UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL
UNIDADE DE SANANDUVA
CURSO DE BACHARELADO EM AGRONOMIA

DIEGO CALDATO

EFEITO DA APLICAÇÃO DE CLORETO DE POTASSIO SOBRE A POPULAÇÃO DE TRICHODERMA SSP.

SANANDUVA
2023

DIEGO CALDATO

EFEITO DA APLICAÇÃO DE CLORETO DE POTASSIO SOBRE A POPULAÇÃO DE TRICHODERMA SSP.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado com requisito parcial para obtenção de título de Bacharel em Agronomia na Universidade Estadual do Rio Grande do Sul.
Orientador: Prof. Me. Ernane Ervino Pfüller

SANANDUVA
2023

Catalogação de Publicação na Fonte

C145e Caldato, Diego.
Efeito da aplicação de cloreto de potássio sobre a população de Trichoderma SSP./ Diego Caldato – Sananduva, 2023.

30 f., il.

Orientador: Prof. Me. Ernane Ervino Pfüller

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul; Curso de Bacharelado em Agronomia, Unidade em Sananduva, 2023.

1. Biocontrole. 2. Adução. 3. Microrganismos. 4. Cloreto de potássio. I. Pfüller, Ernane Ervino. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Carina Lima CRB10/1905

DIEGO CALDATO

EFEITO DA APLICAÇÃO DE CLORETO DE POTASSIO SOBRE A POPULAÇÃO DE TRICHODERMA SSP.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado com requisito parcial para obtenção de título de Bacharel em Agronomia na Universidade Estadual do Rio Grande do Sul.
Orientador: Prof. Me. Ernane Ervino Pfüller
Aprovado em: / /

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Me. Ernane Ervino Pfüller
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS)

Prof.
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS)

Prof.
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS)

SANANDUVA
2023

Dedico este Trabalho de Conclusão de Curso a minha família, na qual apoiaram-me a cada caminhada.
Vocês têm minha admiração!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos nos quais incentivaram-me, apoiando-me em busca de novos objetivos, principalmente minha esposa, meu filho, amigos e pessoas nas quais eu apenas conheci nesta jornada. Pessoas queridas, pessoas incentivadoras, cativando-me com um sorriso, repassando-me positividade, firmeza, segurança, criando em mim seguridade para vencer obstáculos nos quais impediam-me de estar aqui hoje.

Certamente, a cada vivência, vai o meu carinho e o meu agradecimento a cada um de vocês.

Agradeço também, aos educadores, apoiadores, orientadores, pelo estímulo dado para este percurso. Pelos ensinamentos, a teoria, a prática na qual recebemos com muito carinho e, que ficarão guardadas em nossa mente, a cada passo que daremos daqui em diante, muito obrigado!

A vocês sintam-se acolhidos em meu coração. Um forte abraço!

RESUMO

Considerando que a campo está aparecendo muitas doenças fúngicas, responsáveis pela diminuição da produtividade, aumentando consequentemente o custo de produção da cultura, em virtude da necessidade de aplicação de fungicidas para o seu controle. Diante disso, o objetivo geral foi de analisar, através de um estudo de caso, a aplicação de cloreto de potássio a lanço sobre a população de *trichoderma*. Serão realizadas análises laboratoriais, O laboratório escolhido para realizar as análises foi a agronômica – laboratório de diagnostico fitossanitário LTDA situado na cidade de Porto Alegre, laboratório muito bem conceituado para estudos de viabilidade de produtos biológicos. Para poder realizar os estudos foram realizadas análises *in vitro*, assim foi possível verificar a viabilidade do trichoderma perante a aplicação de cloreto de potássio a lanço. As doses de cloreto aplicadas foram de 100 kg e 150kg por hectare. Inicialmente o aplicou se o trichoderma *in vitro*, aguardando a sua multiplicação. Após, será acrescentado o cloreto de potássio sobre a população de trichoderma. Esse procedimento foi realizado no recipiente Erlenmeyer flash, frasco cónico de 250 ml com rolha de vidro esmerilado, a população microbiana foi avaliada após 24 horas do acréscimo do cloreto, aonde foi possível constatar que quanto maior a dosagem de cloreto menor a população microbiana no solo, sendo que, este procedimento seguiu Caldato 2023.

Palavras-chave: biocontrole, adução, microorganismos, cloreto de potássio.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Número de biofungicidas à base de Trichoderma spp. registrados no Brasil. 13
Figura 2 - Biofungicidas registrados à base das espécies de *Trichoderma ssp.* no Brasil em porcentagem. 14
Figura 3 – Colonia de *Trichoderma* ssp. 19
Figura 4 - Diluição seriada do produto a base de *Trichoderma* ssp. 22
Figura 5 - Preparo dos tratamentos. 23
Figura 6 - Diluição seriada e plaqueamento de 100 µL do tratamento. 24
Figura 7 - Contagem das colônias de Trichoderma ssp. 24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Demonstração da microflora. _____ *18*

Tabela 2 - Dados brutos das Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) de *Trichoderma* ssp. com o produto puro e misturado com KCl. _____ *24*

Tabela 3 - *Teste de variância Scoot – Knott* _____ *25*

Tabela 4 - Tabela 4 – Médias do teste scoot – Knott _____ 25

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 11
2 OBJETIVOS 12
2.1 OBJETIVO GERAL 12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 12
3 REFERENCIAL TEÓRICO 13
3.1 USO ATUAL E PERSPECTIVAS DO TRICHODERMA 13
3.2 DINÂMICA DE APLICAÇÃO DE SAIS E OUTROS ELEMENTOS QUÍMICOS SOBRE A POPULAÇÃO MICROBIANA 14
3.3.1 O ~~termo~~ microbioma e suas interações 17
3.4 BENEFÍCIOS DA POPULAÇÃO MICROBIANA NO DESENVOLVIMENTO DE CULTURAS EM GERAL 18
3.5 TAXONOMIA E BENEFÍCIOS DO *TRICHODERMA* ssp. 19
3.6 PRINCIPAIS EFEITOS DE INDUTORES DE RESISTÊNCIA EM DIVERSAS CULTURAS 20
4 MATERIAL E MÉTODOS 22
4.1 AVALIAÇÕES REALIZADAS 22
4.3 PREPARAÇÃO DO PRODUTOS 23
4.4 AVALIAÇÃO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIAS 24
5 RESULTADOS E DISCUSSAO 25
6 CONSIDERACOES FINAIS 28
REFERÊNCIAS 29

1 INTRODUÇÃO

Através do desenvolvimento tecnológico, o Brasil aumentou significativamente a produtividade na agricultura, otimizando e preservando o uso da terra. Entretanto, nas últimas décadas, devida a rápida expansão da agricultura, foram gerados alguns desequilíbrios, devido principalmente ao monocultivo, o que resultou no agravamento de problemas fitossanitários.

Para tanto, as informações técnicas referentes a utilização correta de produtos à base de agentes de biocontrole estavam dispersas em diferentes meios de divulgação, muitas vezes desconexas, o que dificultava o acesso e a interpretação para a definição de estratégias de controle. Diante disso, observou - se a necessidade de pesquisar acerca do fungo *Trichoderma spp*., um dos principais microrganismos utilizados como antagonista de patógenos de plantas.

De acordo com alguns estudos, o mercado brasileiro para os biofungicidas apresentou um incremento de 148% em 2018, quando comparado com o ano anterior. Estes dados demonstram o interesse pelo agricultor na utilização da tecnologia. Atualmente, os biofungicidas registrados no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Mapa) são à base de *Trichoderma harzianum, Trichoderma asperellum, Trichoderma koningiopsis* e *Trichoderma stromaticum*, além de biofungicidas à base de *Bacillus subtilis, Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus pumilus, Bacillus licheniformis* e *Bacillus methylotrophicus* (ABREU, 2020).

Atualmente, o *trichoderma spp.*, é considerado um dos fungos mais avaliados agente de biocontrole. É um antagonista a inúmeros fitopatógenos em várias culturas, com o poder de auxiliar o desenvolvimento do plantio, produzir enzimas extracelulares e antibióticos, hiperparazitar, competir e apresentar eficácia no biocontrole de fungos fitopatogênicos (ABREU, 2020).

Assim, este trabalho busca analisar os efeitos da aplicação de cloreto de potássio a lanço sobre a população de *trichoderma* ssp. nos cultivos agrícolas de todas as culturas agrícolas inclui se nessas, soja, trigo, milho, etc.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar os efeitos da aplicação de cloreto de potássio sobre a população de *Trichodema ssp.* em soja, trigo, milho através de uma análise no laboratório agronômica – laboratório de diagnostico fitossanitário LTDA

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

I. Avaliar a aplicação *in vitro* de cloreto de potássio sobre a população de Trichoderma ssp.;
II. Avaliar, *in vitro,* os efeitos de doses de potássio sobre o crescimento da população de Trichoderma em diversas culturas;
III. Avaliar a eliminação *in vitro* dos microrganismos após a aplicação do cloreto de potássio em doses relativas as aplicadas no campo.

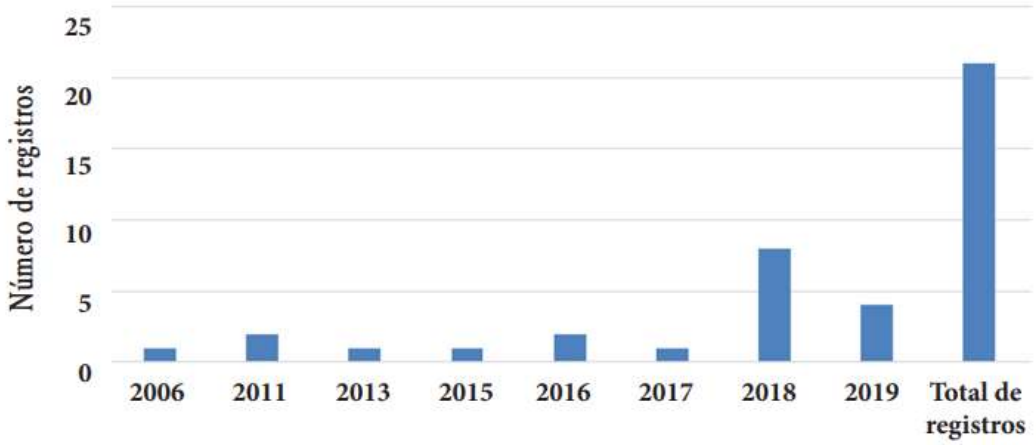
3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 USO ATUAL E PERSPECTIVAS DO TRICHODERMA ssp.

O mercado global de biopesticidas foi de US$ 6,387 bilhões em 2017 e estima que alcance US$ 16,7 bilhões até 2024, com uma taxa anual de crescimento - CAGR (*compound annual growth rate*) de 15% (BETIOL et. al. 2019).

De acordo com Meyer et. al. (2019), os biofungicidas registrados no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Mapa), como mostra na (Figura 01), são à base de *Trichoderma harzianum, Trichoderma asperellum, Trichoderma koningiopsis* e T*richoderma stromaticum*, além de biofungicidas à base de *Bacillus subtilis, Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus pumilus, Bacillus licheniformis* e *Bacillus methylotrophicus.*

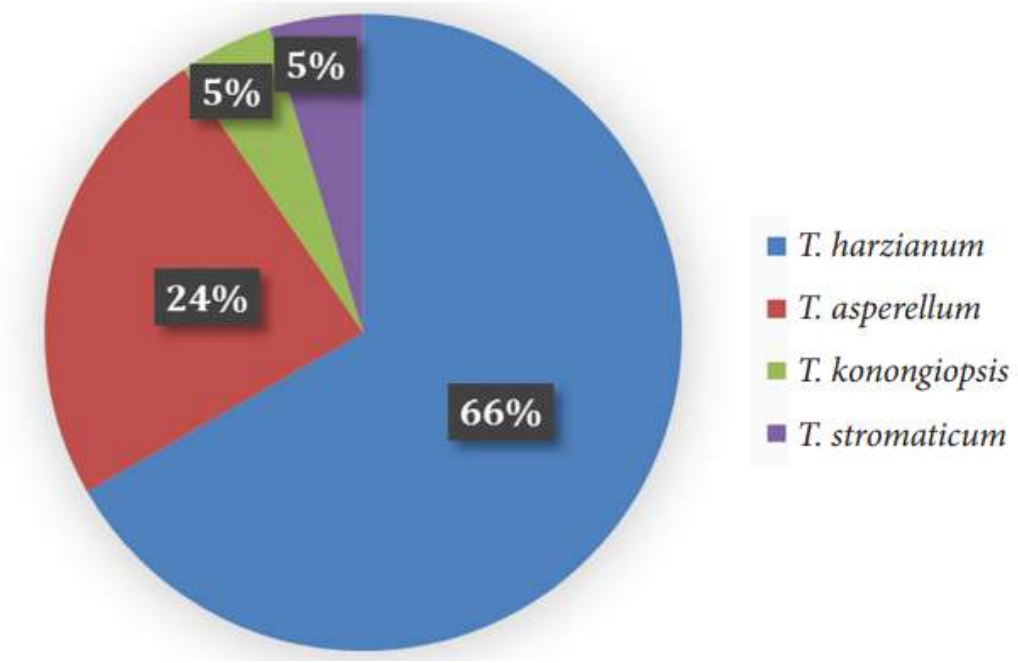
Figura 1 - Número de biofungicidas à base de Trichoderma spp. registrados no Brasil.



Fonte: Meyer et. al. (2019).

Os biofungicidas à base de *Trichoderma* ssp. são utilizados no Brasil (Figura 02) para as culturas da soja, algodão, milho, feijão, morango, citros, cana-de-açúcar, café, tabaco, hortaliças, ornamentais, frutíferas e espécies florestais. (MEYER et. al. 2019).

Figura 2 - Biofungicidas registrados à base das espécies de *Trichoderma* ssp. no Brasil em porcentagem.



Fonte: Meyer et. al. (2019).

3.2 DINÂMICA DE APLICAÇÃO DE SAIS E OUTROS ELEMENTOS QUÍMICOS SOBRE A POPULAÇÃO MICROBIANA

A disponibilidade de macronutrientes no solo é um dos fatores que mais impacta na produção sendo necessário o suprimento adequado para que as culturas possam expressar seu máximo potencial produtivo (SILVA et.al. 2016). Para atender as necessidades de macronutrientes de nitrogênio, fósforo e potássio, é realizada uma análise de solo.

No entanto quando há a deficiência de um desses nutrientes é indicado realizar a adubação para corrigir, isso deve ser levado em consideração para qualquer cultura implantada, pois a deficiência de um desses macronutrientes influencia na diminuição do potencial produtivo. (AKUTAGAWA et. al. 2017).

O nitrogênio é, provavelmente, o segundo maior fator limitante da produção agrícola, perdendo apenas para a deficiência hídrica. É constituinte de proteínas, enzimas, coenzimas, ácidos nucléicos, fitocromos e da clorofila, além de afetar as taxas de iniciação e expansão foliar e o tamanho final e a intensidade de senescência das folhas (ESPINDULA et. al. 2010).

De acordo com Teixeira Filho (2008), o nitrogênio (N), um dos nutrientes mais exigidos pelo trigo, é um dos elementos mais abundantes na natureza, porém, na forma de N_2, encontrado na atmosfera, não está prontamente disponível às plantas.

Akutagawa et. al. (2017), consideram que para a expressão do potencial de rendimento é necessário o ajuste dos genótipos disponíveis as distintas técnicas de manejo, com destaque a adubação nitrogenada. A necessidade de adubação nitrogenada no cultivo de trigo relaciona-se a fatores ligados a matéria orgânica do solo, cultura antecessora e expectativa de rendimento.

A adubação nitrogenada é de suma importância para a cultura do trigo, já que o nitrogênio constitui um dos nutrientes mais exigidos por essa cultura, impactando na produtividade e aumento dos índices de qualidade da cultura, sendo fundamental para o rendimento dos grãos, número de espiga por área, número de grãos por espiga, teor de proteínas no grão e massa de grãos (AKUTAGAWA et. al. 2017).

Diante disso, recomenda-se que a primeira aplicação em cobertura seja realizada no início do perfilhamento, no estágio conhecido como duplo-anel, em que ocorre a definição do número de espigas por metro quadrado (AKUTAGAWA et. al. 2017).

A segunda aplicação recomenda-se no início da elongação, período em que o trigo define o tamanho da espiga e o número de espiguetas (AKUTAGAWA et. al. 2017).

Já uma terceira aplicação também pode ser realizada, quando a folha bandeira está visível, com o objetivo principal de aumentar os teores de proteína do grão (AKUTAGAWA et. al. 2017).

De acordo com Storck (2021), existem no mercado inúmeras fontes de nitrogênio, sendo a ureia a mais utilizada. A ureia é um fertilizante sólido, na fórmula de grânulos, o que facilita a sua aplicação na cultura do trigo, e possui em torno de 45% de N em sua composição. Quando aplicada, a ureia é hidrolisada no solo pela atuação da enzima urease e transforma-se em amônio que por sua vez pode ser transformado em nitrato, sendo estas duas formas preferencialmente absorvidas pelas plantas.

O fósforo é um elemento limitante no crescimento e desenvolvimento de toda a flora e também é imprescindível para o crescimento de micro-organismos

responsáveis pela estabilização da matéria orgânica. Contudo, ao contrário de outros elementos essenciais, como por exemplo o nitrogênio, para a produção de alimentos, o mesmo ainda não recebe a atenção necessária para prevenir a sua escassez (SASABUCHI, et. al. 2022).

Para tanto, os cultivares de trigo diferem substancialmente na sua capacidade de emissão de perfilhos, no seu ciclo, na arquitetura de planta e no potencial produtivo. Estas diferenças podem interferir na capacidade de absorção, assimilação e conversão do nitrogênio à produção de grãos. Além disso, a cada ano são lançados novos cultivares que, por apresentarem base genética diferenciada, podem apresentar resposta distinta à época de aplicação e à dose de nitrogênio. A dinâmica do N no sistema solo-planta, com a consequente eficiência da utilização de N pela planta, é influenciada principalmente pelo sistema de cultivo, tipo de fertilizante, formas de manejo e condições edafoclimáticas (TEIXEIRA FILHO, 2008).

De acordo com Viana e Kiehl (2010), o fornecimento do potássio para as plantas estimula o aproveitamento do nitrogênio, possibilitando que sua absorção, assimilação, nutrição e, consequentemente, a produtividade, sejam aumentadas. Assim o potássio é o nutriente de maior abundância nas plantas e sua importância se dá nos diversos processos da planta, como exemplo a fotossíntese.

A absorção de K ocorre pela difusão do solo para a planta. Já a sua falta resulta em caules fracos e podendo levar no acamamento da planta, sendo comum em solos arenosos, onde há o cultivo intenso. Para identificar a deficiência do potássio, é analisado as folhas velhas com tom amarelado e aparência enfraquecida nas pontas e em sua margem. O seu crescimento vegetal é reduzido e ocorre o encurtamento dos entrenós (KIEHL, 2010).

A uréia é o fertilizante nitrogenado mais utilizado no Brasil devido às suas vantagens comparativas em termos de custo, facilidade de fabricação e custo final para o agricultor. Do ponto de vista agronômico, a uréia apresenta uma séria limitação quando aplicada na superfície do solo, devido às chances de perdas por volatilização do NH_3. Estas perdas em diversos tipos de solos apontam para valores superiores a 50% do N aplicado. Já o sulfato de amônio não sofre volatilização de nitrogênio amoniacal (N-N H_3) quando o pH é inferior a 7,0. Porém, este fertilizante tem sua eficiência reduzida basicamente por lixiviação de nitratos (TEIXEIRA FILHO, 2008).

Prando et. al. (2013), descrevem que o desenvolvimento e a crescente utilização de cultivares de trigo com porte reduzido, maior tolerância ao acamamento e alto potencial produtivo têm implicado no uso mais frequente de insumos. Para se alcançar altas produtividades e viabilizar a exploração da cultura do trigo, a fertilização do solo e a adequada nutrição da planta são indispensáveis. O nitrogênio (N) é o nutriente mais absorvido e o mais exportado pelas plantas de trigo. Além disto, exerce forte influência na definição da produtividade desta cultura.

O limite máximo de residual para o trigo é 0,5 mg kg^{-1} , com intervalo de segurança de 7 dias. Observa-se o residual do glufosinato e outros herbicidas sendo detectado para o glufosinato resíduos abaixo do máximo permitido pela Anvisa. No entanto, o nível residual de um herbicida na planta depende de vários fatores que devem ser levados em consideração, como o modo de ação e as características do herbicida, o estádio de aplicação, momento da colheita após aplicação, condições ambientais e de aplicação (CORRÊA, 2020).

3.3.1 O microbioma e suas interações

O termo microbioma foi usado pela primeira vez por Joshua Lederberg, que o definiu como a comunidade ecológica de microrganismos comensalistas, simbiontes ou patogênicos, que literalmente ocupam o espaço de nosso corpo, se referindo nesta ocasião ao microbioma humano. Atualmente este termo é usado para descrever o conjunto de microrganismos que habitam um determinado hospedeiro, ou que ocupam conjuntamente um ambiente (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

Logo, propõem-se que a melhor definição de microbioma seria aquela relacionada ao conjunto de genes encontrados de maneira associada aos organismos que colonizam um determinado ambiente. Esta definição é estruturada de forma a eliminar as variações causadas quando apenas inferências taxonômicas são feitas para caracterizar os microbiomas (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

Dentro desta maior abrangência, apresenta-se o estudo do microbioma dos solos, amplamente desafiador, principalmente em função da grande diversidade nas formas de vida contidas neste ambiente e a heterogeneidade dos mesmos. A melhor compreensão deste componente apresenta-se como uma das bases para as futuras revoluções na agricultura e uso do solo. Um exemplo desta potencialidade está na

atribuição da característica supressiva de solos a várias doenças de plantas (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

3.4 BENEFÍCIOS DA POPULAÇÃO MICROBIANA NO DESENVOLVIMENTO DE CULTURAS EM GERAL

A compreensão da microclimatologia associada à biomassa microbiana do solo, é essencial para o entendimento de variações quantitativas nas populações de microorganismos em escala sazonal, e de grande importância para o estabelecimento de espécies e manutenção da microfauna de solo no ecossistema.

A biomassa microbiana do solo, composta especialmente por fungos, bactérias e microfauna, é responsável pela decomposição de resíduos orgânicos depositados pela vegetação no solo (RODRIGUES et. al., 2011).

De acordo com Mattos (2020), os maiores grupos de organismo do solo, incluem-se os vírus, as bactérias, os fungos, algas e macrofauna, como artrópodes e protozoários. Logo, a importância da microflora é demonstrada pelos seus números e biomassa, como exemplifica a tabela 01 abaixo.

Tabela 1 - Demonstração da microflora.

Microrganismo	**Numero/ g solo[1]**	**Biomassa dentro da zona Raizes/ kg há[1]**
Bacterias	10^8	500
Actinomicetos	10^7	500
Fungos	10^6	1500

Fonte: Mattos (2020).

Os resultados apresentam-se mediante pesquisas realizadas por Fernanda de Almeida Godoy (2021), descrevendo que a inoculação de sementes de trigo com bactérias resultou na promoção de crescimento especialmente em plantas inoculadas com os gêneros *Lysinibacillus* e *Pseudomonas* na cultivar BRS Parrudo. Na cultivar BRS Reponte, o tratamento com o consórcio de todos isolados testados no bioensaio foi o mais eficiente, indicando que a interação benéfica é cultivar-dependente, já que utilizando o mesmo tratamento cada cultivar de trigo apresentou uma resposta (TORDIN, 2021).

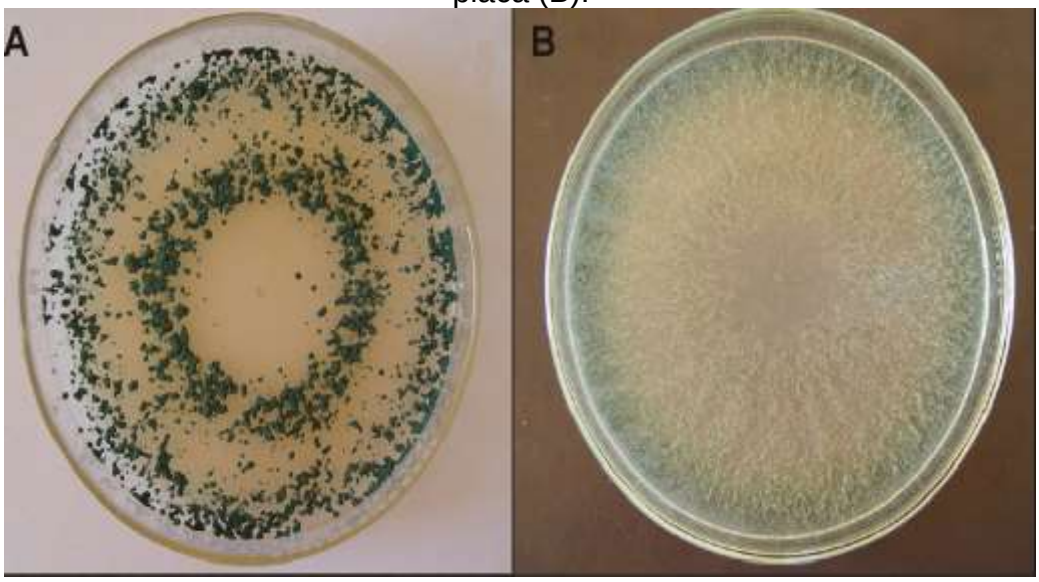
Evidenciando que, introdução do inoculante diminui a diversidade da comunidade bacteriana presente no solo, com impacto mais acentuado no início do

ciclo. Isso ressalta a importância de integrar os princípios da ecologia microbiona no desenvolvimento de produtos para aperfeiçoar a eficiência da colonização bacteriana e sobrevivência do inoculo do solo (TORDIN, 2021)

3.5 TAXONOMIA E BENEFÍCIOS DO TRICHODERMA

O *Trichoderma.ssp* (Figura 03) é um fungo habitante de solo que está presente tanto em regiões de clima temperado quanto tropical. Este fungo pode colonizar madeira em decomposição, cogumelos e orelhas de pau. Também parasita outros fungos que representam ameaça para diferentes espécies de plantas. Logo, sua singularidade ocorre principalmente pela característica de oportunismo e de facilidade para colonizar vários tipos de substratos em diversos ecossistemas (ABREU, 2020).

Figura 3 - Colônia de *Trichoderma* spp, vista superior da placa (A) e vista inferior da placa (B).



Fonte: (ABREU, 2020).

De acordo com Ethur et. al. (2001), o *Trichoderma spp*. é “um promissor agente de biocontrole. Segundo Melo (1998) *Trichoderma spp*. são fungos naturais do solo encontrado especialmente em solos orgânicos, que podem viver saprofiticamente ou parasitando outros fungos”.

O *Trichoderma* tem importante mecanismo de ação sobre patógenos que atacam culturas agrícolas importantes como *Fusarium spp*. (podridão vermelha da

raiz), *Sclerotinia sclerotiorum* (mofo branco) e *Rhizoctonia solani* (podridão radicular) (EMBRAPA, 2020).

Os produtos à base de *Trichoderma* representam relevante alternativa para compor o manejo integrado de doenças. No entanto, esta adoção gera a necessidade de pesquisas aplicadas para definição do posicionamento dos produtos, principalmente quanto à dosagem, formas de aplicação, condições ambientais no momento da aplicação, condição de cobertura de solo, compatibilidade de aplicação com outros produtos, entre outras questões que interferem no campo (EMBRAPA, 2020).

Produtos à base de agentes de biocontrole, registrados no Ministério da Agricultura, subiu de 27, em 2011, para 200, em 2019. Sendo que, o fato de haver registro de produtos à base de *Trichoderma* para culturas importantes no Brasil como soja, algodão, milho, café, entre outras, vem colaborando para o crescimento deste mercado, assim como os avanços na legislação brasileira, que favorecem o registro destes produtos (EMBRAPA, 2020).

Hoje existem, pelo menos, 246 produtos biológicos à base de *Trichoderma* registrados em diferentes países. Dentre as várias espécies presentes na natureza, o *Trichoderma* harzianum é a mais comumente empregado no controle biológico de doenças de plantas, presente em 38% dos produtos (EMBRAPA, 2020).

3.6 PRINCIPAIS EFEITOS DE INDUTORES DE RESISTÊNCIA EM DIVERSAS CULTURAS

Dentre os microrganismos promotores do crescimento de plantas pesquisados, as rizobactérias benéficas intituladas *Plant Growth Promotion Rhizobacteria* (PGPR) fungos micorrízicos arbusculares e algumas espécies do fungo *Trichoderma ssp*., se destacam entre os mais promissores. Esses microrganismos supracitados colonizam o sistema radicular das plantas e depois atuam com diversos mecanismos de ação, tais como: produção de fitohormônios, produção de vitaminas, eliminação de microrganismos prejudiciais às plantas, fixação de nitrogênio, e produção de sideróforos para facilitar a absorção de ferro, solubilização de fosfato e disponibilização de micronutrientes e minerais tais como ferro, manganês e magnésio (OLIVEIRA, 2017).

As rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCP) são capazes de colonizar as raízes e consequentemente estimular diretamente o crescimento e o desenvolvimento de diversas plantas, tais como: trigo, milho, pinhão manso, pinheiro bravo (OLIVEIRA, 2017).

Segundo Oliveira (2017), as RPCPs geralmente são gram negativas e o fornecimento de fitohormônios de crescimento é importante para o crescimento das plantas, dentre os quais já foram encontradas as auxinas, giberelinas e citocininas.

A capacidade de promover o crescimento vegetal está relacionado com a capacidade da bactéria de colonizar o sistema radicular, alterando a arquitetura radicular por mecanismos diretos e indiretos. No grupo dos microrganismos que podem promover o crescimento vegetal inclui-se os fungos, pertencentes ao gênero *Trichoderma spp*, os quais apresentam potencial como biocontroladores de fitopatógenos e promotores de crescimento vegetal (OLIVEIRA, 2017).

Espécies deste gênero são encontrados em solos, raízes de plantas e associadas à matéria orgânica em diferentes ecossistemas. Esses fungos atuam protegendo o sistema radicular das plantas por mecanismos como parasitismo, antibiose e indução de resistência (OLIVEIRA, 2017).

Além de promover o crescimento por diferentes mecanismos, principalmente a produção de análogos de auxinas. Diversos produtos à base de *Trichoderma spp*. são encontrados nas formulações como pó molhável (PM), grânulos dispersíveis em água (WG) e líquidas (esporos em suspensão oleosa e aquosa) *Trichoderma asperellum, T. harzianum, T. stromaticum* e *T. viride* são as principais espécies do agente de biocontrole comercializadas, entretanto, em alguns produtos comercializados não há identificação das espécies (OLIVEIRA, 2017).

Os fungos do gênero *Trichoderma ssp*. estão entre os microrganismos mais estudados. Por permitir o isolamento de algumas espécies a partir dos ascósporos do gênero Hypocrea, são classificados como formas anamórficas. As culturas de *Trichoderma spp*. possuem rápido crescimento a temperaturas de 25-30°C, sendo termo sensíveis a 35 °C. As colônias, inicialmente são transparentes em meio com “cornmeal dextrose ágar” (CMD) ou brancas em meio rico com “batata dextrose ágar” (BDA) e podem ser encontradas dispersas e flocosas ou compactadas em tufo (OLIVEIRA, 2017).

4 MATERIAL E MÉTODOS

A avaliação *in vitro* foi escolhida pois o meio mais fácil de avaliar a população de *trichoderma ssp*. sem que houvesse interferências nos níveis de leitura da população microbiana, pois a mesma simula a veracidade do que ocorre a campo, ao qual foi realizado pelo laboratório agronômica – laboratório de diagnostico fitossanitário LTDA situado na cidade de Porto Alegre.

4.1 AVALIAÇÕES REALIZADAS

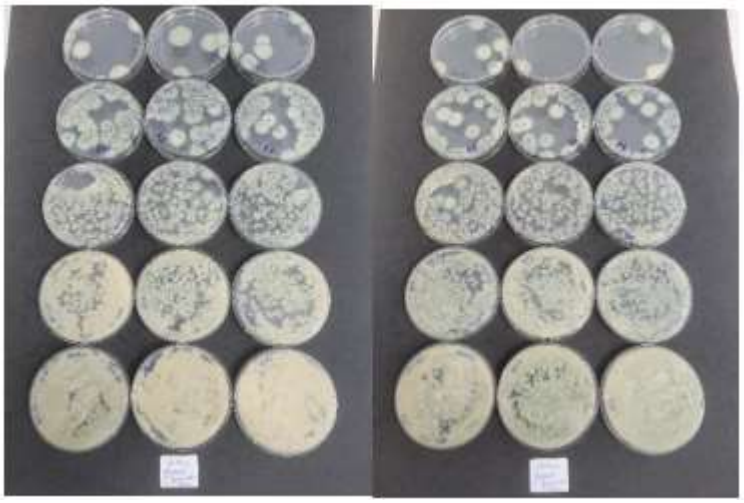
Através do relatório Agronômica, cujo, produto puro (*Trichoderma sp*.), dado os parâmetros de avaliação do produto: Identidade, pureza e concentração (Figura 04). Obteve-se:

Identidade = *Trichoderma sp*.

Pureza = o produto não apresentou contaminantes na diluição de 10^{*5} (Figura 4).

Concentração = $4{,}6x10^{*7}$ UFC/g

Figura 4 - Diluição seriada do produto a base de *Trichoderma ssp*.



Fonte: Seguindo metodologia da Embrapa, 2013. Laboratório Agronômica, Porto Alegre, RS, 2023

Para simular as condições de mistura do campo foram preparadas caldas do KCl e do produto biológico a base de *Trichoderma sp*. (Figura 5). Com as seguintes diluições:

1. T1. Produto a base de *Trichoderma sp*. = 1,25g em 500 mL água estéril;

2. T2. Produto a base de *Trichoderma sp*. = 1,25g + 50 g KCl em 500 mL água estéril;

3. T3. Produto a base de *Trichoderma sp*. = 1,25g + 75 g KCl em 500 mL água estéril;

4. Somente o KCl (controle negativo).

Figura 5 - Preparo dos tratamentos.

Fonte: Laboratório Agronômica, Porto Alegre, RS, 2023

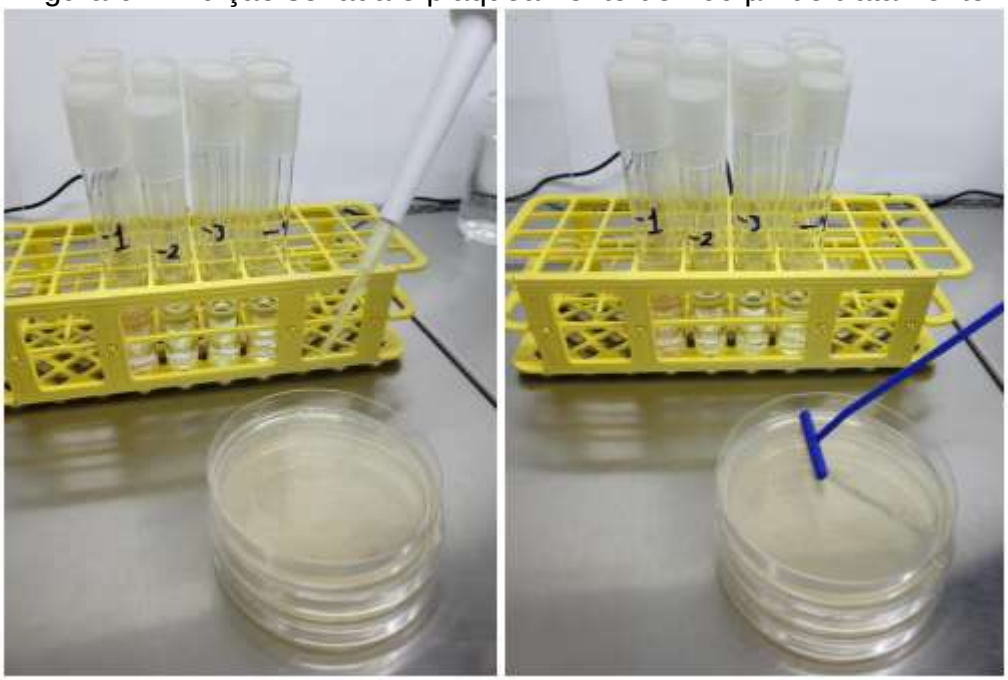
4.3 PREPARAÇÃO DO PRODUTOS

Os produtos foram misturados durante 15 minutos e, após, as caldas permaneceram em temperatura ambiente por 24 horas para ter o tempo de contato do KCl com o produto biológico. Cada um dos tratamentos seguiu a diluição seriada de 10^{*0} a 10^{*4}. Sendo que 1 mL da mistura de cada tratamento foi passado para tubo contendo 9 mL de solução salina, compondo a diluição 10^{*1} e assim sucessivamente até 10^{*4} (Figura 6).

Para cada uma das diluições retirou-se 100 µL e espalhou-se com alça de Drigalski descartável em placa de Petri contendo meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA)+Triton+Clorofenicol. Foram feitas três placas por diluição com quatro repetições, após, as placas foram incubadas a 25 ± 2 °C. As colônias foram avaliadas até sete dias para verificar se as colônias formadas são realmente de *Trichoderma sp*., por meio da visualização da colônia na placa e das estruturas do fungo em microscópio óptico.

Como controle negativo do processo utilizou-se somente solução salina e como controle positivo utilizou-se material de referência interna, identificado como *Trichoderma harzianum* AGR0002.2.3-M.

Figura 6 - Diluição seriada e plaqueamento de 100 µL do tratamento.

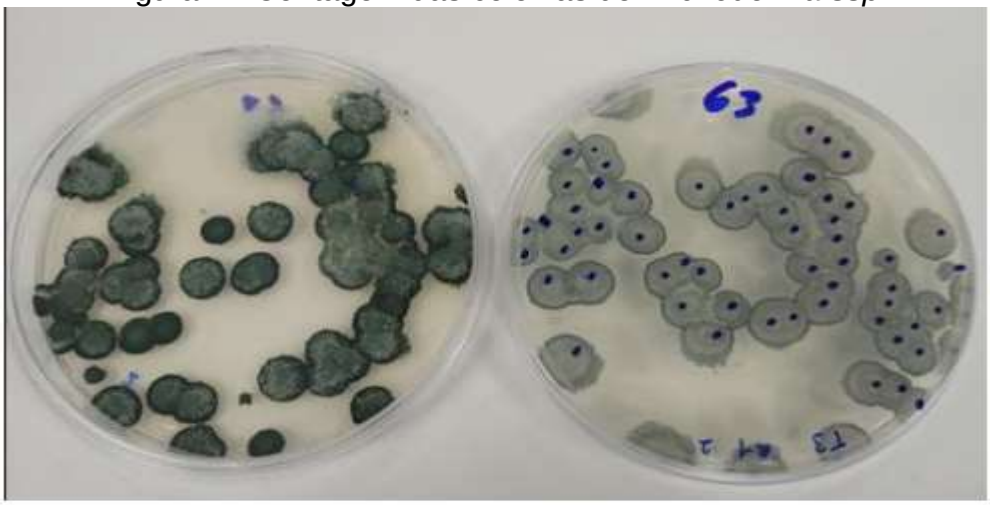


Fonte: Laboratório Agronômica, Porto Alegre, RS, 2023

4.4 AVALIAÇÃO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIAS

A avaliação de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) deu-se através da contagem do número de colônias nas placas que apresentarem de 30 a 300 colônias. A avaliação final das placas foi feita sete dias após o plaqueamento (Figura 7)

Figura 7 - Contagem das colônias de *Trichoderma ssp*.



Fonte: Laboratório Agronômica, Porto Alegre, RS, 2023.

5 RESULTADOS E DISCUSSAO

Na tabela 2 abaixo podemos observar os dados brutos das Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) de *Trichoderma ssp*. testemunha e misturado com KCl nas 2 doses aonde 1x1 ao qual isso equivale a 100 kg de cloreto hectare e 1x1,5 ao qual equivale a 150 kg de cloreto por hectare.

Tabela 2 - Dados brutos das Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) de *Trichoderma ssp.* com o produto puro e misturado com KCl.

Trat 1 - Trichoderma sp. (Dose Cliente) Produto puro	**Placa 1**	**Placa 2**	**Placa 3**	**MÉDIA**	**Leitura**	**UFC/mL**
R1	80	102	102	95	1,00E+02	9,47E+04
R2	84	84	93	87	1,00E+02	8,70E+04
R3	103	97	93	98	1,00E+02	9,77E+04
R4	87	89	88	88	1,00E+02	8,80E+04
Média geral						**9,18E+04**
Trat 2 - Trichoderma sp. (Dose Cliente) + KCl 1x1	**Placa 1**	**Placa 2**	**Placa 3**	**MÉDIA**	**Leitura**	**UFC/mL**
R1	43	47	42	44	1,00E+02	4,40E+04
R2	144	147	148	143	1,00E+02	1,43E+05
R3	30	34	64	43	1,00E+02	4,27E+04
R4	95	76	116	96	1,00E+02	9,57E+04
Média geral						**8,13E+04**
Trat 3 - Trichoderma sp. (Dose Cliente) + KCl 1,5x1	**Placa 1**	**Placa 2**	**Placa 3**	**MÉDIA**	**Leitura**	**UFC/mL**
R1	69	63	61	64	1,00E+02	6,43E+04
R2	35	31	41	36	1,00E+02	3,57E+04
R3	31	43	37	37	1,00E+02	3,70E+04
R4	58	44	45	49	1,00E+02	4,90E+04
Média geral						**4,65E+04**
Trat 4 - KCl (C -)	**Placa 1**	**Placa 2**	**Placa 3**	**MÉDIA**	**Leitura**	**UFC/mL**
R1	O	O	O	O	1,00E+03	0,00E+00
R2	O	O	O	O	1,00E+03	0,00E+00
R3	O	O	O	O	1,00E+03	0,00E+00
R4	O	O	O	O	1,00E+03	0,00E+00
Média geral						0,00E+00

Fonte: Laboratório Agronômica, Porto Alegre, RS, 2023.

Para ser mais assertivo nos resultados foi realizado o teste de variância Scoot – Knott, ao qual a tabela 3 irá mostrar os cruzamentos realizados, para se chegar no resultado final.

Tabela 3 - Teste de variância Scoot – Knott

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA SCOOT- KNOTT					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr > Fc
TRATAMENTO	3	62.302.916.667	20.767.638.889	69.458.333	0.0000
REP	3	3.502.416.667	1.167.472.222	16.808	0.0000
TRATAMENTO*REP	9	20.283.250.000	2.253.694.444	32.447	0.0000
erro	32	2.222.666.667	69.458.333		
Total corrigido	47	88.311.250.000			
CV (%) =	15.47				
Média geral:	551.250.000				

A tabela 4 abaixo irá demostrar como se organizou o resultado do cruzamento da tabela 3 em porcentagem de viabilidade dos resultados do cruzamento no teste scoot – Knott

Tabela 4 – Médias do teste scoot – Knott

Tratamentos	Médias Resultados do teste
4	0.000000 a1
3	46.500000 a2
2	82.166667 a3
1	91.833333 a4

As médias de Unidades Formadoras de Colônias dos Tratamento 1, 2 e 3 na tabela 2 foram: 9,18x10*^{4} UFC/mL; 8,13x10*^{4} UFC/mL; 4,65x10*^{4}UFC/mL, respectivamente, conforme Tabela 2 acima.

Baseando-se nos resultados do teste do laboratório onde foi deixado a testemunha sem a aplicação de cloreto, observa-se que quanto maior for a aplicação de cloreto a lanço na propriedade maior será a quantidade microbiana afetada, com isso irá diminuir muito as suas colônias, fazendo com que a cultura ali estabelecida possa ficar vulnerável a infecção por patógenos referente a fungos que estão no solo *Sclerotinia sclerotiorum, Fusarium solani f. sp. Phaseoli, Pratylenchus zeae, Rhizoctonia solani entre outras*.

Para se trabalhar com cloreto a lanço, necessita - se primeiramente conhecer se há necessidade de correção com cloreto a lanço ou se pode ser feito

apenas o complemento na linha de plantio. O cloreto de potássio é um produto que há muita falta no solo, principalmente em área de pisoteio animal e utilizada para grãos. Nessas áreas a necessidade de complemento aéreo pode se chegar até 150 kg de cloreto a lanço, o qual afetará a população microbiana. Os trabalhos realizados foram feitos com 100 e 150 kg hectare, e verificou – se uma diminuição muito elevada da população de trichoderma quando aumentada a dosagem de cloreto de potássio.

Uma opção é dosar uma parte do cloreto no inverno na pastagem na linha de plantio, e o restante do complemento necessário fazer na linha de plantio no verão evitando com que se necessite lançar o cloreto, com isso podemos evitar que a população microbiana diminua.

6 CONSIDERACOES FINAIS

Observou-se que, quanto maior a dose de cloreto de potássio utilizado menor será população microbiana. Na ausência de cloreto de potássio o número de *trichoderma ssp*. foi 9,18x10*^{4}UFC/mL. Quando acrescentada 100 kg de cloreto a população de trichoderma caiu para 8,13x10*^{4}UFC/mL, já quando aplicada 150 kg de cloreto o número de *trichoderma ssp*. sobrevivente foi 4,65x10*^{4}UFC/mL isso quer dizer que aproximadamente 50% do *trichoderma ssp*. existente nas amostras foram exterminados, aonde podemos comprovar na tabela 4 nos resultados do teste de variância Scoot – Knott.

Uma sugestão para se evitar a aplicação de cloreto é escalonar as aplicações e trabalhar apenas com cloreto na linha de plantio juntamente com o adubo. Utilizar 50% juntamente com o adubo no inverno e 50% utilizar juntamente com o adubo no plantio do verão. Cuidar para que não se ultrapasse 60 pontos de cloreto na linha de plantio, afim de evitar com que sal que contem no cloreto de potássio possa interferir na germinação da semeadura.

REFERÊNCIAS

ABREU, Lucas Magalhães de. Fungo **Trichoderma é aliado no controle biológico de doenças em culturas agrícolas.** Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação. 2020. Disponivel em: https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/53541439/fungo-trichoderma-e-aliado-no-controle-biologico-de-doencas-em-culturas-agricolas. Acesso em 29 de maio de 2020.

AKUTAGAWA, Karla Hikari; MOEIRA, Régis Eduardo; SILVA, Aylanna Alves da. **Fatores e técnicas de produção da cultura do trigo visando à produtividade e qualidade.** XI encontro de Engenharia de Produção Agroindustrial. 2017. Disponivel em: http://anais.unespar.edu.br/xi_eepa/data/uploads/artigos/4/4-17.pdf. Acesso em 20 de maio de 2022.

CARDOSO, Elke Jurandy Bran Nogueira; ANDREOTE, Fernando Dini. **Microbiologia do solo.** Piracicaba, São Paulo. 2016.

CORRÊA, Arícia Ritter. **Antecipação da colheita do trigo por dessecação química.** PET – Agronomia. Programa de Educação Tutorial. 2021. Disponivel em: https://www.ufsm.br/pet/agronomia/2021/06/29/antecipacao-da-colheita-do-trigo-por-dessecacao-quimica#:~:text=De%20acordo%20com%20a%20ANVISA,de%20seguran%C3%A7a%20de%207%20dias.. Acesso em 22 de abr. de 2022.

EMBRAPA**. Fungo Trichoderma é aliado no controle biológico de doenças em culturas agrícolas**. Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação. 2020. Disponivel em: https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/53541439/fungo-trichoderma-e-aliado-no-controle-biologico-de-doencas-em-culturas-agricolas. Acesso em 27 de maio de 2022.

ESPINDULA, Marcelo Curitiba et. al. **Doses e formas de aplicação de nitrogênio no desenvolvimento e produção da cultura do trigo**. Ciências Agrárias, 2010. Disponivel em: https://www.scielo.br/j/cagro/a/CtLXh9DFsJmscXQT9nkLsNn/?lang=pt. Acesso em 22 de maio de 2022.

ETHUR, Luciana; CEMBRANEL, Cláudia Zago; SILVA, Antonio Carlos Ferreira da. **Seleção de Trichoderma spp.** Visando ao controle de Sclerotinia sclerotiorum, in vitro. Ciência Rural, Santa Maria, 2001. Disponivel em: https://www.scielo.br/j/cr/a/CzVwzdp86rcLJ6x5wcPXGCw/?format=pdf&lang=pt. Acesso em 30 de maio de 2022.

MATTOS, Maria Laura Turino. **Microbiologia do Solo.** Capitulo 8. 2020. Disponivel em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br. Acesso em 05 de jun. de 2022.

MEYER Sérgio, Maurício Conrado; MAZARO, Miguel; SILVA, Juliano Cesar da. **Trichoderma uso na agricultura.** Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Soja Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Embrapa Brasília, DF 2019. Disponivel em: https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1117296/trichoderma-uso-na-agricultura. Acesso em 15 de fev. de 2023.

OLIVEIRA, Jessica Borges de. **Promoção do crescimento e da produtividade de trigo pelo emprego de cepas comerciais de Trichoderma spp.** Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal. Ipameri-GO 2017. Disponivel em: http://200.137.241.33/bitstream/tede/458/2/Dissertao_Jessica_Borges.pdf. Acesso em 28 de maio de 2022.

OLIVEIRA NETO, Aroldo Antonio de; SANTOS, Candice Mello Romero. **A cultura do trigo**. Brasília: Conab, 2017. Disponível em: https://www.conab.gov.br/uploads/arquivos/17_04_25_11_40_00_a_cultura_do_trigo_versao_digital_final.pdf. Acesso em 10 de abr. de 2022.

PRANDO, André Mateus; ZUCARELI, Claudemir; FRONZA, Vanoli; OLIVEIRA, Fábio Álvares de; OLIVEIRA, Junior. Adilson. **Características produtivas do trigo em função de fontes e doses de nitrogênio**. Pesquisa Agropecuária Tropical. 2013. Disponivel em: https://www.scielo.br/j/pat/a/CjYQ5VmpTmxZCVgT5XXPXYp/?lang=pt. Acesso em 26 de maio de 2022.

SASABUCHI, Isabela T. M.; KRIEGER, Kamile S.; NUNES, Renan S.; FERREIRA, Amanda C.; XAVIER, Gabriela T. M.; URZEDO, Alessandro L.; CARVALHO, Wagner A.; FADINI, Pedro S. **Sustentabilidade no uso de fósforo**: uma revisão bibliográfica com foco na situação atual do estado de São Paulo, Brasil. Quim. Nova, 2023. Disponível em: https://www.scielo.br/j/qn/a/PTSvVtWpwL76nq5TnkpfTKJ/?format=pdf&lang=pt. Acesso em 22 de abr. de 2022.

SILVA, Alieze Nascimento da; BASSO, Claudir José; MURARO, Dionei Schmidt; BREITENBACH, Diego Alan. **Doses de potássio no trigo cultivado em sucessão ao milho silagem.** ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.13 n.23; p. 2016. Disponível em: https://www.conhecer.org.br/enciclop/2016a/agrarias/dose%20de%20potassio.pdf. Acesso em 10 de abr. de 2022.

STORCK, Adrieli. **Ureia no Trigo**: Por que é quando aplicar nitrogênio? 3tentos. 2021. Disponivel em: https://www.3tentos.com.br/triblog/post/52. Acesso em 30 de maio de 2022.

SOUZA, Rodrigo Gomes de; VIEIRA FILHO, José Eustáquio Ribeiro. **Produção de Trigo no Brasil:** Indicadores Regionais e Políticas Públicas. IPEA. Brasília, 2020. Disponivel em: http://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/10315/1/td_2608.pdf. Acesso em 25 de maio de 2022.

BETTIOL, W.; MAFFIA, L. A.; CASTRO, M. L. M. P. Control biológico de enfermedades de plantas en Brasil. In: BETTIOL, W.; RIVERA, M. C.; MONDINO, P.; MONTEALEGRE, J. R.; COLMENÁREZ, Y. C. **Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe.** [Montevidéu]: Faculdad de Agronomia, Universidad de la Republica, 2014., p. 91-137, 2014, p. 91-137.
Acesso em 23 de maio de 2022.

RODRIGUES, Hernani José Brazão et. al. **Variabilidade quantitativa de população microbiana associada às condições microclimáticas observadas em solo de floresta tropical úmida**. Revista Brasileira de Meteorologia. 2011. Disponivel em: https://www.scielo.br/j/rbmet/a/jFw9bJxFJBQYWFCyVsvtPGM/?lang=pt. Acesso em 26 de maio de 2022.

TEIXEIRA FILHO, Marcelo Carvalho Minhoto. **Doses, fontes e épocas de aplicação do nitrogênio em cultivares de trigo sob plantio direto no cerrado.** Ilha Solteira – São Paulo. 2008. Disponivel em: https://www.feis.unesp.br/Home/DTA/STPG/agro/dissertacoes2008/marcelo2008.pdf. Acesso em 22 de maio de 2022.

TORDIN, Cristina. **Bactérias promotoras de crescimento de trigo têm resultado diferenciado para cada cultivar.** Embrapa: Meio Ambiente. Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação. 2021. Disponivel em: https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/58637579/bacterias-promotoras-de-crescimento-de-trigo-tem-resultado-diferenciado-para-cada-cultivar. Acesso em 27 de maio de 2022.