic factors in soil. **Microbiology Ecology**, v. 71, p. 34-42, 2010.

YILDIRIM, E.; TAYLOR, A. G.; SPITTLER, T. D. Ameliorative effects of biological treatments on growth of squash plants under salt stress. **Scientia Horticulturae**, v. 111, p. 1-6, 2006.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; COSTA, H. Nutrição contra doenças. **Cultivar**, p. 28-30, maio 2001.

ZHANG, S. et al. Control of *Fusarium* wilt disease of cucumber plants with the application of a bioorganic fertilizer. **Biology and Fertility of Soils**, v. 44, p. 1073–1080, 2008.

ZHAO, Q. et al. Biocontrol of *Fusarium* wilt disease for *Cucumis melo* melon using bio-organic fertilizer. **Applied Soil Ecology**, v. 47, p. 67-75, 2011.

ZHAO, S. et al. Quick check and quantification of *Fusarium oxysporum* in soil with macroarray and real-time PCR method. **Acta Pedologica Sinica**, v. 47, p. 703–708, 2010.

APÊNDICES

Apêndice A – Análise de variância para as variáveis respostas referentes à população fúngica do solo.

Adubação orgânica e mineral em longo prazo			
Variável resposta	Causas de variação	Prob. > Fc	CV (%)
Fungos totais	Adubo	0,0004 *	21,80
Fusarium spp.	Adubo	0,0025 *	15,80
Trichoderma spp.	Adubo	0,2024 ns	45,73
Adubação orgânica e mineral e épocas de coleta			
Variável resposta	Causas de variação	Prob. > Fc	CV (%)
Fungos totais	Adubo	0,0097 *	18,95
	Época	0,0001 *	
	Adubo*Época	0,0001 *	
Fusarium spp.	Adubo	0,0734 ns	20,09
	Época	0,0149 *	
	Adubo*Época	0,0695 ns	
Trichoderma spp.	Adubo	0,3969 ns	45,22
	Época	0,0196 *	
	Adubo*Época	0,1255 ns	
Adubação orgânica e mineral e tratamento das sementes			
Variável resposta	Causas de variação	Prob. > Fc	CV (%)
Fungos totais	Adubo	0,2036 ns	36,35
	Tratamento	0,0886 ns	36,76
	Adubo*Tratamento	0,2780 ns	30,70
Fusarium spp.	Adubo	0,9960 ns	36,78
	Tratamento	0,7692 ns	68,19
	Adubo*Tratamento	0,7486 ns	31,20
Trichoderma spp.	Adubo	0,0671 ns	28,63
	Tratamento	0,4489 ns	21,23
	Adubo*Tratamento	0,6696 ns	40,14

(*) Efeito significativo e (ns) não significativo a 5% de significância.

Apêndice B – Análise de variância para as variáveis respostas referentes aos fatores de produção em milho.

Variável resposta	Causas de variação	Prob. > Fc	CV (%)
Matéria seca	Adubo	0,0000 *	11,33
	Tratamento das sementes	0,0192 *	1,90
	Adubo*Tratamento das sementes	0,7942 ns	13,72
Acúmulo de N no tecido	Adubo	0,0201 *	15,47
	Tratamento das sementes	0,2165 ns	7,87
	Adubo*Tratamento das sementes	0,4485 ns	16,72
Acúmulo de P no tecido	Adubo	0,0001 *	20,02
	Tratamento das sementes	0,1138 ns	16,05
	Adubo*Tratamento das sementes	0,1339 ns	23,63
Acúmulo de K no tecido	Adubo	0,0000 *	20,74
	Tratamento das sementes	0,0195 *	10,90
	Adubo*Tratamento das sementes	0,1048 ns	18,99
Acúmulo de N nos grãos	Adubo	0,0658 ns	9,16
	Tratamento das sementes	0,0874 ns	16,96
	Adubo*Tratamento das sementes	0,0195 *	8,33
Acúmulo de P nos grãos	Adubo	0,1129 ns	27,48
	Tratamento das sementes	0,4907 ns	24,19
	Adubo*Tratamento das sementes	0,4815 ns	33,60
Acúmulo de K nos grãos	Adubo	0,1041 ns	24,02
	Tratamento das sementes	0,1904 ns	26,17
	Adubo*Tratamento das sementes	0,1840 ns	35,65
Incidência de podridões de colmo	Adubo	0,0007 *	50,78
	Tratamento das sementes	0,2761 ns	38,71
	Adubo*Tratamento das sementes	0,2274 ns	27,47
Produtividade	Adubo	0,0000 *	9,69
	Tratamento das sementes	0,5440 ns	12,64
	Adubo*Tratamento das sementes	0,3434 ns	9,89

(*) Efeito significativo e (ns) não significativo a 5% de significância.

ANEXOS

Anexo A – Análise do solo nas parcelas com histórico de aplicação de adubos orgânicos e mineral na área experimental, anteriormente à realização do experimento.

MEC - Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais - Departamento de Solos
Santa Maria/RS Cep: 97105-900
Fone/Fax: (55)3220-8153
http://www.ufsm.br/solos

Laudo de Análise de Solo

DEPARTAMENTO DE SOLOS
CCR - UFSM

Nome: PESQUISA UFSM
Município: SANTA MARIA
Localidade: Madame - Exp. Dejetos

Solicitante: CARLOS ALBERTO CERETTA
Endereço: CAMPUS
Entrada: 13/10/10
Emissão: 28/10/2010

Registro	Cx.	Cel.	Identificação da amostra	Área (ha)	Sistema de cultivo	Prof. (cm)	Georref.
20476	B116	1	T1 - Test.		PD	0 - 10	
20477	B116	2	T2 - DLS				
20478	B116	3	T3 - CSS				
20479	B116	4	T4 - DLB				
20480	B116	5	T5 - NPK				

Diagnóstico para acidez do solo e calagem

Registro	pH água 1:1	Ca	Mg	Al	H+Al	CTC efet.	Saturação (%)		Índice SMP
		---------- $cmol_c/dm^3$ ----------					Al	Bases	
20476	5,3	2,3	0,8	0,3	3,1	3,5	8,6	51,2	6,3
20477	5,4	2,6	1,1	0,2	3,1	4,1	4,9	55,2	6,3
20478	5,6	3,8	1,1	0,0	2,5	5,1	0,0	67,4	6,5
20479	5,5	3,1	0,9	0,0	3,5	4,2	0,0	54,2	6,2
20480	5,3	2,4	0,7	0,4	3,9	3,6	11,1	45,5	6,1

Diagnóstico para macronutrientes e recomendação de adubação NPK-S

Registro	% MO	% Argila	Textura	S	P-Mehlich	P-resina	K	CTC pH7	K
	---------- m/v ----------			---------- mg/dm^3 ----------			-------- $cmol_c/dm^3$ --------		mg/dm^3
20476	1,5	15,0	4,0	--X--	14,4	--X--	0,123	6,3	48,0
20477	1,8	14,0	4,0	--X--	72,0	--X--	0,164	7,0	64,0
20478	2,1	12,0	4,0	--X--	76,0	--X--	0,225	7,6	88,0
20479	1,7	14,0	4,0	--X--	43,3	--X--	0,174	7,7	68,0
20480	1,6	13,0	4,0	--X--	24,8	--X--	0,133	7,1	52,0

Diagnóstico para micronutrientes e relações molares

Registro	Cu	Zn	B	Fe	Mn	Na	Relações Molares		
	---------- mg/dm^3 ----------						Ca/Mg	(Ca+Mg)/K	$K/(Ca+Mg)^{1/2}$
20476	--X--	--X--	--X--	--X--	--X--	--X--	2,9	25,20	0,07
20477	--X--	--X--	--X--	--X--	--X--	--X--	2,4	22,60	0,085
20478	--X--	--X--	--X--	--X--	--X--	--X--	3,5	21,80	0,102
20479	--X--	--X--	--X--	--X--	--X--	--X--	3,4	23,00	0,087
20480	--X--	--X--	--X--	--X--	--X--	--X--	3,4	23,30	0,076

Vinculado à ROLAS-RS/SC
S 1ª via

Responsável Técnico

PESQUISA
ESTE LAUDO NÃO VALE
P/ FINANCIAMENTO BANCÁRIO

Anexo B – Meio de cultura seletivo para *Trichoderma* spp. (MST).

- 3 g de glicose
- 0,15 g de KCl
- 15 g de ágar
- 0,9 g de KH_2PO_4
- 0,2 g de $MgSO_4.7H_2O$
- 1 g de NH_4NO_3
- 1 L de água destilada
- 1 mL de estreptomicina / 100 mL de meio de cultura

DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic plant pathology methods**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 1995. 434 p.

Anexo C – Meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA).

- 200 g de batatas descascadas e fatiadas
- 20 g de dextrose
- 15 g de ágar
- 1 L de água destilada
- 1 mL de estreptomicina / 100 mL de meio de cultura

DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic plant pathology methods**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 1995. 434 p.

Anexo D – Meio de cultura Nash-Snyder (NS).

- 15 g de peptona
- 20 g de ágar
- 1 g de KH_2PO_4
- 0,5 g de $MgSO_4.7H_2O$
- 1 g de pentacloronitrobenzeno (PCNB 75%)
- 1 L de água destilada
- 1 mL de estreptomicina / 100 mL de meio de cultura

NASH, S. M.; SNYDER, W. C. Nash & Snyder Medium. **Phytopathology**, v. 52, p. 567-572, 1962.