

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PROREITORIA DE GRADUAÇÃO
ESCOLA POLITÉCNICA
CURSO DE AGRONOMIA**

Formulações de *Trichoderma spp.*, curva de crescimento e sobrevivência, no solo cultivado com feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.)

Wilmar Gomes de Oliveira Junior

Goiânia
(2023)

WILMAR GOMES DE OLIVEIRA JUNIOR

Formulações de *Trichoderma spp.*, curva de crescimento e sobrevivência, no solo cultivado com feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.)

Artigo apresentado como requisito parcial para composição de média final na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso, do curso de graduação em Agronomia, da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, PUC-Goiás.

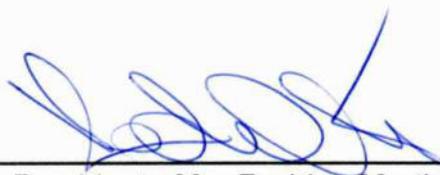
Orientador: Prof. Me. Rodrigo Martinez Castro

Goiânia
(2023)

WILMAR GOMES DE OLIVEIRA JUNIOR

Formulações de *Trichoderma* spp., curva de crescimento e sobrevivência, no solo cultivado com feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.)

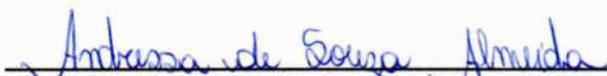
BANCA EXAMINADORA



Presidente Me. Rodrigo Martinez Castro
Pontifícia Universidade Católica – PUC/GO



Membro I Dra. Roberta Paula de Jesus
Pontifícia Universidade Católica – PUC/GO



Membro II Me. Andressa de Souza Almeida
Doutoranda - Universidade Federal de Goiás – UFG/GO

Aprovada em 14 / 06 / 2023.

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	2
2. OBJETIVO.....	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
3.1. Fungos de importância agronômica.....	3
3.2. O gênero <i>Trichoderma</i> e suas principais espécies.....	5
3.3. Importância agronômica do <i>Trichoderma</i>	5
3.4. Curva de crescimento e sobrevivência do <i>Trichoderma</i>	6
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	9
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
6. CONCLUSÃO.....	17
REFERÊNCIAS.....	18

Formulações de *Trichoderma spp.*, curva de crescimento e sobrevivência, no solo cultivado com feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.)

Trichoderma spp. formulations, growth and survival curve in soil cultivated with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)

Wilmar Gomes de Oliveira Júnior
1 PUC Goiás, Escola Politécnica, Goiânia, GO, Brasil

RESUMO

Fungos como o *Trichoderma* possuem um grande potencial para o controle de fitopatógenos e a promoção de crescimento vegetal. Avaliar como os microrganismos crescem é bastante essencial para entender como eles reagem em diferentes condições de cultivo, além de saber sobre a sua forma de crescimento e metabolização. Este trabalho teve como objetivo analisar a curva de crescimento e sobrevivência de três diferentes formulações de *Trichoderma spp.*, utilizando o método da Embrapa (BETTIOL *et al.*, 2012). Foram utilizadas três formulações, formulação pó, formulação granulado e formulação oleosa, que foram aplicadas ao solo em uma dosagem de 1.10^6 UFC/g de solo, todas foram aplicadas ao solo logo após a semeadura dos feijões. A formulação denominada como granulado, mostrou uma maior taxa de crescimento de conídios que as outras, mesmo tendo uma liberação mais lenta que as demais.

Palavras-chave: Fungo; Promotor de crescimento; Bioestimulante.

ABSTRACT

Fungi such as *Trichoderma* exhibit substantial potential for phytopathogen control and plant growth promotion. Assessing the growth dynamics of microorganisms is crucial to comprehend their response under varied cultivation conditions, alongside their growth patterns and metabolic activities. The objective of this study was to examine the growth and survival curve of three distinct formulations of *Trichoderma spp.*, employing the Embrapa method (BETTIOL *et al.*, 2012). Three formulations were used: powder formulation, granular formulation, and oily formulation, all applied to the soil at a dosage of 1.10^6 CFU/g of soil, immediately after bean sowing. The granular formulation demonstrated a higher conidial growth rate compared to the others, despite exhibiting a slower release profile

Keywords: Fungus; Growth promoter; Biostimulant

1. INTRODUÇÃO

Trichoderma, um gênero de fungos filamentosos que pertencem a ordem Hypocreales e tem nas suas características o crescimento rápido em diversos substratos e a produção de enzimas hidrolíticas. Dentro do gênero, existem mais de 200 espécies distribuídas em diversos habitats: solos, plantas, água, ambientes marinhos e terrestre (HARMAN *et al.*,2004).

O gênero *Trichoderma* é um dos mais estudados em termos de aplicação para o controle biológico de doenças de plantas, e como promotor de crescimento dessas. Além de serem fungos seguros para o meio ambiente e para os seres humanos, por não ter toxinas prejudiciais a saúde. Em estudo publicado na revista “Applied Microbiology and Biotechnology” o *Trichoderma* mostrou ser capaz de inibir o crescimento de diversos patógenos no solo, como *Pythium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia* e outros, através da sua produção de metabolitos secundários e enzimas hidrolíticas (HARMAN *et al.*,2004, HERMOSA *et al.*, 2013).

A utilização destes fungos na agricultura aparece como alternativa bastante eficaz e sustentável em relação ao uso de produtos químicos para o tratamento de patógenos, químicos esses que se mal-empregados, podem prejudicar tanto o meio quanto a saúde humana, havendo casos em que o uso como agente de controle biológico aumentou em 70% a produção agrícola (CONTRERAS *et al.*, 2016).

A promoção de crescimento em plantas e sua consequente interferência na capacidade produtiva ocorre pela produção de giberelinas e auxinas, como o ácido indolacético, que são hormônios que sabidamente atuam no crescimento e desenvolvimento de raízes e conseqüentemente da área foliar, incrementando sua produtividade e propiciando as plantas capacidade em suportar melhor o estresse abiótico, além de auxiliar a absorção e utilização de nutrientes (LOBO-JUNIOR *et al.*, 2019).

Vários estudos, vem sendo realizados para avaliar a sua viabilidade como um agente de controle biológico, e como promotor de crescimento vegetal. O *Trichoderma*, possui como uma de suas habilidades produzir diversas enzimas envolvidas na decomposição e solubilização de compostos orgânicos complexos, enzimas que podem levar a liberação de nutrientes importantes para

as plantas. Além de produzir antimicrobianos, do tipo harianumina, que é capaz de inibir o crescimento de patógenos (HARMAN *et al.*,2004, HERMOSA *et al.*, 2013).

2. OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho foi analisar a curva de crescimento e sobrevivência de espécies de *Trichoderma* spp, aplicados no solo nas formulações de pó, oleosa e granulada, durante a fase inicial de desenvolvimento de plantas de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Em nível mundial, os fungos possuem potencial para causar tanto prejuízos quanto benefícios na produção agrícola, podendo causar de 70 a 80% de perdas na agricultura. Com isso, várias práticas culturais, como a utilização de fungicidas sintéticos, vem sendo utilizadas para o controle de doenças, e para evitar perdas na produção. Os fungos benéficos fornecem uma ampla possibilidade de se obter produtos biológicos que são capazes de fazer o controle de insetos, ácaros, fungos, nematoides e podem fazer a bioestimulação (alterações fisiológicas nas plantas, como a promoção do crescimento vegetativo) e, até superar produtos químicos (KETZER *et al.*, 2020).

3.1. Fungos de importância agrônômica

Os fungos possuem uma ampla gama dentro de um grupo de micro-organismos e podem ser encontrados de várias formas, unicelulares, pluricelulares, leveduras, e existindo espécies que, quando formam o micélio, são chamadas de fungos filamentosos, dentre outras não citadas e de menor importância. Possuem uma vasta distribuição geográfica e podem ser encontrados no solo, na água ou no ar. Por serem organismos quimiorganotróficos sua nutrição é feita a partir das enzimas extracelulares, sendo essas responsáveis pela digestão dos compostos orgânicos, “os

alimentos dos fungos”, que posteriormente serão ingeridas por aqueles. Os fungos podem causar doenças nos animais, no homem, e ainda podem causar doenças graves em espécies vegetais de importância econômica, o que pode acarretar perdas diretas na produção agrícola (OLIVEIRA., 2021).

Por possuir diferentes formas de sobrevivência, podem ser encontrados com associações benéficas aos vegetais, não causando danos ao seu hospedeiro e sim trazendo benefícios, como por exemplo os fungos micorrízicos e endofíticos. Os fungos micorrízicos através das suas hifas e micélios favorecem e até aumentam a absorção de nutrientes pelas raízes também ampliando a atividade biológica em torno delas. Fungos endofíticos possuem um papel importante na agricultura, e podem ser utilizados como agentes de biocontrole de pragas e doenças, além de serem promotores de crescimento vegetal por meio da produção de fitorreguladores (FELIX., 2019).

Fungos micorrízicos arbusculares constituem parte significativa da massa microbiana do solo e estão envolvidos em processos essenciais da interface solo-planta. Estes fungos possuem associação simbiótica com diversas espécies arbóreas, e seu principal efeito está ligado ao aumento no crescimento da planta, aumento da absorção de nutrientes, principalmente os menos móveis como fósforo, cobre magnésio e zinco. Em lugares como a região dos trópicos, que possuem solos com baixa fertilidade, as micorrizas são muito importantes para o crescimento e sobrevivência das plantas (RODRIGUES; BARROSO; FIGUEIREDO, 2018).

Com o passar do tempo, microrganismos passaram a ser utilizados no controle de doenças em culturas, e o gênero *Trichoderma* é um microrganismo bastante útil como agente de controle biológico, constantemente presente na produção agrícola mundial. O Brasil vem se destacando na pesquisa e na utilização comercial do *Trichoderma*, como controle biológico e na promoção de crescimento. A habilidade do gênero *Trichoderma* em controlar doenças de plantas foi descoberta em 1930 por Weindling (1932). e com isso, vários estudos foram realizados para que possam demonstrar o potencial deste gênero no biocontrole. (LOBO-JUNIOR *et al.*, 2019, MEYER *et al.*, 2019).

Na cultura do feijão comum o *Trichoderma* que além de atuar como agente de controle biológico, pode proteger a planta contra patógenos causadores de

doença ou de ser utilizado como promotor de crescimento. A promoção de crescimento de plantas por isolados de *Trichoderma* spp. foi descrita no feijão-comum (PEDRO *et al.*, 2012) e ocorre através da produção de giberilinas e auxinas, ácido indo acético (AIA) que favorecem o desenvolvimento de raízes e da área foliar, fazendo com que a planta suporte estresses abióticos e absorva melhor os nutrientes.

3.2. O gênero *Trichoderma* e suas principais espécies

O gênero *Trichoderma* pertence à classe Sordariomycetes, filo Ascomycota, e existem aproximadamente 250 espécies aceitas atualmente, podendo ser identificadas por meio da filogenia molecular. As principais espécies de *Trichoderma* elas estão divididas em *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma brevicompactum*, *Trichoderma virens*, *Trichoderma asperelloides*. Existem espécies que possuem uma capacidade enorme de colonizar materiais providos de biomassa vegetal, seu principal composto é a celulose. O *Trichoderma* possui alta taxa de reprodução, mesmo vivendo em condições adversas, pois são eficazes na utilização de nutrientes, na capacidade de alterar a rizosfera, e eficientes na promoção de mecanismos de crescimento e defesa das plantas. Se estabelecem bem na região rizosférica e auxiliam no progresso da interação positiva com as plantas devido a disponibilização de nutrientes derivados da raiz (MEYER *et al.*, 2019; WOO *et al.*, 2014; OLIVEIRA, 2021).

3.3. Importância agrônômica do *Trichoderma*

O *Trichoderma* não é só um agente de controle biológico de doenças: existem várias outras finalidades de importância comercial ao gênero, como a produção de enzimas para as indústrias. Na agricultura, o *Trichoderma* pode colaborar em fatores fundamentais da nutrição de plantas, tornando mais eficiente o uso de nitrogênio, o desenvolvimento da cultura, melhorando a

produtividade, e diminuindo os impactos dos estresses salinos da adubação (MEYER *et al.*, 2019).

Um dos principais atrativos que faz com que o *Trichoderma* seja uma melhor opção entre outros agentes de biocontrole, é a sua capacidade de promover o crescimento de plantas. Um estudo feito em 1984, demonstrou o maior peso seco de folhas de rabanete ao ser cultivado juntamente com o *Trichoderma* (MONTE, E.; PINTO, W., 2019, HERMOSA, R., 2019).

Em estudos ecofisiológicos, foram notados que em proporções de maior ou menor escala, todas as espécies de *Trichoderma* possuem eficácia contra parasitas de fungos fitopatogênicos e de oomicetos, utilizando a estratégia de nutrição biotrófica. Os metabólitos secundários que são produzidos pelas cepas de *Trichoderma* apresentam uma grande variedade e aplicação potencial, por possuir milhares de compostos que tem sua distribuição por mais de 120 estruturas moleculares, constituindo uma das fontes de maior diversidade metabólica do Reino Fungi, e, estão associados ao crescimento e desenvolvimento das plantas, a promoção do enraizamento de estacas vegetais, e a modulação do balanço hormonal (DRUZHININA *et al.*, 2018, HERMOSA *et al.*, 2014, TIJERINO *et al.*, 2011).

3.4. Curva de crescimento e sobrevivência do *Trichoderma*

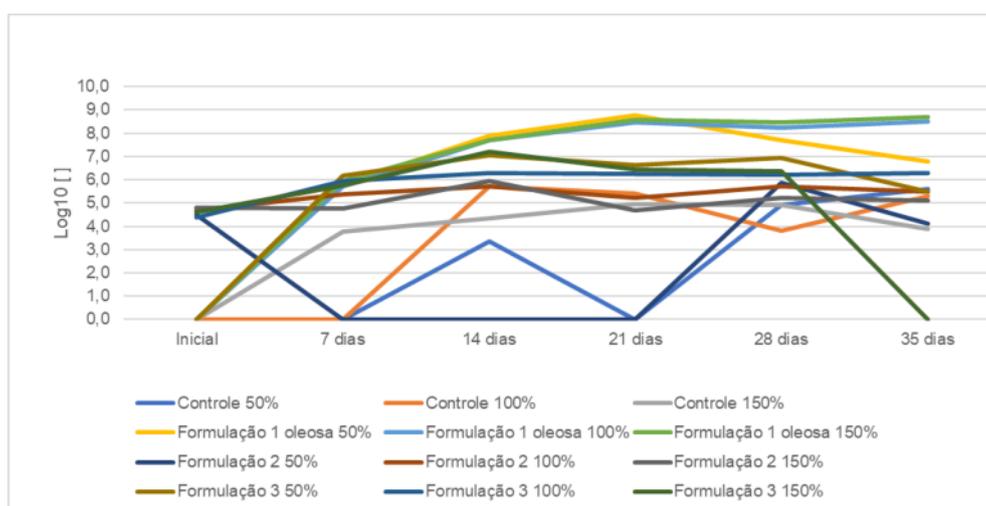
A avaliação da taxa de crescimento de microrganismos é fundamental para que se possa entender o funcionamento de culturas em diferentes condições de cultivo, além de estudar sobre a dinâmica do crescimento e da metabolização. Através da curva de crescimento se tem a definição de como está evoluindo a densidade populacional e ao longo do tempo se obtém informações importantes para o controle do processo de cultivo. A curva de crescimento é uma das ferramentas através da qual se pode obter otimização das condições de cultivos do *Trichoderma*, permitindo avaliar fatores como pH, temperatura, concentração de nutrientes e agitação (se tem como objetivo, melhorar a condição do meio, assim favorecendo o crescimento dos microorganismos aeróbios e facultativos,

promovendo a homogeneização dos nutrientes do meio), como está o crescimento do fungo (NITZKE., BIEDRZYCKI., 2018., LIMA *et al.*, 2013).

Saber mais sobre a curva de crescimento como podemos observar na Figura 1 do *Trichoderma* permite se obter produtos mais eficazes para o controle biológico de patógenos de plantas, já que permite fazer avaliações da capacidade do fungo onde ocorre competição por recursos, além do conhecimento sobre a eficácia do produto em diferentes condições ambientais. Uma das formas de avaliar se o produto está viável, como sobrevive ao longo do tempo após sua aplicação é analisando-se a curva de crescimento (DRUZHININA *et al.*, 2011).

Existem diversos fatores que podem afetar a sobrevivência e a curva de crescimento do *Trichoderma* em condições de laboratório e campo, fatores como: a composição do meio de cultivo, luminosidade e pH, clima, umidade e disponibilidade de nutrientes. As diversas variações de linhagens de *Trichoderma* é outro fator bastante importantes que pode afetar na curva de crescimento e sobrevivência do *Trichoderma* (HARMAN *et al.*, 2004).

Figura 1 - Crescimento microbiano em ambiente controlado a 25°C

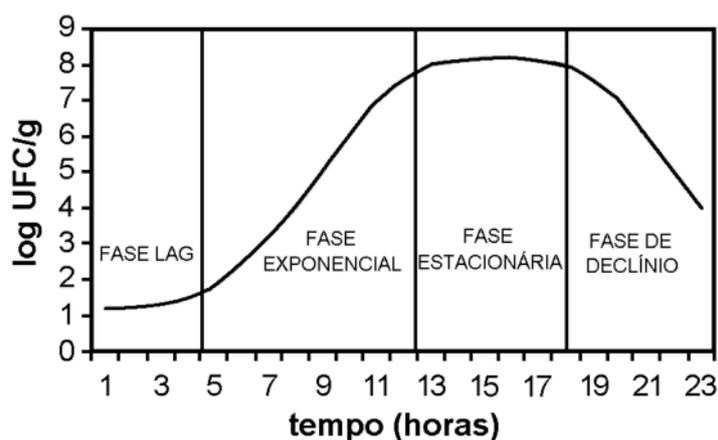


Obs: As linhas, mostradas no gráfico representam a curva de crescimento de outras formulações de *Trichoderma*, testados em gerbox em ambiente controlado (BOD) na Instituição do Experimento – dados não publicados, cedidos por esta.

O crescimento de uma população é definido através do aumento do número de células dessa população, e, a taxa de crescimento de uma população microbiana corresponde ao aumento no seu número de células em um período de tempo. O crescimento de uma população microbiana e sua taxa sofrem influência direta do fator genético microbiano, e por condições ambientais, físicas e químicas, incluindo a presença dos nutrientes. Nos ambientes com condições ótimas para a proliferação de microrganismos, seu crescimento não tem limites, e a sua taxa será máxima. Porém em ambientes que possuam condições naturais o crescimento pode ser limitado pelo pH, temperatura e nutrientes (como o oxigênio), que resulta em taxas bem inferiores (NICOLAU, 2014).

A curva de crescimento do *Trichoderma* pode ter sua divisão em até 4 etapas (Figura 2): a fase de adaptação, fase exponencial, fase estacionária e a morte celular. No período de fase exponencial se tem o crescimento muito rápido do *Trichoderma*, e esse é o momento ideal para fazer o uso dele como biocontrolador ou como promotor de crescimento. A fase estacionária se dá quando começa haver redução na taxa de crescimento dos fungos, em função da redução na disponibilidade de nutrientes, ao mesmo tempo em que ocorre o aumento da densidade populacional, que pode levar à produção de metabolitos secundários e a modificação na estrutura celular (HARMAN *et al.*,2004).

Figura 2 – Curva de Crescimento



Fonte: ROBAZZA, 2010

Vários fatores ambientais podem influenciar a sobrevivência do *Trichoderma*, como a própria inoculação em solos e substratos, que pode sofrer diversas variações, influenciado pelas condições edafoclimáticas, tipos de solo e a presença de outros patógenos, a produção de metabolitos secundários, como

enzimas hidrolíticas, sideróforos e voláteis antagônicos (DRUZHININA *et al.*, 2011).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado na unidade da Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias em Santo Antônio de Goiás, no Estado de Goiás, denominada Embrapa Arroz e Feijão, localizada no endereço km 12 Zona Rural, rodovia GO-462, e, foi conduzido em vasos deixados em casa de vegetação (Figura 3), com temperatura e umidade controlados, em respectivamente 25°C e 80% URar. Posteriormente e durante os experimentos, amostras de solo foram levadas para análises no Laboratório de Microbiologia Agrícola, pertencente à mesma empresa e no mesmo local. O experimento ocorreu nos meses de janeiro a março de 2023.

O projeto teve seu início em 16 de janeiro do ano de 2023, começando pela preparação do solo para plantio, utilizando terra de barranco com pH previamente corrigido com calcário (solo argiloso) para enchimento dos vasos com capacidade de 2 kg. Em cada vaso foram semeadas 5 sementes de Feijão (*Phaseolus vulgaris*), de variedade BRSC402, que são grãos carioca, resistente a doenças causadas por *Fusarium* spp., obtida pela própria Embrapa

Figura 3 - Plantio de feijão e solo com *Trichoderma*



No dia da semeadura, cada vaso recebeu uma dosagem idêntica de três formulações contendo *Trichoderma*, sendo uma formulação granulada, segunda formulação pó de cepa originária do mesmo material comercial replicada no

próprio laboratório da EMBRAPA em formato de suspensão de esporos formulação sólida, e a terceira formulação oleosa (formulações que foram fornecidas pela própria Empresa, e de caráter sigiloso) contendo uma dosagem de 1.10^6 UFC/g solo (unidades formadoras de colônia), aplicadas diretamente no solo superficial de cada vaso totalizando um total de 3 tratamentos com 3 repetições para cada tratamento, onde T1,T2 e T3 continham cepa da formulação oleosa, e T4,T5 e T6 continham cepa da formulação pó, e T7, T8 e T9 contendo cepa da formulação granulada. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, contendo 12 vasos, de tamanho 15x11cm (capacidade de 2 litros) (Figura 3), vasos esses que receberam em nove deles a mesma dosagem de *Trichoderma* nas três formulações, e, três vasos sem nenhuma inserção dos fungos, para tratamento testemunha, conforme Tabela 1.

Tabela 1 – Tratamentos em delineamento inteiramente casualido

Vasos													
Tratamentos	Dosagem UFC/g solo	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11	R12
Granulado	1.10^6 UFC/g solo							X	X	X			
Pó	1.10^6 UFC/g solo				X	X	X						
Oleoso	1.10^6 UFC/g solo	X	X	X									
Controle	Sem fungos										X	X	X

UFC/g solo – unidades formadoras de colônia.

No mesmo dia da implantação, foi retirada a primeira amostra de solo de cada vaso, marcando o ponto inicial da chamada Fase 0. As fases duraram até o dia 13 de fevereiro, ou seja, durante 6 semanas totalizando assim 6 fases, sendo cada semana uma fase do desenvolvimento das colônias/fungos. Durante essas semanas, os vasos eram irrigados manualmente, com a mesma quantidade de água até atingir saturação visual superficial no solo.

Todo primeiro dia útil de cada semana, foi retirada uma porção de solo superficial (Figura 4), com auxílio de uma pá de jardim em método totalmente manual, que continha 10 gramas cada, sendo então separadas em 12 amostras individuais (uma por vaso), totalizando a coleta de 72 amostras para análise contabilizando as 6 semanas (essas amostras compuseram as repetições estatísticas). Essas amostras foram levadas ao Laboratório, ficando

armazenadas em refrigeração a 4° C (BOD Star FT 350L) a 25°C até o momento de efetuar a diluição e o plaqueamento, que são processos laboratoriais para a posterior contagem das colônias (Figura 4).

Figura 4 - Solo retirado para pesagem



- Metodologia para a viabilidade de conídios – unidade formadora de colônia

O método utilizado foi o da Embrapa Meio Ambiente de 2019 (BETTIOL et al., 2012), sendo que para esta etapa, cada amostra foi separada em porção única individual de 10g, pesadas em balança de precisão, sendo que as subamostras de solo foram posteriormente depositas em frascos de erlenmeyer, e receberam 90ml de água destilada esteril cada uma, e transportadas para a mesa agitadora orbital Mesa Agitadora Orbital modelo TE-145, ficando em agitação por 40 minutos a 170 rpm (rotações por minuto).

Figura 5 - Frascos sobre agitador



As amostras foram transportadas para a câmara de fluxo laminar, chamada câmara de fluxo modelo Pachane, sendo agitadas manualmente, até que pudesse se retirar por meio de pipetagem, 1ml da solução de solo para

realização das diluições. Esse procedimento foi feito em tubos de ensaio contendo 9ml de água destilada esteril (10ml de solução total da primeira diluição), sendo que dos nove tubos contendo os solos Tratamento, novamente retirou-se 1ml da solução atualmente diluída, e depositou-se em nove outros tubos de ensaio, também contendo 9ml de água destilada (segunda diluição).

Figura 6 - Vórtex



Os três tubos de ensaio de solo Testemunha foram levados ao agitador Vortex modelo BiomiXer-VTX-2500 (Figura 6), sofrendo 3 agitações padrão do aparelho, até encerramento do processo. Retirou-se 1ml desta solução após agitação, e depositado em placas de petri com auxílio de pipeta automática. O mesmo procedimento foi repetido com 1ml de solução, oriundos da segunda diluição, de cada solução de solo Tratamento, até sua aplicação em placas de petri, utilizando de três repetições com concentração final de 10^{-4} para as soluções e 10^{-3} para testemunhas onde as 3 repetições são estatísticas para cada solução de solo (36 placas).

Todas as 36 placas de petri contendo solução de solo receberam também a cobertura com solução de crescimento em meio de cultura baseado em BDA (batata-dextrose-agar) aditivado com solução antibiótica com concentração de 4mcg/ml (cloridrato de tetraciclina) e Triton X-100 500 mL (surfactante aniônico), sendo o primeiro um produto para evitar crescimento bacteriano, e o segundo um limitador de crescimento para as colônias de fungo.

O processo foi repetido semanalmente, sempre com 36 placas produzidas por semana, durante 6 semanas, finalizando o processo com a obtenção de 216

placas montadas e analisadas. Entre os períodos de análises as placas ficaram incubadas em BOD a 25°C entre 3 a 4 dias para futuras análises.

Após o crescimento das colônias foram realizadas contagens (Figura 7) da quantidade de colônias de *Trichodermas* que tinha por placas, o método de contagem foi visualmente.

Figura 7 - Placas em momento próprio para contagem



5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos das leituras e contagens são apresentados na Tabela 3, a seguir.

Tabela 3 – Dados coletados durante o ensaio (UFC/g de solo)

Dias após aplicação	0	7	14	21	28	35	Média	Desvio Padrão	CV%
Teste	2.000	21.222	18.333	7.444	13.111	20.111	16.044	5.726	35,69
Formulação Oleosa	217.778	48.333	58.889	35.556	21.111	24.444	37.667	15.949	42,34
Formulação Pó	97.667	10.000	11.111	20.000	78.889	22.222	28.444	28.702	100,91
Formulação Granulado	4.444	527.778	142.222	130.000	142.222	77.778	204.000	182.943	89,68

Obs: Os resultados sob a média geral, desvio padrão e CV% foram considerados após a coleta dos 7 dias.

De acordo com De Araújo Leal *et al* (2021), populações de microrganismos em solo coexistem através de um equilíbrio ecológico que pode ser significativamente influenciado através da espécie cultivada, revolvimento do solo, aplicação de insumos por fatores climáticos predominantes, principalmente fatores como temperatura e umidade.

Na coleta 0 as formulações oleosa, em pó e granulado, tiveram uma taxa de crescimento muito superior ao controle, mostrando maiores quantidades de UFC/g solo por placa da formulação oleosa contendo 217.778 UFC/g solo,

seguindo de 97.667 UFC/g solo sob a formulação pó e 4.444 UFC/g solo sob a formulação granulada e o controle contendo 2.000 UFC/g solo (vale ressaltar que essas UFC/g solo do controle podem não ser o mesmo tipo de fungo, porém ele pode ter sido recebido por exaustão, transportado pelo ar ou o solo já poderia conter fungos de natureza semelhante de origem natural). De acordo com Gotti (2018), um dos fatores determinantes para a atividade e distribuição de microrganismos é o pH, um indicador de como a acidez, neutralidade ou alcalinidade de um meio qualquer, que em nosso caso é o solo. Hoje em dia o pH é utilizado por diversas áreas da ciência, sua escala teve início para definir os limites do crescimento dos microrganismos em diversos meios. Koik (2003), diz que existem diversos fatores que influenciam o crescimento e a sobrevivência de fungos do gênero *Trichoderma* e assim sua eficiência no biocontrole. Dentre esses, fatores abióticos podem ser mencionados, como temperatura, umidade e pH, bem como o tipo de substrato em que são cultivados para a produção de inoculo. Observando os resultados da primeira coleta houve uma grande diferença entre as contagens de colônias, explicando a diferença das formulações e de como o pH foi alterado com a presença de cada uma delas, e talvez pela taxa de crescimento observado.

Com 7 dias a formulação granulada sobressaiu-se em relação a formulação oleosa com 1.091%, seguindo da formulação oleosa que foi superior ao controle em 228%, em terceiro lugar temos o controle em relação a formulação pó com o controle sendo superior 212% que a formulação pó, e por último a formulação pó. Esse aumento da formulação granulada se deu pela liberação lenta, característica do produto, e, Da Silva *et al* (2022), explicam que as nanotecnologias, mesmas utilizada nesta formulação, apresentam grande potencial de aplicação, principalmente para liberação controlada de pesticidas e/ou fertilizantes, promovendo além da liberação lenta, maior estabilidade a esses bioativos.

Aos 14 dias a formulação granulada ainda mostrou ser superior as outras com uma quantidade de 142.222 UFC/g solo, sendo superior 241% em relação a segunda maior contagem com 83.333 UFC/g solo que a formulação oleosa, seguindo da formulação oleosa com 58.889 UFC/g solo, já o controle teve 7222

UFC/g solo a mais que a formulação pó sendo 164,9% superior e por último a formulação pó com 11.111 UFC/g solo.

Entre a coleta de 21 dias até a coleta de 35 dias a formulação granulado, continua sendo superior as demais, mantendo uma média de contagem de 204.000 UFC/g solo e em relação ao segundo maior resultado que foi da formulação pó é 288,99%, seguindo de formulação oleosa com e controle.

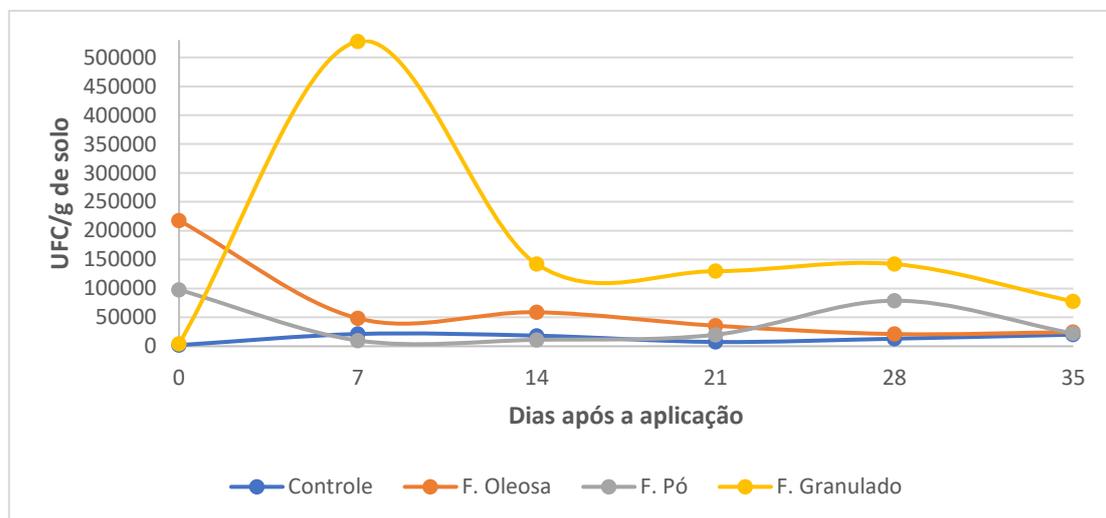
Gotti (2018), diz que temperatura, a umidade e a radiação solar, são fatores essenciais para o crescimento e sobrevivência de microrganismos, sendo a temperatura ideal mais amena em relação a de alguns microrganismos. Para o crescimento desses, existem três níveis de temperatura: temperatura mínima, ótima e máxima, sendo que na temperatura máxima, as enzimas produzidas, são danificadas pelo calor e suas células paralisam suas funções, dito isso sabe-se que uma temperatura ótima para os fungos fica entorno de 20°C a 30°C de acordo com as diferentes espécies. A temperatura média do experimento foi de 30°C e provavelmente a formulação granulado se adaptou melhor a essa temperatura, mostrando resultados melhores.

De Araújo Leal *et al* (2021), dizem que a contagem de microrganismos no solo, mesmo sendo vista com ressalva, mostra que é importante para entender sobre os processos que ocorrem neste, e que acabam servindo para indicar diversos impactos gerados por atividades antrópicas. Porém, por ser boa parte mais viva e mais ativa da matéria orgânica do solo e por ter papel importante em processos químicos, estudos vem mostrando que indícios biológicos são mais sensíveis que os indicadores químicos e físicos, para que possa identificar com antecedência as alterações que ocorrem no solo em função do seu uso e manejo. Identificar e quantificar os diversos microrganismos presentes em um solo, pode ser avaliado como parâmetro biológico indicador de estresse ecológico e da saúde geral da flora e fauna local.

A análise do gráfico (figura 8) denota que a formulação granulada mostrou um altíssimo crescimento entre 0 e 7 dias, tendo uma maior sobrevivência das suas UFC/g solo formadoras de colônias que as demais entre o período de 14 a 35 dias sendo superior que a média geral das outras formulações em 140,67%. Após 7 dias todas as formulações, juntamente com o controle todos foram

inferiores a formulação granulada, tanto em sobrevivência quanto em UFC/g solo formadoras de colônias. A formulação oleosa aos 14 dias teve um aumento na sua população e dos 21 a 28 dias voltou ao declínio da sua população, tendo um leve aumento na sua taxa de crescimento entre 28 e 35 dias. A formulação pó entre 7 e 14 dias começou com declínio, porém a sua taxa de crescimento voltou a subir, tendo um pico aos 28 dias, até voltar ao seu declínio. Gotti (2018), diz que uma população de organismos em meio rico em nutrientes e com condições ambientais favoráveis, o crescimento de microrganismos terá 4 etapas bem definidas, assim gerando uma curva de crescimento.

Figura 8 – Curva de sobrevivência de *Trichoderma* nas diferentes formulações e aplicações utilizadas



A primeira fase que é chamada de fase lag. A segunda fase que é chamada de fase log é irá ocorrer o crescimento exponencial dos microrganismos, o seu aumento ocorre em velocidade logarmica. A terceira fase  chamada de fase estacionária, onde o número de mortes se iguala ao número de células produzidas. A última fase ou fase 4  onde ocorre a fase de declínio, onde os fungos passam a morrer mais do que se reproduzir. Nitzke (2018), e Lima *et al* (2013), saber sobre a curva de crescimento  um processo bastante importante, através dela se sabe como a populao está crescendo além da obteno de várias informaçoes para controle de crescimento. Nicolau (2014), diz que fatores genéticos, condioes ambientais, físicas e químicas, além

da presença de nutrientes, são fatores que interferem diretamente no crescimento de uma população microbiana, ambientes que se tem condições ótimas, não terá limite de crescimento, tendo uma taxa máxima.

6. CONCLUSÃO

Conforme a metodologia aplicada, se pode concluir que referente à análise da sobrevivência do fungo *Trichoderma* nas diferentes formulações se mostrou com maiores resultados para a formulação granulada, seguido pela oleoso que até os 21 dias teve uma taxa de sobrevivência maior que a formulação pó, juntamente do controle.

Durante o período de 21 a 35 dias a formulação em pó, teve uma taxa de crescimento maior que a do controle e da formulação oleosa. Onde a formulação em pó passou das 50.000 UFC/g de solo aos 28 dias e a formulação oleosa e controle quase zeraram.

A respeito do crescimento se pode concluir que o maior crescimento foi referente a formulação granulada, demonstrou o pico aos 7 dias com 527.778 UFC/g de solo, seguido pela formulação pó que aos 28 dias teve 78.889 UFC/g de solo.

Concluimos que a “formulação granulada” foi superior as demais, em todos os aspectos, tanto em sobrevivência, quanto a sua taxa de crescimento.

REFERÊNCIAS

BETTIOL, Wagner. **Avaliação da qualidade de produtos à base de *Trichoderma***. [S. l.], 2012. Disponível em: https://www.cnpma.embrapa.br/down_site/forum/2012/trichoderma/Apostila_Trichoderma_2012.pdf. Acesso em: 29 abr. 2023.

CARVAJAL, Liliana et al. **Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma***. *Biological Control*, [s. l.], v. 51, n. 3, p. 409-416, 2009.

CONTRERAS-CORNEJO, Hexon Angel et al. **Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants**. *FEMS microbiology ecology*, v. 92, n. 4, p. fiw036, 2016.

DA SILVA, Lincoln et al. ***Trichoderma*: suas interações e uma abordagem metodológica aplicada ao estudo de compostos orgânicos voláteis para o mofo-branco e promoção de crescimento de plantas**. *Revisão anual de patologia das plantas*, [s. l.], v. 28, 2022.

DE ARAÚJO LEAL, Maria Lorryne et al. **Efeito dos sistemas de manejo e do uso do solo na população de microrganismos do solo**. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 9, p. e21910917966-e21910917966, 2021.

DRUZHININA, Irina S. et al. **Massive lateral transfer of genes encoding plant cell wall-degrading enzymes to the mycoparasitic fungus *Trichoderma* from its plant-associated hosts**. *PLoS genetics*, v. 14, n. 4, p. e1007322, 2018.

DRUZHININA, I. S., Seidl-Seiboth, V., Herrera-Estrella, A., Horwitz, B. A., Kenerley, C. M., Monte, E., ... & Zeilinger, S. (2011). ***Trichoderma*: the genomics of opportunistic success**. *Nature Reviews Microbiology*, 9(10), 749-759.

FELIX, Thaís. **Fungos endofíticos em espécies agrícolas de importância econômica**. Repositório UFMG, [s. l.], 2019.

GOTTI, Isabella. **Microbiologia Agrícola**. Londrina: Editora e Distribuidora Educacional S.A, 2018. 208 p. ISBN 978-85-522-1153-2.

HARMAN, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). ***Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts**. *Nature Reviews Microbiology*, 2(1), 43-56.

HERMOSA, Rosa et al. **The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense**. *Int. Microbiol*, v. 16, n. 2, p. 69-80, 2013.

HERMOSA, Rosa et al. **Biotechnologia e Biologia do *Trichoderma***. In: *Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of *Trichoderma**. [S. l.: s. n.], 2014. cap. 10, p. 125-137.

LOBO-JUNIOR, Murillo; MACHADO-ROSA, Tariane Alves; GERALDINE, Alaerson Maia. **Uso de *Trichoderma* na cultura do feijão-comum**. *Trichoderma*, p. 393, 2019.

KETZER, Felipe et al. **Uso do extrato de *Tabernaemontana catharinensis* como fungicida alternativo para agricultura natural**. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 7, p. 45050-45059, 2020.

KOIK, C. M.; LUCON, C. M. M. **Efeito de diferentes fatores na esporulação e crescimento de isolados de *Trichoderma* spp**. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 70, n. suplemento 3, p. 96-99, 2003.

LIMA, J. S. *et al.* **Curva de Crescimento de Microrganismos**. In: Moraes, C. A. *et al.* (orgs). Fundamentos da Fermentação Microbiana. Florianópolis: UFSC, 2013.

MEYER, Mauricio *et al.* **Trichoderma: uso na agricultura**. [S. l.: s. n.], 2019.

MONTE, Enrique; BETTIOL, Wagner; HERMOSA, Rosa. **Trichoderma e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas**. *Trichoderma: uso na agricultura*. Brasília: Embrapa, p. 181-199, 2019.

NITZKE, Julio; BIERDRZYCKI, Aline. **Como Fazer Pão**. [S. l.], 2018. Disponível em: https://www.ufrgs.br/alimentus1/pao/fermentacao/fer_crescimento02.htm. Acesso em: 27 abr. 2023. 2018 Julio alberto Nitzke e Aline Biedrzycki

NICOLAU, Paula. **Microrganismos e crescimento microbiano**. [S. l.: s.n.],2014. Disponível em: https://repositorioaberto.uab.pt/bitstream/10400.2/6137/1/UT2_Microrganismos%20e%20crescimento%20microbiano_PBN.pdf. Acesso em: 27 abr. 2023.

OLIVEIRA, NATASHA. **Efeitos de fatores físico-químicos na produção de biomassa, colorantes e antibióticos por fungos *Trichoderma spp.*** 2020. 135 p. Defesa de mestrado (Formado) - UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS, [S. l.], 2021.

PEDRO, Erica *et al.* **Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma spp.*** Pesquisa Agropecuária brasileira, [s. l.], v. 47, n. 11, p. 1589-1595, 2012.

PINTO, Zayame Vegette; LUCON, Cleusa Maria Mantovanello; BETTIOL, Wagner. **Controle de qualidade de produtos biológicos à base de *Trichoderma***. *Trichoderma*, pág. 275, 2019.

ROBAZZA, Weber. **Modelagem Matemática do Crescimento de Microrganismos em Alimentos**. [S. l.], 2010. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/267548838_Modelagem_Matematica_do_Crescimento_de_Microrganismos_em_Alimentos. Acesso em: 4 maio 2023.

RODRIGUES, Luciana Aparecida; BARROSO, Deborah Guerra; FIQUEIREDO, Fábio Afonso MM. **Fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e na nutrição mineral de mudas de *Tectona grandis* LF**. *Ciência Florestal*, v. 28, p. 25-34, 2018.

TIJERINO, Anamariela et al. **Overexpression of the *Trichoderma brevicompactum* tri5 gene: effect on the expression of the trichodermin biosynthetic genes and on tomato seedlings**. *Toxins*, v. 3, n. 9, p. 1220-1232, 2011.

WOO, S. L.; PEPE, O. **Microbial consortia: promising probiotics as plant biostimulants for sustainable agriculture**. *Frontiers in Plant Science*, v. 9, p. 1801, 2018.