

RESSALVA

Atendendo a solicitação do autor, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 01/08/2024.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

CLEVERSON RODRIGUES

**ATIVIDADES BIOQUÍMICAS DE ISOLADOS AMAZÔNICOS DE *TRICHODERMA*,
AÇÃO ANTAGÔNICA AO *FUSARIUM BRASILIENSE* E EFEITO
BIOESTIMULANTE EM PLANTAS DE SOJA**

Ilha Solteira
2023

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CLEVERSON RODRIGUES

**ATIVIDADES BIOQUÍMICAS DE ISOLADOS AMAZÔNICOS DE
TRICHODERMA, AÇÃO ANTAGÔNICA AO *FUSARIUM BRASILIENSE*
E EFEITO BIOESTIMULANTE EM PLANTAS DE SOJA**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de
Ilha Solteira – Unesp como parte dos requisitos
para obtenção do título de Doutor em Agronomia.

Dr. André Rodrigues dos Reis
Orientador

Dra. Grace Queiroz David Peres
Coorientadora

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

Rodrigues, Cleverson.

R696a Atividades bioquímicas de isolados amazônicos de *Trichoderma*, ação antagônica ao *Fusarium brasiliense* e efeito bioestimulante em plantas de soja / Cleverson Rodrigues. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2023
142 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Sistemas de Produção, 2023

Orientador: André Rodrigues dos Reis
Co-orientador: Grace Queiroz David Peres
Inclui bibliografia

1. Bioprospecção. 2. Antagonismo. 3. Bioestimulante. 4. Microbioma. 5. Controle biológico. 6. *Glycine max*.


Amanda Sertori dos Santos

Bibliotecária - CRB/8-9061
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao
Usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação

Impacto potencial desta pesquisa

A bioprospecção revela muitas potencialidades ainda desconhecidas ou ocultas aos olhos da ciência. A busca por novas ferramentas, que permitam melhorar os sistemas agrícolas e incrementar a oferta de alimentos, são de suma importância. Corroborando aos anseios e acordos de sustentabilidade, firmados entre as nações e pautados pelo Brasil em vários planos nacionais para uma agricultura racional e sustentável.

Potential impact of this research

Bioprospecting reveals many potentialities that are still unknown or hidden from the eyes of science. The search for new tools to improve agricultural systems and increase food supply is of paramount importance. Corroborating the sustainability aspirations and agreements, signed between nations, and guided by Brazil in several national plans for rational and sustainable agriculture.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO DA TESE: ATIVIDADES BIOQUÍMICAS DE ISOLADOS AMAZÔNICOS DE *TRICHODERMA*, AÇÃO ANTAGÔNICA AO *FUSARIUM BRASILIENSE* E EFEITO BIOESTIMULANTE EM PLANTAS DE SOJA

AUTOR: CLEVERSON RODRIGUES


ORIENTADOR: ANDRÉ RODRIGUES DOS REIS

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Agronomia, especialidade: Sistemas de Produção pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. ANDRÉ RODRIGUES DOS REIS (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia de Biosistemas / Faculdade de Ciências e Engenharia - UNESP

Documento assinado digitalmente
 ANDRÉ RODRIGUES DOS REIS
Data: 04/09/2023 18:14:25-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof. Dr. SERGIO MIGUEL MAZARO (Participação Virtual)
Departamento de Agronomia / Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR

Documento assinado digitalmente
 SERGIO MIGUEL MAZARO
Data: 06/09/2023 15:27:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Profa. Dra. SOLANGE MARIA BONALDO (Participação Virtual)
Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais / Universidade Federal de Mato Grosso - UFMT

Documento assinado digitalmente
 SOLANGE MARIA BONALDO
Data: 07/09/2023 10:26:25-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. FÁBIO FERNANDO DE ARAÚJO (Participação Virtual)
Faculdade de Ciências Agrárias / Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE

Documento assinado digitalmente
 FÁBIO FERNANDO DE ARAÚJO
Data: 10/09/2023 22:14:59-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. MAYTHSULENE INÁCIO DE SOUSA OLIVEIRA (Participação Virtual)
Departamento de Desenvolvimento Tecnológico / Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA Arroz e Feijão

Documento assinado digitalmente
 MAYTHSULENE INACIO DE SOUSA OLIVEIRA
Data: 11/09/2023 14:12:48-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Ilha Solteira, 28 de agosto de 2023

DEDICO

Dedico a todos aqueles que vieram antes de mim,
juntamente a meus irmãos e meus pais Antônio Rodrigues e Ceverina Rozário.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por todas as bênçãos e lições que me possibilitou durante mais essa jornada.

Agradeço aos meus familiares, em especial a meus pais Seu Antônio e Dona Ceverina, cujos princípios e educação foram alicerce nesse período remoto do ceio familiar.

Aos meus irmãos Cleber, Cléia e Fernando, meus cunhados Marisa e Marcelo, aos meus sobrinhos Caio Vitor, Carlos Eduardo, Camille Vitória e João Lucas, a vocês minha gratidão por todo apoio, que ao longo de uma vida acadêmica se fizeram presentes das mais diversas maneiras.

Honro aqui todos os seres de luz que encontrei nesse caminho e os que trouxe comigo em pensamento, com esses compartilhei muitos momentos, experiências, anseios e angústias... muito obrigado meus amigos vocês foram importantes nesse processo. Em especial a minha amiga Nandhara Mendes que muito me auxiliou para a consolidação dessa pesquisa.

Minha gratidão ao grupo de estudos em fisiologia agrícola - Gefa, grupo esse diverso, dedicado e comprometido com suas pesquisas e abordagens, na qual pude contar com a colaboração de todos durante as avaliações dos experimentos da segunda fase.

Grato a minha coorientadora Grace, que sempre apoiou, encorajou e possibilitou muitas conquistas ao longo desse caminho.

Agradeço a meu orientador André Rodrigues dos Reis, pela disposição, coragem, investimento e apoio desde o início do projeto, permitindo integrar os anseios do mundo agro com suas linhas de pesquisa.

Agradeço muito a instituição pública que me possibilitou alcançar esta titularidade, por meio de seus servidores, que sempre foram solícitos a me atender tanto no Campus de Ilha Solteira como Tupã.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A todos o meu muito obrigado.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	13
	REFERÊNCIAS.....	15
2	CAPÍTULO 1 - MECANISMOS DE AÇÃO E PAPÉIS FISIOLÓGICOS DE <i>TRICHODERMA</i> NO CONTROLE DE FITOPATÓGENOS E EFEITOS ESTIMULANTES NO CRESCIMENTO E RENDIMENTO DAS CULTURAS	17
2.1	INTRODUÇÃO.....	18
2.2	MECANISMOS DE AÇÃO DE BIOCONTROLE - MAB.....	19
2.2.1	Competição.....	20
2.2.2	Antibiose.....	21
2.2.3	Micoparasitismo.....	22
2.3	COMPOSTOS DO METABOLISMO SECUNDÁRIO.....	23
2.3.1	Compostos orgânicos voláteis - COVs.....	29
2.3.2	Produção de enzimas.....	30
2.3.3	Produção de ácidos orgânicos, sideróforos e solubilização de fósforo.....	31
2.4	PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E ESTÍMULOS A MECANISMOS DE DEFESA VEGETAL.....	34
2.5	INCREMENTOS E GANHOS DE PRODUTIVIDADE.....	37
2.6	CONSIDERAÇÕES.....	37
	REFERÊNCIAS.....	38
3	CAPÍTULO 2 - PHOTOGRAPH REGISTRATION OF PETRI DISHES IN HIGH QUALITY AND IMAGE EDITING OF MICROBIOLOGICAL ASSAYS	47
3.1	INTRODUCTION.....	47
3.2	MATERIAL AND METHODS.....	50
3.2.1	Necessary material.....	50
3.2.2	Procedures for the confection of the paper tube.....	50
3.2.3	Procedures for the making of the cellphone framework.....	51
3.2.4	Making of the studio for the photographic registration.....	52
3.2.5	High-Quality Photograph Register – PRHQ Protocol.....	53
3.2.6	Image Editing with Powerpoint tools.....	54
3.2	RESULTS AND DISCUSSION.....	56
3.3	CONCLUSIONS.....	61
	REFERENCES.....	62
4	CAPÍTULO 3 – <i>TRICHODERMA</i>: AÇÃO ANTAGÔNICA AO <i>FUSARIUM BRASILIENSE</i>, DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADES BIOQUÍMICAS E COMPATIBILIDADE A PRODUTOS QUÍMICOS	63

4.1	INTRODUÇÃO	65
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	66
4.2.1	Isolados biológicos	66
4.2.1.1	<i>Obtenção dos isolados de Trichoderma spp. e F. brasiliense</i>	66
4.2.1.2	<i>Identificação molecular dos isolados nativos de Trichoderma spp.</i>	67
4.2.2	Antagonismo	69
4.2.2.1	<i>Pareamento de colônias</i>	69
4.2.2.2	<i>Produção de Compostos orgânicos voláteis (COV's)</i>	71
4.2.3	Atividades bioquímicas	72
4.2.3.1	<i>Atividade Quitinolítica</i>	72
4.2.3.2	<i>Atividade Celulolítica</i>	73
4.2.3.3	<i>Determinação de ácido indol acético (AIA)</i>	73
4.2.3.4	<i>Sideróforos</i>	74
4.2.3.5	<i>Solubilização de P (Fosfatos de cálcio, alumínio e ferro)</i>	75
4.2.3.6	<i>Solubilização de K</i>	76
4.2.4	Compatibilidade com fungicidas e herbicida	76
4.2.4.1	<i>Teste de sensibilidade do Trichoderma spp. a fungicidas utilizados no tratamento de sementes (Ts) de soja</i>	77
4.2.4.2	<i>Teste de sensibilidade de Trichoderma spp. ao herbicida Glifosato</i>	78
4.2.5	Registro fotográfico das placas de Petri	80
4.2.6	Análises estatísticas	80
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	80
4.3.1	Isolados biológicos	80
4.3.1.1	<i>Identificação molecular dos isolados nativos de Trichoderma spp.</i>	80
4.3.2	Antagonismo	80
4.3.2.1	<i>Pareamento de colônias</i>	80
4.3.3	Compostos Orgânicos Voláteis - COV's	83
4.3.4	Atividades bioquímicas	86
4.3.4.1	<i>Atividade Quitinolítica e Celulolítica</i>	86
4.3.4.2	<i>Produção de ácido indol acético (AIA)</i>	88
4.3.4.3	<i>Sideróforos</i>	89
4.3.4.4	<i>Solubilização de fósforo</i>	90
4.3.4.5	<i>Solubilização de potássio</i>	93
4.3.5	Compatibilidade com moléculas químicas	94
4.3.5.1	<i>Compatibilidade no Tratamento de sementes - Fungicidas</i>	94

4.3.5.2	<i>Compatibilidade com Herbicida – Teste de Tanque</i>	96
4.4	CONCLUSÃO	98
	REFERÊNCIAS	99
5	CAPÍTULO 4 - POTENCIAL BIOESTIMULANTE DE <i>TRICHODERMA</i> NO CRESCIMENTO, DESEMPENHO FISIOLÓGICO E PRODUTIVIDADE DA SOJA.....	106
5.1	INTRODUÇÃO	107
5.2	MATERIAL E MÉTODOS	108
5.2.1	Preparo do solo.....	108
5.2.2	Preparo do inóculo	109
5.2.3	Multiplicação em fermentação sólida (arroz).....	109
5.2.3.1	<i>Inoculação de Trichoderma spp. no solo</i>	110
5.2.4	Semeadura da soja.....	110
5.2.4.1	<i>Aplicação de Trichoderma spp. via foliar</i>	111
5.2.5	Análises agronômicas.....	111
5.2.5.1	<i>Altura parte aérea (cm)</i>	111
5.2.5.2	<i>Comprimento raiz (cm)</i>	111
5.2.5.3	<i>Massa seca da parte aérea e da raiz (g)</i>	111
5.2.5.4	<i>Número de nódulos e peso dos nódulos (g)</i>	111
5.2.5.5	<i>Número de vagens</i>	112
5.2.5.6	<i>Produtividade por vaso (g) e o peso de 100 grãos (g)</i>	112
5.2.6	Análises fisiológicas.....	112
5.2.6.1	<i>Pigmentos fotossintéticos</i>	112
5.2.6.2	<i>Malondialdeído (MDA) e Peroxido de hidrogênio (H₂O₂)</i>	112
5.2.6.3	<i>Metabolismo antioxidante</i>	112
5.2.6.4	<i>Compostos nitrogenados</i>	113
5.2.6.5	<i>Indução de resistência</i>	113
5.2.6.6	<i>Proteínas de reserva</i>	116
5.2.7	Teste de colonização radicular	116
5.2.8	Análises estatísticas.....	117
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	117
5.3.1	Desenvolvimento vegetativo e nodulação.....	117
5.3.2	Pigmentos fotossintéticos	122
5.3.3	MDA e H ₂ O ₂ e Enzimas antioxidantes	123
5.3.4	Compostos nitrogenados	125
5.3.4.1	<i>Teor de açúcar total em folhas e nódulos</i>	126

5.3.5	Enzimas de indução de resistência e fitoalexina	127
5.3.6	Indicadores de produtividade e qualidade grãos	130
5.3.6.1	<i>Qualidade bioquímica dos grãos produzidos</i>	132
5.3.7	Correlação dos dados	133
5.4	CONCLUSÕES.....	134
	REFERÊNCIAS	134
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	140

1 INTRODUÇÃO GERAL

No cenário agrícola atual os bioinsumos surgem como uma resposta inovadora e promissora aos desafios enfrentados pela produção sustentável de alimentos. Esses produtos, derivados de microrganismos benéficos, extratos vegetais ou compostos naturais, representam uma mudança na abordagem do manejo agrícola. Os bioinsumos oferecem uma alternativa aos agroquímicos tradicionais, ao proporcionar ações que vão desde o controle biológico de pragas e doenças até a promoção do crescimento das plantas e o aumento da resistência a estresses ambientais (Souza et al., 2022).

O modelo agrícola, pautado em grandes áreas de monocultivos e a crescente perda de eficácia dos fungicidas convencionais, contribuem para o aumento no número de doenças em plantas de interesse agrícola. A utilização contínua e intensiva dos mesmos princípios ativos, levou ao desenvolvimento de resistência por parte dos patógenos, reduzindo drasticamente sua capacidade de controlar muitas doenças, impactando diretamente as cadeias produtivas agrícolas (Carmona; Sautua, 2017).

Na busca por estratégias para reverter essa problemática, a bioprospecção tem possibilitado a geração de tecnologias promissoras e potenciais para o segmento agrícola, buscando métodos que reduzam a dependência de agroquímicos e minimizem os impactos negativos no ambiente.

O Brasil desponta em políticas e metas ambientais, que torna o sistema de produção de alimentos e recursos mais sustentáveis. O Plano Agricultura de Baixa Emissão de Carbono (Plano ABC+), que se concentra na redução das emissões de carbono através de práticas como plantio direto e integração lavoura-pecuária-floresta e o Plano Nacional de Bioinsumos (PNB), que promove a pesquisa e uso de insumos agrícolas de origem biológica, visando reduzir o uso de produtos químicos sintéticos, compartilham o objetivo de tornar a agricultura brasileira mais sustentável, e podem, em certos casos, complementar-se para promover sistemas agrícolas mais amigáveis ao ambiente (MAPA, 2023).

Fortalecendo essa necessidade, na última década a indústria passou a investir e oferecer moléculas e tecnologias de natureza biológica, colocando em ascensão o segmento de produtos biológicos. Esses produtos têm demonstrado ampla aptidão e abrangência, desde o controle de doenças até a promoção do crescimento e aumento produtivo das plantas; representando uma alternativa promissora aos agroquímicos convencionais (Soares, 2022).

Dentre os produtos biológicos, compostos por microrganismos como bactérias e fungos, o gênero *Trichoderma* têm se destacado devido à sua versatilidade e capacidade de interação com as plantas, tornando-se uma valiosa ferramenta para o manejo de doenças eficaz e sustentável.

A incorporação de *Trichoderma* no manejo agrícola pode resultar em aumentos significativos na produtividade das culturas como soja (Chagas Junior et al., 2021), milho (Steffen et al., 2021), feijão (Peres, 2022), arroz (Eidt et al., 2020), trigo (Oliveira, 2017) e caupi (Santos et al., 2020). Além disso, a capacidade do *Trichoderma* em melhorar a resistência das plantas a estresses bióticos (causados por patógenos) e abióticos (como seca) amplifica ainda mais seu valor na agricultura.

Cepas de *Trichoderma* possuem a capacidade produzir inúmeros metabólitos secundários (voláteis e não-voláteis), agindo como antibióticos ou enzimas hidrolíticas, capazes de inibir ou destruir propágulos de fungos, bactérias e nematoides fitopatogênicos, são descritos mais de 120 compostos em diferentes estruturas moleculares, tornando uma das fontes de maior diversidade metabólica do Reino Fungi (Harman, 2000; Hermosa et al., 2012, Monte et al., 2019).

Arelado ao seu arsenal metabólico, o *Trichoderma* também apresenta inúmeras enzimas, como as fosfatases que melhoram a disponibilidade de fósforo para as plantas, e a produção de ácido indolacético (AIA), que estimulam o crescimento das raízes e melhoram a eficiência do sistema radicular, aumentando a capacidade de absorção de água e nutrientes (Sood et al., 2020).

O *Trichoderma* também desencadeia a produção de moléculas que promovem a resistência sistêmica adquirida nas plantas, fortalecendo suas defesas contra patógenos. Essas moléculas ativam caminhos de sinalização que amplificam a resposta imune das plantas, permitindo que elas enfrentem melhor os desafios de infecções fúngicas.

Essas comprovações permitem investigar a ação do *Trichoderma*, principalmente no manejo de doenças radiculares, por meio de mecanismos como competição, antibiose, e micoparasitismo, elevando sua eficiência no controle de diversos patógenos de solo, como a podridão vermelha radicular da soja, causada na América do Sul pelo *Fusarium brasiliense*. Os danos levam a reduções de produtividade em até 27% e desfolha de acima de 30% em R6 (Farias Neto et al., 2008). Ainda não há produtos registrados ou eficientes para o manejo do *F. brasiliense*.

A soja é uma importante matriz energética para as cadeias produtivas atuais e considerando as projeções de aumento populacional nas próximas décadas é necessário

pesquisas que possam melhorar a produção de alimentos, seja integrando essas ferramentas biológicas, reduzindo o uso de moléculas sintéticas ou de origem fóssil não renovável.

A presente pesquisa está estruturada em quatro capítulos, nos quais as abordagens culminam em confirmar as seguintes hipóteses:

- Os isolados de *Trichoderma* serão antagonísticos ao *Fusarium brasiliense*, expressando diferentes mecanismos de ação.
- Os isolados terão atividades bioquímicas que poderão beneficiar as plantas.
- Haverá melhoria no metabolismo fisiológico das plantas
- O *Trichoderma* induzirá a síntese de ureídeos, convertendo-os em aminoácidos e proteínas
- A interação tripartite (planta-*Trichoderma*-*Bradyrhizobium*) será potencializada.
- Os isolados de *Trichoderma* promoverão o aumento do desenvolvimento das plantas de soja.
- O efeito bioestimulante na soja refletirá na produtividade.

Nesse contexto, este estudo tem como objetivo avaliar *in vitro* as atividades bioquímicas produzidas por isolados de *Trichoderma*, nativos do bioma amazônico e verificar os mecanismos de ação e antagonismo sobre o *Fusarium brasiliense*, e quando em condições *in vivo* caracterizar as atividades fisiológicas e os desempenhos fitotécnicos decorridos do efeito bioestimulante em plantas de soja.

REFERÊNCIAS

CAMPEÃO, P., SANCHES, A. C., MACIEL, W. R. E. Mercado Internacional de Commodities: uma análise da participação do Brasil no mercado mundial de soja entre 2008 e 2019. **Desenvolvimento em Questão**, Ijuí, v.18, n.51, p.76-92, 2020.

CARMONA, M., SAUTUA, F. La problemática de la resistencia de hongos a fungicidas. Causas y efectos en cultivos extensivos. **Agromía & Ambiente**, Buenos Aires, v.37, n.1, 2017.

CHAGAS JUNIOR, A. F., CHAGAS, L. F. B, MARTINS, A. L. L, COLONIA, B. S. O., OLIVEIRA, R. S. Soybean productivity with *Trichoderma asperellum* seed treatment in different regions of the Brazilian Cerrado. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, Recife, v.16, n.4, p.1-8, 2021.

EIDT, R. T., BERNARDO, J. T., BARROS, J. N. G., AGUILERA, J. G., GROHS, M., COSTA, D. F. A. Evaluation of the use of Agrohomoepathy and *Trichoderma* sp. in the productivity of rice susceptible to blast. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v.9, n.9, p.e416997420, 2020.

FARIAS NETO, A. L. D., SCHMIDT, M., HARTMAN, G. L., SHUXIAN, L., DIERS, B. W. Inoculation methods under greenhouse conditions for evaluating soybean resistance to sudden death syndrome. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, p.1475-1482, 2008.

- HARMAN, G. E. Myths and Dogmas of Biocontrol Changes in Perceptions Derived from Research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant disease**, Geneva, v.84, n.4, p.377-393, 2000.
- HERMOSA, R., VITERBO, A., CHET, I., MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, Nova Iorque, v.158, n.1, p.17-25, 2012.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. **Programa Nacional de Bioinsumos**. Brasília, DF, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos>
- MONTE, E., BETTIOL, W., HERMOSA, R. *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. In: MEYER, M.C., MAZARO, S.M., SILVA, J.C. (Eds.) **Trichoderma: uso na agricultura**, Embrapa, Brasília, DF, p.181-199, 2019.
- OLIVEIRA, J. B. **Promoção do crescimento e da produtividade de trigo pelo emprego de cepas comerciais de *Trichoderma* spp**, 2017. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) Universidade Estadual de Goiás, Ipameri, 2017.
- PERES, W. M. Uso de *Trichoderma atroviride* na cultura do feijoeiro. 2022. Tese (Doutorado em Agronomia). Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP, Ilha Solteira, 2022.
- SANTOS, G. R., REIS, H. B., ROTILI, E. A., MOURÃO, D. D. S. C., FARIAS, D. I. O. A., PEREIRA, T. A., JUNIOR, A. F. C. Inoculation of *Rhizobium* associated with *Trichoderma asperellum* on the development and yield of cowpea. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, Recife, v.15, n.2, p.1-8, 2020.
- SOARES, C. O. O próximo salto da agricultura. **AgroANALYSIS**, São Paulo, v.42, n.4, p.21-22, 2022.
- SOOD, M., KAPOOR, D., KUMAR, V., SHETEIWY, M.S., RAMAKRISHNAN, M., LANDI, M., ARANITI, F., SHARMA, A. *Trichoderma*: The “secrets” of a multitasking biocontrol agent. **Plants**, Basileia, v.9, n.6, p.762, 2020.
- SOUZA, F. P., CASTILHO, T. P., MACEDO, L. O. Um marco institucional para os bioinsumos na agricultura brasileira baseado na economia ecológica. **Sustainability in Debate**, Brasília, DF, v.13, n.1, p.266-285, 2022.
- STEFFEN, G. P. K, TOMAZZI, D. J., STEFFEN, R. B., GABE, N. L., SILVA, R. F., MORTARI, J. L. M., MALDANER, J. Incremento da produtividade de milho pela inoculação de *Trichoderma harzianum*. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.7, n.1, p.4455-4468, 2021.

Através deste observou-se que há correlação positiva (círculos azuis) entre a maioria das variáveis, isso significa que há interação entre todas, por exemplo, variáveis atribuídas aos incrementos de produtividade (número de vagens, produtividade por vaso) são dependentes e respondem diretamente as demais variáveis analisadas na pesquisa.

5.4 CONCLUSÕES

Os isolados de *Trichoderma atroviride*, nativos de agroecossistemas amazônicos, exerceram efeito bioestimulante sobre o desenvolvimento das plantas de soja, com ganhos de biomassa aérea e radicular, e aumento de nodulação, com destaque os isolados TB e TQ.

Os isolados de *Trichoderma* spp. tiveram resultados superiores ao controle, considerando as variáveis fisiológicas analisadas. Todos os isolados de *T. atroviride* elicitaram a indução de defesa da planta, expressando comportamento igual ou superior aos tratamentos a base de produto comercial, com destaque ao isolado TQ.

A aplicação de *Trichoderma* spp. possibilitou incremento positivo para as variáveis de produtividade, e elevou a qualidade bioquímica dos grãos produzidos, com destaque ao isolado TB, TP e TQ.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

- ABEBE, Z. On-farm yield variability and responses of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties to rhizobium inoculation with inorganic fertilizer rates. **Journal of Animal and Plant Sciences**, Nairobi, v.32, n.2, p.5120-5133, 2017.
- ALEXIEVA V., SERGIEV I., MAPELLI S., KARANOV E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell & Environment**, West Sussex, v.24, p.1337-1344. 2001.
- ALFIKY, A., WEISSKOPF, L. Deciphering *Trichoderma*–Plant–Pathogen Interactions for Better Development of Biocontrol Applications. **Journal of Fungi**, Basel, v.7, n.1, p.61, 2021.
- AXELROD, B., CHEESBROUGH, T. M., LAAKSO, S. Lipoxygenase from soybeans: EC 1.13.11.12 Linoleate: oxygen oxidoreductase. In: LOWENSTEIN, J.M., **Methods Enzymology**. Elsevier, v.71, p. 441-451. 1981.

AZEVEDO, R.A., ALAS, R.M., SMITH, R.J., LEA, P.L. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, Hoboken v. 104, p.280–292. 1998.

BELLALLOUI, N., MCCLURE, A. M., MENGISTU, A., ABBAS, H. K. The influence of agricultural practices, the environment, and cultivar differences on soybean seed protein, oil, sugars, and amino acids. **Plants**, Basel, v.9, n.3, p.378, 2020.

BERTOLDO, E., MAZARO, S. M. β -1,3 Glucanases: uma revisão sob a ótica da defesa vegetal. **Scientia Agraria Paranaensis**, Cascavel, v.17, p.1-13, 2018.

BONONI, L. **Bioprospecção de *Trichoderma* spp. envolvido na solubilização de fosfato e no controle biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* em soja**. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade de São Paulo. 2020.

BONONI, L., CHIARAMONTE, J. B., PANSÁ, C. C., MOITINHO, M. A., MELO, I. S. Phosphorus solubilizing *Trichoderma* spp. from Amazon soils improve soybean plant growth. **Scientific Reports**, London, v.10, n.1, p.2858, 2020.

BOSSE, M. A., SILVA, M. B., OLIVEIRA, N. G. R. M., ARAUJO, M. A., RODRIGUES, C., AZEVEDO, J. P., REIS, A. R. Physiological impact of flavonoids on nodulation and ureide metabolism in legume plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux, v.166, p.512-521, 2021.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Philadelphia, v. 72, n. 2, p. 248-254. 1976.

CAMPEÃO, P., SANCHES, A. C., MACIEL, W. R. E. Mercado Internacional de Commodities: uma análise da participação do Brasil no mercado mundial de soja entre 2008 e 2019. **Desenvolvimento em Questão**, Rio Grande do Sul, v.18, n.51, p.76-92, 2020.

CATALDO, D.A., HAROON, M., SCHRADER, L.E., YOUNGS, V.L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Nova York, v.6, p.71-80. 1975.

CONTRERAS-CORNEJO, H. A., MACÍAS-RODRÍGUEZ, L., CORTÉS-PENAGOS, C., LÓPEZ-BUCIO, J. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, Oxônia, v.149, n.3, p.1579-1592, 2009.

DE CONTO, L. M., COSTA, F. A., DA COSTA, A. C., ULHOA, C. J. Potencial de isolados de *Trichoderma* spp. nativos em controlar o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* e como promotor de crescimento na cultura da soja. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 3, p. 30616-30632. 2021.

DUANGMAL, K., APENTEN, R.K. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. *Romano*). **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 64, n. 3, p. 351-359, 1999.

ESTRADA-RIVERA, M., REBOLLEDO-PRUDENCIO, O. G., PÉREZ-ROBLES, D. A., ROCHA-MEDINA, M. C., GONZALEZ-LOPEZ, M. C., CASAS-FLORES, S. Histone deacetylase HDA-2 is essential in *Trichoderma* to modulate multiple responses in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, Oxônia, v.179, n.4, p.1343-1361, 2019.

FERREIRA, D. F. SISVAR: Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.38, p.109-112, 2014.

GIANNOPOLITIS, C.N., RIES, S.K. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, Oxônia, v. 59, p. 309-314. 1977.

GILL, S. S., TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux, v.48, n.12, p.909-930, 2010.

GRAHAM, T. L. **Cellular Biochemistry of phenylpropanoid responses of soybean to infection by *Phytophthora sojae***. In: Marcel Dekker (ed) Handbook of Phytoalexin Metabolism and Action, p.85-116, 1995.

GUZZO, S. D., MARTINS, E. M. F. Local and systemic induction of β -1,3 glucanase and chitinase in coffee leaves protected against *Hemileia vastatrix* by *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.144, p.449-454. 1996.

HEATH R.L., PACKER L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives in Biochemistry and Biophysics**, Maryland Heights, v 125, p.189-198. 1968.

HERMOSA, R., VITERBO, A., CHET, I., MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, Nova Iorque, v.158, n.1, p.17-25, 2012.

JAISWAL, S. K., MOHAMMED, M., IBNY, F. Y. I., DAKORA, F. D. Rhizobia as a Source of Plant Growth-Promoting Molecules: Potential Applications and Possible Operational Mechanisms. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, Lausanne, n.4, p.619676, 2021.

JUNIOR, A. F. C., CHAGAS, L. F. B., COLONIA, B. S. O., MILLER, L. D. O., OLIVEIRA, J. C. *Trichoderma asperellum* (UFT201) functions as a growth promoter for soybean plant. **African Journal of Agricultural Research**, Sapele, v.14, n.33, p.1772-1777.

KITAJIMA, K., HOGAN, K. P. Increases of chlorophyll a/b ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light. **Plant, Cell Environment**, Chichester, v.26, n.6, p.857-865, 2003.

KUHN, O.J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção**. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade de São Paulo. 2007.

KUMARI, I., SHARMA, S., AHMED, M. **Tripartite interactions between plants, *Trichoderma* and the pathogenic fungi**. In: Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture, p.391-401, 2020.

LABANCA, E.R.G. **Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*) contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolinas em soja (*Glycine max*)**. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade de São Paulo. 2002.

LEVER, M. A new reaction for colorimetric determination of carbohydrates. **Analytical Biochemistry**, Philadelphia. v.47, p. 273-279. 1972.

LICHTENTHALER H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: LOWENSTEIN, J.M., **Methods Enzymology**. Elsevier, v. 148, p.350-382. 1987.

LUSSO, M. F. G.; PASCHOLATI, S.F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 25, n. 3, p. 244-249, 1999.

MARRA, R., LOMBARDI, N., D'ERRICO, G., TROISI, J., SCALA, G., VINALE, F., WOO, L., BONANOMI, G., LORITO, M. Application of *Trichoderma* strains and metabolites enhances soybean productivity and nutrient content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.67, n.7, p.1814-1822, 2019.

MAZARO, S. M., CITADIN, I., GOUVÊA, A., LUCKMANN, D., GUIMARÃES, S. S. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, p.1824-1829, 2008.

MCCULLOUGH, H. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v.17, p.297-304, 1967.

MFILINGE, A., MTEI, K., NDAKIDEMI, P. A. Effects of *Rhizobium* inoculation and supplementation with P and K, on growth, leaf chlorophyll content and nitrogen fixation of bush bean varieties. **American Journal of Research Communication**, San Antonio, v.2, n.10, p.49-87, 2014.

MOLDES, C.A., MEDICI, L.O., ABRAHÃO, O.S., TSAI, S.M., AZEVEDO, R.A. Biochemical responses of glyphosate resistant and susceptible soybean plants exposed to glyphosate. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelber, v. 30, p. 469-479. 2008.

NAKEI, M. D., VENKATARAMANA, P. B., NDAKIDEMI, P. A. Soybean-Nodulating Rhizobia: Ecology, Characterization, Diversity, and Growth Promoting Functions. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, Lausanne, v.6, p.824444, 2022.

OHYAMA, T., MINAGAWA, R., ISHIKAWA, S., YAMAMOTO, M., HUNG, N. V. P., OHTAKE, N., SUEYOSHI, K., TAKASHI, S., NAGUMO, Y., TAKAHASHI, Y. **Soybean seed production and nitrogen nutrition**. In A comprehensive survey of international soybean research-Genetics; physiology, agronomy, and nitrogen relationship. p.115-157, 2013.

OHYAMA, T., KAHORI, M., HARUKA, G., AKIHIRO, S., KYOKO, H. Nitrogen metabolism in non-nodulated and nodulated soybean plants related to ureide synthesis. **Nitrogen**, London, v.4, n.2, p.209-222, 2023.

OROJNIA, S., HABIBI, D., SHAHBAZI, S., PAKNEJAD, F., ILKAEI, M. N. Investigation of biological control of *Trichoderma* formulations and its mutant type related to chemical treatments in the control of soybean charcoal rots. **Romanian Agricultural Research**, Fundulea, v.38, p.419-427, 2021.

PACHECO-TREJO, J., AQUINO-TORRES, M. A., REYES-SANTAMARÍA, M. I., ISLAS-PELCASTRE, M., PÉREZ-RÍOS, S. R., MADARIAGA-NAVARRETE, A., SAUCEDO-GARCÍA, M. Plant Defensive Responses Triggered by *Trichoderma* spp. as Tools to Face Stressful Conditions. **Horticulturae**, Basel Suíça, v.8, n.12, p.1181, 2022.

RASO, M. J., MUÑOZ, A., PINEDA, M., PIEDRAS, P. Biochemical characterization of an allantoate-degrading enzyme from French bean (*Phaseolus vulgaris*): the requirement of phenylhydrazine. **Planta**, Heidelberg, v.226, p.1333-1342, 2007.

REBOLLEDO-PRUDENCIO, O. G., DAUTT-CASTRO, M., ESTRADA-RIVERA, M., DEL CARMEN GONZÁLEZ-LÓPEZ, M., JIJÓN-MORENO, S., CASAS-FLORES, S. **Trichoderma in the rhizosphere: an approach toward a long and successful symbiosis with plants**. In: New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering. Elsevier, p.3-38, 2020.

RICHARDSON, A. E., SIMPSON, R. J. Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus. **Plant Physiology**, Oxônia, v.156, n.3, p.989-996, 2011.

SALAS-MARINA, M. A., SILVA-FLORES, M. A., URESTI-RIVERA, E.E., CASTRO-LONGORIA, E., HERRERA-ESTRELLA, A., CASAS-FLORES, S. Colonization of *Arabidopsis* roots by *Trichoderma atroviride* promotes growth and enhances systemic disease resistance through jasmonic acid/ethylene and salicylic acid pathways. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.131, p.15–26, 2011.

SIMÕES, K. **Caracterização do eliciador do fungo *Mucor ramosissimus* e estudo da supressão de sua atividade indutora em soja por fragmentos de polissacarídeos pécticos**. Tese (Doutorado em Biologia), Universidade Estadual de Campinas, 2004.

SHORESH, M., YEDIDIA, I., CHET, I. Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. **Phytopathology**, St. Paul, v.95, n.1, p.76-84, 2005.

SOOD, M., KAPOOR, D., KUMAR, V., SHETEIWY, M.S., RAMAKRISHNAN, M., LANDI, M., ARANITI, F., SHARMA, A. *Trichoderma*: The “secrets” of a multitasking biocontrol agent. **Plants**, Basel v.9, n.6, p.762, 2020.

STANGARLIN, J. R., SCHULZ, D. G., FRANZENER, G., ASSI, L., SCHWAN-ESTRADA, K. R. F., KUHN, O. J. Indução de fitoalexinas em soja e sorgo por preparações de *Saccharomyces boulardii*. **Instituto Biológico. Arquivos**, São Paulo, v.77, p.99, 2010.

SUDA, C.N.K. GIORGINI, J. F. Seed reserve composition and mobilization during germination and initial seedling development of *Euphorbia heterophylla*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 12, p. 226-245, 2000.

TAIZ, L., ZEIGER, E., MOLLER, I. M., MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, Brasil, 2017.

VARGAS, W. A., CRUTCHER, F. K., KENERLEY, C. M. Functional characterization of a plant-like sucrose transporter from the beneficial fungus *Trichoderma virens*. Regulation of the symbiotic association with plants by sucrose metabolism inside the fungal cells. **New Phytologist**, Chichester, v.189, n.3, p.777-789, 2011.

VOGELS, G. D., VAN DER DRIFT, C. Differential analyses of glyoxylate derivatives. **Analytical biochemistry**, Philadelphia, v. 33, n. 1, p. 143-157. 1970.

YEDIDIA, I., SHORESH, M., KEREM, Z., BENHAMOU, N., KAPULNIK, Y., CHET, I. Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and accumulation of phytoalexins. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.69, n.12, p.7343-7353, 2003.

YEMM E.M., COCKING E.C. The Determination of Amino Acids with Ninhydrin. **Analyst**, Evanston, v.80, p. 209-213. 1955.

YUAN, M., HUANG, Y., GE, W., JIA, Z., SONG, S., ZHANG, L., HUANG, Y. Involvement of jasmonic acid, ethylene and salicylic acid signaling pathways behind the systemic resistance induced by *Trichoderma longibrachiatum* H9 in cucumber. **BMC Genomics**, London, v.20, n.1, p.144, 2019.

WOO, SL, HERMOSA, R., LORITO, M., MONTE, E. *Trichoderma*: A multipurpose, plant beneficial microorganism for eco sustainable agriculture. **Nature Reviews Microbiology**, London, v.21, n.5, p.312-326, 2023.

ZHANG, F., GE, H., ZHANG, F., GUO, N., WANG, Y., CHEN, L., JI, X., LI, C. Potencial de biocontrole do isolado T-aloe de *Trichoderma harzianum* contra *Sclerotinia sclerotiorum* em soja. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux, v.100, p.64-74, 2016.

ZHOU, D., HUANG, X. F., GUO, J., SANTOS, M. L., VIVANCO, J. M. *Trichoderma gamsii* affected herbivore feeding behaviour on *Arabidopsis thaliana* by modifying the leaf metabolome and phytohormones. **Microbial biotechnology**, Sheffield, v.11, n.6, p.1195-1206.

ZUCKER, M. Induction of phenylalanine deaminase by light and its relation to chlorogenic acid synthesis in potato tuber tissue. **Plant Physiology**, Rockville, v. 40, p. 779 – 784. 1965.