

Isolados nativos de *Trichoderma* spp. Como promotor de crescimento na fase inicial da cultura da soja

Native isolates of *Trichoderma* spp. As a growth promoter in the initial phase of soybean culture

DOI:10.34117/bjdv7n11-441

Recebimento dos originais: 12/10/2021

Aceitação para publicação: 02/11/2021

Arthur Pinazo Jacques

Graduando em Agronomia

Universidade Católica Dom Bosco – UCDB

Endereço: Av. Tamandaré, 6000 – Jardim Seminário, Campo Grande – MS, 79117-900

E-mail: arthurgrupomj@gmail.com

Marcelo Pereira Martins

Graduando em Agronomia

Universidade Anhanguera Uniderp

Endereço: Rua Ceará, R. Miguel Couto, 333, Campo Grande – MS, 79003-010

E-mail: marcelo.p.martins@hotmail.com

Asser Botelho Santana

Graduando em Agronomia

Universidade Católica Dom Bosco – UCDB

Endereço: Av. Tamandaré, 6000 – Jardim Seminário, Campo Grande – MS, 79117-900

E-mail: agro21_ucdb@outlook.com

Gleide da Silva Gama Chiqueto

Bacharel em Agronomia pela Universidade Católica Dom Bosco

Universidade Católica Dom Bosco – UCDB

Endereço: Av. Tamandaré, 6000 – Jardim Seminário, Campo Grande – MS, 79117-900

E-mail: gleide.ga@outlook.com

Jayme Ferrari Neto

Doutor em agricultura pela Universidade Estadual Paulista – FCA – Botucatu - SP

Universidade Católica Dom Bosco – UCDB

Endereço: Av. Tamandaré, 6000 – Jardim Seminário, Campo Grande – MS, 79117-900

E-mail: rf3513@ucdb.br

Cirano José Ulhoa

Ph.D em Genética e Bioquímica de Microorganismos pela Nottingham University

Universidade Federal de Goiás

Endereço: Laboratório de Enzimologia, Instituto de Ciências Biológicas, Av. Esperança, s/n – Chácaras de Recreio Samambaia, Goiânia – Goiás, 74090-900

E-mail: cjulhoa@gmail.com

Francilina Araújo Costa

Doutora em Microbiologia Agrícola pela Universidade Federal de Viçosa
Universidade Católica Dom Bosco – UCDB

Endereço: Laboratório de Microbiologia, Biossáude, Av. Tamandaré, 6000 – Jardim
Seminário, Campo Grande – MS, 79117-900
E-mail: fcosta@ucdb.br

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de isolados de *Trichoderma* spp. nativos de regiões do estado de Mato Grosso do Sul, como promotores de crescimento na fase inicial da cultura da soja (*Glycinemax*) quando coinoculados com a bactéria *Bradyrhizobium japonicum*. O experimento foi realizado utilizando cinco tratamentos, sendo eles: T1 = Testemunha (sem inoculação); T2 = Apenas inoculação de *Bradyrhizobium*; T3= inoculação do isolado de *Trichoderma* comercial + *Bradyrhizobium*; T4= inoculação do isolado de *Trichoderma* CPD102 + *Bradyrhizobium* e T5= inoculação do isolado de *Trichoderma* S404 + *Bradyrhizobium*. A variedade de soja utilizada no experimento foi a SOJA M 6410 IPRO, de ciclo precoce. Os isolados de *Trichoderma* spp foram inoculados no solo e nas sementes. Bactéria *Bradyrhizobium* foi inoculada apenas nas sementes. Cada tratamento era composto de oito repetições mantidos em casa de vegetação. Após 50 dias de cultivo foi feita a coleta dos dados para análise do desenvolvimento aéreo, radicular e nodular das plantas. Os resultados obtidos mostram que os tratamentos coinoculados com os isolados nativos e o comercial de *Trichoderma* com a bactéria *Bradyrhizobium japonicum*, proporcionaram maior desenvolvimento das plantas, ao nível de parte área e radicular, dando destaque ao isolado *Trichoderma* S404, que apresentou resultados satisfatórios em todos os parâmetros avaliados. Possivelmente os isolados nativos de *Trichoderma* em Mato Grosso do Sul demonstrou bom desempenho como promotor de crescimento na cultura da soja, devido a adaptação desses fungos as condições climáticas e solos da região.

Palavras chaves: *Glycine max*, bioestimulante, promoção de crescimento.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the efficiency of *Trichoderma* spp. natives from regions of the state of Mato Grosso do Sul, as growth promoters in the initial phase of the soybean crop (*Glycine max*) when co-inoculated with the bacterium *Bradyrhizobium japonicum*. The experiment was carried out using five treatments, namely: T1 = Witness (no inoculation); T2 = *Bradyrhizobium* inoculation only; T3= inoculation of commercial *Trichoderma* isolate + *Bradyrhizobium*; T4= inoculation of *Trichoderma* CPD102 + *Bradyrhizobium* isolate and T5= inoculation of *Trichoderma* S404 + *Bradyrhizobium* isolate. The soybean variety used in the experiment was SOYA M 6410 IPRO, of early cycle. *Trichoderma* spp isolates were inoculated into soil and seeds. *Bradyrhizobium* bacteria was inoculated only in the seeds. Each treatment consisted of eight replicates kept in a greenhouse. After 50 days of cultivation, data were collected to analyze the aerial, root and nodular development of the plants. The results obtained show that the treatments co-inoculated with native and commercial isolates of *Trichoderma* with the bacterium *Bradyrhizobium japonicum*, provided greater plant development, at the level of area and root, highlighting the isolate *Trichoderma* S404, which presented satisfactory results in all the evaluated parameters. Possibly the native *Trichoderma* isolates in Mato Grosso do Sul showed good performance as a growth

promoter in soybean crops, due to the adaptation of these fungi to climatic conditions and soils in the region.

Keywords: Glycine max, biostimulants, growth promotion.

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L.) é uma das principais cultura agrícola brasileira em termos de consumo e produção, e uma das principais fontes de renda dos agricultores, com expectativa recorde de produção na safra 2020/2021 de 135 milhões de toneladas, ultrapassando as perspectivas dos 131,5 milhões preditos para março de 2021. Isso se deve a alta no valor internacional e a grande procura tanto interna como externa, o que leva o país a continuar como um dos maiores produtores e exportadores mundiais desse grão no mundo (POPOV, 2021). Trata-se de uma cultura oleaginosa, de origem Asiática, largamente cultivada no mundo, especialmente por conter alto teor de óleo, teor proteico e isoflavonas, sendo benéfica para a saúde humana, (PANIZZI et al., 2011).

Os agricultores brasileiros usam produtos químicos no plantio da soja e em todas as outras culturas, para combater doenças e pragas e, também, como adubo. De acordo com De Oliveira et al. (2021), a utilização desses produtos causam forte impacto econômico para os agricultores, prejuízos ao meio ambiente, contaminando o local onde é aplicado, inclusive a saúde humana, os alimentos, o solo e a água, os animais, sem contar que pode ser levado pelo vento a grandes distâncias.

A preocupação de toda a sociedade com a produção de alimentos mais saudáveis, levou os cientistas e estudiosos a desenvolverem um outro tipo de controle de pragas e doenças, a exemplo do controle biológico, que produz alimentos orgânicos, sem agrotóxicos e sem produtos químicos. O controle biológico, chamado de biodefensivo, é uma alternativa mais viável e mais barata para o agricultor e para a sociedade, que pode consumir alimentos mais saudáveis e que não contaminam a natureza (ALFIKY & WEISSKOPF, 2021; DE OLIVEIRA et al., 2021).

A busca constante pelo melhoramento genético da cultura da soja para aumentar o seu potencial, aliado ao estímulo na redução no uso de agrotóxico, possibilita maior sustentabilidade e qualidade produtiva dessa cultura. Atualmente, vem acontecendo um maior incentivo por uma agricultura sustentável, sobretudo, com o uso de materiais transgênicos, uso de bioestimulantes, inoculantes e controle biológico, se constituindo em um dos maiores desafios da agricultura mundial (DIÁNEZ MARTÍNEZ, et al., 2016).

O gênero de fungo *Trichoderma* é um dos agentes de biocontrole de doenças mais conhecidos e empregados mundialmente, principalmente na América Latina, justamente por se constituir como instrumento relevante em sistemas de cultivo convencional, integrado e orgânico (MOREL et al., 2021). Além do seu uso no controle biológico, ele é utilizado como promotor de crescimento vegetal.

O potencial desse fungo pode ser atribuído à sua capacidade de proteger as plantas, aumentar o crescimento vegetativo e conter populações de patógenos sob inúmeras condições agrícolas, bem como atuar como corretivos / inoculantes do solo para melhorar a capacidade nutricional, decomposição e biodegradação, aumentando assim a produtividade das lavouras (INAYATI et al, 2019).

Várias pesquisas estão sendo realizadas com o *Trichoderma* para avaliar seu potencial como promotor de crescimento em plantas (LI et al., 2015; OLIVEIRA 2017; BONONI et al., 2020), demonstrando bons resultados em espécies vegetais como eucalipto, tomate, trigo e soja (JUNGES, 2016; LI et al., 2015; OLIVEIRA 2017; BONONI et al., 2020).

O *Trichoderma*, na ausência de fitopatógenos, atuam na produção de fitormônios da classe das auxinas e giberilinas promovendo uma melhor interação com as raízes, aumento do processo caulinar através do alongamento celular, favorecendo o crescimento de raízes laterais e adventícias, crescimento da massa foliar. Além disso proporciona melhoria na assimilação de água e nutrientes, devido ao aumento da exploração do solo pelas raízes, aumento da taxa fotossintética e melhorias na arquitetura vegetal (HARMAN, 2000).

Assim, os benefícios do uso destes micro-organismo são percebidos por meio do aumento da matéria seca, folhas e caule das plantas inoculadas, resistência a fatores de estresse biótico e abiótico, benefícios no crescimento de frutos e desenvolvimento inicial de plântulas além de diminuir os riscos ambientais causados pela utilização inadequada, e muitas vezes excessiva de insumos e agrotóxicos na agricultura (VIEIRA, 2014).

Esse fungo pode influenciar benéficamente na germinação de sementes, desenvolvimento radicular, no desenvolvimento da cultura e rendimento de grãos (AKLADIOUS, ABBAS, 2012; WOO et al, 2014; ABHANG, KEDAR, 2019; THAPA et al, 2020), devido principalmente à sua capacidade de solubilização do fósforo (OLIVEIRA et al., 2021), síntese do hormônio ácido indol acético e auxinas (CHAGAS et al., 2017).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de isolados de *Trichoderma* spp. nativos de regiões do estado de Mato Grosso do Sul, como promotores de crescimento na fase inicial da cultura da soja (*Glycine max*) quando co-inoculados com a bactéria *Bradyrhizobium japonicum*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em duas etapas, a primeira no laboratório de microbiologia da Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), onde a replicação e inoculação dos isolados e bactéria foram feitas e a segunda em ambiente controlado (casa de vegetação) no Instituto Salesiano São Vicente – Lagoa da Cruz - UCDB, no município de Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul (MS), onde os tratamentos foram mantidos. O local apresenta as seguintes coordenadas geográficas: altitude de 636 metros, 20°23'00", latitude-sul e 54°36'00" longitude-oeste.

Cinco tratamentos foram utilizados para avaliar a eficiência de isolados de *Trichoderma* spp. como promotores de crescimento na cultura da soja, sendo eles: T1 = Testemunha; T2 = Apenas inoculação de *Bradyrhizobium*; T3= Isolado de *Trichoderma* comercial + *Bradyrhizobium*; T4= *Trichoderma* CPD102 +*Bradyrhizobium* e T5=*Trichoderma* S404 + *Bradyrhizobium*.

MICRO-ORGANISMOS UTILIZADOS

Os inóculos de *Trichoderma* nativos utilizados foram obtidos da coleção do laboratório de microbiologia da Universidade Católica Dom Bosco, através da coleta do solo em dois municípios do MS, sendo o CPD102 em Chapadão do Sul e o S404 em Sidrolândia. Já para inoculação do T. Comercial utilizou o produto Trichodermil SC 1306, que possui como ingrediente ativo o *T. harzianum* (Rifai, 1969), Cepa ESALQ-1306 da marca Koppert.

Os isolados de *Trichoderma*, foram desenvolvidos em placas de Petri com meio de cultura BDA (Batata – Dextrose – Ágar), e armazenados em câmara BOD na temperatura de 28°C, fotoperíodo de 12 horas, para seu cultivo.

Para inoculação da bactéria fixadora de nitrogênio foi utilizado o inoculante líquido para soja HoberSoy, *Bradyrhizobium japonicum*, contendo as cepas SEMIA 5079 e SEMIA 5080.

COLETA DO SOLO

O solo obtido para realização do experimento, foi coletado no Instituto Salesiano São Vicente – Lagoa da Cruz – UCDB. Proveniente de uma área já agricultável, com diversas culturas produzidas anteriormente, sendo algumas delas soja, milho e crotalária.

Uma limpeza superficial de matéria vegetal foi realizada previamente a coleta do solo em profundidade de 0 a 40 cm. O solo coletado foi submetido à análise química e física para detectar seus teores e nutrientes disponíveis. Conforme demonstrado na tabela 1.

Tabela 1: Caracterização química e física do solo utilizado no experimento.

Amostra		pH		P	MO	K	Ca	Mg	Ca+Mg	Al	H	Al+H	S	T	V
Laboratório	Cliente	CaCL	Água	Mg/dm ²	g/dm ²	Cmol/dm ²									%
329P	MONTE	4,44	5,07	2,95	8,19	0,04	X	X	0,90	0,15	2,19	2,34	0,94	3,28	28,66

CALAGEM, INCUBAÇÃO E ADUBAÇÃO DO SOLO

Após análise, foi observada a necessidade de correção do solo através da calagem, primeiramente o solo foi peneirado e distribuído em 16 baldes de 30 litros cada. Para a correção de cada balde foi utilizado 30,3g de calcário dolomítico (PRNT de 67,01%), posteriormente os recipientes foram regados com água até atingir a capacidade de campo, esta equivale ao tanto de água que o solo é capaz de reter, finalizando o processo de correção com o método de incubação, cobrindo os recipientes com uma lona plástica durante o período de 60 dias. Após esse período o solo foi redistribuído em 50 vasos de cinco kg.

Preenchido os vasos foi realizada a adubação do solo conforme a recomendação do boletim do Cerrado para a cultura da soja. Considerando os dados provenientes da análise (Tabela 1), foi detectada a necessidade de adubação de fósforo e potássio. Como fonte de fósforo foi utilizado o Superfosfato Simples (SS - 18% de P₂O₅) e como fonte de potássio foi utilizado Cloreto de Potássio (KCl). Utilizou-se 2,1g de SS e 0,45 g de KCl respectivamente para cada vaso.

PREPARO DO INÓCULO DE TRICHODERMA

Para realizar a inoculação dos três isolados de Trichoderma no solo e na semente, sendo eles T.CPD102, T.S404 e T. comercial foi necessário promover sua multiplicação através dos inóculos mantidos em zona de crescimento com seis dias de cultivo em meio BDA. Retirou-se 3 discos de 10mm de diâmetro de micélio fúngico de cada isolado, em

seguida foram postos em 30g de arroz parboilizado previamente umedecido com 60% de água destilada e autoclavada em erlenmeyer de 250ml, para cada isolado foram feitas 4 repetições. Os 12 erlenmeyer foram mantidos em BOD a 28°C e fotoperíodo de 12 horas, durante o período de seis dias. Este período foi ideal para que a esporulação desejada acontecesse, podendo assim realizar a contagem e padronização da quantidade de esporos a serem inoculados no solo e na semente.

CONTAGEM DOS ESPOROS

Nos erlenmeyer com os isolados de *Trichoderma* já esporulados foi adicionado 100 ml de solução salina (SS) + 1 ml Tween 80% para diluição e dispersão dos esporos. Foram feitas as diluições seriadas de 10¹, 10² e 10³ que consiste em pegar 9 ml de SS + Tween 80%, colocar em tubos de ensaio e adicionar mais 1 ml da solução estoque de esporos (SEE), agitar até ficar uma mistura homogênea, seguindo este procedimento até a diluição de 10³.

Para realizar a contagem dos esporos, foi utilizada a câmara de Neubauer espelhada. Retirou-se 0,1 ml de solução diluída a 10² ou 10³ optando pela diluição onde se obtinha melhor contagem de esporos, depositando entre a lamínula e a área de contagem na câmara de Neubauer, em seguida foi feita a contagem no microscópio em lupa de 40x. Após a contagem e aplicação da fórmula, obteve-se as seguintes quantidades de esporos/ml de SEE, para os isolados T.CPD102, T.S404 e T. comercial, sendo 0,55x10⁹, 2x10⁹ e 5x10⁹ respectivamente.

INOCULAÇÃO DOS ISOLADOS DE TRICHODERMA NO SOLO

Para a inoculação dos isolados de *Trichoderma* no solo foi utilizado uma concentração de 1x10⁶ de esporos por grama de solo. A quantidade usada para cada isolado foi definida de acordo com o estoque de esporo obtido na contagem relatada acima. Para os isolados T.CPD102, T.S404 e T. comercial, utilizou-se 1,81ml/kg de solo, 0,5ml/kg de solo e 0,20ml/kg de solo respectivamente.

Essas quantidades foram diluídas em 400 ml de água, e despejadas cuidadosamente em toda a área dos vasos de 5kg. Após realizado todo o procedimento foi respeitado o período de 24 horas para realizar a inoculação e semeadura das sementes.

INOCULAÇÃO DOS ISOLADOS DE TRICHODERMA E B. JAPONICUM NA SEMENTE

Para a inoculação dos isolados de Trichoderma na semente foi utilizado uma concentração de 1×10^7 de esporos por grama de semente. Levando em consideração o estoque de cada isolado, foi calculado as necessárias quantidades para 20 ml de uma solução de carboximetilcelulose (CMC). O CMC é uma substância derivada da celulose, onde sua principal função no procedimento de inoculação é promover uma melhor aderência dos esporos de Trichoderma (T) e do inoculante de B. japonicum na semente.

Sendo assim, para compor a solução de 20ml de CMC, foi utilizada 2,18ml de SEE, 0,6ml de SEE e 0,22ml de SEE para os tratamentos T.CPD102, T.S404 e T. comercial, respectivamente.

Para a inoculação do B. japonicum, foi utilizado o inoculante líquido do fabricante HoberSoy respeitando sua recomendação de uso, que é de 75ml para cada 50kg de sementes de soja dobrando a quantidade em solos de primeiro plantio, ao qual foi o caso do solo utilizado no experimento. A quantidade de semente de soja utilizada foi de 100g para inoculação em cada tratamento, resultando em 0,30ml de B. japonicum.

As sementes foram submersas em 120 ml da solução CMC, juntamente com a quantidade estipulada de Trichoderma e de B. japonicum citados acima, onde foram mantidas por 15 minutos até sua semeadura.

SEMEADURA

As sementes já inoculadas foram semeadas em 50 vasos contendo 5kg de solo cada, distribuídos igualmente entre os 5 tratamentos. Para cada vaso foi realizada a semeadura de 7 sementes, logo após a emergência realizamos o procedimento de desbaste, selecionando em todos os exemplares aquela com melhor aspecto para dar continuidade ao experimento, removendo conseqüentemente todas as demais.

A variedade utilizada no experimento foi a SOJA M 6410 IPRO. Como principais características destaca-se seu ciclo precoce, crescimento indeterminado e exigência de solos com média/alta fertilidade para bom desenvolvimento. Indicada e bastante utilizada nos Estados do Paraná, São Paulo e Mato Grosso do sul.

Os tratamentos foram mantidos em casa de vegetação em temperatura padrão de $27,5^{\circ}\text{C}$ durante todo seu desenvolvimento, com fotoperíodo de 12 horas, sendo irrigados diariamente conforme a exigência da cultivar, visando seu máximo potencial. Ao término do 51° dia, iniciou-se a coleta de dados para análise e comparação dos resultados.

PARÂMETROS AVALIADOS

Os parâmetros avaliados para compor o resultado do experimento, foram: altura da parte aérea (ALPA cm); número de folhas (NFund); número de vagens (NV und); massa fresca da parte aérea (MFPA g); massa seca da parte aérea (MSPA g); comprimento da raiz (CR cm); massa fresca da raiz (MFR g); massa seca da raiz (MSR g); número de nódulos (NNund); massa fresca dos nódulos (MFN g); massa seca dos nódulos (MSN g).

COLETA DE DADOS

Primeiramente cortou-se o caule das plantas, deixando 2cm visíveis e palpáveis acima do solo para auxiliar na posterior remoção das raízes. Dessa maneira, foi separado a parte aérea da parte radicular. Para remoção das raízes, foi transferido cuidadosamente todo o solo para uma bacia com maior amplitude, facilitando desta forma o destorroamento conferindo uma remoção com perdas irrisórias. Os exemplares foram identificados e levados para limpeza com o intuito de remover o restante de solo ainda aderido as raízes, removeu-se manualmente os nódulos de fixação biológica de nitrogênio (FBN), para sua contagem e pesagem. A raiz livre de solo e nódulos foi pesada e em seguida mediu-se seu comprimento. Referente a parte aérea, realizou-se a contagem de folhas, pesagem de matéria fresca e medição de sua altura. A pesagem foi realizada com auxílio de uma balança de precisão e os comprimentos medidos com fita métrica.

Posteriormente, a parte aérea, radicular e os nódulos foram colocados separadamente em sacos de papel kraft e translocados para estufa de circulação forçada de ar com temperatura fixa de 60° C durante o período de 72 horas, após a secagem dos materiais foi coletado o último parâmetro avaliativo, que é o peso seco.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Cada tratamento foi constituído de 8 repetições e foram dispostos em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC). Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste de Scott-Knott (1974), a 5% de probabilidade, empregando-se o programa estatístico Sisvar®. Os dados foram transformados em $\sqrt{Y + 0.5}$, exceto para os parâmetros ALPA e CR.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos na Tabela 1 e Figura 1 observa-se que a altura da parte aérea (ALPA) e número de folhas (NF) foram maiores nos tratamentos

onde fez-se inoculação dos isolados de *Trichoderma* (T). A testemunha e o tratamento inoculado com *B. japonicum* apresentaram menores valores de ALPA e NF. Quando se observa o número de vagem produzidas pelas plantas inoculados com o isolado T. CPD102 + *B. japonicum* e o T. S404 + *B. japonicum*, ambos isolados nativos do estado, verifica-se que estes isolados juntamente com a bactéria proporcionaram formação de maior número de vagem, seguido das plantas inoculadas com T. Comercial + *B. japonicum* (Tabela 1). Os demais tratamentos apresentaram menores valores de produção de vagem.

No que diz respeito a Massa fresca (MFPA) e seca (MSPA) da parte aérea e comprimento de raiz também maiores valores foram encontrados nos tratamentos onde as plantas foram inoculadas com *Trichoderma* juntamente com *Bradyrhizobium* (Tabela 1), encontrando-se menores valores para os tratamentos testemunha e plantas inoculadas apenas com *Bradyrhizobium*.

Estes resultados corroboram com os encontrados por Cadore (2018), que ao analisar os efeitos da co-inoculação de *Trichoderma* ssp. e *B. japonicum* no desenvolvimento da parte aérea e comprimento radicular bem como sua produtividade em plantas de soja, notou resultados superiores nas plantas inoculadas com *Trichoderma* quando comparado ao tratamento controle. Entretanto, Alcântara (2018) não encontrou resultados significativos para as mesmas variáveis analisadas quando avaliando a inoculação de sementes de soja com cepas de *B. japonicum* apenas, evidenciando desta maneira, a ação sinérgica neste trabalho dos micro-organismos quando co-inoculados.

Tabela 1: Resultados das análises da inoculação de plantas de soja com isolados nativos de *Trichoderma* (T) com *Bradyrhizobium japonicum* aos 50 dias de crescimento. Altura da parte aérea (ALPA); número de folhas (NF); número de vagens (NV); massa fresca da parte aérea (MFPA); massa seca da parte aérea (MSPA); comprimento da raiz (CR).

Tratamento	ALPA (cm)	NF (und)	NV (und)	MFPA (g)	MSPA (g)	CR (cm)
B. japonicum	29,06 c	10,75 b	0,70 d	2,86 b	1,56 b	7,24 c
Testemunha	38,83 b	11,25 b	2,44 c	3,21 a	1,80a	8,26 b
T. Comercial + B. japonicum	44,42 a	13,50 a	3,26b	3,49 a	1,90 a	9,30 a
T.CPD102 + B. japonicum	44,42 a	13,75 a	4,24 a	3,53 a	1,87 a	9,68 a
T.S404 + B. japonicum	49,85 a	14,25 a	4,19a	3,45 a	1,93 a	9,88 a
C.V.%	14,81	21,46	30,96	13,00	12,57*	9,36

*As médias seguidas das mesmas letras na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott- Knott a nível de 5% de probabilidade.

A função de crescimento em plantas pela ação do micro-organismos presentes no solo ocorre devido a ação de vários fatores, sendo descritos por envolver a produção de

fitormônios bem como vitaminas, transformação de matérias úteis ao metabolismo e fisiologia das plantas hospedeiras, absorção e translocação de nutrientes (MELO, 1996).

Presente na rizosfera, a bactéria *B. japonicum*, atua ativamente no processo da fixação biológica de nitrogênio, elemento este fundamental na formação de aminoácidos e proteínas no metabolismo vegetal. Estas macromoléculas são responsáveis por desencadear diversas funções biológicas como aumento da tolerância das plantas às pragas e doenças, absorção e a translocação dos nutrientes, tolerância ao estresse hídrico, florescimento, fatores estes necessários para o crescimento da planta e produção de grãos na cultura da soja (DE MATOS & KASCHUK, 2019). No entanto, neste trabalho não foi observado resposta da inoculação em relação ao controle, possivelmente por algum problema no inoculante utilizado no experimento.

De modo semelhante, o fungo do gênero *Trichoderma* spp. colonizam a superfície externa das raízes estabelecendo deste modo uma relação mutualística com o vegetal. Quando em contato com as raízes leva a ativação de genes presentes nos tecidos do vegetal capazes de produzirem fitormônios (auxinas e giberilinas) que atuam no alongamento e expansão celular, promovendo o crescimento de raízes e caules (TAIZ & ZEIGER, 2009). Fato este que explica maiores valores dos parâmetros analisados neste trabalho de parte aérea (Figura 1) e de sistema radicular quando as plantas de soja foram inoculadas com isolados de *Trichoderma*.

Assim, a relação sinérgica existente entre os microrganismos estudados pode ter contribuído para o aumento no crescimento da raiz e parte aérea das plantas de soja inoculadas com *Trichoderma* spp. e *Bradyrhizobium japonicum*, uma vez que estavam associados (AYOUBI et al., 2012), dessa forma, a utilização dos microrganismos em conjunto proporcionou melhor crescimento radicular e parte aérea da soja, sendo percebidos em maiores médias para as variáveis analisadas.

Figura 1: Plantas de soja inoculadas com isolados de Trichoderma e *B. japonicum* aos 50 dias de crescimento. *B. japonicum* (A), Testemunha (B), T. Comercial + *B. Japonicum* (C), T. CPD102 + *B. japonicum* (D) e T. S404 + *B. japonicum* (E).



De acordo com os resultados obtidos para massa fresca (MFR) e seca (MSR) do sistema radicular (Tabela 2 e Figura 2), observa-se geralmente que as plantas que receberam coinoculação de Trichoderma e *Bradyrhizobium* desenvolveram mais seus sistemas radiculares em comparação a testemunha e as plantas que receberam apenas inoculação da bactéria *Bradyrhizobium*.

Quanto ao número de nódulos e a massa seca dos nódulos foram maiores nas plantas que receberam co-inoculação de Trichoderma e *Bradyrhizobium* e no tratamento controle (Tabela 2). No parâmetro massa fresca do nódulo as plantas coinoculadas com Trichoderma e *Bradyrhizobium* também apresentaram maiores valores em comparação aos demais tratamentos (Tabela 1).

Tabela 2: Resultados das análises da inoculação de plantas de soja com isolados nativos de Trichodermas (T) com *Bradyrhizobium japonicum* aos 50 dias de crescimento. Massa fresca da raiz (MFR); massa seca da raiz (MSR); número de nódulos (NN); massa fresca dos nódulos (MFN); massa seca de nódulos (MSN)

Tratamento	MFR (g)	MSR (g)	NN	MFN (g)	MSN (g)
B. japonicum	1,76 b	1,01 b	5,96 b	1,15 b	0,78 b
Testemunha	1,48 b	1,05 b	7,51a	1,48 b	0,90a
T.Comercial + B. Japonicum	2,16 a	1,09 a	7,99 a	3,03 a	0,97 a
T. CPD102 + B. japonicum	1,66b	1,11 a	8,68 a	3,23 a	0,98 a
T. S404 + B. japonicum	1,91 a	1,10 a	7,93 a	2,92 a	0,96 a
C.V. %	16,95	6,58	18,45	25,25	7,02

Em análise a resposta do efeito de doses de nitrogênio na nodulação e biomassa de plantas de soja inoculadas com cepas de *B. japonicum*, Cardoso et al. (2018), observaram que maiores doses aplicadas diminuíram o peso e número de nódulos,

entretanto, não houve interferência na quantidade de biomassa total. Deste modo, nota-se que a presença de nitrogênio presente no solo pode ter efeito deletério no crescimento de bactérias fixadoras. O que pode também explicar a falta de resposta nos tratamentos onde se fez inoculação apenas com a bactéria *Bradyrhizobium* nos parâmetros avaliados de nodulação em comparação aos demais tratamentos.

No tratamento controle observa-se presença de nódulos nas raízes, apesar de não se ter feito inoculação com as bactérias, provavelmente pela presença das espécies nativas de bactérias fixadoras de nitrogênio que o solo que foi utilizado possuía.

A coinoculação entre *B. japonicum* e *T. harzianum* mostrou-se benéfica para a manutenção da fertilidade do solo em estudo realizado por Iturralde et al. (2020), pois plantas de soja coinoculadas com os dois microrganismos mostraram um crescimento superior mesmo em baixas doses de adubação nitrogenada, evidenciando assim, o uso de parte do nitrogênio requerido em seu metabolismo foi provido da fixação do nitrogênio atmosférico, diminuindo assim a necessidade de adubos nitrogenados.

Desta maneira, fatores pertinentes as características do solo, bem como fatores ambientais, ou ao próprio inoculante de bactéria fixadora de nitrogênio utilizado podem ter agido de maneira contrária ao processo de colonização das raízes da soja quando se fez a inoculação das plantas de soja com a bactéria *B. japonicum*, tendo ocasionado assim, uma diminuição nas médias em relação as variáveis analisadas.

Na maioria das vezes, os dois isolados nativos de *Trichoderma* ssp , isolados de regiões do estado de Mato Grosso do Sul, quando comparado ao *Trichoderma* comercial, apresentaram respostas semelhantes para as variáveis analisadas (Tabela 1 e 2). Assim, justifica-se o uso e estudo de espécies nativas em análises que visem a avaliação dos incrementos produtivos nas mais diversas culturas, uma vez que tais espécies possuem uma adaptabilidade estabelecida as condições ambientais presentes em seu ecossistema natural, diminuindo assim, os risco inerentes a prática deste manejo ao produtor no sentido de respostas, ou até mesmo sendo um ponto positivo por os mesmos se encontrarem adaptados as condições edafoclimáticas locais.

Figura 2: Raízes de soja inoculadas com isolados de Trichoderma e *B. japonicum* aos 50 dias de crescimento. *B. japonicum* (A), Testemunha (B), T. Comercial + *B. japonicum* (C), T.CPD102 + *B. japonicum* (D) e T. S404 + *B. japonicum* (E).



4 CONCLUSÃO

Todos os isolados de *Trichoderma* spp associados à bactéria *B. japonicum* utilizados no experimento promoveram melhor desenvolvimento na fase inicial nas plantas de soja, comprovando sua efetividade. Destaca-se o isolado T.S404 associado à bactéria *B. japonicum*, que apresentou resultados satisfatórios em todos os parâmetros avaliados. Os resultados demonstram que os isolados nativos inoculados em solo oriundo de sua própria região, obtiveram resultados tão satisfatórios quanto ao *Trichoderma* spp já comercializado. Estudos e pesquisas tem o papel fundamental de comprovar a efetividade dos isolados nativos nos diferentes estados brasileiros, visando maior eficiência, sustentabilidade e disponibilidade para os produtores de todas as regiões.

REFERÊNCIAS

ABHANG, P. B.; KEDAR, S. S. Trichoderma: A bio-control agent for management soil born diseases. In: ABHANG, P. B.; KEDAR, S. S. Innovative Approaches in Agriculture and Environmental Development, chap. 34, p. 375. Índia: JPS Scientific Publications, 2019.

AKLADIOUS, S. A.; ABBAS, S. M. Application of Trichoderma harziunum T22 as a biofertilizer supporting maize growth. African Journal of Biotechnology, v. 11, n. 35, p. 8672-8683, 2012.

ALCÂNTARA, R. I. Trichoderma harzianum E Bacillus subtilis ASSOCIADOS COM Bradyrhizobium japonicum NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DA CULTURA DA SOJA. 2018.

ALFIKY, A.; WEISSKOPF, L. Decifrando as interações Trichoderma-planta-patógeno para um melhor desenvolvimento de aplicações de biocontrole. Journal of Fungi, v. 7, n. 1, pág. 61, 2021.

AYOUBI, N.; ZAFARI, D.; MIRABOLFATHY, M. Combination of Trichoderma species and Bradyrhizobium japonicum in control of Phytophthora sojae and soybean growth. Journal of Crop Protection, v.1, n.1, p.67-79, 2012.

BONONI, L. Bioprospecção de Trichoderma spp. envolvidas na solubilização de fosfato e no controle biológico de Sclerotinia sclerotiorum em soja. 137 fls. 2020. Tese (Ciências: área de concentração: Microbiologia Agrícola). Universidade de São Paulo. Piracicaba-SP, 2020.

CADORE, L. D. S. Trichoderma e Bradyrhizobium no desenvolvimento e produtividade da soja. 2018.

CADORE, L.; VEY, R.; FRESINGHELLI, J. C.; DOTTO, L.; & ETHUR, L. Avaliação do crescimento inicial da soja utilizando formulações de Trichoderma. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, v. 15, n. 27, 2018.

CARDOSO, N.; FONSECA, A.; FUJIYAMA, B.; RAMOS, J.; & JÚNIOR, M. S. Efeito de doses de nitrogênio na nodulação e biomassa de plantas de soja. Enciclopédia Biosfera, v. 15, n. 27, 2018

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

DE MATOS, C. L.; & KASCHUK, G. COINOCULAÇÃO DE Bradyrhizobium japonicum E OUTROS POTENCIAIS MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO EM SOJA. 2019.

DE OLIVEIRA, C. M.; ALMEIDA, N. O.; CÔRTEZ, M. V. D. C. B.; JÚNIOR, M. L.; DA ROCHA, M. R.; & ULHOA, C. J. Controle biológico de Pratylenchus brachyurus com isolados de Trichoderma spp. na soja. Biological Control, v. 152, pág. 104425, 2021.

DIÁNEZ MARTÍNEZ, F., et al. *Trichoderma saturnisporum*, a new biological control agent. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 96, n. 6, p. 1934-1944, 2016.

HARMAN, Gary E. Myths and dogmas of biocontrol: Changes in Perceptions Derived from Research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease*, Geneva Ny, p.377-393, abr. 2000.

INAYATI, A.; et al. Antifungal activity of volatile organic compounds from *Trichoderma virens*. In: *AIP Conference proceedings*. AIP Publishing LLC, 2019. p. 080012.

ITURRALDE, E. T.; STOCOCO, M. S.; FAURA, A.; MÓNACO, C. I.; CORDO, C.; PÉREZ-GIMÉNEZ, J.; LODEIRO, A. R. Coinoculation of soybean plants with *Bradyrhizobium japonicum* and *Trichoderma harzianum*: Coexistence of both microbes and relief of nitrate inhibition of nodulation. *Biotechnology Reports*. v. 26, 2020.

JUNGES, E.; et al. *Trichoderma* spp. na produção de mudas de espécies florestais. *Floresta e Ambiente*, v. 23, n. 2, p. 237-244, 2016.

LI, R.-X.; et al. Solubilisation of phosphate and micronutrients by *Trichoderma harzianum* and its relationship with the promotion of tomato plant growth. *PLoSOne*, v. 10, n. 6, p. e0130081, 2015.

MELO, I. S. e AUGUSTO, J. L. *Controle biológico*. V.1 (Ed) Embrapa, p.264, 1996.

MOREL, M.; CASTILLO, Y.; GARCÍA, S.; CONCE, M.; DE DIOS MOYA, J.; REYNOSO, T.; ... & ALONZO, K. Avaliação da capacidade endofítica de linhagens nativas de *Trichoderma* spp. em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) em malha doméstica. *APF*, v. 10, n. 1 p. 25-40, 2021.

OLIVEIRA, J. B. Promoção do crescimento e da produtividade de trigo pelo emprego de cepas comerciais de *Trichoderma* spp. 40 fls. 2017. Dissertação (Produção Vegetal). Universidade Estadual de Goiás (UEG), Câmpus Ipameri, 2017.

PANIZZI, M. C.; SILVA, J. B. da. Soja na alimentação humana: qualidade na produção de grãos com valor agregado. In: *CONGRESO DE LA SOJA DEL MERCOSUR-MERCOSOJA*. 2011. p. 1-3.

POPOV, D. Soja: Brasil pode fechar 2021 com recorde na exportação e estoque um pouco maior. Segundo o 7º levantamento de safras da Conab, com o aumento da produção, o país também irá ampliar o consumo interno do grão. 08 abril 2021. Canal Rural. Disponível em: <https://www.canalrural.com.br/projeto-soja-brasil/soja-brasil-pode-fechar-2021-com-recorde-na-exportacao-e-estoque-um-pouco-maior/>. Acesso em 02 ago 2021.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. 4. Ed. Trad. SANTARÉM, E. R. Porto Alegre:RS, Artmed, 2009. 820p.

THAPA, S.; RAI, N.; LIMBU, A. K.; & JOSH., A. Impact of *Trichoderma* sp. in agriculture: a mini-review. *J. Biol. Today's World*, v. 9, n. 227, p. 10.35248, 2020.

VIEIRA, P. M. Identificação, expressão e análise de genes de *Trichoderma harzianum* com potencial biotecnológico. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; & LORITO, M. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. *The Open Mycology Journal*, v. 8, n. 1, 2014.