

INOCULAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO UTILIZANDO *Trichoderma* sp. COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO EM COMBINAÇÃO COM *Azospirillum* sp.

Maíra Tiaki Higuchi²; Vinicius Florêncio de Andrade¹; Ciro Hideki Sumida¹; Rodrigo Yudi Palhaci Marubayashi¹; Gabriel Danilo Shimizu¹.

¹Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid, Km 380, s/n - Campus Universitário, Londrina - PR, 86057-970; ²Instituto Agrônômico do Paraná, Rod. Celso Garcia Cid, 375 - Conj. Ernani Moura Lima II, Londrina - PR, 86047-902.

RESUMO

O uso de espécies de *Trichoderma* sp. apresentam grande potencial no controle de diversas doenças de solo, tendo em vista a diversidade de mecanismos de ação utilizados, contudo, pouco se conhece sobre os efeitos sinérgicos desse fungo na promoção de crescimento de milho. Além disso, é relatado na literatura a presença de microrganismos que auxiliam no desenvolvimento de algumas plantas, tal como a bactéria *Azospirillum* sp. Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar o desenvolvimento de plantas de milho, por meio da aplicação do fungo *Trichoderma* sp. e da bactéria *Azospirillum* sp., isolados ou em combinação. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e oito repetições, sendo eles: T1: testemunha sem inoculação, T2: *Trichoderma* sp., T3: *Azospirillum* sp. e T4: *Trichoderma* sp. + *Azospirillum* sp. A inoculação foi realizado por meio de tratamento de sementes no qual foi utilizado 200 g de *Trichoderma* sp. na concentração de $1,0 \times 10^{10}$ UFC/g por 100 Kg de semente de milho, além de 66 mL de *Azospirillum* sp. na concentração de 2×68 UFC/mL por 100 Kg de sementes, sendo aplicados com pipeta graduada. As avaliações foram realizadas aos 96 dias após a semeadura, avaliando-se a altura da planta, medido do colo até o pendão, massa fresca da raiz (MFR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca da parte aérea (MSPA). Os resultados de altura das plantas não apresentaram diferença significativa com altura média de 113,85 cm aos 98 dias. Para a MFPA, não foi observado diferença estatística, contudo, a MFR foi significativamente maior no *Azospirillum* sp. em mistura com o *Trichoderma* sp. em relação aos demais tratamentos, o mesmo foi observado para a MSR. A MSPA apresentou efeito significativo, no qual todos os tratamentos foram superiores a testemunha. Os tratamentos isolados de ambos os microrganismos não promoveram incremento nas variáveis estudadas, contudo, quando combinados, apresentam-se superiores aos demais tratamentos.

Palavras-chave: Controle biológico; promoção de crescimento; *Zea mays* L.

INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma espécie da família das gramíneas sendo o único cereal nativo do novo mundo. A cultura está espalhada numa vasta região do globo, em altitudes que variam desde o nível do mar a três mil metros. Segundo a United States Department of Agriculture (2018), a safra mundial 2017/2018 prevista de milho é de 1,042 bilhões de toneladas. O Brasil é o terceiro maior produtor com 95 milhões toneladas, perdendo apenas para China e EUA, com 215,9 milhões e 371 milhões de toneladas, respectivamente. Quando se trata de consumo o Brasil fica em quarto lugar com 61,5 milhões de toneladas, perdendo apenas para UE, China e EUA, com 75 milhões, 240 milhões e 318,7 milhões de toneladas, respectivamente.

Nos últimos anos, notadamente a partir do final da década de 90, as doenças se tornaram uma grande preocupação para a cultura. Relatos de perdas de produtividade devido ao ataque de patógenos tem se tornado frequente nas principais regiões produtoras do país.

A evolução das doenças do milho está estreitamente ligada à evolução no sistema de produção da cultura no Brasil, visto que as modificações no sistema de produção, que resultaram nos ganhos de produtividade da cultura, foram também responsáveis pelo aumento da incidência e severidade das doenças. Desse modo, a expansão da fronteira agrícola, a ampliação das épocas de plantio (safra, safrinha), a adoção do plantio direto, aumento de áreas irrigadas, ausência de rotação de culturas e o uso de materiais mais suscetíveis têm promovido modificações na dinâmica populacional dos patógenos, resultando no surgimento de novos problemas para a cultura relacionados à ocorrência de doenças (Pinto, 2006).

Em meio aos diversos problemas fitossanitários, o uso de sementes tratadas com agentes de biocontrole vem sendo recomendadas como alternativa para o manejo de doenças. Por outro lado, o uso de fungicidas sintéticos tem sido muito questionado devido ao uso abusivo destes na agricultura, principalmente pelo potencial risco de contaminar o meio ambiente (Carvalho et al., 2011).

Sendo assim o uso de espécies de *Trichoderma* sp. tem um grande potencial no controle diversos fungos de solo. São vários os mecanismos de ação utilizados por estes fungos, dentre os quais destaca-se a produção de metabólitos e enzimas com propriedades antifúngicas (Carvalho et al, 2011). Além disso, é relatado na literatura a presença de microrganismos que auxiliam no desenvolvimento de algumas plantas, tal como a bactéria *Azospirillum* sp. Contudo, pouco se conhece sobre os efeitos sinérgicos do fungo *Trichoderma* sp. na promoção de crescimento de milho. Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar o desenvolvimento de plantas de milho, por meio da aplicação do fungo *Trichoderma* sp. e da bactéria *Azospirillum* sp., isolados ou em combinação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação no Departamento de Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina (UEL), em vasos de oito litros, na proporção de 50% de solo, 30% de areia e 20% de substrato orgânico e adição de 6,6 g de NPK 3-20-20. O híbrido escolhido para conduzir o experimento foi o MORGAN 30A37 POWERCORE™. Foram semeadas cinco sementes por vaso e após a emergência das plântulas foi realizado o desbaste, deixando duas plantas por vaso.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e

oito repetições, sendo eles: T1: testemunha sem inoculação, T2: *Trichoderma* sp., T3: *Azospirillum* sp. e T4: *Trichoderma* sp.+ *Azospirillum* sp.

A inoculação do *Trichoderma* sp. e do *Azospirillum* sp. foi realizado por meio de tratamento de sementes sendo utilizado 200 g de *Trichoderma* sp. na concentração de $1,0 \times 10^{10}$ UFC/g por 100 Kg de semente de milho, além de 66 mL de *Azospirillum* sp. na concentração de 2×68 UFC/mL por 100 Kg de sementes, aplicados com pipeta graduada.

As avaliações foram realizadas aos 96 dias após a semeadura, analisando-se a altura da planta (ALT), medido do colo até o pendão com auxílio de uma trena, massa fresca da raiz (MFR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca da parte aérea (MSPA), mensurados com balança de precisão de 0,01g.

Para a determinação da massa seca, foram separadas as raízes e a parte aérea, e em seguida embaladas em sacos de papel. A secagem foi realizada em estufa de ventilação forçada a 65°C até a obtenção da massa constante, após esse período, as mesmas foram pesadas.

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e a homogeneidade das variâncias de Bartlett ao nível de significância de 5%, quando não constatado normalidade ou homogeneidade de variância, os dados foram transformados por Box-Cox (BOX e COX, 1964). A análise de variância foi realizada quando aceito os pressupostos, e foi aplicado o teste de Scott-Knott, em nível de 5% de significância, utilizando o software R (R Core Team, 2017).

RESULTADO E DISCUSSÃO

De acordo com a análise estatística dos dados, os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias foram aceitos nas variáveis MFPA, MFR e MSR, contudo, para a ALT e MSPA, não houve homogeneidade de variâncias, portanto os dados foram transformados segundo proposto por Box-Cox (Box e Cox, 1964), sendo que o ponto definido foi lambda de 1,95 e 1,53, respectivamente.

Os resultados de altura das plantas não apresentaram diferença significativa (Figura 1), com altura média de 113,85 cm aos 98 dias. Esses resultados corroboram com Resende et al. (2004), em que inocularam sementes de milho utilizando *T. harzianum* como promotor de crescimento e chegaram a resultados sem diferença significativa para altura da planta. Contudo, resultados diferentes foram observados por Wagatsuma et al. (2012), em que as sementes tratadas com os produtos isoladamente apresentaram diferenças significativas na altura de plantas 63 dias após a emergência, havendo maior crescimento quando comparadas com o tratamento sem produto e a combinação de *A. brasilense* e *T. harzianum*.

Baker (1989) verificou efeito benéfico na promoção de crescimento de plantas de ervilha e rabanete quando o *Trichoderma* spp. esteve presente. Harman e Bjorkman (1998) obtiveram melhoria no desenvolvimento de plântulas de milho doce com vigor baixo ou intermediário. Enquanto Dartora et al. (2013), observaram aumento no percentual de germinação de sementes de cultivares de trigo tratadas com diferentes estirpes de *A. brasiliense*.

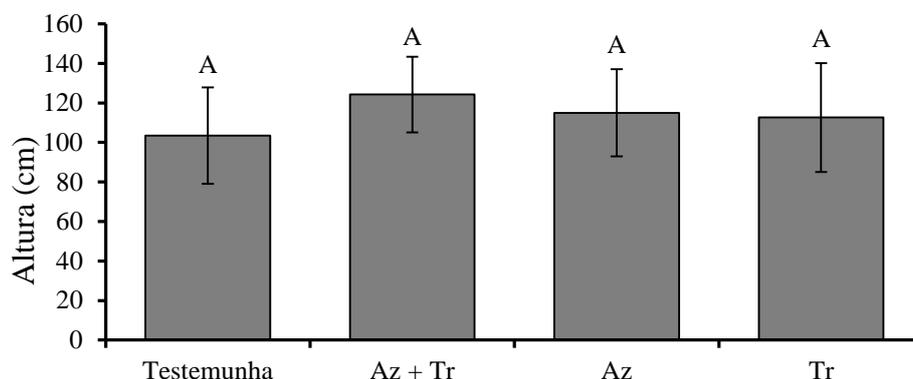


Figura 1 - Altura de plantas de milho submetidas a diferentes tratamentos. Testemunha; Az+Tr (*Azospirillum* sp., *Trichoderma* sp.), Az (*Azospirillum* sp.), Tr (*Trichoderma* sp.). Letras distintas nas colunas diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Dados transformados com $\lambda = 1,95$. Londrina-PR, 2015. CV(%) = 20,63.

Para os resultados de MFPA, não foi observado diferença estatística (Figura 2). Contudo, o MFR foi significativamente maior no *Azospirillum* sp. em mistura com o *Trichoderma* sp. em relação aos demais tratamentos (Figura 2), ou seja, quando associados esses microrganismos apresentaram melhor resposta de quando tratados isoladamente.

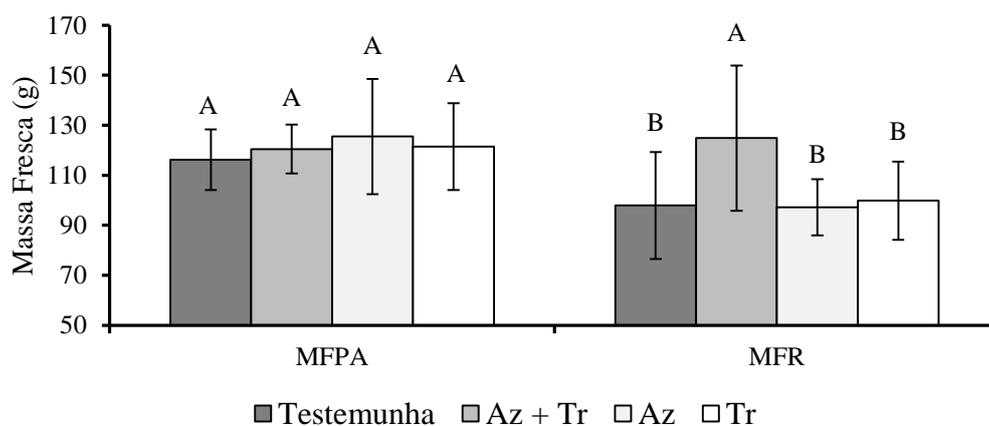


Figura 2 - Massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa fresca da raiz (MFR) de plantas de milho submetidas a diferentes tratamentos. Testemunha; Az+Tr (*Azospirillum* sp., *Trichoderma* sp.), Az (*Azospirillum* sp.), Tr (*Trichoderma* sp.). Letras distintas nas colunas diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Londrina-PR, 2015. CV(%) = 13,56 para MFPA e 19,47 para MFR.

Para os resultados de MSPA, foi observada diferença estatística, em que todos os tratamentos foram superiores a testemunha sem aplicação (Figura 3). Wagatsuma et al. (2012) observaram diferença significativa entre *A. brasilense* e/ou *T. hazianum*, em que a testemunha acumulou menos massa seca na parte aérea quando comparada às plantas proveniente de sementes inoculadas. Resultados semelhantes foram observados por Harman et al. (1989), em que os pesquisadores verificaram aumento significativo no crescimento das plantas de milho oriundas de sementes inoculadas com *Trichoderma*.

Para o MSR, foi observado que *Azospirillum* em mistura com o *Trichoderma* apresentaram melhor resposta que os demais tratamentos. Harman (2000) inoculou *T. harzianum* em sementes de milho doce e obteve como resultado maior abundância de raiz quando comparado com o tratamento sem inoculação, mas o rendimento da cultura não foi afetado. Inoculando o mesmo produto em soja, o mesmo autor observou aumento do sistema radicular, com rendimento de 123% superior ao não inoculado.

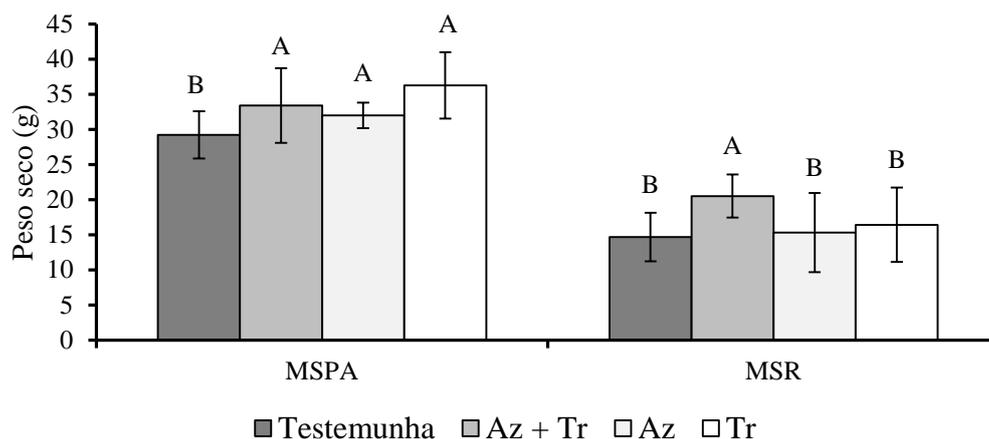


Figura 3 - Massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) de plantas de milho submetida a diferentes tratamentos. Testemunha; Az+Tr (*Azospirillum* sp., *Trichoderma* sp.), Az (*Azospirillum* sp.), Tr (*Trichoderma* sp.). Letras distintas nas colunas diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Para MSPA os dados foram transformados com $\lambda = 1,53$. Londrina-PR, 2015. CV(%) = 13,74 para MSPA e 24,15 para MSR.

A eficiência dos fungos do gênero *Trichoderma* e sua importância no controle biológico está relacionado a diversos fatores, dentre elas a idade do esporo, concentração do inóculo, tipo de solo, pH, temperatura, umidade, técnica de inoculação, matéria orgânica, dentre outros fatores (Kommedahl et al., 1981, Hadar et al., 1984)

CONCLUSÃO

- Não foi observado efeito significativo dos tratamentos na altura de plantas e no MFPA
- A combinação de *Trichoderma* sp. e *Azospirillum* spp. apresentou melhor resposta nas variáveis MFR, MSPA e MSR.
- Os resultados indicam que o tratamento isolado de ambos os microrganismos não promoveram incremento nas variáveis estudadas, contudo, quando combinadas, apresentam-se superiores aos demais tratamentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICOS

BAKER, Ralph. Improved *Trichoderma* spp. for promoting crop productivity. Trends in Biotechnology, v. 7, n. 2, p. 34-38, 1989.

BOX GEP; COX DR. 1964. An analysis of transformations. Journal of the Royal Society, 26: 211-252.

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

DARTORA, J.; MARINI, D.; GUIMARÃES, V.F.; PAULETTI, D.R.; SANDER, G. Germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas de milho e trigo inoculadas com estípers de *Azospirillum brasiliense* e *Herbaspirillum seropedicae*. Revista Global Scienci and Technology. v.6, n.3, p. 190-201, 2013.

HADAR, Y.; HARMAN, G. E.; TAYLOR, A. G. Evaluation of *Trichoderma koningii* and *T. harzianum* from New York soils for biological control of seed rot caused by *Pythium* spp. Phytopathology, v. 74, n. 1, p. 106-110, 1984.

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

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

HARMAN, G.E.; TAYLOR, A.G.; & STASZ, T.E. Combining effective strains of *Trichoderma harzianum* and solid matrix promoting to improve biological seed treatments. Plant Disease, Saint Paul, v.73, p.631-637, 1989.

KOMMEDAHL, T., WINDELS, C. E., SARBINI, G., & WILEY, H. B. Variability in performance of biological and fungicidal seed treatments in corn, peas, and soybeans. 1981.

PINTO, N.F.J.A. Podridão branca da espiga de milho. Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado técnico, 2006.

R Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundatin for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>

RESENDE, A.L.; OLIVEIRA, J.A.; GUIMARÕES, R.M. & VIEIRA, A.R. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v.28, n.4, p.793-798, 2004.

WAGATSUMA, E., dos SANTOS, J.I., ROGÉRIO, F. & da SILVA, T.R.B. Influência de *Azospirillum brasilense* e *Trichoderma harzianum* na cultura do milho. *Cultivando o saber*. Cascavel, v.5, n.3, p.132-141, 2012.

USDA - United States Department of Agriculture. 10º Levantamento USDA da safra 2017/2018 – fevereiro/18. Disponível em: <https://www.usda.gov/>. Acesso em: 01 de Março de 2018.