

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

EFEITOS DA INOCULAÇÃO COMBINADA DE *Trichoderma regulosum* E *Acaulospora sp.* NO CONTROLE DA FUSARIOSE E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM FEIJÃO-CAUPI

**BRUNNA SILVA DE ALMEIDA¹, BRUNO SOUSA SILVA², IVANEIDE DE OLIVEIRA
NASCIMENTO³**

AFILIAÇÃO

^{1,3}Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão – Centro de Ciências Exatas, Naturais e Tecnológicas – Rua Godofredo Viana, 1300, Centro, Imperatriz-MA.

²Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão (UEMASUL) – Centro De Ciências Agrarias - CEP: 65900-001.

RESUMO

O feijão-caupi é amplamente consumido no Brasil, no entanto a região nordeste apresenta baixa produtiva devido a suetibilidade dessa cultura a fusariose. Neste sentido, o *Trichoderma spp* é um grande aliado no controle biológico da doença. E os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são uma alternativa sustentável para promover o maior crescimento e produtividade do feijão-caupi. O objetivo deste trabalho, foi de avaliar isolados de *Trichoderma regulosum* associado com o fungo micorrízico *Acaulospora sp.*, no controle da fusariose, crescimento e absorção de fósforo no feijão-caupi. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e quatro repetições sendo: T1 = Tratamento testemunha; T2 = Inoculação de *Trichoderma regulosum* na semente e *Acaulospora sp.* no solo; T3 = Inoculação de *Trichoderma regulosum* na semente e solo e *Acaulospora sp.* no solo; T4 = inoculação de *Acaulospora sp.* no solo; T5 = Adubação fosfatada no solo; T6 = Inoculação de *Trichoderma regulosum* na semente. Quanto as variáveis altura, número de folhas, massa fresca e seca da parte áerea, colonização radicular e teor de fósforo nas folhas não houve diferença signifitativa entre os tratamentos. Os maiores índices de clorofila, foram observados aos 60 dias após o plantio com a inoculação de *Trichoderma regulosum* na semente e solo e *Acaulospora sp.* no solo. Nos demais dias não houve diferença significativa entre os tratamentos. A avaliação da severidade da fusariose indicou que em nenhum dos tratamentos as plantas foram acometidas pelo patógeno.

PALAVRAS-CHAVE: Antagonismo; Agricultura sustentável; Produtividade.

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

INTRODUÇÃO

Na região Nordeste, o feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) tem grande contribuição quanto à área cultivada no país, porém, devido à baixa produtividade observada, tem uma parcela relativamente mediana em relação à produção nacional (Filho, 2011; Araújo, 2017). Um dos fatores de maior importância na produção dessa cultura, é a grande quantidade de fitopatógenos que podem hospedar-se nela, para controlá-los são utilizadas grandes quantidades de agrotóxicos.

Dentre as doenças que acometem esta cultura está a fusariose (*Fusarium oxysporum* Schl. f.sp *tracheiphilum* (Smith) Snyder e Hansen), esse fungo causou e continua causando grande perda na produtiva em diversas culturas de valor comercial, estando entre elas a cultura do feijão-caupi. Os principais sintomas presentes em uma planta acometida pela fusariose são o escurecimento do feixe vascular, murcha, desfolhação, tombamento e morte da planta (Dean et al., 2012).

Devido à ampla gama de hospedeiros e altos danos produtivo, o *Fusarium oxysporum* tem sido amplamente estudado no controle biológico. Um dos gêneros fúngicos estudados para controle biológico deste patógeno é o *Trichoderma*, o qual conta com espécies de vida livre, que estão presentes em diversos ecossistemas do solo, é oportunista e não causa mal às plantas, podendo realizar simbiose junto às plantas e parasitismo em outros fungos (Barreto, 2018).

Outro alvo das pesquisas para o controle biológico são os fungos micorrízicos arbusculares (FMA), como o fungo do gênero *Acaulospora* sp. Cunha et al. (2019) observaram que os fungos micorrízicos arbusculares, oriundos do Cerrado Maranhense promoveram redução na severidade da fusariose em feijão caupi. Os quais possuem grande potencial de uso no controle biológico de fitopatógenos.

Neste sentido a presente pesquisa objetivou avaliar isolados de *Trichoderma regulosum* associado com o fungo micorrízico *Acaulospora* sp., no controle da fusariose, crescimento e absorção de fósforo no feijão Caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), em condição de casa de vegetação.

METODOLOGIA

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com seis tratamentos e quatro repetições conduzido em casa de vegetação da Universidade

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

Estadual da região Tocantina do Maranhão, com o cultivo de plantas de feijão-caupi da variedade Sempre Verde.

Antes do plantio, foi coletada uma amostra de solo composta para a realização da caracterização físico e química (Tabela 1). A partir da qual foi realizado adubação fosfatada de acordo com a análise de solo, antes da semeadura. Os tratamentos adotados foram: T1 = Tratamento testemunha; T2 = Inoculação de *Trichoderma regulosum* na semente e *Acaulospora* sp. no solo; T3 = Inoculação de *Trichoderma regulosum* na semente e solo e *Acaulospora* sp. no solo; T4 = inoculação de *Acaulospora* sp. no solo; T5 = Adubação fosfatada no solo; T6 = Inoculação de *Trichoderma regulosum* na semente. O bioensaio foi realizado em vasos com capacidade de 3 L. A inoculação foi realizada com o isolado U1 (*Trichoderma regulosum*) e o fungo micorrízico arbuscular, *Acaulospora* sp. Foi realizado o desbaste das plântulas aos 15 dias após a semeadura, deixando-se uma planta por vaso.

Tabela 1: - Análise química e física do solo utilizado para plantio do feijão-caupi em casa de vegetação

pH	MO	P		K	Ca	Mg	Al	H + Al	SB	CTC
CaCl ₂	%	mg/dm ³					cmol/ dm ³			
4,7	1,6	7		0,368	3,2	1,3	0,1	5,8	3,44	4,868
V	m	Ca	Mg	K			Areia	Silte	Argila	
					%					
45	2	29,9	12,1	3,4			74	6	20	

Fonte: Autor (2023)

O isolado de *Trichoderma regulosum* para inoculação foi preparado em forma de suspensão de conídios, através do cultivo prévio em meio BDA a $\pm 25^{\circ}\text{C}$, sob fotoperíodo durante 7 dias e a concentração padrão ajustada para 6×10^8 conídios mL⁻¹ com o uso da câmara de Neubauer. A solução de conídios de *Trichoderma regulosum* foi utilizada na microbiolização das sementes de feijão-caupi antes do plantio e aplicada no solo de acordo com o tratamento.

O isolado U1 (*Trichoderma regulosum*) e os esporos do FMA (*Acaulospora* sp.), foram inoculados em sementes e no solo em condição de casa de vegetação, para posteriores avaliações de crescimento, absorção de fósforo e controle da fusariose no feijão- caupi.

Para a inoculação do fusário, utilizou-se isolados de *F. oxysporum* da micoteca do

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

laboratório de Fitopatologia José Gilson Soares, pertencente a UEMA, estes obtidos de feijoeiro e preservados em solo autoclavado. Para o preparo do inóculo, o isolado de *F. oxysporum* foi cultivado em placas de Petri, contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA), durante sete dias em incubadora BOD na temperatura de 26 °C com fotoperíodo. Após esse tempo, adicionou-se 10 mL de água destilada e esterilizada em cada placa, efetuou-se raspagens das colônias com lâmina de vidro, sendo o inóculo ajustado para 1×10^6 conídios.mL⁻¹, com auxílio de câmara de Neubauer. A inoculação do fungo (*F. oxysporum*) foi realizada 33 dias após a semeadura, através do ferimento de raízes em meia lua, utilizando um bisturi, e aplicando-se 20ml da suspensão de inóculo em cada planta. Aos 21 e 28 dias após a inoculação, as plantas foram avaliadas. A avaliação foi realizada segundo escala de notas proposta pelo CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) e descrita por Schoonhoven e Pastor-Corrales (1987), com notas variando de 1,0 a 9,0.

A cada 15 dias foi realizada quantificação do número de folhas, altura de plantas e índice de clorofila em cinco folhas de feijão por tratamento, nos horários das 7:30 h às 9:30 h, através do aparelho SPAD (Soil Plant Analysis Development)-502 Plus, nas folhas mais verdes, as leituras foram realizadas em quatro pontos de cada folha, adotou-se a média das leituras.

Aos 60 dias após o plantio, as plantas foram coletadas e avaliadas os seguintes parâmetros: colonização radicular, massa seca, fresca e o teor de fósforo na parte aérea.

As amostras (parte aérea) foram pesadas em balança analítica para a determinação de massa fresca e logo em seguida armazenadas em sacos de papel e secas em estufa de ar forçado a 60 °C, até peso constante, para determinação da massa seca.

A colonização radicular foi determinada de acordo com metodologia descrita por Phillips e Hayman (1970). Após coleta das raízes estas foram higienizadas para retirada de resíduos sólidos e em seguida, clareadas com KOH 5%, posteriormente coloridas com azul de triptan 0,05% e a colonização micorrízica determinada pelo método de interseção em placas quadriculadas, de acordo com metodologia descrita por Giovanetti e Mosse (1980)

O material vegetal coletado no final do experimento foi submetido à secagem em estufa, moído, peneirado e armazenado. O material armazenado foi submetido a solução de Mehlich em que foi dissolvido 500ul de HCL concentrado em 350 ul de água destilada e avolumado para 500ml. Foi adicionado 10 mL da solução no material, agitado por 10 minutos

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

a 120 rpm em mesa agitadora magnética. O material então foi filtrado e diluído em 40 ml de água destilada (Tedesco et al., 1995). O fósforo total então foi determinado por espectrofotometria, utilizando o método azul de molibdato, através do kit comercial Fósforo - Labtest com comprimento de onda de 650 nm (Macedo, 2001). Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e o teste Tukey ao nível de 5 % de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante os 15,30 e 45 dias após a inoculação do *Trichoderma regulosum* associado ao Fma *Acaulospora sp.*, não houve diferença significativa para a variável índice de clorofila. De acordo com Pereira (2020) isso se deve ao fato do curto período entre a inoculação e a data de avaliação, que pode não ter sido suficiente para que os microrganismos estabelecessem uma simbiose eficiente e consequentemente não influenciando na variável medida.

Quanto ao índice de clorofila, conforme Angelo (2020), os FMA são capazes de influenciar positivamente a concentração de clorofilas e carotenoides de plantas de feijão-caupi. Houve diferença significativa (0,0419) para clorofila aos 60 dias após o experimento obtendo maior média para o tratamento inoculado com FMA (Tabela 2). Corroborando com o trabalho desenvolvido, Donha (2014) ao analisar o teor de clorofila em feijoeiro inoculado com FMA observou maior incremento para o índice de clorofila.

Tabela 2: Valores médios do índice de clorofila de folhas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) cultivado em solo inoculado e não inoculado com FMA *Acaulospora sp* em associação com *Trichoderma regulosum*.

Tratamento	Índice de Clorofila			
	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias
T1	34,90 a	42,37 a	44,15 ab	44,05 ab
T2	36,15 a	46,27 a	42,80 ab	43,52 ab
T3	35,52 a	49,70 a	47,55 a	49,47 a
T4	34,87 a	38,97 a	37,30 b	45,67 ab
T5	36,25 a	44,00 a	44,07 ab	46,02 ab
T6	34,52 a	40,35 a	46,02 a	32,17 b
CV (%)	11,32	12,55	9,91	15,55
P	0,9834	0,1243	0,0647	0,0419

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$). T1 = Tratamento testemunha; T2 = Inoculação de *Trichoderma regulosum* na semente e *Acaulospora sp.* no solo; T3 = Inoculação de *Trichoderma regulosum* na semente e solo e *Acaulospora sp.* no solo; T4 = inoculação de

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

Acaulospora sp. no solo; T5 = Adubação fosfatada no solo; T6 = Inoculação de *Trichoderma regulosum* na semente; CV = Coeficiente de variação; P = Significância.

Fonte: Autor (2023)

Quanto as variáveis matéria seca e fresca não houve diferença estatística entre os tratamentos, ($p=0,1987$ e $p=488$) respectivamente. Resultados semelhantes foram obtidos por Vieira 2021, em que foi analisado a resposta do feijoeiro a um inoculante a base de FMA. Em relação ao fósforo, os tratamentos não diferiram entre si estatisticamente ($p=0,3149$) (Tabela 2). Aurélio (2019) também não observou maior incremento para o P quando analisou o desenvolvimento do feijão-caupi em resposta a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares. O autor explica que as variações nas respostas de promoção de incremento vegetal quando inoculadas podem ser resultados de fatores como isolado micorrízico, solo, clima, espécies e variedades vegetais utilizadas.

Para a variável colonização radicular, não houve diferença estatística ($p=0,8465$) entre os tratamentos (Tabela 2). Isto pode estar relacionado a fase em que foi realizada a quantificação, que neste caso foi na floração. Johnson et al. (2015), revelou que, em geral, esses valores são significativamente mais altos na frutificação do que na floração.

Tabela 2 – Valores médios da massa fresca, massa seca, colonização radicular e teor de fósforo na planta de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) cultivado em solo inoculado e não inoculado com FMA *Acaulospora* sp em associação com *Trichoderma regulosum*.

Tratamento	MF (g)	MS (g)	Col. radicular	Teor de fósforo
T1	22,60 a	4,66 ^a	–	6.12 a
T2	24,31 a	4,50 a	14,50 a	7.59 a
T3	24,78 a	4,79 a	15,75 a	8.04 a
T4	21,72 a	4,93 a	12,25,30 a	9.85 a
T5	29,35 a	5,36 a	–	5.36 a
T6	24,49 ^a	5,03 a	–	9.50 a
CV (%)	16,58	19,90	55,30	40,45
P	0,1987	0,8488	0,8465	0,3149

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$). T1 = Tratamento testemunha; T2 = Inoculação de *Trichoderma regulosum* na semente e *Acaulospora* sp. no solo; T3 = Inoculação de *Trichoderma regulosum* na semente e solo e *Acaulospora* sp. no solo; T4 = inoculação de *Acaulospora* sp. no solo; T5 = Adubação fosfatada no solo; T6 = Inoculação de *Trichoderma regulosum* na semente; MF= massa fresca; MS= massa seca; CV = Coeficiente de variação; P = Significância.

Fonte: Autor (2023)

Quanto a avaliação da fusariose, nenhuma planta apresentou sintomas. O que significa que o período de inoculação dos esporos de *Fusarium oxysporum* pode ter

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL 07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

influenciado. Visto que a inoculação ocorreu 33 dias após a semeadura e não após 21 dias como recomendado na metodologia.

CONCLUSÕES

A inoculação de *Trichoderma regulosum* na semente e solo e *Acaulospora* sp. no solo promoveu maior índice de clorofila no feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), aos 60 dias após a inoculação, porém não promoveu incremento para as variáveis número de folhas, colonização radicular, massa seca e fresca da parte aérea e teor de fósforo na folha de feijão-caupi, nos períodos avaliados. Sugerem-se novos experimentos com avaliação até o período de produtividade da cultura.

A inoculação de (*Fusarium oxysporum* Schl. f.sp *tracheiphilum* (Smith) Snyder e Hansen) nas plantas de feijão-caupi não ocasionou incidência da fusariose em nenhum dos tratamentos aplicados.

APOIO FINANCEIRO

Fundação de Apoio e Amparo à Pesquisa no Maranhão e Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aurélio, M. et al. Metabolismo primário e desenvolvimento de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) em resposta à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares. 2019. 30f. Manografia (Graduação em Ciências Biológicas) - Instituto de ciências biológicas, Universidade federal de Uberlândia.

Angelo, Kelly Borges et al. Feijão-Caupi na região imediata de Bragança, Pará: uma proposta de produção sustentável. 2020. 90f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Rural e Gestão de Empreendimentos Agroalimentares) - Instituto Educacional de Ciências e Tecnologia, Pará.

Araújo, L. B. R. Potencial genético de variedades tradicionais de feijão-caupi e avaliação para resistência à murcha-de-Fusarium. 2017. 80 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

Barreto, G. G. Caracterização morfológica de *Fusarium* spp. do feijão fava e controle biológico via sementes-plântulas. 2018. 66f. Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2018.

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

Cunha, W. L.; Nascimento, I. O.; Leonel, M. R. S.; Salgado, G. M. Produção de inóculos de fungos micorrízicos Arbusculares oriundos de solo do Cerrado Maranhense com potencial para o controle da fusariose do feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp. Anais da II Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e extensão, v.2, n.1, 2019.

Dean, R. et al. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. Molecular Plant Pathology, 2012, 414-430. Acesso em: 02 de agosto de 2023.

Donha, R. M. A. Fungos micorrízicos arbusculares e nível de potássio no solo na absorção de ^{137}Cs e efeitos na resposta antioxidativa do feijoeiro. 2014. Dissertação (Mestrado em Biologia na Agricultura e no Ambiente) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Filho, F. R. F. Feijão-caupi: produção, melhoramento genético, avanços e desafios. Teresina, PI: Embrapa Meio-Norte, 2011.

Giovannetti, M.; Mosse, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in ROOTS. New Phytologist, 1980, 84, 489-500.

Johnson, J. M.; Hougnandan, P.; Kane, A.; Chatagnier, O.; Sanon, K. B.; Neyra, M.; Van Tuinen, D. Colonization and molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with the rhizosphere of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) in Benin (West Africa): an exploratory study. Annals of microbiology, v. 66, n. 1, p. 207- 221, 2016.

Macedo, J.A.B. Águas & águas: métodos laboratoriais de análises físico-químicas e microbiológicas. Rio de Janeiro: Ed. J.A.B. de Macêdo, p.77-79, 2001.

Pereira, E.; Oliveira, D. Desenvolvimento de cultivares de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) coinoculadas com bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos. 2020. 94f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia)- Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Campus de Vitória da Conquista.

Phillips, J.M.; Hayman, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society, 1970, 55:1, 158-161.

Schoonhoven, A. van.; Pastor-Corrales, M.A. Standard system for the evaluation of bean germplasm. Colômbia, CIAT. 1987.

Tedesco, M.J. Análise de solo, plantas e outros minerais. UFRGS: Departamento de Solos. Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, 174p. 1995.

Vieira, M. O. C. S. et al. Utilização de adubo fosfatado e inoculante à base de fungo micorrízico no cultivo do feijão. Revista de Ciências Agroambientais, 2021, 19,:1, 16-24.