

Avaliação do tratamento biológico com isolados de *Trichoderma* spp. na germinabilidade de sementes de feijão

Evaluation of biological treatment with Trichoderma spp. in the germination of bean seeds

MARQUES, Eder^{1,2}; SANTOS, Débora Brito³; SILVA, João Batista Tavares⁴; MARTINS, Irene⁵, MELLO, Sueli Corrêa Marques⁶

1 Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; 2 Pós-doutorando, eder.marques.08@gmail.com; 3 Acadêmica do curso de Biologia, UDF Centro Universitário, de_deusehmais@yahoo.com.br; 4 Analista, joao.tavares@embrapa.br; 5 Analista, irene.martins@embrapa.br; 6 Pesquisadora, sueli.mello@embrapa.br

Resumo

Objetivou-se avaliar 10 isolados de *Trichoderma* obtidos de solos do Núcleo Rural Rajadinha – DF, na germinabilidade de sementes de feijão ‘BRS Estilo’. O método utilizado foi o de papel de filtro, onde sementes desinfestadas superficialmente com álcool a 70% e hipoclorito de sódio a 1%, foram microbiolizadas por 10 min em uma suspensão de 10⁷ esporos/mL de cada isolado e depositadas em gerbox com papel germitest. O delineamento foi o inteiramente casualizado, com 4 repetições compostas por 25 sementes, mais a testemunha imersa em água destilada. Com base nos dados obtidos, foram calculados o tempo médio e a velocidade de germinação. Não houve diferença estatística no tempo médio de germinação; por outro lado, as sementes tratadas com os isolados CEN1254, CEN1265 e CEN1268 germinaram mais rapidamente. Tais isolados devem ser estudados a fim de se conhecer os compostos responsáveis por suas características benéficas e tendo em vista o desenvolvimento de produtos bioprotetores de sementes.

Palavras-chave: bioprotetores; germinação; *Phaseolus vulgaris* L.; microbiolização de sementes.

Abstract

This paper aimed to evaluate 10 isolates of *Trichoderma* obtained from cultivated from the settlement of Núcleo Rural Rajadinha - DF, in the germinability of bean seeds ‘BRS Estilo’. The method used was the filter paper, where seeds surface sterilized with 70% alcohol and sodium hypochlorite 1% were microbiolized during 10 min in a suspension of 10⁷ spores/ml of each isolate and deposited in gerbox with germitest paper. The design was completely randomized with 4 replications consisting of 25 seeds, more the control immersed in distilled water. Based on the data obtained, the average time and speed of germination was calculated. There was no statistical difference in mean germination time, and on the other hand, the seeds treated, the treatments with the isolates CEN1254, CEN1265 and CEN1268 germinated faster. Such isolates should be studied in order to know the compounds responsible for its beneficial features and considering the development of bioprotector seed products.

Key words: bioprotectors; germination; *Phaseolus vulgaris* L.; seed microbiolization.

Introdução

Microrganismos benéficos componentes da microbiota do solo têm sido selecionados e estudados há varias décadas com o intuito de melhorar o crescimento vegetal (Moreira e Siqueira, 2006). Dentre os parâmetros utilizados para avaliar a promoção do crescimento de plantas, pode-se citar a germinabilidade, realizado por meio das medidas de tempo e velocidade de germinação (Romeiro, 2007), envolvendo o uso de expressões matemáticas e testes estatísticos (Santana e Ranal, 2004). A germinação é uma sequência de eventos fisiológicos, influenciada por fatores ambientais e internos (dormência, inibidores e promotores da germinação) às sementes (Nassif *et al.*, 1998).

Fungos do gênero *Trichoderma* (Hypocreales, Ascomycota) têm ocorrência natural no solo e em plantas (Mukherjee *et al.*, 2013). Além agir no controle de doenças de plantas, esses microrganismos benéficos podem estimular o enraizamento e o crescimento vegetal, promover a

germinação de sementes e, ainda, acelerar o estabelecimento de mudas no campo após o transplante (Luz, 1996). A aplicação de *Trichoderma* pode ser feita nas sementes, no substrato, no sulco de plantio ou em materiais orgânicos que serão incorporados antes do transplante das mudas (Machado et al., 2012). Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a germinação de sementes de feijão microbiolizadas com isolados de *Trichoderma* da Coleção de Microrganismos para Controle Biológico de Fitopatógenos e Plantas Daninhas da Embrapa.

Metodologia

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia, do Prédio de Controle Biológico da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Na avaliação da germinabilidade de sementes de feijão 'BRS Estilo' foram testados 10 isolados de *Trichoderma* (Tabela 1), provenientes de sistemas de cultivos orgânicos e de vegetação nativa do Núcleo Rural Rajadinha (Planaltina, Distrito Federal), através do método de papel filtro. Esses isolados foram previamente identificados por sequenciamento e análises dos genes *its1/2* e *tef1 α* (dados não publicados) e testados quanto ao potencial antagônico de *Sclerotinia sclerotiorum*, *in vitro*, exibindo taxas de inibição do crescimento micelial entre 51 e 77 % (Cunha et al., 2013). O tratamento testemunha consistiu de sementes microbiolizadas apenas com água destilada e esterilizada.

As sementes foram desinfestadas superficialmente por imersão em álcool a 70% (30 s), hipoclorito de sódio a 1% (3 min) e lavadas por duas vezes em água destilada esterilizada. Em seguida, foram microbiolizadas por imersão durante 10 min em uma suspensão ajustada para 10⁷ esporos/mL do fungo, depositadas em caixas *gerbox* com papel germitest previamente umedecido com água destilada em volume correspondente a 2,5 vezes a massa do papel seco (g) e, então, mantidas em B.O.D (Biochemical Oxygen Demand), a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas.

Foram consideradas como germinadas as sementes com o rompimento do tegumento pela radícula. As observações foram feitas diariamente, a partir do segundo dia do início do ensaio. As sementes com radículas emergidas a cada dia foram contadas e descartadas no mesmo horário até o 9º dia.

O delineamento foi o inteiramente casualizado, com 04 repetições compostas por 25 sementes, incluindo os 10 tratamentos mais a testemunha. Com base nos dados de germinação, foram calculados tempo médio e velocidade de germinação, utilizando-se as seguintes equações (Santana e Ranal, 2004):

$$t = \frac{\sum\{f_i \cdot x_i\}}{\sum\{f_i\}} \text{ (dias)}$$

$$v = 1/t \text{ (dias}^{-1}\text{)}$$

tempo médio de germinação (1)

velocidade de germinação (2)

Em que, f_i = número de sementes germinadas no i -ésimo dia;

x_i = número de dias contados da semeadura até o dia da leitura.

As médias dos tratamentos foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa Assistat 7.6 beta (Silva e Azevedo, 2006).

Resultados e Discussão

No teste de germinação, observou-se que a maioria dos tratamentos não diferiu da testemunha quando se analisou o tempo médio de germinação, exceto o tratamento com o isolado CEN1248 que apresentou o maior tempo médio de germinação, de aproximadamente 05 dias (Figura 1).

Ao analisar a velocidade de germinação (Figura 2), observou-se que em quase todos os tratamentos as sementes microbiolizadas germinaram mais rapidamente que a testemunha, a não ser pelo tratamento com o isolado CEN1255, que apresentou velocidade de germinação semelhante a da testemunha e pelo tratamento com o CEN1248, cuja velocidade de germinação foi menor que a do tratamento testemunha. Uma interação negativa dessa natureza também foi observada por Junge et al. (2011) ao utilizar um produto biológico a base de *Trichoderma* spp. na microbiolização de sementes de soja.

Os dados obtidos no presente trabalho corroboram com resultados de outros autores, ou seja, a aplicação de *Trichoderma*, de modo geral, proporciona aumentos na percentagem e na precocidade de germinação de sementes (Contreras-Cornejo et al., 2009; Howel, 2007), além de conferir proteção às plantas contra patógenos (Carvalho et al., 2011). Kleifeld e Chet (1992) também relataram ação positiva de isolados de *T. harzianum* em tratamento de semente e de solo na germinação de feijão, rabanete, tomate e pepino. A promoção da germinação proporcionada por espécies desse fungo pode estar relacionada à produção de hormônios ou fatores de crescimento, maior eficiência no uso de alguns nutrientes e aumento da disponibilidade e absorção de nutrientes pela planta. O benefício de tais organismos na agricultura, além do controle de fitopatógenos e promoção do crescimento vegetal, é proporcionar o melhor estabelecimento de mudas no campo (Luz, 1996).

Conclusões

Trichoderma spp. contribuem para melhor germinação de sementes de feijão, com destaque para os isolados CEN1254, CEN1265 e CEN1268.

Novos estudos devem ser realizados na investigação de quais compostos estão envolvidos na promoção da germinabilidade de sementes e também buscando novas aplicações para esses isolados fúngicos.

Referências bibliográficas

- CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M. DE; JÚNIOR, M. L.; GERALDINE, A. M. Biocontrol of seed pathogens and growth promotion of common bean seedlings by *Trichoderma harzianum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 8, Agt. 2011.
- CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; CORTÉS-PENAGOS, C.; LÓPEZ-BICIO, J. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 149, n. 3, p. 1579-1592, 2009.
- CUNHA, M. O. C.; LIMA, M. A.; SILVA, J. T.; MARQUES, E.; MELLO, S. C. M. **Inhibición de la formación de esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* por aislados de *Trichoderma***. In: XXII CONGRESO PERUANO Y XVII CONGRESO LATINOAMERICANO DE FITOPATOLOGIA, 2013, LAMBAYEQUE. XXII CONGRESO PERUANO Y XVII CONGRESO LATINOAMERICANO DE FITOPATOLOGIA. Lambayeque: Asociacion Peruana de Fitopatologia, v. 22, p. 92-93, 2013.
- HOWEL, C. H. Effect of seed quality and combination fungicide-*Trichoderma* spp. seed treatments on pre- and postemergence damping-off in cotton. **Phytopathology**, St. Paul, v. 97, n. 1, p. 66-71, 2007.

jan. 2007.

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

LUZ, W. C. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 4, p. 1-49, 1996.

MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANTONIOLLI, Z. I. *TRICHODERMA* NO BRASIL: O FUNGO E O BIOAGENTE. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 5, p. 74-288, jun. 2012.

JUNGES, E.; MENEZES, J. P.; MANZONI, C. G.; FLORES, R.; GARLET, T. M. B.; MENEZES, N. L.; MUNIZ, M. F. B.; BLUME, E. MICROBIOLIZAÇÃO COM *Trichoderma* sp. NA GERMINAÇÃO E VIGOR DE SEMENTES DE SOJA. IN: **XV SIMPÓSIO DE ENSINO PESQUISA E EXTENSÃO**, 2011. Santa Maria. Disponível em: <<http://www.unifra.br/eventos/sepe2011/Trabalhos/1669.pdf>>. Acesso em 26 mai. 2014.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729 p.

MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A.; SINGH, U. S.; MUKHERJEE, M.; SCHMOLL, M. *Trichoderma* in Agriculture, Industry and Medicine: An Overview. In: **Thichoderma Biology and Applications**. MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A., SINGH, U. S.; MUKHERJEE, M.; SCHOMOLL, M. (eds.). CAB International. p. 1-10, 2013.

NASSIF, S. M. L.; NASSIF, S. M. L.; VIEIRA, I. G.; FERNANDES, G. D. **Fatores externos (ambientais) que influenciam na germinação de sementes**. Disponível em: <<http://www.ipef.br/tecsementes/germinacao.asp>>. Acesso em: 08 mar. de 2013.

ROMEIRO, R. S. **Controle biológico de doenças de plantas**. Viçosa: Editora UFV, 2007. 172 p.

SANTANA, D. G.; RANAL, M. A. **Análise da germinação, um enfoque estatístico**. Brasília: Editora Universidade de Brasília, 2004. 248 p.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. A. New Version of The Assisat-Statistical Assistance Software. In: **WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4, ORLANDO-FL-USA**: Anais, Orlando: American Society of Agricultural and Biological Engineers. 2006. p. 93-396.

Tabela 1. Descrição dos isolados de *Trichoderma* utilizados na microbiolização de sementes de feijão.

Tratamento/ Isolado	Solo de origem (cultivo)	Espécie
CEN1241	Milho	<i>T. harzianum</i>
CEN1248	Abóbora	<i>T. brevicompactum</i>
CEN1253	Mandioca	<i>T. koningiopsis</i>
CEN1254	Tomate	<i>T. harzianum</i>
CEN1255	Tomate	<i>T. harzianum</i>
CEN1257	Mandioca	<i>T. spirale</i>
CEN1258	Mandioca	<i>T. spirale</i>
CEN1265	Samambaia	<i>T. brevicompactum</i>
CEN1268	Miconia	<i>T. spirale</i>
CEN1271	Cestrum	<i>T. harzianum</i>

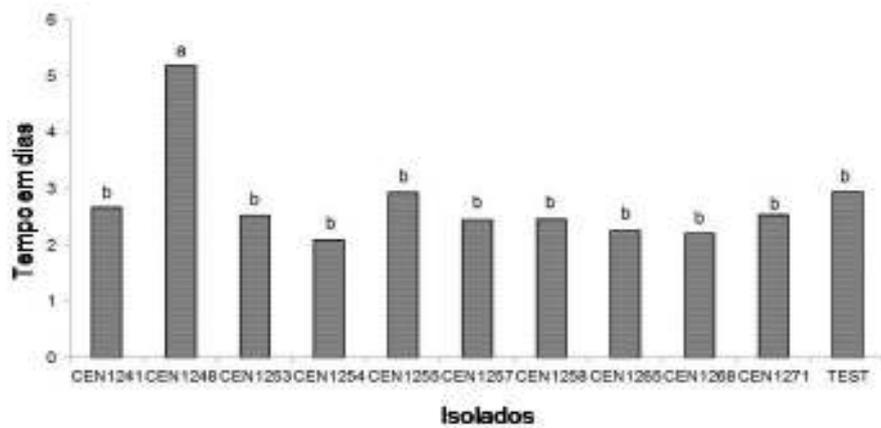


Figura 1. Tempo médio de germinação em dias de sementes de feijão ‘BRS Estilo’ microbiolizadas com *Trichoderma* spp. Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

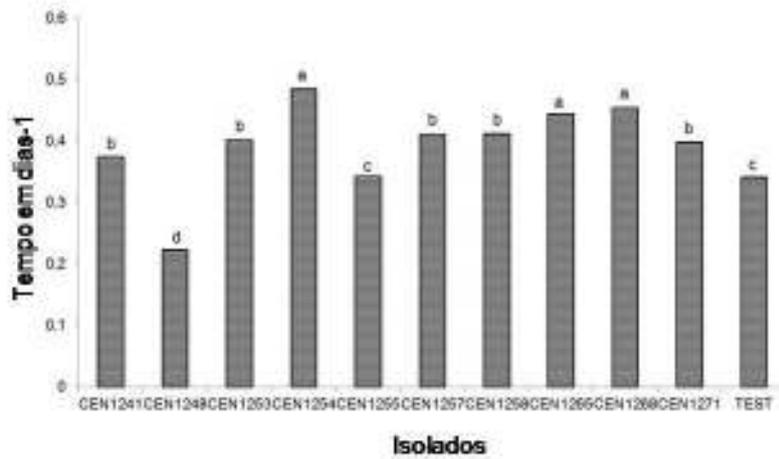


Figura 2. Velocidade de germinação em dias de sementes de feijão ‘BRS Estilo’ microbiolizadas com isolados de *Trichoderma* spp. Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).