

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

SELEÇÃO DE *Trichoderma* spp. COM POTENCIAL PARA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM ALFACE (*Lactuca sativa* L.)

LAIARA CARNEIRO DE SOUSA¹, IVANEIDE DE OLIVEIRA NASCIMENTO²

AFILIAÇÃO

^{1,2}Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão – Centro de Ciências Exatas, Naturais e Tecnológicas – Rua Godofredo Viana,1300, Centro, Imperatriz-MA.

RESUMO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma hortaliça folhosa que apresenta grande valor comercial por suas propriedades nutritivas sendo uma das mais consumidas em todo o mundo. Considerando o aumento populacional e a adesão de hábitos alimentares mais saudáveis tem se a necessidade de a produzir em quantidade e qualidade. Nesse sentido, os fungos do gênero *Trichoderma* apresentam-se como uma alternativa no controle de fitopatógenos e promoção de crescimento da planta. O presente projeto teve por objetivo selecionar isolados de *Trichoderma* spp. com potencial para a promoção de crescimento e indução de resistência na alface. O bioensaio se deu em casa de vegetação na Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão – UEMASUL, em Imperatriz – MA, em delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições, utilizando 6 isolados de *Trichoderma* via microbiolização de sementes com suspensão fresca e aplicação no solo a cada 15 dias. Foi feita análise visual das plantas semanalmente para observação de incidência de doença, aos 20 e 40 dias medição de clorofila, e ao final foram realizadas contagem de folhas, medição do comprimento da raiz, peso da massa fresca e seca da folha e da raiz. Os melhores resultados obtidos foram nos tratamentos; T3) Microbiolização com *Trichoderma* sp. (isolado L1); T6) Microbiolização com *Trichoderma* sp. (isolado A1) e T7) Microbiolização com *Trichoderma rugulosum* (isolado U1). Estes promoveram o melhor peso da massa fresca da planta e bem mais desenvolvidas que os demais tratamentos. Não houve a ocorrência de doenças. E com relação ao índice de clorofila, não houve uma variação significativa entre os tratamentos e nem aumento de um período para o outro.

PALAVRAS-CHAVE: Cultivo; Hortaliça; Fungo.

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

INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) Originária da Europa e da Ásia, pertence à família Asteraceae. É uma hortaliça folhosa que apresenta grande importância nutritiva por ser um alimento rico em vitaminas e sais minerais, se destacando entre as mais consumidas em todo mundo (Santi et al., 2010).

O consumo de hortaliças cresce a cada ano, de acordo com Luengo (2017), a área de hortaliças folhosas no Brasil é estimada em 174.061 hectares, desse total 49,9 % é cultivado com alface. Além de a alface ser muito apreciada pelos brasileiros, apresenta grande importância econômica no território nacional (Costa; Sala, 2005).

O aumento populacional e a adesão de hábitos alimentares mais saudáveis, têm mostrado um crescente aumento na demanda e no consumo de hortaliças, dentre elas a alface. Contudo, no final da última década, a qualidade do alimento passou a ser considerado fator de segurança alimentar e nutricional, esta qualidade não está relacionada somente a produção do alimento em quantidade suficiente, mas também à promoção do estado de saúde daqueles que o consomem (Silva et al., 2012). Dessa forma o consumidor de hortaliças tem se tornado mais exigente, havendo necessidade de produzi-la em quantidade e qualidade, bem como manter o seu fornecimento o ano todo (Ohse et al., 2001).

Com a finalidade de preservar a aparência das folhas por ocasião da colheita e garantir valor comercial, o produtor normalmente aplica agrotóxicos para controlar patógenos e insetos, prevenindo-se contra danos diretos ou indiretos que estes podem causar (Lopes et al., 2010). Isso tem impacto tanto na saúde dos consumidores quanto no ambiente.

Assim, a adesão de medidas sustentáveis na produção agrícola é de significativa importância. A produção de inoculante de baixo custo à base de microrganismos promotores de crescimento de plantas é uma alternativa para diminuir os riscos ambientais causados pelo inadequado, e às vezes excessivo, uso de insumos e agrotóxicos (Chagas et al., 2017). Os fungos do gênero *Trichoderma* estão entre os mais procurados para este fim (Rajendiran et al., 2010). Como componentes onipresentes em solos agrícolas, as espécies de *Trichoderma* spp. desempenham um papel importante para manutenção de um ecossistema saudável (Mukherjee et al., 2012). O trabalho objetivou selecionar isolados de *Trichoderma* spp. nativos do Maranhão, com efeitos no índice de clorofila, e promoção de indução de resistência em alface (*Lactuca sativa* L.). Tornando-se uma eficaz possibilidade para o cultivo de alface de forma benéfica tanto de ordem econômica quanto de ordem ecológica.

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

METODOLOGIA

Para a pesquisa foram selecionados os isolados de *Trichoderma*, utilizados em projetos anteriores pela equipe proponente, para controle de fusariose e crescimento de feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L) WALP.).

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições, utilizando 6 isolados de *Trichoderma* (44, L1, I1, 52, A1 e U1) via microbiolização de sementes com suspensão fresca e aplicação no solo a cada 15 dias. Perfazendo um total de 7 tratamentos e 4 repetições a seguir: T1) Testemunha (semente imersa em água); T2) Microbiolização com *Trichoderma* sp. (iso 44); T3) Microbiolização com *Trichoderma* sp. (iso L1); T4) Microbiolização com *Trichoderma* sp. (iso I1); T5) Microbiolização com *Trichoderma* sp. (iso 52); T6) Microbiolização com *Trichoderma* sp. (iso A1); T7) Microbiolização com *Trichoderma rugulosum* (iso U1). As sementes foram microbiolizadas de acordo com o tratamento através da imersão em cada suspensão ajustada para 6×10^8 conídios mL⁻¹ em câmara de Neubauer, por um período de 1 hora, sob agitação constante à 25°C em mesa agitadora, e a testemunha imersa em água. Após, esse procedimento as sementes foram colocadas em papel filtro para retirada do excesso de umidade e em seguida, foi efetuado o plantio a profundidade de 1 centímetro em vaso plástico de 3 litros, contendo solo e esterco de gado na proporção 2:1, antes autoclavados por duas vezes (121 °C, 1h a 1,5 atm) com intervalos de 24 horas. Após a esterilização, o solo e o esterco foram armazenados por sete dias antes da semeadura. Foram semeadas 4 (quatro) sementes por vaso e após 15 dias feito o desbaste, ficando apenas uma planta por vaso.

A avaliação do experimento foi feita por meio das seguintes análises: porcentagem de germinação de sementes de acordo com a fórmula $\% G = \text{sementes germinadas} / \text{sementes semeada} \times 100$; incidência de doença, após a germinação das sementes, a cada sete dias (semanalmente) as plantas foram examinadas visualmente para realização de um diagnóstico baseado na observação dos sintomas e sinais de fitopatógenos; Índice de clorofila, aos 20 e 40 dias, após o plantio, foi realizada quantificação do índice de clorofila nas folhas de alface, através do aparelho SPAD ; promoção de crescimento, feito ao final do ciclo, aos 40 dias após o plantio, as plantas foram coletadas, para contagem do número de folhas, medição do comprimento da raiz (cm), pesagem da massa fresca das folhas e raízes, em seguida foram secas

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

em estufa a 50 °C até atingir peso constante para quantificação do acúmulo de massa seca das raízes e parte aérea.

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e a comparação das médias pelo teste de Scott Knott ao nível de 5 % de significância com o auxílio do Programa Estatístico SISVAR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação a massa fresca da raiz e parte aérea da alface houve diferença significativa ao nível de 5 % de significância pelo teste de Scott Knott entre os tratamentos e a testemunha. Para a massa fresca da raiz os tratamentos com os isolados L1, A1 e U1 promoveram maior peso, evidenciando a contribuição do *Trichoderma* spp. no incremento do crescimento desse vegetal, pois para a massa fresca da parte aérea os isolados L1, A1, U1 e 52 proporcionaram também maior peso (Tabela 1). Essa diferença de resultados entre os isolados de *Trichoderma* spp. podem ser justificados pelos seus mecanismos de ação em que os isolados L1 ,A1 e U1 apresentaram melhor adaptação que os demais isolados testados na pesquisa. A correta identificação das espécies é fundamental para o uso de *Trichoderma* na agricultura, pois os mecanismos de ação podem ser diferentes entre as espécies e/ou linhagens utilizadas (Silva et al, 2022).

Quanto ao número de folhas, não houve diferença significativa entre os tratamentos e a testemunha pelo teste de Scott Knott ao nível de 5 % de significância, portanto não incrementou o número de folhas na alface (Tabela 1).

Tabela 1. Avaliação da média da massa fresca da raiz e parte aérea de alface (*Lactuca sativa* L.), cultivada com sementes microbiolizadas com *Trichoderma* sp., Imperatriz – MA, 2023.

Tratamento	Massa Fresca (g)		Nº Folhas
	Raíz	Parte aérea	Alface
Testemunha	0.322 b	14.822 b	13.50 a
<i>Trichoderma</i> sp.(iso 44)	0.780 b	7.695 b	11.00 a
<i>Trichoderma</i> sp.(iso L1)	2.875 a	29.347 a	13.00 a
<i>Trichoderma</i> sp.(iso I1)	1.165 b	15.835 b	14.25 a

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

<i>Trichoderma sp.(iso 52)</i>	1.327 b	22.592 a	14.250 a
<i>Trichoderma sp.(iso A1)</i>	2.792 a	29.415 a	16.000 a
<i>Trichoderma rugulosum(iso U1)</i>	2.222 a	30.642 a	18.250 a
CV (%)	26,02	24,79	22.39
P	0.0132	0,0145	2.056

* Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott- Knott ($P < 0,05$). CV = Coeficiente de variação; P = Significância.

Fonte: Autora, 2023.

Quanto as variáveis massa seca da raiz e da parte aérea, bem como o comprimento da raiz de alface não houve diferença significativa entre a testemunha e os tratamentos pelo teste de Scott Nott ao nível de 5 % de significância (Tabela 2). Para a análise de ocorrência de doenças, houve o surgimento do morfo branco no solo do vaso T3R4 na quarta semana de observação mas não afetou a planta e foi logo controlado pelo *Trichoderma spp.* (iso L1)(Figura 2).

Tabela 2. Avaliação da média de massa seca da raiz e parte aérea, comprimento de raiz de alface (*Lactuca sativa* L.), cultivada com sementes microbiolizadas com *Trichoderma sp.*, Imperatriz – MA, 2023.

Tratamento	Massa seca (g)		Comprimento (cm)
	Raíz	Parte aérea	Raíz
Testemunha	2.065 a	1.137 a	11.875 a
<i>Trichoderma sp. (iso 44)</i>	0.085 a	0.685 a	12.175 a
<i>Trichoderma sp. (iso L1)</i>	0.655 a	1.310 a	17.875 a
<i>Trichoderma sp. (iso I1)</i>	0.422 a	2.162 a	16.875 a
<i>Trichoderma sp. (iso 52)</i>	0.470 a	1.770 a	17.250 a
<i>Trichoderma sp. (iso A1)</i>	0.962 a	1.857 a	22.250 a
<i>Trichoderma rugulosum(iso U1)</i>	0.757 a	2.397 a	16.875 a
CV (%)	40.80	22.41	16.63
P	0.6720	0,1292	0,1426

* Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas e mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott- Knott ($P < 0,05$). CV = Coeficiente de variação; P = Significância.

Fonte: Autora, 2023.

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA**Figura 2** – Observação do surgimento do mofo branco no solo e controle antagonista do *Trichoderma* spp.(iso L1) na quarta semana após a implantação do projeto.

Fonte: Autor (2023)

Com relação ao índice de clorofila aos 20 e 40 dias após o plantio, observou-se que não houve uma variação significativa entre os tratamentos e nem um aumento de um período para o outro, isso pode ter acontecido devido a experimentação ter sido feita em época de seca, pois mesmo com a alface sendo regada no início e ao final do dia, o curto período de seca desse ainda a afetava. Segundo Fosket (1994) “[...] a intensidade de luz afeta o crescimento das plantas por efeitos sobre a fotossíntese, a abertura estomática e a síntese de clorofila”. Suprimento inadequado de um desses fatores pode reduzir o vigor da planta e limitar seu desenvolvimento (Felfili, 1999).

Quanto ao índice de germinação, observou-se que as sementes microbiolizadas com *Trichoderma* spp. (iso A1, I1, 52, A1, U1) obtiveram índice de germinação entre 50 a 100 %, enquanto nas sementes não microbiolizadas houve 43,75 % de germinação (Tabela 3).

Tabela 3. Análise de variância do índice de clorofila da alface (*Lactuca sativa* L.) aos 20 e 40 dias após o cultivo, e porcentagem de germinação após 15 dias do plantio, cultivado com semente microbiolizada e não microbiolizada com *Trichoderma* spp., Imperatriz – MA, 2023.

Tratamento	Índice de Clorofila		% Germinação
	20 dias	40 dias	Alface
Testemunha	13.650 a	14.625 a	43.75
<i>Trichoderma</i> sp.(iso 44)	10.200 a	14.150 a	31.25
<i>Trichoderma</i> sp.(iso L1)	13.025 a	15.050 a	56.25

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

<i>Trichoderma sp.(iso I1)</i>	12.800 a	15.025 a	68.75
<i>Trichoderma sp.(iso 52)</i>	13.050 a	14.475 a	75.00
<i>Trichoderma sp.(iso A1)</i>	12.700 a	19.500 a	100.00
<i>Trichoderma rugulosum(iso U1)</i>	12.450 a	17.150 a	50.00
CV (%)	15.73	18.11	
P	1.248	1.852	

* Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas e mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott- Knott ($P < 0,05$). CV = Coeficiente de variação; P = Significância.
Fonte: Autora, 2023.

CONCLUSÕES

Os tratamentos que proporcionaram os melhores desempenhos da alface (*Lactuca sativa* L.) foram os microbiolizados com os isolados de *Trichoderma* spp. L1, A1 e U1(*T. rugulosum*). Estes promoveram maior peso da massa fresca da planta, e melhor desenvolvimento que os demais tratamentos. As sementes microbiolizadas com *Trichoderma* spp. (iso A1, I1, 52, A1, U1) apresentaram índice de germinação entre 50 a 100 %, enquanto nas sementes não microbiolizadas houve 43,75 % de germinação. Não ocorreu incidência de doenças nas plantas de alface obtidas a partir de sementes microbiolizadas com *Trichoderma* spp.

Dessa forma, considerando o aumento populacional e a adesão de hábitos alimentares mais saudáveis, faz-se necessário alternativas para o aumento da produtividade de alface não só em quantidade, mas também em qualidade. O uso dos fungos do gênero *Trichoderma* pode ser uma importante estratégia para essa produção. No entanto, averigua-se que nas regiões do cerrado brasileiro ainda é pouco conhecido, e se tem poucos dados sobre o comportamento do fungo *Trichoderma* em simbiose com a alface. Havendo a necessidade de ser estudada, avaliada e difundida, sobretudo a agricultores com baixa incorporação tecnológica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chagas, L. F. B.; Chagas Junior, A. F.; Soares, L. P.; Fidelis, R. R.. *Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal. *Revista de Agricultura Neotropical*, Cassilândia-MS, v. 4, n. 3, p. 97-102, jul./set. 2017.
- COSTA, C. P.; SALA, F. C. A evolução da alfacicultura brasileira. *Horticultura Brasileira*, v. 23, 2005.
- FELFILI, J.M. 1997. Diameter and heigth distributions in agalery forest tree community and some of its main speciesin Central Brasil over a six year period (1985-1991). *Revista*

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

Brasileira de Botânica, v.20, pg.155-162, 1999.

FOSKET, D. E. Plant growth and development: a molecular approach. San Diego: Academic, 1994.

LOPES, C. A.; QUEZADO DUVAL, A. M.; REIS, A. Doenças da alface. Brasília, DF: *Embrapa Hortaliças*, 2010.

LUENGO, R. F. Produção de hortaliças folhosas no Brasil. 2017. Disponível em: <<http://www.revistacampoenegocios.com.br/producao-de-hortalicas-folhosas-no-brasil/>>.

Acesso em: 04 de ago. 2022.

MUKHERJEE PK, HORWITZ BA, KENERLEY CM (2012). Secondary metabolism in *Trichoderma* – a genomic perspective. *Microbiology* 158: 35-45. (<https://doi.org/10.1099/mic.0.053629-0>).

OHSE, S.; DOURADO-NETO, D.; MANFRON, P. A.; SANTOS, O. S. Qualidade de cultivares de alface produzidos em hidroponia. *Scientia Agricola*, v. 58, n. 1, p. 181- 185, 2001.

SANTI, A.; CARVALHO, M. A. C.; CAMPOS, O. R.; SILVA, A. F.; ALMEIDA, J. L.; MONTEIRO, S. Ação de material orgânico sobre a produção e características comerciais de cultivares de alface. *Horticultura Brasileira*, v. 28, n. 1, p. 87-90, 2010.

SILVA, Lincon Rafael da. Compostos orgânicos voláteis de *Trichoderma* spp. no controle de mofo-branco e promoção de crescimento em alface. 2022. ix, 141 f., il. Tese (Doutorado em Fitopatologia)—Universidade de Brasília, Brasília, 2022.

SILVA, J. C.; TORRES, D. B.; LUSTOSA, D. C.; FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B. Rice sheath blight biocontrol and growth promotion by *Trichoderma* isolates from the Amazon. *Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, Belém-PA, v. 55, n. 4, p. 243-250, 2012.

RAJENDIRAN, R.; JEGADEESHKUMAR, D.; SURESHKUMAR, B.T.; NISHA, T. In vitro assessment of antagonistic activity of *Trichoderma viride* against post harvest pathogens. *Journal of Agricultural Technology, Bangkok*, v. 6, n. 1, v. 31-35, 2010.