

**QUALIDADE FISIOLÓGICA E SANITÁRIA DE SEMENTES DE SOJA TRATADAS
COM FUNGICIDA QUÍMICO E MICRO-ORGANISMOS PROMOTORES DE
CRESCIMENTO (*Trichodermaspp.* E *Azospirillum spp.*)**

SANT'ANA, Amanda Luca¹
SEGATO, Silvelena Vanzolini²

Recebido em: 2020.02.06

Aprovado em: 2020.10.14

ISSUE DOI: 10.3738/1982.2278.3740

RESUMO: Objetivou-se avaliar a germinação, o vigor e a sanidade de sementes de soja em função do tratamento das sementes com produtos biológicos a base de *Trichoderma harzianum* e *Azospirillum brasilense* e com fungicida químico. O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes da Faculdade Doutor Francisco Maeda, Ituverava, SP. Utilizaram-se sementes de soja da cultivar TMG 7062. Os tratamentos avaliados foram: I - Sem Tratamento (testemunha), II- Tratamento com Fungicida Químico: Carboxina + Thiram; III- Tratamento com fungicida biológico *Trichoderma spp.*, IV- Tratamento com inoculante *Azospirillum spp.*, V- Fungicida + *Azospirillum spp.*, VI- *Trichoderma spp.* + *Azospirillum spp.*, VII – Fungicida + *Trichoderma spp.* + *Azospirillum spp.* Avaliou-se a qualidade fisiológica das sementes pelos testes de: primeira contagem da germinação, germinação, envelhecimento acelerado e massa de seca de plântulas e a sanidade das sementes pelo método do papel de filtro. Conclui-se que o fungicida químico foi o mais eficiente no controle dos fungos encontrados nas sementes e associado ao inoculante *Azospirillum brasilense* aumentou a germinação das sementes de soja. *A. brasilense* melhorou o vigor das sementes e *Trichoderma harzianum* resultou em maior crescimento das plantas, demonstrando o efeito destes micro-organismos como promotores de crescimento.

Palavras-Chave: Inoculante. Fungicida biológico. *Glycine max.* Tratamento de sementes.

**PHYSIOLOGICAL AND SANITARY QUALITY OF SOYBEAN SEEDS TREATED
WITH CHEMICAL FUNGICIDE AND GROWTH-PROMOTING MICRO-ORGANISMS
(*Trichoderma spp.* and *Azospirillum spp.*)**

SUMMARY: The present work aimed to evaluate the germination, vigor and health of soybean seeds as a function of the treatment of seeds with biological products based on *Trichoderma harzianum* and *Azospirillum brasilense* and with chemical fungicide. The experiment was conducted at the Laboratory of Seed Analysis of the Doctor Francisco Maeda College, Ituverava, SP. Soybean seeds of cultivar TMG 7062 were used. The evaluated treatments were: I - No Treatment (control), II - Chemical Fungicide Treatment: Carboxin + Thiram; III- Treatment with biological fungicide *Trichoderma spp.*, IV- Treatment with inoculant *Azospirillum spp.*, V- Fungicide + *Azospirillum spp.*, VI- *Trichoderma spp.* + *Azospirillum spp.*, VII - Fungicide + *Trichoderma spp.* + *Azospirillum spp.* The physiological quality of the seeds was evaluated by the tests of: first germination count, germination, accelerated aging and seedling dry mass and seed health by the filter paper method. It was concluded that the chemical fungicide was the efficient one in the control of the fungi found in the seeds and associated with the inoculant *Azospirillum brasilense* increased germination of soybean seeds. *A. brasilense* improved seed vigor and *Trichoderma harzianum* resulted in higher plant growth, demonstrating the effect of these microorganisms as growth promoters.

Keywords: Inoculant. Biological fungicide. *Glycine max.* Seed treatment.

INTRODUÇÃO

De acordo com Popov (2019), a soja é uma das principais fontes de renda no Brasil, liderando o ranking de produto mais exportado há 22 anos e com uma área plantada total de 35,27

¹ Engenheira Agrônoma. Faculdade Dr. Francisco Maeda – FAFRAM. Fundação Educacional de Ituverava

² Docente. Faculdade Dr. Francisco Maeda – FAFRAM. Fundação Educacional de Ituverava. Faculdade Moura Lacerda.

milhões de hectares. Ressalta-se o histórico do crescimento na produtividade média nesses últimos 22 anos, passando de 39,7 para 56,6 sacas por hectare. Esse aumento na produtividade da cultura da soja está associado provavelmente aos avanços tecnológicos, ao manejo e eficiência dos produtores (CAMPANHOLA, 2019).

Neste contexto, a busca por uma boa semente contribui para que a distribuição do estante seja uniforme, auxiliando o produtor a alcançar maiores níveis de produtividade. Uma semente de boa qualidade deve ter altas taxas de vigor, sanidade e germinação, além de garantias de purezas física e genética (KRZYZANOWSKI; FRANÇA-NETO; HENNING, 2018). Esses fatores são responsáveis pelo desempenho da semente no campo, estabelecendo as características da cultivar como a população de plantas requeridas pela mesma, aspecto este fundamental que contribui para que sejam alcançados altos níveis de produtividade (KRZYZANOWSKI, 2004).

É sabido que as sementes podem ser veículos de disseminação de patógenos tornando-se necessárias medidas como o tratamento de sementes e análise de sanidade, o qual se refere, em princípio, à análise da presença ou ausência de agentes patogênicos (principalmente os fungos) nas sementes (GOULART, 2018).

Para o cultivo da soja, como para qualquer outra cultura, fatores como a escolha de sementes sadias e a realização do tratamento de sementes devem ser considerados, pois objetivam manter a qualidade das plantas, permitindo a expressão do máximo potencial da cultura no campo (CUNHA *et al.*, 2015).

Nesse sentido a Organização Mundial para Alimentação e Agricultura (FAO) destaca os fitopatógenos como responsáveis por 13,3% das perdas na produção agrícola (JUHÁSZ *et al.*, 2013), além de levarem à perda da qualidade fisiológica das sementes, causando redução na germinação deixando claro a necessidade do aprimoramento do manejo de doenças da soja.

As sementes infectadas constituem-se na principal fonte de inóculo do patógeno, e pode ou não ser transmitido para a planta, uma vez que depende da quantidade e localidade de suas estruturas nas sementes, assim como, das condições climáticas (SOUZA, 2009).

Uma alternativa de minimizar o efeito negativo de patógenos é o tratamento de sementes. De acordo com Henning *et al.* (1994), a finalidade de permitir a germinação de sementes infectadas, controlar patógenos transmitidos pela semente e proteger as sementes dos fungos do solo. Mertz; Henning; Zimmer (2009) relataram que esse manejo assegura estande adequado, plantas vigorosas, retardo no início de epidemias e, conseqüentemente, mantém o potencial produtivo da cultura (GOULART, 1998).

No manejo integrado, o tratamento sanitário de sementes é considerado uma das medidas mais recomendadas por controlar doenças na fase que antecede a implantação da cultura,

possibilitando um menor uso de defensivos químicos, evitando problemas graves de poluição do ambiente (MACHADO, 2000). Entretanto, Mertz, Henning e Zimmer (2009) relatam que os fungicidas químicos especialmente do grupo dos benzimidazóis associados a um fungicida de contato, garantem um estande adequado de plantas, mesmo com a semeadura coincidindo com períodos de estiagem. E ainda Parisi e Medina (2013) destacam que cerca de 90% das sementes de soja brasileira são tratadas com fungicidas e que o mercado dos fungicidas usados para tratamento de sementes é crescente.

Entre as propostas para o tratamento de sementes, que visam reduzir o impacto dos produtos químicos sobre o ambiente, encontra-se a microbiolização. Tal procedimento é definido como a aplicação de micro-organismos vivos às sementes para promoção do crescimento de plantas e/ou controle de fitopatógenos (MELO, 1996; BRAND *et al.*, 2009). Esta é uma técnica interessante, pois possibilita também a proteção contra fungos do solo já no processo de semeadura (STEFFEN *et al.*, 2018). Além disso, é pertinente dizer que sementes tratadas com fungicidas ou produtos de biocontrole reduzem a disseminação de patógenos, o que contribui para a alta densidade do estande de plantas (SARTORI; REIS; CASA, 2004).

Na microbiolização destaca-se o uso do fungo *Trichoderma sp.*, que ocorre no mundo inteiro, em praticamente todos os tipos de solos, especialmente nos que contém matéria orgânica (HOWELL, 2003). As espécies de *Trichoderma* normalmente são facilmente encontradas na microbiota de quase todos os tipos de solos, principalmente nos orgânicos, inclusive na camada de húmus das florestas, solos agrícolas em pomares e campos. Podendo viver saprofiticamente ou parasitando outros fungos (ROIGER; JEFFERS; CALDWELL, 1991; HARMAN *et al.*, 2004).

O fungo *Trichoderma sp.* corresponde a fase anamórfica do gênero *Hypocrea* que pertence ao filo Ascomycota (AGRIOS, 1997). Trata-se de um micro-organismo necrotrófico de vida livre, altamente interativos nos solos, nas raízes e superfície foliar, tendo apresentado grande eficácia no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos (MELO, 1998). Considerados como fungos oportunistas, simbioses de plantas, fortes competidores no ambiente do solo e são também importantes produtores de antibióticos e parasitas de fungos fitopatogênicos (KUMAR *et al.*, 2012).

Utilizado no processo de tratamento de sementes, fungos desse gênero apresentam potencial para o controle de fitopatógenos e para a promoção do crescimento vegetal (MACHADO *et al.*, 2012).

Conforme relatado por Machado *et al.* (2011), estirpes de *Trichoderma spp.* podem colonizar as raízes das plantas e de acordo com Harman *et al.* (2004), invade as camadas superficiais da raiz, porém sem penetração, pelo menos em parte. As reações de defesa das plantas podem tornar-se sistêmicas e proteger a planta de uma série de fitopatógenos, mesmo

quando o *Trichoderma* spp. cresce somente nas raízes. Essa colonização das raízes também pode aumentar o crescimento das raízes, aumentando a absorção de nutrientes indicando uma interação de simbiose, aumentando assim a produtividade. O *Trichoderma* spp. pode ainda atuar como promotor de crescimento e florescimento de plantas, melhorando o rendimento de grãos (MELO, 1996).

Segundo Brotman, Gupta e Viterbo (2010), espécies de *Trichoderma* spp. podem promover aumentos de até 300% no crescimento de plantas. Em reforço a isto, pesquisas comprovam a importante ação de metabólitos secundários produzidos pelo fungo, na promoção de crescimento de plantas e indução de resistência a patógenos (HARMAN *et al.*, 2004).

Segundo Martínez, Infante e Reyes (2013), as espécies do gênero *Trichoderma* têm recebido atenção científica e agroeconômica por apresentarem ações de antagonismo contra diversos patógenos, tais como parasitismo, antibiose e competição. Machado *et al.* (2012) destacam a utilização de formulados a base de *Trichoderma* spp. que vem sendo amplamente estudada, isto porque o fungo é utilizado como agente de biocontrole e na promoção de crescimento vegetal.

Portanto, micro-organismos deste gênero, promotores de crescimento das plantas (MARTINS-CORDER; MELO, 1997), contribuem diretamente para o aumento da produção agrícola, reduzindo custos para o produtor (MACHADO *et al.*, 2012), aparecendo como uma tecnologia alternativa para controlar fitopatógenos, já que espécies de *Trichoderma* podem promover a redução do uso excessivo de fungicidas e no desenvolvimento da agricultura sustentável (LUZ, 2001).

Outro grupo de micro-organismos promotores do crescimento de plantas são as bactérias gram-negativas dos gêneros: *Azospirillum*, *Gluconacetobacter*, *Pseudomonas* e *Rhizobium*. Estes micro-organismos conseguem sucesso na colonização das plantas, por serem resistentes a estresses e possuírem características como motilidade, aderência e quimiotaxia. E nesta relação, as plantas fornecem o carbono e aminoácidos para a nutrição microbiana e metabólitos secundários, que podem influenciar na atividade destes micro-organismos (MOE, 2013; WESTON; MATHESIUS, 2013; BERG; MAHNERT; MOISSEL-EICHINGER, 2014).

Essas bactérias associativas são capazes de promover o crescimento das plantas por meio de vários processos, incluindo a produção de hormônios de crescimento, tais como auxinas, giberelinas e citocininas (TIEN; GASKINS; HUBBELL, 1979; HUNGRIA *et al.*, 2010; MASCIARELLI *et al.*, 2013), a indução de resistência sistêmica a doenças e estresses ambientais, a capacidade de solubilizar fósforo e, também, de realizar fixação biológica de nitrogênio (FBN). Dentre as bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP) não

simbióticas, destacam-se as pertencentes ao gênero *Azospirillum*, utilizadas mundialmente como inoculantes (BASHAN; BASHAN, 2005; HUNGRIA *et al.*, 2010).

Os micro-organismos do gênero *Azospirillum* pertencem à subclasse α das proteobactérias, assim como *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Agrobacterium* e *Gluconacetobacter*, a qual comporta um grande número de bactérias simbióticas e associativas a plantas (HARTMANN; BALDANI, 2006). No caso das bactérias do gênero *Azospirillum* são pertencentes ao um grupo de vida livre, encontrado em quase todos os lugares da terra; embora haja relatos de que bactérias deste gênero podem ser endofíticas facultativas (DÖBEREINER; PEDROSA, 1987; HUERGO *et al.*, 2008).

Os resultados da inoculação com *Azospirillum brasilense* é atribuído às alterações fisiológicas causada nas plantas, devido à liberação de hormônios como auxinas e citocininas que aumentam o crescimento radicular e com isso a planta tende a absorver mais água e nutrientes (ZAFAR *et al.*, 2012).

Outros efeitos associados ao desenvolvimento radicular, por meio da inoculação com *Azospirillum spp.*, são a maior absorção de água e minerais, tolerância maior a estresses, o que resulta em mais vigor e produtividade na planta (BASHAN; HOLGUIN, 1997; BASHAN; HOLGUIN; DE-BASHAN, 2004), melhor nutrição e também maior resistência a agentes patogênicos (CORREA *et al.*, 2008).

Dartora *et al.* (2013) observaram incremento no percentual de germinação de sementes de cultivares de trigo tratadas com diferentes estirpes de *A. brasiliense*. Para Rizzi (2018) na emergência de plântulas em substrato, em condições de viveiro, o melhor tratamento de sementes de amendoim ocorreu com da associação do tratamento padrão (fungicida + inseticida + polímero) com *Azospirillum spp.* resultando em 80% de plântulas emersas, superando a testemunha com fungicida ou tratamento padrão e também os demais tratamentos com *Trichoderma spp.*, *Bacillus spp.* e associações.

Segundo Mertz; Henning; Zimmer (2009) vários produtos bioprotetores estão sendo comercializados e recomendados para o tratamento de sementes de soja e o contrário do que ocorre com os fungicidas químicos, as informações geradas pela pesquisa na área de tratamento de sementes com fungicidas biológicos ainda são escassas.

Assim, o presente trabalho objetivou verificar o efeito do tratamento de sementes com o fungicida biológico a base de *Trichoderma spp.* e do inoculante *Azospirillum spp.* isolados ou associados ao fungicida químico sobre a germinação, o vigor e a sanidade de sementes de soja.

MATERIAL E MÉTODO

Local. O experimento foi conduzido no laboratório de análise de sementes do campus da Faculdade Doutor Francisco Maeda (FAFRAM), Ituverava/SP.

Cultura. As sementes utilizadas foram de soja da cultivar TMG 70/62. O lote em questão foi doado por produtor e se encontrava armazenado em sua propriedade localizada no município de Arapuã – PR.

Tratamento das sementes. Para o tratamento das sementes, o lote foi previamente dividido em sete sacos de plástico contendo 0,5 kg de sementes em cada um e receberam os tratamentos com as quantidades e ordem de produtos indicados na Tabela 1, sendo agitados manualmente para distribuição uniforme dos produtos sobre a superfície das sementes.

Os tratamentos foram constituídos dos seguintes produtos comerciais: Vitavax-Thiram®, Trichodermil® e Azokop®, sendo a testemunha sem nenhum produto. Foram dispostos da seguinte maneira: - Tratamento 1 (T1) - testemunha (sem aplicação de produto); Tratamento 2 (T2) – Vitavax-Thiram®; Tratamento 3 (T3) - Trichodermil®; - Tratamento 4 (T4) – Azokop®; Tratamento 5 (T5) – Vitavax-Thiram® + Azokop®; Tratamento 6 (T6) – Trichodermil® + Azokop®; Tratamento 7 (T7) – Vitavax-Thiram® + Trichodermil® + Azokop®.

Segundo a Bula, os produtos biológicos apresentam garantia de no mínimo de $2,0 \times 10^9$ conídios viáveis por mL e $1,8 \times 10^8$ UFC por mL, respectivamente para Trichodermil® e AzoKop®.

Tabela 1. Nome dos produtos comerciais (p.c.), ingredientes ativos (i.a.), classe e doses (mL do p.c. por 0,5 kg de semente e mL do p.c. por 100 kg de semente) utilizadas dos produtos empregados no experimento sobre micro-organismos promotores do crescimento de plantas, em sementes de soja. Ituverava, 2019.

Produto comercial	Ingrediente ativo	Classe	Dose (mL por 0,5 kg)	Dose comercial (mL por 100 kg)
Vitavax-Thiram 200 SC ®	Carboxina 200 g.L^{-1} + Tiram 200 g.L^{-1}	Fungicida sistêmico e de contato	1,5	300
Trichodermil®	<i>Trichoderma harzianum</i>	Fungicida e nematocida biológico	1	200
Azokop®	<i>Azospirillum brasilense</i>	Inoculante. Cepas: AbV5 e AbV6	1	200

Fonte: Adaptado das Bulas dos produtos

Avaliações: Teor de água (TA). Antes das sementes serem submetidas ao tratamento foi avaliado o teor de água utilizando-se três repetições de 25 sementes de acordo o método da estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ por 24 horas, segundo as RAS - Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Nucleus, v.17, n.2, out. 2020

Teste padrão de germinação (TPG). Executado de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), com exceção do número de sementes (quatro repetições de cinquenta sementes). Foi utilizado como substrato, papel toalha para germinação (*Germitest*), previamente umedecido com água na proporção de 2,5 vezes o seu peso seco. Os rolos de papel contendo as sementes foram acondicionados em sacos de plástico e mantidos em posição vertical em germinador horizontal na temperatura constante de 25 °C. A contagem foi realizada ao quinto (primeira contagem da germinação) e ao oitavo dia após a semeadura (contagem final), no qual se considerou o número de plântulas normais obtidas para o cálculo da porcentagem de germinação.

Massa seca de plântulas (MS). Foram utilizadas as plântulas resultantes da germinação, excluindo destas os cotilédones. Em seguida cada repetição foi acondicionada em sacos de papel, identificados e levados à estufa com circulação de ar forçada e mantida à temperatura de 80°C por um período de 24 horas (NAKAGAWA, 1999). Após este período, cada repetição foi pesada com auxílio de uma balança de precisão de três casas decimais, e os resultados médios de massa seca foram expressos em miligramas por plântula. **Envelhecimento acelerado (EA).** Conduzido, segundo procedimentos descritos por Marcos Filho (1999), em caixas plásticas (10 x 10 x 3 cm) com 42 g de sementes distribuídas em camada uniforme e única sobre a tela que isola as sementes dos 40 mL de água destilada. As caixas tampadas foram acondicionadas em câmara a 41°C. Decorridas 48 horas, as sementes foram imediatamente submetidas ao teste de germinação, conforme procedimentos descritos nas RAS (BRASIL, 2009). No quinto dia após a instalação do teste de germinação, foi efetuada a contagem do número de plântulas normais. O resultado foi expresso em porcentagem. **Teste de sanidade (*Blottertest*).** O teste foi realizado com 100 sementes por tratamento. Em placas de Petri, as sementes foram dispostas individualmente sobre duas folhas de papel mata borrão, mantendo se distanciadas dois cm uma das outras. As placas com as sementes foram dispostas sob lâmpadas de luz fluorescente branca, a distância de 30 cm, em câmaras com fotoperíodo de 12 horas pelo período de oito dias a temperatura de 20 ± 2°C. As sementes foram examinadas individualmente com auxílio de um estereomicroscópio a resolução de 80 X, pela ocorrência de frutificações típicas do crescimento de fungos. Observações de lâminas ao microscópio ótico foram, algumas vezes, necessárias para confirmar a identidade dos fungos.

Procedimentos estatísticos. Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado com sete tratamentos e para os testes de avaliação fisiológica empregou-se o teste F para a análise de variância dos dados. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Utilizou-se o programa estatístico Estat.

RESULTADO E DISCUSSÃO

O lote avaliado era de baixa qualidade, de acordo com os testes de primeira contagem da germinação, teste padrão da germinação e teste de envelhecimento acelerado, respectivamente: 69, 70 e 57% de germinação e massa seca inferior a 21 g por plântula, no tratamento-testemunha (Tabela 2) e com tais valores esse lote não poderia ser comercializado como sementes, pois é exigido um valor igual ou superior a 80% de germinação pelo MAPA.

Segundo Carvalho e Nakagawa (2012) o nível de vigor das sementes por ocasião da semeadura tem um pronunciado efeito sobre sua resposta ao tratamento com fungicida. Sementes de alto vigor não reagem ao tratamento químico; as de vigor médio reagem até certo ponto e as de vigor baixo praticamente não reagem ao tratamento químico.

O baixo vigor das sementes pode também predispor à plântula recém-emersa à ação mais severa de patógenos. De acordo com Mertz; Henning; Zimmer (2009) os fungicidas químicos, especialmente do grupo dos benzimidazóis associados a um fungicida de contato (thiram), garantem um estande adequado de plantas. Contudo, nesse trabalho (Tabela 2), o tratamento com o fungicida químico sozinho não melhorou a qualidade fisiológica das sementes (64, 75 e 43%, respectivamente para a primeira contagem da germinação, teste padrão da germinação e teste de envelhecimento acelerado) e massa seca de 25,5 g por plântula, corroborando Carvalho e Nakagawa (2012).

Tabela 2. Resultado dos testes de primeira contagem da germinação (PC-%), teste padrão da germinação (TPG-%), massa seca (MS-mg por plântula⁻¹) e teste de envelhecimento acelerado (EA-%), em sementes de soja, em função de micro-organismos promotores do crescimento de plantas e fungicida químico. Ituverava – SP, 2019.

Tratamentos	PC (%)	TPG (%)	MS (mg plântula ⁻¹)	EA (%)
T1 – Testemunha	69 ab	70 d	20,7 cd	57 ab
T2 – Fungicida Químico (FQ)	64 ab	75 cd	25,5 bcd	43 bc
T3 – Fungicida biológico (FB)	57 b	75 cd	36,9 a	58 ab
T4 – Inoculante (INOC)	81 a	85 b	19,3 d	75 a
T5 – FQ+INOC	79 a	97 a	27,9 b	30 cd
T6 – FB+INOC	51 b	69 d	25,6 bcd	58 ab
T7 – FQ+FB+ INOC	62 ab	80 bc	26,6 bc	20 d
CV (%)	13,18	5,40	11,03	19,89
DMS	19,97	9,73	6,61	22,27

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação. DMS: diferença mínima significativa. FQ: carboxina+tiram. FB: *Trichoderma spp.* INOC: *Azospirillum spp.*

Fonte: Elaborado pelo autor (2019)

Porém quando se associou o fungicida ao inoculante *Azospirillum spp.* houve incremento na primeira contagem da germinação, na germinação e na massa seca de plântulas, apresentando valores de 79%, 97% e 27,9 g por plântula, respectivamente (Tabela 2). Vale ressaltar, que *Azospirillum brasiliense* libera ácido indolacético, giberelinas e citocininas, que são fitohormônios responsáveis pelo crescimento (TIEN; GASKINS; HUBBELL, 1979; ZAFAR *et al.*, 2012; MASCIARELLI *et al.*, 2013).

Já após o estresse imposto pelo teste de envelhecimento acelerado (EA) o tratamento das sementes com fungicida químico + *Azospirillum spp.* (Tabela 2) não conseguiu mais que 30% de germinação, o que pode sugerir que a alta umidade do ar aliada à alta temperatura associada ao baixo vigor do lote, pode ter levado a semente a intoxicação com o fungicida. A germinação obtida com o uso exclusivo do fungicida após o EA foi de 43%, no entanto, quando se associou o fungicida químico + *Azospirillum spp.* e o fungicida químico + *Trichoderma spp.* + *Azospirillum spp.* a taxa de germinação após o EA foi de 30 e 20% respectivamente. Essa baixa porcentagem de germinação pode ser associada a elevada umidade da semente pois de acordo com Marcos Filho (1999) quanto mais úmida a semente, mais ela sofre os efeitos do estresse imposto pelo teste de teste de envelhecimento acelerado e no presente experimento resultou em maior intoxicação, provavelmente causada pelo fungicida químico (Tabela 2).

Nesse sentido, deve-se cuidar com o umedecimento no tratamento de sementes, pois pode acelerar o metabolismo da semente levando essa a deterioração. Na própria Bula do produto químico há recomendação para que o volume total de calda não ultrapasse 400 mL de solução por 100 kg de sementes e na associação de tratamentos resultou em valores superiores a esses (Tabela 1).

O tratamento mais estável e que resultou em maior desempenho (81, 85 e 75%, respectivamente primeira contagem da germinação, teste padrão da germinação e teste de envelhecimento acelerado) foi com sementes tratadas apenas com o inoculante *Azospirillum spp.*. Dados que corroboram Dartora *et al.* (2013) e Rizzi (2018). Estudos têm demonstrado a capacidade de *Azospirillum brasilense* na produção de auxinas, giberelinas e citocininas sob condições *in vitro* (MASCIARELLI *et al.*, 2013) e sabe-se que as giberelinas é o principal grupo de hormônios promotores de germinação em sementes (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

O tratamento com fungicida biológico (*Trichoderma spp.*) não se destacou na germinação das sementes de soja (Tabela 2). Dados que corroboram Brand *et al.* (2009) que observaram que o formulado líquido a base de *Trichoderma spp.*, no tratamento de sementes, não estimulou a germinação em soja.

Contudo, observando a massa seca das plântulas, resultantes do teste padrão da germinação, o tratamento que mais se destacou foi o com fungicida biológico (*Trichoderma*

spp.), demonstrando que as plântulas resultantes desse tratamento foram mais vigorosas, pois obtiveram maior massa seca comparado aos demais tratamentos. Tal fato reforça que o fungo *Trichoderma spp.* pode atuar como promotor de crescimento (MELO, 1996; MARTINS-CORDER; MELO, 1997; HARMAN *et al.*, 2004; BROTMAN, GUPTA; VITERBO, 2010; MACHADO *et al.*, 2011; MACHADO *et al.*, 2012) e ao colonizar as raízes também pode aumentar o crescimento das mesmas, segundo Harman *et al.* (2004). A adição de *Trichoderma spp.* a solos autoclavados aumentou a matéria seca de plântulas de tomate e fumo (WINDHAM *et al.*, 1986). Machado *et al.* (2011), ainda relatam que estirpes de *Trichoderma spp.* podem sintetizar AIA (ácido indolacético) e sabe-se que tal hormônio estimula o desenvolvimento radicular.

Observando o tratamento testemunha, na Figura 1, verifica-se que o lote apresentava maior incidência dos gêneros de fungos: *Aspergillus* (38%), *Cladosporium* (20%) e *Penicillium* (12%).

Destes três fungos, apenas o gênero *Aspergillus* e *Penicillium* devem estar relacionados à baixa qualidade verificada no lote de sementes usado no experimento (Tabela 2). Segundo Goulart (2004), diversas espécies de *Aspergillus* ocorrem em sementes de soja, porém a mais frequente é *A. flavus*. Tem sido observado que, em sementes colhidas com teores elevados de umidade, um retardamento do início da secagem por alguns dias é suficiente para reduzir sua qualidade, devido à ação desse fungo. Quando encontrado em alta incidência, pode reduzir o poder germinativo das sementes e a emergência de plântulas no campo. Já o fungo *Penicillium spp.* é menos frequente que o *Aspergillus spp.*, porém ocorre geralmente em semente de soja de baixa qualidade. É prejudicial em lotes de sementes armazenados com umidade elevada. Ainda esse autor constata que a literatura relata, com frequência, a presença do fungo *Cladosporium spp.* sobre inúmeras espécies vegetais, normalmente como componente da microflora da semente. Frequentemente este fungo é encontrado em sementes de soja, porém sem causar danos a elas.

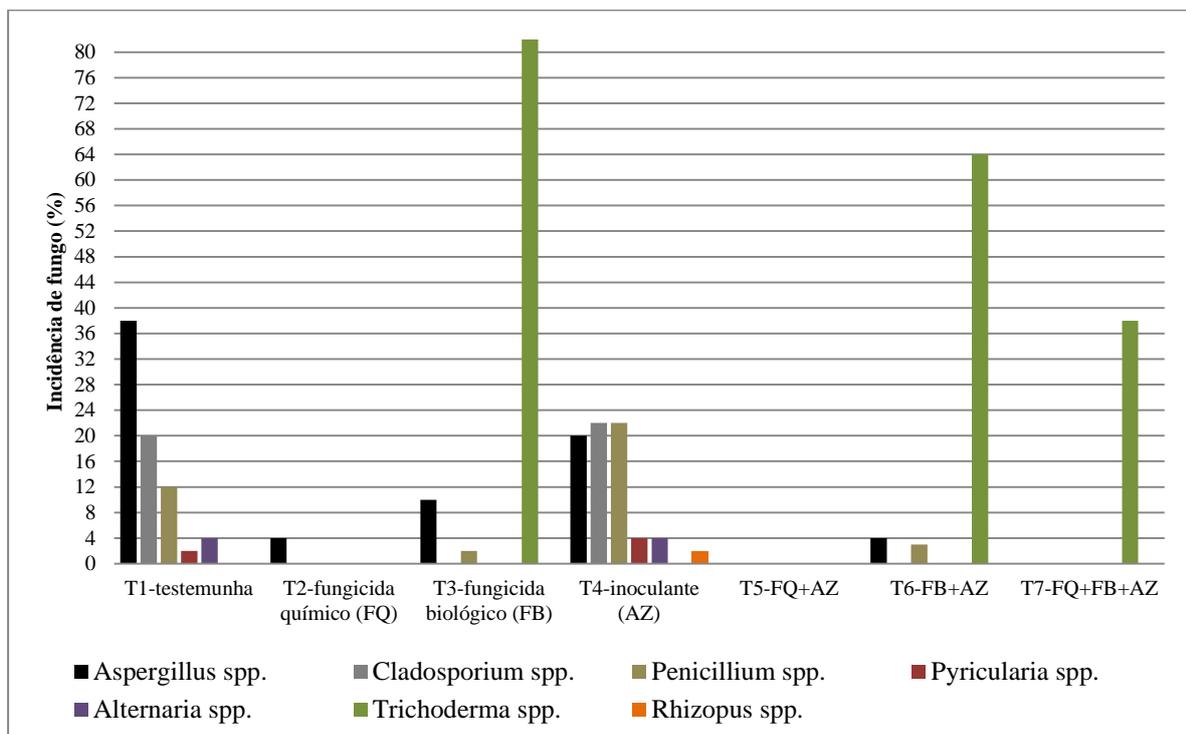
O tratamento de sementes com *Azospirillum spp.* apresentou níveis de infestação similares aos da testemunha, como era esperado por ser menos citado como atuando sobre fungos (Figura 1).

O fungicida biológico (*Trichoderma spp.*) sozinho ou associado ao *Azospirillum spp.* reduziu a incidência, mas não conseguiu zerar a ocorrência de *Aspergillus spp.* e *Penicillium spp.* (Figura 1). Dados semelhantes aos verificados por Brand *et al.* (2009) que verificaram que o tratamento com Agrotich® isolado diminuiu a incidência dos fungos do gênero *Rhizopus* e *Aspergillus* em mais de 60 pontos percentuais, mas apenas sua associação com fungicida reduziu-os aos níveis próximos de zero.

O fungicida químico foi o melhor tratamento, pois sozinho reduziu para 4% a incidência de *Aspergillus spp.* e quando associado ao *Azospirillum spp.* ou ao fungicida biológico (*Trichoderma spp.*) +inoculante (*Azospirillum spp.*) reduziu a 0% a incidência dos fungos (Figura 1). Brand *et al.* (2009) relataram que na avaliação de sanidade, os tratamentos com fungicida químico (Vitavax-Thiram®), isolado ou em combinação com o bioprotetor Agrotich®, apresentaram os menores valores de incidência de fungos, assim como verificado nesse experimento.

O tratamento com o fungicida químico apresentou os melhores resultados no controle de fungos em sementes de soja (Figura 1), o que reforça o motivo pelo qual mais de 90% das sementes de soja brasileira são tratadas com fungicidas (PARISI; MEDINA, 2013).

Figura 1. Incidência de fungos(%), em sementes de soja, em função de micro-organismos promotores do crescimento de plantas e fungicida químico. Ituverava – SP, 2019.



Legenda: FQ (fungicida químico): carboxina+tiram. FB (fungicida biológico): *Trichoderma spp.* AZ (inoculante):*Azospirillum spp.*

Fonte: Elaborado pelo autor (2019)

As sementes de soja tratadas com *Trichoderma spp.* *Trichoderma spp.* + *Azospirillum spp.* e *Azospirillum spp.* + fungicida apresentaram infestações de *Trichoderma spp.* na ordem de 82, 64 e 38% respectivamente. Esses dados corroboram Brand *et al.* (2009) que também verificaram que os tratamentos com fungicida, comparados com o bioprotetor isolado, reduziram a incidência de *Trichoderma spp.*, indicando que o produto age sobre esse fungo e pode diminuir sua ação como

bioprotetor e/ou promotor de crescimento. No presente trabalho até mesmo a associação de *Trichoderma spp.* ao *Azospirillum spp.* levou a redução de ocorrência do fungo, o que pode demonstrar alguma competição entre esses micro-organismos (Figura 1).

CONCLUSÃO

Nas condições em que o experimento foi conduzido verifica-se que:

O fungicida químico (Carboxina+Tiram) associado ao inoculante *Azospirillum brasilense* aumentou a germinação de sementes de soja em 27 pontos percentuais;

Na avaliação de vigor das sementes de soja, pelos testes de primeira contagem da germinação e envelhecimento acelerado, o tratamento de sementes com inoculante *A. brasilense* se destacou;

O tratamento de sementes com o fungicida biológico a base de *Trichoderma harzianum* aumentou a massa seca das plântulas de soja;

Os fungos relevantes e de maior incidência nas sementes de soja foram os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* e o tratamento com o fungicida biológico *T. harzianum* promoveu redução acentuada desses patógenos, contudo o fungicida químico foi mais eficiente no controle destes;

A associação de produtos usados no tratamento de sementes de soja afetou a incidência do *T. harzianum*, principalmente quando este fungo foi associado ao fungicida químico.

REFERÊNCIAS

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 4.ed. San Diego: Academic Press. 635p, 1997.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G *Azospirillum*– plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). **Canadian Journal of Microbiology**, v.43, p.103-121, 1997.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G ; DE-BASHAN, L.E. *Azospirillum*-plant relations physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, v.50,p.521-577, 2004.

BASHAN, Y.; de-BASHAN, L. E. Plant Growth-Promoting In: HILLEL, D., In **Encyclopedia of soils in the environment**.1.ed, Oxford, 2005.v. 1, pp. 103-115, 2005.

BRAND, S. C.; ANTONELLO, L. M.; MUNIZ, M. F. B.; BLUME, E.; SANTOS, V. J.; REINIGER, L. R. S. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de soja Submetidas a Tratamento com Bioprotetor e Fungicida. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 4, p.087-094, 2009.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Coodenação de Laboratório Vegetal. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, DF: MAPA:ACS, 2009. 395p.

BERG, G.; MAHNERT, A.; MOISSEL-EICHINGER, C. Beneficial effects of plant-associated microbes on indoor microbiomes and human health? **Frontiers in Microbiology**, v. 5, p. 15, 2014.

BROTMAN, Y.; GUPTA, K.J.; VITERBO, A. *Trichoderma*. **Current Biology**, v.20, p.R390-R391, 2010.

CAMPANHOLA, C. **O Brasil é bom de agricultura**. Disponível em: <https://ambientes.ambientebrasil.com.br/agropecuaria/artigo_agropecuaria/o_brasil_e_bom_de_agricultura.html> Acesso em: 10 de Outubro de 2019.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590 p.

CORREA, O.S.; ROMERO, A.M.; SORIA, M.A.; DE ESTRADA, M. *Azospirillum brasilense*-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) *Azospirillum sp.*: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p.87-95.

CUNHA, R.P.; CORREA, M.F.; SCHUCH, L.O.B.; OLIVEIRA, R.C.; ABREU JUNIOR, J.S.; SILVA, J.D.; ALMEIDA, T.L. Diferentes tratamentos de sementes sobre o desenvolvimento de plantas de soja. **Revista Ciência Rural**, v. 45, n. 10, 2015.

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 estíperos de *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*. **Revista Global Scienc and Technology**, v.6, n.3, p. 190-201, 2013.

DÖBEREINER, J.; PEDROSA, F.O. Nitrogen-fixing bacteria in non-leguminous crop plants. **Science Tech**, Springer Verlag, Madison, USA, 1987. p. 1-155. (Brock/Springer series in contemporary bioscience)

GOULART, A.C.P. Tratamento de sementes de soja com fungicidas para o controle de patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 127-131, 1998.

GOULART, A.C.P. **Fungos em sementes de soja: detecção, importância e controle** Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 72 p.

GOULART, A.C.P. **Fungos em sementes de soja: detecção, importância e controle** Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2018. 74p.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C.R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews, Microbiology**, London, v.2, p.43-56, 2004.

HARTMANN, A.; BALDANI, J.I. The genus *Azospirillum*. In: DWORKIN, M. *et al.* (eds) **The Prokaryotes**. New York: Springer, p. 115-140, 2006.

HENNING, A.A. *et al.* **Tratamento e inoculação de sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1994. 6p.

HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The History and Evolution of Current Concepts. **Plant Disease**, v.87, n.1, p.4-10, 2003.

HUERGO, L.F.; MONTEIRO, R.A.; BONATTO, A.C.; RIGO, L.U.; STEFFENS, M.B.R.; CRUZ, L.M.; CHUBATSU, L.S.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillumbrasilense*. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. **Azospirillum sp.:** cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Asociación Argentina de Microbiología, Argentina, 2008. p.17-35.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Inoculation with selected strains of *Azospirillumbrasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **PlantandSoil**, v. 331, p. 413-425, 2010.

JUHÁSZ, A.C.P; PÁDUA, G.P.; WRUCK, S. P.; FAVORETO, L.; RIBEIRO, R. Desafios fitossanitários para a produção de soja. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.34, n.276, p.66-75, set./out. 2013.

KRZYZANOWSKI, F. C. Desafios tecnológicos para produção de semente de soja na região tropical brasileira. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 7.; INTERNATIONAL SOYBEAN PROCESSING AND UTILIZATION CONFERENCE, 4.; CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 3., 2004, Foz do Iguassu. **Proceedings...** Londrina: Embrapa Soybean, 2004. p. 1324-1335.

KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA-NETO, J.B.; HENNING, A. A. **A alta qualidade da semente de soja:** fator importante para a produção da cultura. Londrina: 2018.

KUMAR, K.; AMARESAN, N.; BHAGAT, S.; MADHURI, K.; SRIVASTAVA, R. C. Isolation and characterization of *Trichoderma* spp. for antagonistic activity against root rot and foliar pathogens. **IndianJournalofMicrobiology**, v. 52, n. 2, p. 137-144, 2012.

LUZ, W.C. Efeito de bioprotetores em patógenos de sementes e na emergência e rendimento de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, n.1, p.16-20. 2001.

MACHADO, D.F.M.; PARZIANELLO, F.R.; SILVA, A.C.F.; ANTONIOLLI, Z.I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v.35, n.1, 2012.

MACHADO, J.C. **Tratamento de sementes no controle de doenças.** Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000. 138p.

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 *Trichodermaharzianume* rizóbio. **Revista Ciência e Natura**. v.33, n.2, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5902/2179460X9365>>. doi:10.5902/2179460X9365

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Eds.). **Vigor de sementes:** conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. cap.3, p.3.1-3.24.

MARTÍNEZ, B.; INFANTE, D.; REYES, Y. *Trichoderma*spp. y su función en el control de plagas em los cultivos. **Revista de Protección Vegetal**, v. 28, n. 1, p. 1-11, 2013.

MARTINS-CORDER, M.P.P.; MELO, I.S. Influência de *Trichoderma viride* e *T. koningii* na emergência de plântulas e no vigor de mudas de berinjela. **Revista Brasileira de Biologia**, v.57, n.1, p.39-45, 1997.

MASCIARELLI, O.; URBANI L.; REINOSO, H. E LUNA, V. Mecanismo alternativo para a avaliação da produção de ácido indol-3-acético (IAA) por *cepas* de *Azospirillum brasilense* e seus efeitos na germinação e crescimento de mudas de milho. **Journal of Microbiology**, v. 51, n. 5, p. 590-597, 2013.

MELO, I.S. Agentes microbianos no controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Controle Biológico**. 1 ed, v.1. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998. p. 17-67.

MELO, I.S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão anual de patologia de plantas**, v.4, p. 261-295, 1996.

MERTZ, L.M.; HENNING, F.A.; ZIMMER, P.D. Bioprotetores e fungicidas químicos no tratamento de sementes de soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 1, p. 13-18, 2009.

MOE, L. A. Amino acids in the rhizosphere: from plants to microbes. **American Journal of Botany**, Lancaster, v. 100, n. 9, p. 1692-1705, 2013.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C. et. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. P.2.1-2.21.

PARISI, J. J. D.; MEDINA, P. F. **Tratamento de sementes**. Campinas: Instituto Agronômico - IAC, 2013.

POPOV, D. **Soja: veja tudo o que você precisa saber sobre a produção no Brasil, 2019**. Disponível em: <<https://canalrural.uol.com.br/agronegocio/soja/>> Acesso em: 10 de Outubro de 2019.

RIZZI, M.S.M. **Tratamento de sementes de amendoim com produtos biológicos e químicos: germinação em laboratório e emergência e crescimento inicial em viveiro**. 2018. 37f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia), Centro Universitário Moura Lacerda, Ribeirão Preto, 2018.

ROIGER, T. C.; JEFFERS, S.N.; CALDWELL, R. W. Occurrence of *Trichoderma* species in apple orchard and woodland soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 23, n.4, p. 353-359, 1991.

SARTORI, A.F.; REIS, E.M.; CASA, R.T. Quantificação da transmissão de *Fusarium moniliforme* de sementes para plântulas de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 29. p. 456 - 458, 2004.

SOUZA, R.T. de. **Reação de cultivares e controle da antracnose em soja**. 2009. 104f. Tese (Doutorado em Agronomia), Faculdade de agronomia e Medicina Veterinária. Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2009.

STEFFEN, G. P. K; MALDANER, J; MISSIO, E. L; STEFFEN, R. B. *Trichoderma* controla fitonematoides e aumenta produtividade da soja. **CAMPO & NEGÓCIOS**, [s. l.], Março 2018.

TIEN, T.M.; GASKINS, M.H.; HUBBELL, D.H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, v.37, p.1016-1024, 1979.

WESTON, L. A.; MATHESIUS, U. Flavonoids: their structure, biosynthesis and role in the rhizosphere, including allelopathy. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 39, n. 2, p. 283-297, 2013.

WINDHAM, M.T. *et al.* A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v.76, p.518-521, 1986.

ZAFAR, M.; ABBASI, M. K.; KHAN, M. A.; KHALIQ, A.; SULTAN, T.; ASLAM, M. Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Growth, Nodulation and Nutrient Accumulation of Lentil Under Controlled Conditions. **Pedosphere**, v. 22, n. 6, p. 848-859, 2012.