



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS DE GURUPI
CURSO DE AGRONOMIA

LISANDRA LIMA LUZ

**INOCULAÇÃO DE *Trichoderma asperellum* (UFT-201) NA CULTURA DO ARROZ
(*Oryza sativa*) E MILHO (*Zea mays*): ALTERAÇÕES MORFOFISIOLÓGICAS.**

Gurupi/TO

2022

LISANDRA LIMA LUZ

**INOCULAÇÃO DE *Trichoderma asperellum* (UFT-201) NA CULTURA DO ARROZ
(*Oryza sativa*) E MILHO (*Zea mays*): ALTERAÇÕES MORFOFISIOLÓGICAS.**

Monografia foi avaliada e apresentada à UFT – Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Gurupi, Curso de Agronomia para obtenção do título de Bacharel e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Orientador: Dr. Aloísio Freitas Chagas Junior

Co-orientadora: Dr. Lilian Freitas Borges Chagas

Gurupi-TO

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

L979i Luz, Lisandra Lima.
Inoculação de trichoderma asperellum (uft-201) na cultura do arroz (oryza sativa) e milho (zea mays): alterações morfofisiológicas. / Lisandra Lima Luz. – Gurupi, TO, 2021.
29 f.
Monografia Graduação - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Gurupi - Curso de Agronomia, 2021.
Orientador: Aloisio Freitas Chagas Junior
Coorientador: Lilian Freitas Borges Chagas
1. Microorganismo 2. Fungos. 3. Agricultura. 4. Promoção de crescimento. I. Título

CDD 630

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

FOLHA DE APROVAÇÃO

LISANDRA LIMA LUZ

INOCULAÇÃO DE *Trichoderma asperellum* (UFT-201) NA CULTURA DO ARROZ
(*Oryza sativa*) E MILHO (*Zea mays*): ALTERAÇÕES MORFOFISIOLÓGICAS.

Monografia foi avaliada e apresentada à UFT – Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Gurupi, Curso de Agronomia para obtenção do título de Bacharel e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: **03/12/2021**

Banca examinadora:

Msc. Gabriel Soáres Nóbrega
Examinador, Fast Agro

Dr. Albert Lennon Lima Martins
Examinador

Prof. Dr. Lilian França Borges Chagas
Co-orientadora, UFT

Prof. Dr. Aloísio Freitas Chagas Júnior
Orientador, UFT

Gurupi/TO

2022

*Dedico aos meus pais Sidcelia Lima Vermelho
e Márcio Coelho Luz por sempre acreditarem
em mim, e por nunca deixarem desistir dessa
jornada.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por toda força e coragem que me ofereceu para superar todas as dificuldades e ter conseguido alcançar a minha meta.

A Universidade Federal do Tocantins–UFT, campus de Gurupi, por ter proporcionado recursos e oportunidades para chegar até ao fim dessa etapa. A todos os professores e colaboradores da UFT que de alguma forma contribuíram para com minha formação.

Aos meus pais Márcio Coelho e Sidcelia Lima que sempre me deram amor e carinho, e por terem transmitido tanta força e confiança a mim, e por nunca terem desistido dessa minha trajetória na faculdade. A minha irmã Ládila Lima que por mais que tenha tirado toda a minha paciência, obrigada pela ajuda, apoio e companheirismo, principalmente na execução desse projeto.

A minha família, meus tios Sidney, Lucas, Cezar (in memorian), as minhas tias Valdivia, Elenita de Cassia e meus primos Giovanna, Pedro Jorge e Werbest porto do apoio e ajuda nessa etapa de minha vida. Às minhas avós Eva e Marinalva que sempre me deram força e apoio, pois fazem toda a diferença na minha vida. Aos meus padrinhos, Lidia e Zacarias (batismo) e Angela Barros (consagração).

Ao Prof. Dr.Aloísio Freitas que me orientou, ajudou, supervisionou e motivou a dar o melhor e confiou na minha capacidade.

Aos amigos que conheci na faculdade, Sabrina, Bianca Reis, Millena, Déborah, Steffany, Ádila, pelo apoio e amizade durante a faculdade. Aos amigos que fiz em Gurupi, Édilem, Indira, Regina, Crislânia, Mirlla Rayra, Rafael Silva, Aucilon Júnior (Magaiver), Marcos Vinicius, Rafael Coutinho, vocês se tornaram parte da minha família.

A minha querida amiga Ana Paula, que sempre esteve ao meu lado. Obrigada pelo apoio, incentivo e por ter acreditado em mim, na minha capacidade de vencer.

Ao João H. Luz, pelo companheirismo, ensinamentos, ajuda na elaboração, condução e execução deste trabalho.

E por fim, aos meus colegas do laboratório de Agromicrobiologia Aplicada e Biotecnologia, que fazem parte da minha vida fora da faculdade, Flavia Luane, Thyenny Gleysse, Manuella, Rodrigo, meu muito obrigada por todo apoio de sempre, pelo companheirismo, e por terem me ajudado a me tornar a pessoa que sou hoje.

RESUMO

A produção agrícola brasileira é considerada uma das maiores do mundo, devido ao seu tamanho territorial e ao seu potencial em produzir grãos. *Trichoderma* spp. É um dos fungos mais pesquisados no Brasil, pois tem ocorrência natural em praticamente todos os tipos de solos, e por possuir uma versatilidade de ação própria, podendo atuar como promotor de crescimento vegetal. Diante disso, objetivou-se avaliar a eficiência da inoculação do isolado UFT-201 como promotor de crescimento nas culturas do milho e arroz em casa de vegetação. O experimento foi conduzido na estação experimental da Universidade Federal do Tocantins (UFT) - Campus Universitário de Gurupi, localizada na região sul do estado do Tocantins. Os tratamentos consistiram em cinco doses do inoculante (0, 3, 6, 9, 12 g kg⁻¹), misturados à semente no momento da semeadura. A cepa utilizada foi obtida no acervo da micoteca do Laboratório de Agromicrobiologia Aplicada e Biotecnologia da Universidade Federal do Tocantins. O inoculante utilizado foi preparado em fermentação sólida utilizando arroz como substrato. Foram avaliadas características morfológicas (altura, volume de raiz, massa seca) e fisiológicas (pigmentos fotossintéticos e trocas gasosas) aos 30 e 45 dias após a semeadura. O fungo *Trichoderma asperellum* UFT-201 inoculado via semente aumentou o volume radicular e a biomassa das plantas de milho e arroz na dose de 6 g kg⁻¹ de sementes. O ganho em biomassa das culturas está relacionado com alterações fisiológicas nas culturas promovido pela inoculação e doses acima de 12 g kg⁻¹ de sementes pode reduzir o desenvolvimento inicial das culturas, principalmente para arroz.

Palavras-chaves: Microrganismo, Fungos, Agricultura, Promoção De Crescimento.

ABSTRACT

Brazilian agricultural production is considered one of the largest in the world, due to its territorial size and its potential to produce grains. *Trichoderma* spp. It is one of the most researched fungi in Brazil, as it occurs naturally in practically all types of soil, and because it has its own versatility of action, being able to act as a plant growth promoter. In view of this, the objective was to evaluate the efficiency of the inoculation of the UFT-201 isolate as a growth promoter in corn and rice crops in a greenhouse. The experiment was conducted at the experimental station of the Federal University of Tocantins (UFT) - Campus Universitário de Gurupi, located in the southern region of the state of Tocantins. Treatments consisted of five inoculant doses (0, 3, 6, 9, 12 g kg⁻¹), mixed with the seed at sowing. The strain used was obtained from the collection of the laboratory of Applied Agromicrobiology and Biotechnology at the Federal University of Tocantins. The inoculant used was prepared in solid fermentation using rice as substrate. Morphological (height, root volume, dry mass) and physiological (photosynthetic pigments and gas exchange) characteristics were evaluated at 30 and 45 days after sowing. The fungus *Trichoderma asperellum* UFT-201 inoculated via seed increased root volume and biomass of corn and rice plants at a dose of 6 g kg⁻¹ of seeds. The gain in crop biomass is related to physiological changes in crops promoted by inoculation and doses above 12 g kg⁻¹ of seeds can reduce the initial development of crops, especially for rice.

Key-words: Microorganism, Fungi, Agriculture, Growth Promotion.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Altura (A), volume de raiz (B), massa seca da folha (C) e massa seca total (D) de plantas de milho (<i>Zea Mays</i>) sob doses de <i>Trichoderma asperellum</i> (UFT – 201) com 30 e 45 dias após de semeadura.....	20
Figura 2 - Biplot do primeiro e segundo componentes gerados a partir das variáveis respostas de plantas de milho (<i>Zea Mays</i>) sob doses <i>Trichoderma asperellum</i> via sementes aos 45 dias após a semeadura.	21
Figura 3 - Altura (A) e Volume de raiz (B), Massa seca das folhas (C) e total (D) de plantas de arroz (<i>Oryza Sativa</i>) sob doses de <i>Trichoderma asperellum</i> via sementes após 30 e 45 dias de semeadura.	22
Figura 4 - Biplot do primeiro e segundo componentes gerados a partir das variáveis respostas de plantas de arroz (<i>Oryza Sativa</i>) sob doses de <i>Trichoderma asperellum</i> via sementes aos 45 dias após a semeadura.....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise química e textura do solo utilizado no experimento (2019).....	18
-----------------------------------------------------------------------------------	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	14
2.1. <i>Trichoderma</i>	14
2.2. Milho	15
2.3. Arroz	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1. <i>Designer</i> experimental	17
3.2. Avaliações agronômicas e fisiológicas	18
3.3. Análises estatística	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
5. CONCLUSÃO.....	25
REFERÊNCIAS.....	26

1. INTRODUÇÃO

A produção agrícola brasileira é considerada uma das maiores do mundo, devido ao seu tamanho territorial e o seu potencial em produzir grãos (MICHEREFF et al., 2005). A produção de milho é destinada ao grão, que é utilizado para alimentação humana e animal, e também para a produção de silagem, que consiste em um processo fermentativo, utilizado na alimentação animal no período de seca. Dessa forma, a produção de milho deve ser levada em conta o grão e matéria seca, assim, estimulando a geração e adoção de técnicas de produção que a viabilizem (PINTO et al., 2010; SILVA et al., 2017).

Diante do cenário atual, onde o Brasil tem como sua principal economia a agricultura, procura-se alternativas para aumentar a produção agrícola das principais culturas: soja e milho, além da produção de alimentos saudáveis (HIRAKURI & LAZZAROTTO, 2014).

O uso de técnicas de produção viáveis, como a produção de inoculantes à base de microrganismos benéficos, que ajudam na promoção de crescimento vegetal, é de grande importância para a agricultura, sendo medidas inovadoras para se alcançar uma agricultura sustentável e aumentara produção agrícola (MACHADO et al.,2012). Recentemente, profissionais da área e setores comerciais têm demonstrado grande interesse no desenvolvimento de estratégias ecológicas e econômicas para o manejo de doenças em plantas (PANTH, 2020).

Trichoderma spp. é um dos fungos mais pesquisados no Brasil, pois tem ocorrência natural em praticamente todos os tipos de solos, e por possuir uma versatilidade de ação próprias, como parasitismo, antibiose e competição, além da produção de fitômonios a exemplo do AIA, e sua capacidade de solubilização de fosfatos, (OLIVEIRA & CHAGAS,2012; RIBAS & RECH, 2016) dessa forma podendo atuar como promotor de crescimento vegetal e indutor de resistência de plantas à doenças. O fungo já vem sendo utilizado em estudos para promoção de crescimento em plantas de soja, feijão caupi, milho e arroz (CHAGAS et al., 2017; GONÇALVES et al., 2018).

Bioprodutos a base de *Trichoderma* spp. são comercializados em vários países ao redor do mundo (BETTIOL et al., 2012). No Brasil, sua aplicação pelos agricultores ainda é limitada devido à pouca disponibilidade de bioformulações devidamente registrada no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) combinada com a falta de identificação de novos isolados com potencial de biocontrole e falta de informação sobre os benefícios do uso desses agentes (MACHADO et al., 2012).

Assim, a prospecção de novos isolados é a etapa primária no processo de desenvolvimento de produtos biológicos, posteriormente, a formulação de produtos. Com isso, o objetivo foi avaliar o efeito da inoculação de doses de *Trichoderma asperellum* (UFT-201) na cultura do milho e arroz e determinar as principais alterações sobre a morfofisiologia das culturas.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. *Trichoderma*

O gênero *Trichoderma* pertence à classe Sordariomycetes do filo Ascomycota, subdivisão Pezizomycotina, família Hypocreaceae (DRUZHININA et al., 2012; RAJESH et al., 2016).

São considerados fungos de vida livre, e possuem reprodução de forma assexuada. São caracterizados pela produção de conídios (esporos responsáveis pela reprodução), e esporulação em diferentes tons de verde (HARMAN et al., 2004).

Trichoderma exibe comportamento antagônico contra vários fitopatogênicos organismos, incluindo bactérias, nematóides e especialmente fungos, inibindo seu crescimento por interações diretas (hiperparasitismo, competição por nutrientes e espaço e antibiose ou indiretamente, melhorando o crescimento e vigor da planta e aumentar a tolerância ao estresse, absorção ativa de nutrientes e biorremediação da rizosfera contaminada, além de fornecer às plantas vários metabólitos secundários, enzimas e proteínas (KUMAR, 2013).

O hiperparasitismo é a característica mais singular do gênero, pois são eficazes parasitas de fungos fitopatogênicos, servindo de nutrição biotrófica (DRUZHININA et al., 2018). Competição se refere ao processo de interação entre dois ou mais organismos envolvidos na mesma ação. Os organismos competem entre si para obter nutrientes, água, luz, espaço, fatores de crescimento, oxigênio, etc. A competição por nutrientes é um mecanismo importante porque muitos fungos fitopatogênicos são sensíveis a certas deficiências de nutrientes. Este é considerado um dos mecanismos clássicos de controle biológico (HARMAN, 2004). A antibiose é resultado de uma interação, onde metabólitos produzidos por um organismo têm efeito danoso sobre outro (HERMOSA, et al., 2013).

Possuem alta capacidade de solubilização de fosfatos e produção de ácido indolacético (AIA), além de promover o crescimento de raiz lateral, aumentando assim a eficiência de absorção dos nutrientes para a planta (OLIVEIRA et al., 2012; RIBAS et al., 2016). De acordo com Lucon (2009) a promoção de crescimento de plantas é resultado da produção de hormônios e aumento da disponibilidade e absorção dos nutrientes pelas plantas.

Resultados significativos com uso de *Trichoderma* têm sido reportados em culturas como milho (RESENDE et al., 2004), soja (GÖRGEN et al., 2009), feijão (BERNARDES et al., 2010).

Trichoderma promove o crescimento de parte aérea das plantas, além de produzir auxinas e metabólitos (6PP) favorecendo o crescimento das raízes, tornando as mais profundas e vigorosas (VINALE et al., 2008; CONTRERAS-CORNEJO et al., 2014). Como também, ajuda na absorção e solubilização de nutrientes, favorecendo a aderência hidrofóbica, e aumento e pelos absorventes, que conseqüentemente, aumenta a superfície de absorção (SAMOLSKI et al., 2012).

O fungo *Trichoderma* é utilizado na agricultura, pois tem a capacidade de solucionar fosfatos presentes no solo, tornando-o prontamente disponível para as plantas (MACHADO et al., 2012; PACHECO et al., 2016).

Para a produção de fungos, a fermentação sólida ou semi sólida e os processos bifásicos envolvendo as etapas de fermentação líquida e sólida são mais comuns. O desenvolvimento do processo produtivo do fungo brasileiro teve início no final da década de 1960 com a introdução de uma tecnologia de Trinidad e Tobago, que, segundo Lopes (2009), inclui o uso de grãos ou grãos pré-cozidos com o substrato, principalmente arroz. Nas décadas seguintes, ajustes no sistema tornaram o processo mais prático e produtivo. O cultivo de fungos em larga escala baseia-se no uso de substratos sólidos como grãos, que têm a vantagem de serem facilmente biodegradáveis (LOPES, 2009).

2.2. Milho

O milho (*Zea Mays*) pertence à família Poaceae, ao gênero *Zea* e sua espécie única recebe o nome de *Zea mays*, é originário do México e durante muito tempo foi o principal alimento para muitas civilizações (CAMPOS & CANÉCHIO-FILHO, 1973). Atualmente é produzido em quase todo o continente, com grande importância econômica devido sua versatilidade de utilização, que vai desde a alimentação tanto humana como animal, à utilização na indústria para fabricação de filmes e embalagens. Seu grão é composto por amido, proteínas, fibras e óleos, em ordem de maior quantidade, respectivamente (CONAB, 2020; PAES, 2006; TOSELLO, 1987).

O milho é um dos grãos mais produzidos no mundo, sendo o Brasil, o terceiro maior produtor deste, com produção de 100.046,3 ton na safra 18/19. A estimativa para a safra 20/21 foi de 106 ton (CONAB, 2020).

2.3. Arroz

O arroz (*Oryza sativa L.*) é uma planta da família Gramineae, monocotiledônea da ordem Glumifloreae. Apresenta grande valor econômico, pois seus grãos são base de alimentação humana (2,4 bilhões de pessoas, principalmente baixa renda). É uma fonte importante de calorias e proteínas na dieta alimentar do brasileiro, contribuindo para melhoria da nutrição e qualidade de vida (SANTOS et al. 2006).

Tem em sua composição teor de proteína variando de 15% a 20%, amido entre 75% a 80% e é rico em hidratos de carbono (STORCK, 2004). O arroz irrigado tem sua cultura em maior parte em terras baixas, com solos alagados do tipo várzea, o que confere maior produtividade de grãos (CORDEIRO et. al 2010).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na estação experimental da Universidade Federal do Tocantins (UFT) - Campus Universitário de Gurupi, localizada na região sul do estado do Tocantins (11° 43 '45"S, 49° 04' 07"W, 278 m de altitude). A classificação climática segundo Köppen (1948) é do tipo B1wA'a' úmido com moderada deficiência hídrica, tendo a temperatura média anual de 29,5°C, com precipitação média anual de 1.688 mm, caracterizada por um inverno seco e um verão chuvoso (ALVARES et al., 2013).

3.1. *Designer experimental*

O experimento foi conduzido com as culturas do milho e arroz. Os tratamentos consistiram em cinco doses do inoculante (0, 3, 6, 9, 12 g kg⁻¹ de semente), misturados no momento da semeadura. Foram semeadas cinco sementes de milho e 10 de arroz por vaso, onde foi realizado o desbaste aos 15 dias após a semeadura (DAS), deixando duas plantas de milho e cinco de arroz em cada.

A cepa utilizada foi obtida no acervo da micoteca do Laboratório de Agro Microbiologia Aplicada e Biotecnologia da Universidade Federal do Tocantins (UFT/PPGPV) (Tabela 1).

O fungo foi repicado em meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar – Himedia, Índia) em placas de petri e incubados a temperatura de 25°C ± 2°C com fotoperíodo de 12 horas, por sete dias, período determinado para o crescimento das colônias de *Trichoderma asperellum* UFT-201.

O inoculante utilizado foi preparado em fermentação sólida utilizando arroz com o substrato, conforme metodologia descrita por Chagas et al (2017). Sacos de polipropileno contendo 300 g de arroz e 300 mL de água destilada foram autoclavados a 121°C, por 1 hora. Após o resfriamento, o arroz foi inoculado com seis discos de 5mm de diâmetro de cada isolado, separadamente, contendo micélios e esporos de *Trichoderma* sp. e meio BDA e incubados em câmara de crescimento tipo B.O.D. com temperatura de 25°C ± 2°C e fotoperíodo de 12 horas por sete dias. A cada dois dias, o substrato contendo arroz foi revolvido, para facilitar a troca gasosa, quebra dos agregados miceliais e aumento da esporulação.

A concentração de *Trichoderma* foi determinada pelo método de diluição em série através da quantificação de Unidades Formadoras de Colônias (UFC), onde foi determinado

utilizando-se 1g de arroz em 10mL de água esterilizada, seguida de agitação por 1 min no vórtex, em seguida feitas as diluições, utilizando 900ul de solução salina e 100 ul da mistura anterior, em seguida plaqueamento das diluições 10^4 e 10^6 em placa de petri contendo meio BDA.

O milho híbrido AG8088PRO2 e o arroz IRGA 431 foram cultivados em vasos plásticos contendo 4 e 10 dm^3 (unidades experimentais–UE) de Latossolo Vermelho Amarelo, coletado da camada de 0-20cm, que apresentava as seguintes características química e textural (TEIXEIRA et al., 2017) (Tabela2).

Tabela 1 - Análise química e textura do solo utilizado no experimento (2019).

Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB ²	CTC(T) ¹	V ⁴	m ⁵	MO ⁶	pH	
..... $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$(%).....		CaCl ₂		
1,2	0,6	0,0	2,2	1,87	4,07	46	0	1,6	5,6	
P	K					Silte	Argila	Areia		
... mg dm^{-3} g kg^{-1}				
1,9	29,0					50	475	475		

¹CTC total; ²Soma de bases; ³CTC efetiva; ⁴Saturação por base; ⁵Saturação por alumínio; ⁶Materia orgânica
Fonte: AUTOR (2019).

3.2. Avaliações agronômicas e fisiológicas

As avaliações foram realizadas aos 30 e 45 dias após a semeadura (DAS). Para as características morfológicas, determinou-se: altura das plantas (ALT), com auxílio de régua graduada em centímetro, foram tomadas medidas do solo ao ápice das folhas. A massa natural da parte aérea e da raiz (MN) foi mensurada em balança antes das folhas perderem a turgescência. Foi feito volume de raiz (VR, mL) com o auxílio de uma proveta.

Em seguida, os componentes morfológicos foram separados: folha, caule e raiz e as amostras foram transferidas para estufa com circulação forçada a ar à 55°C por 72 horas ou até obter peso constante. Posteriormente, foram pesadas em balança semi-analítica (0,001 g), obtendo: massa seca da raiz (MSR, g), massa seca das folhas (MSF, g) e massa seca do caule (MSC, g). Com somatório de ambas as partes morfológicas obteve-se a massa seca total (MST, g) das plântulas.

Já para as avaliações fisiológicas, foram quantificados os pigmentos fotossintéticos através de leituras na parte central do limbo foliar, em folhas completamente expandidas, com o auxílio de um clorofilômetro ClorofiLOG[®] modelo CFL 1030. O equipamento fornece

resultados em unidades adimensionais, valores ICF (Índice de Clorofila Falker) da clorofila a (Clo.a), b (Clo.b) e total (Clo.Total) (FALKER, 2008).

As trocas gasosas foram analisadas com equipamento de sistema aberto de fotossíntese com analisador de CO₂ e vapor d'água por radiação infravermelha (*InfraRed Gas Analyser*–IRGA, modelo LCiSD, da ADC System, UK). No período das 9 às 11am. sempre em dia ensolarado, em folhas totalmente expandidas. Os parâmetros fisiológicos analisados foram: taxa de assimilação CO₂ (A - $\mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiração (E - $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s - $\text{mol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e concentração de CO₂ intercelular (CI - $\mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1} \text{ ar}$) sob irradiância média de 1100 $\mu\text{mol de fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e concentração externa de CO₂ de 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$. Além disso, a eficiência do uso da água (EUA- $\mu\text{mol CO}_2 \text{mmol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$) foi determinada pela razão A/E , conforme descrito por Zhangetal (2001).

3.3. Análises estatística

Quatro variáveis dos experimentos (ALT, VR, MSF, MST) foram avaliadas por análise de variância (ANOVA), e os modelos de regressões polinomiais foram ajustados conforme o nível de significância ($p \leq 0,05$).

Em seguida, todo o conjunto de dados foram submetidos à análise multivariada utilizando a técnica de componentes principais (PCA-*Principal Component Analysis*) (HAIR et al., 2009). Os auto vetores foram utilizados para avaliar a importância de cada variável e tratamentos nos dois primeiros componentes, bem como a relação entre as variáveis, sendo que esses valores funcionaram como coeficientes de correlação (GOMES et al., 2004).

Todas as análises e gráficos foram realizados no *software* R versão 4.0 (TEAM, 2020), utilizando os pacotes *MASS* (RIPLEY et al., 2020), *Exp Des. pt* (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2018), *Facto MineR* (HUSSON et al., 2020) e *ggplot2* (WICKHAM et al., 2020).

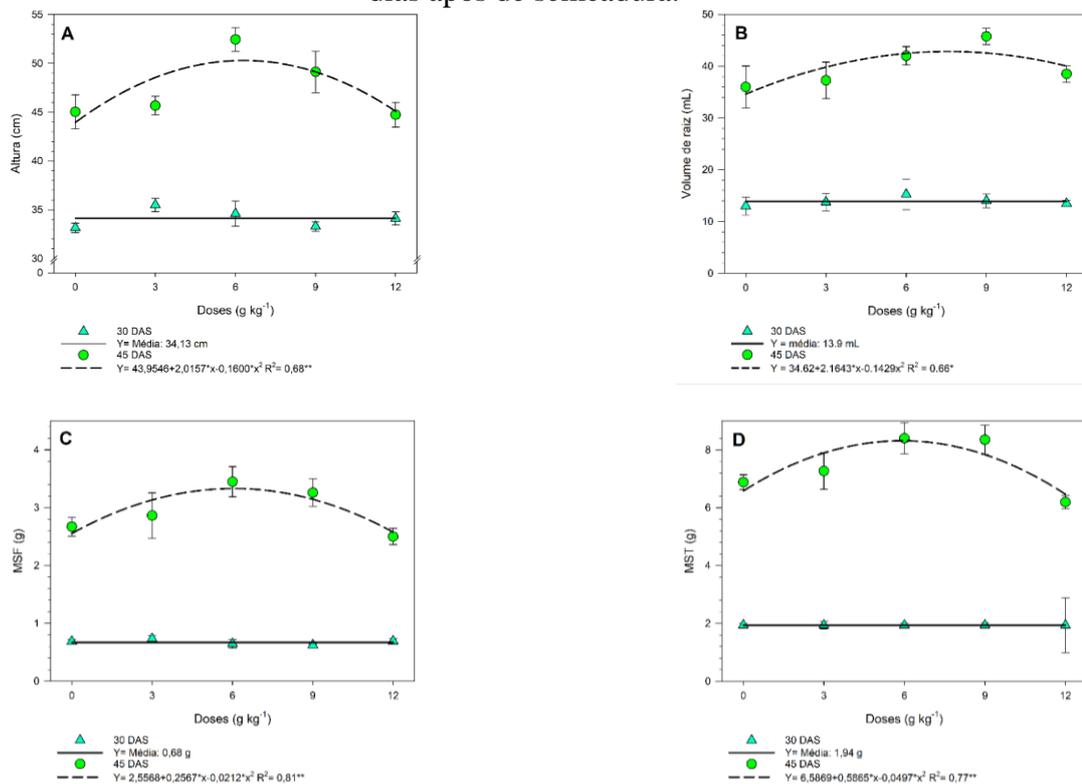
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Trichoderma asperellum, cepa UFT – 201 inoculado via sementes influenciou positivamente todos os atributos morfofisiológicos da cultura do milho e arroz apenas aos 45 após a semeadura.

Para a cultura do milho, houve interação para altura ($p = 0,01$), onde as doses foram significativas somente aos 45 DAS ($p = 0,0002$) com ajuste quadrático ($R^2 = 0,68$, $p = 0,0001$)

e máxima eficiência técnica (MET) em $6,30\text{g kg}^{-1}$ de sementes, obtendo 50, 30 cm de altura, o que representa um acréscimo de 11,69% em relação ao controle (45,04 cm) (Figura 1-A).

Figura 1 - Altura (A), volume de raiz (B), massa seca da folha (C) e massa seca total (D) de plantas de milho (*Zea Mays*) sob doses de *Trichoderma asperellum* (UFT – 201) com 30 e 45 dias após de semeadura.



O volume de raiz (VR), a cultura apresentou crescimento de 192,3% de 30 DAS (13,9 mL, média geral) para 45 DAS (38 mL no controle) ($p = 0,00001$), ou seja, dobrou o volume de exploração radicular entre as épocas de avaliação (Figura 1-B). A máxima promoção do crescimento do sistema radicular pelo inoculante ocorreu na dose de $7,54\text{ g kg}^{-1}$ de sementes, com 42,8 mL de VR, 12,7% superior ao controle.

Para a massa seca das folhas (MSF), houve interação ($p = 0,04$) e ajuste quadrático ($R^2 = 0,81$, $p = 0,0004$), significativo somente aos 45 DAS ($p = 0,004$), onde a MET foi a dose de $6,05\text{ g kg}^{-1}$, e um incremento de 24,75% (3,33g) em relação ao controle, 2,67 g (Figura 2-C).

Fonte: AUTOR (2020).

A MST teve interação ($p = 0,01$) também obteve um ajuste quadrático ($R^2 = 0,77$, $p = 0,00005$), com significância aos 45 DAS ($p = 0,00005$), e a MET foi $5,9\text{ g kg}^{-1}$, com 8,32 g (20,78%) comparado ao controle que obteve massa de 6,89g (Figura 1-D).

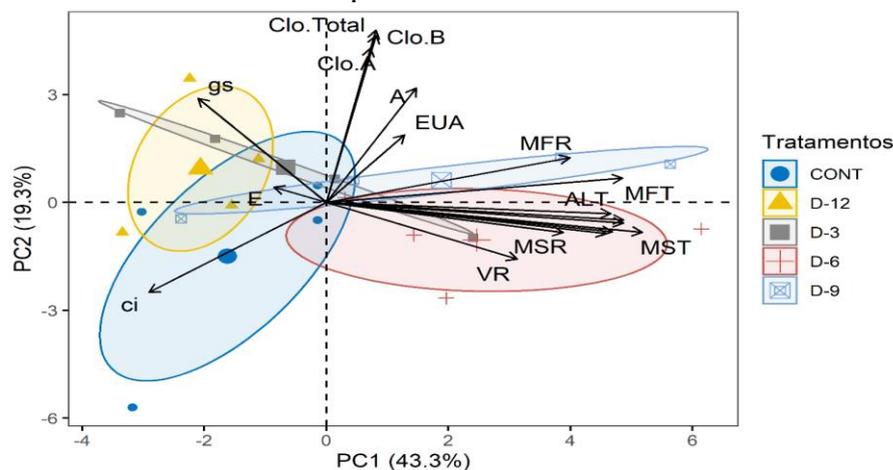
Resultados positivos também foram encontrados por Chagasetal (2017) que, comprovam a eficiência do isolado *Trichoderma asperellum* UFT-201 em incrementar biomassa em gramíneas (arroz e milho) e leguminosas (soja e feijão-caupi) (Gonçalves et al., 2017) testando doses de inoculante à base de *Trichoderma asperellum* UFT-201, concluíram

a eficiência da sua inoculação em aumento da produtividade de soja, através do aumento da biomassa da planta.

Estes resultados estão de acordo com outros trabalhos, Chagas et al. (2019) testou o isolado de *Trichoderma asperellum* UFT-201 em ensaios com soja, onde houve aumento considerável de biomassa. Este aumento pode estar relacionado à síntese de ácido indolacético (AIA) e solubilização de fosfatos (CHAGAS et al., 2015; CHAGAS et al., 2017).

Todas as variáveis morfofisiológicas do milho foram avaliadas pelo método multivariado de análise de componentes principais (PCA) com a finalidade de diferenciar os tratamentos com base em todas as informações coletadas. Foram utilizados apenas PC1 e PC2 com 62,6% da variação total dos dados, para facilitar a interpretação do gráfico em duas dimensões do efeito de doses de *Trichoderma* na cultura do milho (Figura 2).

Figura 2 - Biplot do primeiro e segundo componentes gerados a partir das variáveis respostas de plantas de milho (*Zea Mays*) sob doses *Trichoderma asperellum* via sementes aos 45 dias após a semeadura.



PC1: primeiro componente; PC2: segundo componente; MFR: massa fresca da raiz; MFT: massa fresca total; MSF: massa seca foliar; MFF: massa fresca foliar; ALT: altura; VR: volume de raiz; MFC: massa fresca do caule; MST: massa seca total; MSR; massa seca da raiz; MSC: massa seca do caule; *Ci*: concentração de carbono interno; *E*: taxa de transpiração; *gs*: condutância estomática; *A*: taxa de assimilação de CO₂; EUA: eficiência do uso da água; Clo. Total: clorofila total; Clo. A: clorofila A; Clo.B: clorofila B; CONT: controle; D-3, D-6, D-9, D-12: doses 3, 6, 9 e 12 gkg⁻¹ de sementes, respectivamente.

Fonte: AUTOR, 2020.

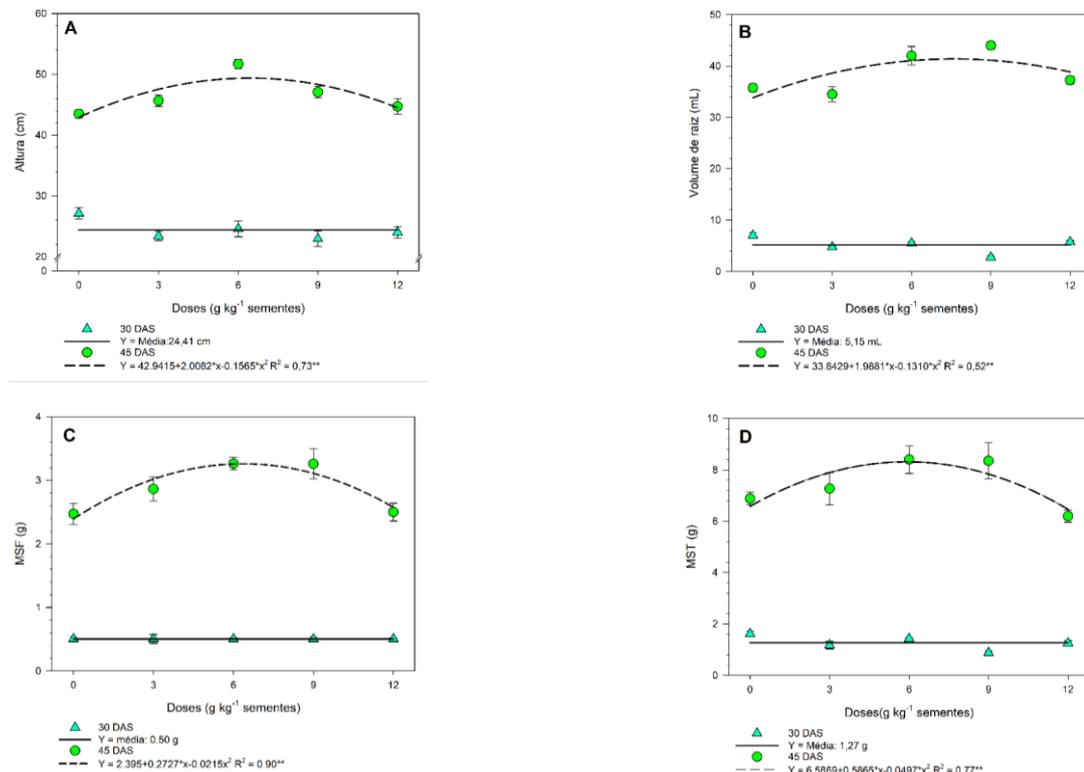
Devido a variabilidade dos dados, não ocorreu discriminação do controle pelas elipses a 95% de confiança, porém, D-6 e D-9 apresentaram maior distância euclidiana do controle (~4,1), já D-3 e D-12 (~2,6) foram agrupadas como semelhantes ao controle. As variáveis mais sensíveis de forma positiva foram: *A*, EUA, MFR, MFT e os índices de clorofilas (Clo.A, Clo.B e Clo.Total) e de forma negativa apenas o *Ci*. O controle ficou posicionado de inversamente as variáveis mais positivas e correlacionado diretamente com o *Ci*, esse

resultado sugere que plantas de milho inoculadas apresentaram maior eficiência fotossintética e por isso acumularam mais biomassa.

El-Hasan & Buchenauer (2009), utilizando metabólitos secundários de *Trichoderma*, observaram que houve aumento na atividade de peroxidases, polifenoloxidasas e β -1,3-glucanas e tanto na parte aérea quanto radicular. Esses compostos atuam diretamente na regulação dos estresses oxidativo, responsáveis por aumentar a homeostase do metabolismo vegetal reduzindo os compostos que oxidam e desestruturam as células (TAIZ, & ZEIGER, 2017).

Na cultura do arroz, todas as variáveis apresentadas foram significativas somente aos 45 DAS (Figura 3). A altura com ajuste quadrático ($R^2=0,75$, $p = 0,025$), e MET em $6,4 \text{ g kg}^{-1}$, com um aumento de 11,9% (49,4 cm) em relação ao controle, que obteve apenas 43,5 cm de altura (Figura 3-A).

Figura 3 - Altura (A) e Volume de raiz (B), Massa seca das folhas (C) e total (D) de plantas de arroz (*Oryza Sativa*) sob doses de *Trichoderma asperellum* via sementes após 30 e 45 dias de semeadura.



Fonte: AUTOR (2020).

O volume de raiz com ajuste quadrático ($R^2 = 0,52$, $p = 0,024$), onde a melhor dose $7,6 \text{ g kg}^{-1}$ incrementou 13,6% (41,4 mL) em relação ao controle que teve volume menor de 35,8 mL (Figura 3-B). Utilizando uma cepa nativa de *Trichoderma* sp. na concentração de 1×10^8 UFC mL^{-1} , Vegara et al., 2020, observaram incrementos entre 19 e 35% do comprimento e volume das raízes (1,60 mL do melhor tratamento contra 0,57 mL do controle) em mudas de arroz da variedade SLF 11. Kurrey et al. (2018) utilizando *Trichoderma* com hidrogel, também observou resultados positivos na cultura do arroz, mostrando crescimento e desenvolvimento de raízes e produtividade.

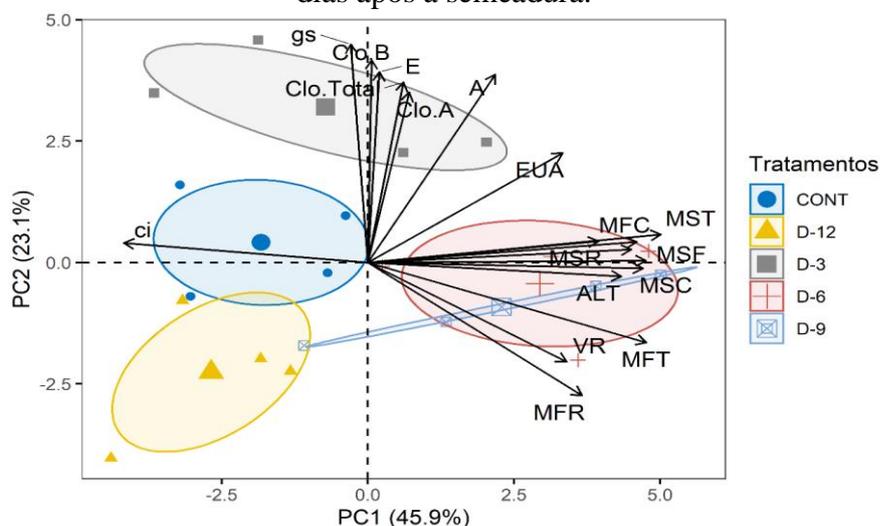
A MSF, aos 30 dias, foi de $\sim 0,5\text{g}$ (Figura 3-C). Já aos 45 DAS, onde ocorreu resposta significativa das doses (quadrática, $R^2 = 0,90$, $p = 0,04$), o MET foi de $6,34 \text{ g kg}^{-1}$ de sementes, com aumento de 22,09% em relação ao controle. A MST, com ajuste quadrático ($R^2 = 0,77$) teve melhor resultado de 8,3g com MET5, 9 g kg^{-1} de semente, e um aumento de 17,3%, um aumento considerável em relação ao controle (6,9g) (Figura 3-D).

De acordo com Hoyos Carvajal et al. (2009), testando cepas de *Trichoderma*, houve a produção de hormônios de crescimento como AIA ou análogos, mecanismo pelo qual há a produção de crescimento vegetal. A interação do *Trichoderma* com plantas de arroz ocorre uma comunicação multicelular da parte aérea com raiz que produz auxinas, metabólitos voláteis e não voláteis, que promove a ramificação radicular da planta (MEYER; MAZARO; SILVA, 2019).

Silva et al. (2012) caracterizou in vitro isolados de *Trichoderma*, e concluiu sobre a produção de fosfatase, celulase e AIA, em condições de laboratório. Levou esses isolados para casa de vegetação e conseguiu aumento considerável de 61% e 33% em biomassa da parte aérea e da parte radicular, respectivamente, comprovando o potencial do fungo como promotor de crescimento vegetal.

O PC1 e PC2 obtidos pela técnica multivariada, representam 69% da variação dos dados analisados. Conforme as elipses do *Biplot*, apenas D-12 não diferiu do controle, D-6 e D-9 apresentaram maiores distância euclidiana do controle, $\sim 4,8$ e $\sim 4,3$, respectivamente, quando comparados com D-3 ($\sim 3,0$) e D-12 ($\sim 2,8$). As variáveis mais sensíveis de forma positiva foram: A, EUA, E, Clo.A, MFC, MST e MSR. Não houve variáveis agrupadas como negativas.

Figura 4 - Biplot do primeiro e segundo componentes gerados a partir das variáveis respostas de plantas de arroz (*Oryza Sativa*) sob doses de *Trichoderma asperellum* via sementes aos 45 dias após a semeadura.



PC1: primeiro componente; PC2: segundo componente; MFR: massa fresca da raiz; MFT: massa fresca total; MSF: massa seca foliar; MFF: massa fresca foliar; ALT: altura; VR: volume de raiz; MFC: massa fresca do caule; MST: massa seca total; MSR: massa seca da raiz; MSC: massa seca do caule; Ci: concentração de carbono interno; E: taxa de transpiração; gs: condutância estomática; A: taxa de assimilação de CO₂; EUA: eficiência do uso da água; Clo.Total: clorofila total; Clo.A: clorofila A; Clo.B: clorofila B; CONT: controle; D-3, D-6, D-9, D-12: doses 3, 6, 9 e 12 g kg⁻¹ de sementes, respectivamente.
Fonte: AUTOR, 2020.

Na cultura do arroz, D-12 apresentou efeitos negativos quanto aos acúmulos de biomassas e as características fisiológicas da cultura, não diferindo do controle. Esse resultado sugere que altas doses do inoculante exigem muita energia fotossintética da planta, onde os microrganismos podem torcer-se forte drenos de carbono nos primeiros estágios de desenvolvimento da cultura.

O aumento do sistema radicular da planta pode estar relacionado ao aumento na translocação de íons via estimulação da enzima ATPase e da bomba de prótons (MANTELIN, TOURAINE 2004).

O fungo *Trichoderma* spp. promove modificações nas raízes das plantas, resultando em respostas fisiológicas positivas, que podem estar associadas a mudanças na sinalização das vias dos fitohormônios, como por exemplo o ácido indol-3-acético (AIA), resultando em aumentos da área de superfície, do número de raízes e de pelos absorventes (RÊGO et al., 2014; MEYER; MAZARO; SILVA 2019).

5. CONCLUSÃO

O fungo *Trichoderma asperellum* UFT-201 inoculado via semente aumentou o volume radicular e a biomassa das plantas de milho e arroz na dose de 6 g kg⁻¹ de sementes. O ganho em biomassa das culturas está relacionado com alterações fisiológicas nas culturas promovido pela inoculação e doses acima de 12 g kg⁻¹ de sementes podem reduzir o desenvolvimento inicial das culturas, principalmente para arroz.

REFERÊNCIAS

- ALVARES, C. A. et al. Mapa de classificação climática de Köppen para o Brasil. **Meteorologische Zeitschrift**, v.22, n.6, pág.711-728, 2013.
- CAMPOS, T.; CANÉCHIO FILHO, V. **Principais culturas-II**. 2. ed. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1973.
- CHAGAS, L. F. B. ET al. Evaluation of the phosphate solubilization potential of *Trichodermas* trains (Tricho plus JCO) and effects on rice biomass. **Journal of soil science and plant nutrition**, v.15, n.3, p.794-804, 2015.
- CHAGAS, L.F.B. ET al. Phosphate solubilization capacity and indole acetic acid production by *Trichodermas* trains for biomass increase on basil and mint plants. **BRAZILIAN JOURNAL OF AGRICULTURE – Revista de Agricultura**, v.92, n.2, p.176-185, 2017.
- CHAGAS, L.F.B. et al. *Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal. **Journal of neotropical agriculture**, v.4, n.3, p.97-102, 2017.
- CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de grãos: safra 2020/2021. Disponível em <file:///C:/Users/pc/Downloads/GraosZagostoZcompletoZ2020.pdf>.
- CONTRERAS-CORNEJO, H.A. et al. The 4- phosphor pantetheinyl transferase of *Trichoderma virens* plays a role in plant protection against *Botrytis cinerea* through volatile organic compound emission. **Plant and soil**, v.379, n.1-2, p.261-274, 2014.
- DE OLIVEIRA, GONÇALVES A. et al. Potencial de solubilização de fosfato e produção de AIA por *Trichoderma* spp. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.7, n.3, p.26, 2012.
- DRUZHININA, IRINA S. Et al. Transferência lateral maciça de genes que codificam enzimas que degradam a parede celular de plantas para o fungo micoparasitário *Trichoderma* de seus hospedeiros associados a plantas. **PLoS genetics**, v.14, n.4, pág. e 1007322, 2018.
- EL-HASAN, A.; BUCHENAUER, H. Actionso f6-pentyl-alpha-pyrone in controlling seedling blight in cited by *Fusarium moniliforme* and inducing defense responses in maize. **Journal of Phytopathology**, v.157, n.11-12, p.697-707, 2009.
- FALKER. **Manual do medidor eletrônico de teor de clorofila**. Disponível em: <<http://www.falker.com.br/produto-clorofilog-medidor-clorofila.php>>. Acesso em: 25 de julho de 2020.
- FERREIRA, E.B.; CAVALCANTI, P.P.; NOGUEIRA, D.A. **Pacote experimental designs (portuguese)**. Disponível em <<https://cran.r-project.org/web/packages/ExpDes.pt/ExpDes.pt.pdf>>.
- GONÇALVES, A.H. et al. *Trichoderma asperellum* UFT-201 on bio control, growth promotion and soybean productivity at field conditions. **International Journal of Current Research**, v.9, n.3. 2017.

GONÇALVES, A.H. et al. *Trichoderma* efficiency in the maintenance and productivity of soybean plants in producing savanna regions, Tocantins, Brazil. **Revista de Ciências Agrárias**, v.41, n.1, p.175–181, 2018.

HAIR, J.F.J. et al. **Análise multivariada de dados**. 6.ed. Porto alegre: Bookman, 2009.

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

HERMOSA, R.; et al. The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. **International Microbiology**, v.16, n.2, p.69-80, 2013.

HIRAKURI, M.H.; LAZZAROTTO, J.J. **Evolução e perspectivas de desempenho econômico associadas com a produção de soja nos contextos mundial e brasileiro**. Londrina: Embrapa-Soja, 2011.

HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSET, J. Genetic and metabolic biodiversity of *Trichoderma* from Colombia and adjacent neotropic regions. **Fungal Genetic and Biology**, v.46, p.615-631, 2009.

HUSSON, F. et al. **Multivariate exploratory data analysis and data mining**. Disponível em: <<http://factominer.free.fr>>.

Kumar, S. *Trichoderma*: Uma arma biológica para o gerenciamento de doenças de plantas e promoção da sustentabilidade. *Int. J. Agric. Sci. Med. Veterinario*. 2013, 1, 106–121

KURREY, D.; et al. **Effect of Hydrogel and *Trichoderma* on root growth and water productivity in rice varieties under Rainfed Conditions** *Research Journal of Agricultural Sciences*, v.9, p.210-212, 2018.

LOPES, R.B. **A indústria no Controle Biológico: Produção e Comercialização de Microrganismos no Brasil**. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. **Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009., p.15-28.

LUCON, C. M. M. **Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma* spp.** São Paulo: Instituto Biológico/Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal, 2009.

MACHADO, D. F. M.; et al. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v.35, n.1, p.274-288, 2012.

MANTELIN, S.; TOURAINÉ, B. Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake. **Journal of Experimental Botany**, v.55, n.394, p.27-34, 2004.

MEYER, M.C.; MAZARO, S.M.; SILVA, J. C. ***Trichoderma*: uso na agricultura**. Embrapa Soja-Livro científico (ALICE), 2019.)

MICHEREFF, S.J.; DOMINGOS, E.G.T.A. & Menezes, M. (2005). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. UFRPE, Recife-PE. Imprensa Universitária, 2005. 388p.

PACHECO, K.R. et al. Efficacy of *Trichoderma asperellum*, *T. harzianum*, *T. longibrachiatum* and *T. reesei* against *Sclerotium rolfsii*. **Bioscience Journal**, v.32, n.2, p.412-421, 2016.

PAES, M.C.D. (2006). **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho**. Embrapa Milho e Sorgo-CircularTécnica (INFOTECA-E).

PANTH,M.;et al. **Methods for management of soil borne diseases in crop production**. Agriculture, v.10, n.1, p.16, 2020.

PINTO, A. P.; et al. **Avaliação de doze cultivares de milho (*Zeamays L.*) para silagem**. Semina: Ciências Agrárias, v.31, n.4, p.1071-1078, 2010.

RAJESH, R.W.; RAHUL, M.S.; AMBALAL, N.S. *Trichoderma*: A significant fungus for agriculture and environment. **African Journal of Agricultural Research**, v.11, n.22, p.1952–1965, 2016.

RÊGO, M.C.F.; et al. Morpho anatomical and Biochemical Changes in the Roots of Rice Plants Induced by Plant Growth-Promoting Microorganisms. **Journal of Botany**, v.1, n.4,article, 2014. 10p.

RIBAS, P.P. et al. Potencial *invitro* para solubilização de fosfato por *Trichoderma* spp. **Revista Brasileira de Biociências**, v.14, n.2, 2016.

RIPLEY, B. et al. **Support function sand data sets for venables and ripley's MASS**. Disponível em:<<http://www.stats.ox.ac.uk/pub/MASS4/>>.

SILVA, J. C.; et al. Rice sheath blight bio control and growth promotion by *Trichoderma* isolates from the Amazon. **Revista de Ciências Agrárias**, v.55, n.4, p.243-250, 2012.

SILVA, T.I.; at al. Ensaio comparativo entre dois cultivares de milho submetidos a diferentes arranjos de plantas. **Revista Acta Iguazu**, v.6, n.1, p.14-22, 2017.

STORCK, C.R. **Variação na composição química em grãos de arroz submetidos a diferentes beneficiamentos. 2004. 108p**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria.

TEAM, R.C.R: **A language and environment for statistical computing**. Disponível em:<<http://www.r-project.org>>. Acesso em: 02 de maio de 2020.

TEIXEIRA, P.C. et al. **Manual de métodos de análise de solo**. 3. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2017.

TOSELLO, G.A. Milhos especiais e seu valor nutritivo, In: VIEGAS, G.P.; PATERNIANE, E. (Ed.). **Melhoramento e produção do milho**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v. 1, p.375-409.

VERGARA, J.A.C. et al. Respuestas morfofisiológicas de la raíz del arroz (*Oryza sativa* L.) variedad SFL11 enfase de semilleros la aplicación de cepanativade *Trichoderma* sp. Y lixiviados de vermi compost bovino. **La Técnica: Revista de las Agrociencias**. ISSN2477-8982, n.23, p.13-24, 2020

VINALE, F.; et al. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions withplants. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.72, n.3, p.80-86, 2008.

WICKHAM, H. et al. **Create elegant data visualizations using the grammar of graphics**. Disponível em: <<https://cran.rproject.org/web/packages/ggplot2/ggplot2.pdf>>.

ZHANG,S.et al. Temperature dependent gas exchange and stomatal/non-stomatal limitation to CO₂ assimilation of *Quercus liaotungensis* under mid day high irradiance. **Photosynthetica**, v.39, n.3, p.383–388, 2001