INOCULAÇÃO DE SEMENTES COM *Trichoderma harzianum* E *Azospirillum brasiliense* NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DE ARROZ

Luana da Silva Cadore¹, Nayra Grazielle da Silva², Rosana Taschetto Vey³, Antonio Carlos Ferreira da Silva⁴

1 Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria, (luanascadore@yahoo.com.br) Santa Maria, RS

2 Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS

3 Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS

4 Professor Titular do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS

Recebido em: 03/10/2016 – Aprovado em: 21/11/2016 – Publicado em: 05/12/2016

DOI: 10.18677/EnciBio_2016B_158

RESUMO

Bioformulados tendo como princípios ativos o fungo *Trichoderma* spp. ou bactérias promotoras de crescimento do gênero *Azospirillum* são utilizados na promoção de germinação de sementes e no desenvolvimento de plantas, mesmo na ausência de fitopatógenos. O objetivo deste trabalho foi verificar a influência do tratamento de sementes de arroz cultivar IRGA 424 RI com produtos biológicos à base de *Trichoderma* spp. e *Azospirillum brasiliense*, combinados ou não, na germinação de sementes e no desenvolvimento inicial das plantas. As doses utilizadas foram: T1- Controle (ausência de bioformulados), T2- 0,05 mL de Trichodel®, T3- 0,025 mL Masterfix®, T4- 0,05 mL de Trichodel® + 0,025 de mL Masterfix®, T5- 0,1 mL Trichodel®, T6- 0,05 mL de Masterfix®, T7- 0,1 mL de Trichodel® + 0,05 mL de Masterfix®. As variáveis analisadas foram teste de sanidade de sementes, percentual de germinação em substrato, comprimento de parte aérea de plantas, massa de matéria fresca e seca de parte aérea. Observa-se um incremento no percentual de germinação na utilização das doses de 0,1 mL de Trichodel® e 0,05 mL de Masterfix®, nos tratamentos com estas doses associadas ou não. Já para o comprimento de parte aérea de plântulas de arroz não houve significância para os tratamentos testados, bem como não houve incremento na massa de matéria fresca e seca de parte aérea. Portanto, conclui-se que as doses de 0,1 mL de Trichodel® e 0,05 mL de Masterfix®, bem como a combinação das duas, aumenta a percentagem de germinação de sementes de arroz CV IRGA 424 RI nas condições testadas neste experimento.

PALAVRAS-CHAVE: Trichodel®, Masterfix®, IRGA 424 RI.

SEED INOCULATION WITH *T. harzianum* and *Azospirillum* BRASILIENSE RICE IN INITIAL DEVELOPMENT

ABSTRACT

Formulated with organic active ingredients as the fungus *Trichoderma* spp. or growth promoting bacteria of genus *Azospirillum* are used in seed germination promotion

and development of plants, even in the absence of pathogens. The aim of this study was to investigate the influence of rice seed treatment IRGA 424 RI with *Trichoderma* spp. and *Azospirillum brasiliense* biological products, combined or not, in the seed germination and in the early plant development. The doses used were: T1- control (absence of *B. thuringiensis*), T2 - 0.05 mL Trichodel®, T3 - 0,025 mL Masterfix®, T4 - 0.05 mL Trichodel® + 0.025 Masterfix®, T5 - 0.1 mL Trichodel®, T6 - 0.05 mL Masterfix®, T7 - 0.1 mL Trichodel®+ 0.05 mL Masterfix®. The variables analyzed were seed health test, germination percentage of substrate, shoot length plants, fresh weight and shoot dry. An increase was observed in germination percentage with the use of 0.1 ml dose of Trichodel® and 0,05 mL dose of Masterfix®, combined or not. As for the shoot, length of rice seedlings was not significant for the treatments, and there was no increase in fresh weight and shoot dry. Therefore, it is concluded that the dose of 0.1 mL of Trichodel® and 0,05 mL Masterfix® as well as a combination of both, increases the percentage of rice seed germination CV IRGA 424 RI under the conditions tested in this experiment.

KEYWORDS: Trichodel®, Masterfix®, IRGA 424 RI

INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa*) é um dos alimentos mais importantes para a nutrição humana, ocupando a segunda colocação entre os cereais mais cultivados no mundo, tendo aproximadamente 158 milhões de hectares em área cultivada. No Brasil o Rio Grande do Sul é o estado que mais produz arroz irrigado, principalmente na Fronteira Oeste do estado (SOSBAI, 2014).

O uso de bioformulados à base de microrganismos pode estimular a germinação de sementes e o desenvolvimento no estágio inicial das culturas influenciando positivamente o desenvolvimento da cultura e, por conseguinte, a produção de grãos. A promoção de crescimento pelo uso de microrganismos pode ocorrer através da produção de hormônios que influenciarão no desenvolvimento da planta, bem como suprimindo eventuais necessidades nutricionais da planta pela mineralização de nutrientes (MACHADO et al., 2011).

MACHADO et al. (2011), ainda relatam que estirpes de trichoderma podem colonizar raízes de plantas, estimulando o desenvolvimento, bem como protegendo as raízes contra possíveis infecções; essa colonização pode influenciar na produtividade da cultura, resistência a estresses abióticos, além de otimizar o uso de nutrientes do solo pelo estímulo no desenvolvimento radicular das plantas. Os autores ainda citam o potencial de solubilização de fosfato por isolados de *Trichoderma* sp., bem como sintetização de AIA (ácido indol acético).

As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) correspondem a microrganismos que possuem a capacidade de colonizar a superfície das raízes, bem como tecidos internos das plantas. Estas podem estimular o crescimento através da fixação biológica de nitrogênio, aumento na atividade da enzima redutase do nitrato, produção de hormônios, como auxinas, citocininas, giberilinas e etileno, por exemplo; além de solubilizar fosfato e atuar no controle biológico de patógenos, beneficiando o desenvolvimento das plantas devido a todos esses fatores. (HUNGRIA, 2011).

HUNGRIA (2011), ainda cita que o gênero *Azospirillum* corresponde a bactérias de vida livre, encontradas no solo de diversas regiões do mundo, sendo que estas bactérias possuem a capacidade de fixação biológica de nitrogênio

quando na presença de gramíneas. As bactérias do gênero *Azospirillum* são capazes de quebrar a tripla ligação do nitrogênio atmosférico, transformando-o em formas assimiláveis pela planta que é amônia (NH_4^{4+}) e o nitrato (NO_3^3). Por isso, essas bactérias têm sido utilizadas como inoculante em sementes de arroz, para auxiliar no fornecimento de parte do nitrogênio que a planta necessita (HUNGRIA, 2011).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi verificar a influência do tratamento de sementes de arroz cultivar IRGA 424 Ri com produtos biológicos à base de *Trichoderma* spp. e de *Azospirillum brasiliense*, combinados ou não, na germinação de sementes e no desenvolvimento inicial das plantas.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Interação Planta - Microrganismos da Universidade Federal de Santa Maria, localizado no município de Santa Maria/RS, no ano de 2016. Foram utilizadas sementes da cultivar de arroz IRGA 424 RI, safra 2014/15, provenientes da Fronteira Oeste do Rio Grande do Sul. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com sete tratamentos e três repetições cada, sendo um dos tratamentos a testemunha, na qual não houve contato das sementes com nenhum dos dois produtos utilizados.

Visando determinar a qualidade sanitária das sementes para os testes foi realizado um teste preliminar de sanidade (*Blotter Teste*), utilizando-se quatro caixas *gerbox* contendo três folhas de papel *germitest* esterilizadas e levemente umedecidas com água esterilizada, sendo realizada a semeadura de 25 sementes de arroz por caixa *gerbox*. Após a semeadura, as caixas *gerbox* foram encaminhadas para congelamento por 24 horas para que ocorresse a inibição do processo de germinação das sementes. Posteriormente, foram alocadas em câmara BOD à 25°C com fotoperíodo de 12 horas por sete dias. As sementes foram analisadas com auxílio de lupa estereoscópica, para a presença de bactérias e de estruturas morfológicas dos fungos e, quando possível, identificados ao nível de gênero conforme BARNETT & HUNTER (1998).

As sementes de arroz foram tratadas com os bioprodutos líquidos comerciais Trichodel® (princípio ativo linhagens de *Trichoderma* spp., concentração de 1.10^9 UFC.mL⁻¹), e Masterfix® gramíneas (princípio ativo *Azospirillum brasiliense*, cepas AbV5 e AbV6, concentração mínima de 2.10^8 UFC.mL⁻¹), conforme os tratamentos apresentados no Quadro 1.

QUADRO 1 -Disposição dos tratamentos de acordo com as doses dos bioformulados comerciais Trichodel® e Masterfix® gramíneas.

Tratamentos	Doses*
T1	Controle (Ausência de bioprodutos)
T2	0,05 mL de Trichodel®
T3	0,025 mL Masterfix®
T4	0,05 mL Trichodel® + 0,025 mL Masterfix®
T5	0,1 mL Trichodel®
T6	0,05 mL Masterfix®
T7	0,1 mL Trichodel® + 0,05 mL Masterfix®

*As doses foram utilizadas para tratar 10 gramas de sementes.

Germinação, comprimento de parte aérea, massa de matéria fresca e seca de parte aérea

O teste de germinação em substrato comercial foi conduzido em caixas do tipo *gerbox* (caixa plástica transparente, medindo 11x11x3cm) contendo aproximadamente 200g de substrato Plantmax®. Utilizou-se 100 sementes de arroz por tratamento distribuídas em três repetições e após a semeadura as caixas *gerbox* foram alocadas em câmara climatizada do tipo BOD à 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Os substratos foram mantidos umedecidos. Aos cinco dias após a semeadura foi realizada a primeira contagem de germinação e a segunda se deu aos quatorze dias após a semeadura.

Ao final dos 14 dias, as plântulas foram retiradas e selecionadas aleatoriamente 10 plantas de cada repetição, para as quais foi determinado o comprimento de parte aérea com auxílio de régua milimetrada. Posteriormente, determinou-se a massa de matéria fresca de parte aérea das plântulas, sendo a seguir inseridas em sacos de papel pardo e encaminhadas para estufa à 50°C por 72 horas para determinar a massa de matéria seca da parte aérea.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram testados quanto a normalidade e submetidos a análise de variância pelo teste F e estes foram comparados pelo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade, utilizando o software Assistat versão 7.7 beta (SILVA, 2016).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises de incidência fúngica e bacteriana nas sementes de arroz cultivar IRGA 424RI encontram-se na Tabela 1, onde observou-se 79% de sementes sadias, sem a incidência de gêneros fúngicos ou de bactérias para o lote de sementes utilizado nos experimentos. A incidência fúngica foi apenas de 17% (*Nigrospora* 5%, *Rhizopus* 3%, outros 9% não identificados) e 7 % de Bactérias não identificadas. Com base nos dados obtidos pode-se inferir que a qualidade sanitária do lote de sementes testado é relativamente adequada para execução de testes com bioprodutos na germinação das sementes de arroz e desenvolvimento de parte aérea, devido a uma possível menor interação entre os poucos microrganismos presentes e os bioprodutos.

TABELA 1 - Incidência fúngica e bacteriana em sementes de arroz cultivar IRGA 424RI.

Sementes Sadias (%)	Incidência fúngica e bacteriana (%)			
	Bactérias N.I.*	Gêneros Fúngicos N.I.*	<i>Nigrospora</i>	<i>Rhizopus</i>
79	7	9	5	3

*N.I. = não identificados (as)

Germinação, comprimento de parte aérea, massa de matéria fresca e seca de parte aérea

Os tratamentos com os bioformulados Trichodel® e Masterfix® nas doses 0,1 mL e 0,05 mL, respectivamente, de forma isolada ou associada influenciaram positivamente a germinação de sementes de arroz cultivar IRGA 424 RI (Tabela 2). Pode-se observar que para o tratamento com 0,1mL de Trichodel e 0,05 mL de Masterfix houve um incremento de 7,15% a mais no percentual de germinação quando comparados com o controle, e 11,20% a mais comparado ao tratamento com 0,025 mL de Masterfix®.

DARTORA et al. (2013), também observaram o aumento no percentual de germinação de sementes de cultivares de trigo tratadas com diferentes estirpes de *A. brasiliense*. CARVALHO et al. (2011), relatam ter observado um incremento no percentual de germinação de plântulas normais de feijão aos nove dias após a germinação em papel filtro, tratadas com diferentes isolados de *Trichoderma harzianum* e Trichodermil® SC. Estes dados corroboram com os obtidos neste ensaio, onde se obteve incremento da germinação nas doses superiores dos bioformulados utilizados, tanto nos tratamentos de forma isolada quanto associada.

Para variável comprimento de parte aérea de plantas de arroz observou-se certa similaridade entre as médias, ocorrendo um decréscimo abaixo de 1% para o tratamento com 0,025 mL de Masterfix®, quando comparado aos demais tratamentos (Tabela 2). MACHADO et al. (2015) utilizaram Trichodermil® (*Trichoderma harzianum*) na emergência e crescimento de mudas de cambará e também observaram que não houve incremento na altura das plântulas, concordando com os dados dos tratamentos com *Trichoderma* spp. (Trichodel®) na Tabela 2.

TABELA 2 - Germinação de sementes (G) e comprimento de parte aérea (CPA) de plantas de arroz cultivar IRGA 424 RI aos quatorze dias após a semeadura.

Doses (mL)	% G	CPA (cm)
Controle (Ausência de produto)	89,33 b	22,47 a
0,05 Trichodel®	90,67 b	21,22 a
0,025 Masterfix®	84,00 b	19,32 b
0,05 Trichodel® + 0,025 Masterfix®	86,67 b	21,60 a
0,1 Trichodel®	97,33 a	22,51 a
0,05 Masterfix®	97,33 a	21,57 a
0,1 Trichodel® + 0,05 Masterfix®	96,00 a	23,05 a
CV%	5,64	4,55

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Com relação à massa de matéria fresca de parte aérea (Tabela 3) observou-se diferença entre os tratamentos, apresentando menor incremento de massa os tratamentos com 0,025 mL de Masterfix® e o com 0,05 mL de Trichodel® + 0,025 mL de Masterfix®. O tratamento com 0,1 mL de Trichodel® + 0,05 mL de Masterfix® apresentou incremento de 8,7% a mais quando comparado com o controle, e 22,1% a mais quando comparado com o tratamento com 0,025 mL de Masterfix®. Já para a variável massa de matéria seca de parte aérea não houve diferença significativa entre os tratamentos analisados, sendo que o tratamento com 0,05 mL de Trichodel® apresentou um incremento da MSPA de 6,5% quando comparado com o

controle, e 17,7% a mais quando comparado ao tratamento com 0,025 mL de Masterfix®.

TABELA 3 - Massa de matéria fresca de parte aérea (MFPA) e massa de matéria seca de parte aérea (MSPA) de plantas de arroz cultivar IRGA 424 Ri aos quatorze dias após a semeadura.

Tratamento	MFPA (g)	MSPA (g)
Controle (Ausência de produto)	0,610 a	0,100 a
0,05 Trichodel®	0,666 a	0,107 a
0,025 Masterfix®	0,520 b	0,088 a
0,05 Trichodel® + 0,025 Masterfix®	0,559 b	0,101 a
0,1 Trichodel®	0,668 a	0,105 a
0,05 Masterfix®	0,656 a	0,104 a
0,1 Trichodel® + 0,05 Masterfix®	0,668 a	0,098 a
CV %	12,12	12,24

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Embora não tenha sido observada diferença significativa entre os tratamentos quanto a MSPA de plantas de arroz aos 14 dias após a semeadura (Tabela 3), SILVA et al. (2011), utilizando o produto Trichodermil® em mudas de pepineiro, observaram que o produto comercial, promoveu aumento de 74,58% na MMS de parte aérea das plantas de pepino aos 21 dias. BARBIERI et al. (2013), utilizaram Trichodel® e outros produtos para tratamento de sementes de aveia preta, e aos 40 dias após a germinação não observaram diferenças significativas para as variáveis massa de matéria fresca e seca de plantas de aveia preta. Esse dado corrobora com os obtidos nesse ensaio, onde aos 14 dias após a germinação, não ocorreu incremento na massa de matéria fresca e seca de parte aérea de plantas de arroz CV IRGA 424 RI.

Pode-se inferir que a utilização de biorfomulados nas doses superiores utilizadas neste experimento, de forma isolada ou associada, proporcionaram incremento no percentual de germinação das sementes de arroz CV IRGA 424 RI, sem ocorrência de incremento na massa de matéria fresca e seca de parte aos 14 dias após a emergência, ou seja, os biorfomulados estimularam a germinação das sementes em substrato.

CONCLUSÕES

Conclui-se que as doses 0,1 mL de Trichodel® e 0,05 mL de Masterfix®, bem como a combinação das mesmas, aumentam a percentagem de germinação de sementes de arroz CV IRGA 424RI nas condições testadas no presente trabalho, e não alteram a massa de matéria de fresca e seca, e o comprimento da parte área das plantas aos 14 dias após a semeadura.

REFERÊNCIAS

BARBIERI, M.; DUTRA, C.B.; BIANCHINI, N.H.; MUNIZ, M.F.B.; DÖRR, A.C. Análise de desenvolvimento a campo e avaliação de massa seca e massa verde de plantas de aveia preta CV. Comum (*Avena strigosa schreb*). **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**. v.11, n11, p.2407-2412, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5902/223611708799>>. doi: 10.5902/223611708799

BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. St Paul, Minnesota: APS Press, 1998. 218p.

CARVALHO, D.D.C.; MELLO, S.C.M.; JÚNIOR, M.L.; SILVA, M.C. Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* *in vitro* e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Revista Tropical Plant Pathology**. v. 36, n.1, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1982-56762011000100004>>. doi: 10.1590/S1982-56762011000100004

DARTORA, J.; MARINI, D.; GUIMARÃES, V.F.; PAULETTI, D.R.; SANDER, G. Germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas de milho e trigo inoculadas com estípers de *Azospirillum brasiliense* e *Herbaspirillum seropedicae*. **Revista Global Scienci and Technology**. v.6, n.3, p. 190-201, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.14688/1984-3801.v06n03a20>>. doi: 10.14688/1984-3801.v06n03a20

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasiliense*: inovação em rendimento e baixo custo. **Documentos/Embrapa soja**, n.325, Londrina. 2011. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/download/doc325.pdf>>

MACHADO, D.F.M.; TAVARES, A.P.; LOPES, S.J.; SILVA, A.C.F. *Trichoderma* spp. na emergência e crescimento de mudas de cambará (*Gohnatia polymorpha* (Less.) Cabrera)¹. **Revista Árvore**. v.39, n.1, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/0100-67622015000100016>> doi: 10.1590/0100-67622015000100016

MACHADO, R.G.; SÁ, E.L.S.; DAMASCENO, R.G.; HAHN, L.; ALMEIDA, D.; MORAES, T.; CAMARGO, F.A.O.; REARTES, D.S. Promoção de crescimento de *Lotus corniculatus* L. e *Avena strigosa* Schreb pela inoculação conjunta de *Trichoderma harzianum* e rizóbio. **Revista Ciência e Natura**. v.33, n.2, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5902/2179460X9365>>. doi: 10.5902/2179460X9365

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO. Arroz irrigado: Recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil. Porto Alegre: **SOSBAI**, 2014. 192p.

SILVA, F.A.S. **ASSISTAT: Versão 7.7 beta**. DEAG-CTRN-UFCG – Atualizado em 13 de maio de 2016. Disponível em <http://www.assistat.com/>

SILVA, V.N.; GUZZO, S.D.; LUCON, C.M.M.; HARAKAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa agropecuária brasileira**. v.46, n.12, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2011001200005>> doi: 10.1590/S0100-204X2011001200005