

ASSOCIAÇÃO DE ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. E ÁCIDO INDOL-3-BUTÍRICO (AIB) NA PROMOÇÃO DE ENRAIZAMENTO DE ESTACAS E CRESCIMENTO DE MARACUJAZEIRO

ASSOCIATION OF ISOLATES OF *Trichoderma* SPP. AND INDOLE-3-BUTYRIC ACID (IBA) IN PROMOTING ROOT AND GROWTH OF PASSION

Hugo Almeida dos SANTOS¹; Sueli Corrêa Marques MELLO¹; José Ricardo PEIXOTO².

1. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, Brasília, DF, Brasil. hugoosan@cenargen.embrapa.br ;

2. Professor, Doutor, Universidade de Brasília - UnB, Brasília, DF, Brasil.

RESUMO: Este trabalho teve como objetivo estudar o efeito de isolados de *Trichoderma* no enraizamento e no desenvolvimento de estacas de caule de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. juntamente com o ácido indol-3-butírico (AIB). Os experimentos foram realizados em casa-de-vegetação, adotando-se o delineamento experimental em blocos casualizados, em esquema fatorial (6x2), com cinco tratamentos: (isolados de *Trichoderma*) com e sem aplicação do AIB e quatro repetições. A parcela experimental constituiu-se de um vaso com quatro plantas. A análise dos dados obtidos revelou diferença significativa entre os tratamentos quanto à massa de matéria seca e fresca das plantas de maracujazeiro. Os cinco isolados de *Trichoderma* apresentaram efeito positivo no incremento de matéria seca e fresca. Houve interação significativa entre os fatores com e sem hormônio. Não foi detectado efeito significativo do uso de *Trichoderma*, quanto ao enraizamento de estacas. No entanto, os isolados proporcionaram resultados positivos no incremento de matéria fresca e seca nas estacas de maracujazeiro.

PALAVRAS CHAVE: Fungo. Promotores de crescimento de plantas. *Passiflora edulis*.

INTRODUÇÃO

O maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) constitui uma das principais espécies frutíferas cultivadas no Brasil. A maior parte da produção concentra-se nas regiões Nordeste e Sudeste, responsáveis, em 2006, por aproximadamente 83% da produção nacional, seguidas pelas regiões Norte e Centro-Oeste, com 13%. O país vem se destacando no cenário mundial, com uma produção em torno de 491.619 toneladas (Agrianual, 2007).

A obtenção de mudas de alta qualidade é estratégica para a maior competitividade da cultura, tendo em vista tanto o mercado interno como o externo (MINAMI, et al. 1994).

A propagação vegetativa por estaquia é o método mais recomendado para multiplicação comercial das fruteiras tropicais perenes, especialmente daquelas de polinização cruzada, justamente por transmitir o patrimônio genético das plantas matrizes para as plantas clonadas, aumentando a precocidade e a uniformidade fenotípica dos pomares (SOUSA; ARAÚJO, 1999). O tratamento hormonal das estacas proporciona maior porcentagem de enraizamento, uniformidade fenológica do material e produção em menor tempo, reduzindo assim, a permanência da estaca no leito de enraizamento (ALVARENGA; CARVALHO, 1983). O ácido 3-indolacético (AIA) e o ácido

indolbutírico (AIB) são auxinas e apresentam importante papel no enraizamento de plantas (VÁLIO, 1986).

Fungos do gênero *Trichoderma* estão entre os microrganismos mais comumente estudados como agentes de biocontrole de doenças e apresentam, também, atividade como promotores de crescimento de plantas (ALTMORE, et al. 1999). Muitas dessas espécies possuem a capacidade de se associar às raízes, formando uma interação interespecífica de simbiose, por mecanismos similares àqueles de fungos micorrízicos (BENÍTEZ, 2004).

O presente trabalho teve por objetivo estudar o efeito de isolados de *Trichoderma* no enraizamento e incremento de biomassa em estacas de maracujazeiro-azedo e seu desempenho associado ao ácido indolbutírico (AIB).

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos isolados

Foram utilizados os isolados CEN 280 (*T. longibrachiatum*), CEN 201 (*T. asperellum*), CEN 251 (*T. harzianum*), CEN 523 (*T. asperellum*) e CEN 524 (*T. harzianum*) pertencentes à Coleção de Microrganismos para Controle Biológico de Fitopatógenos e Plantas Daninhas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Os dois últimos foram obtidos a partir de amostras de solo,

retiradas da rizosfera de maracujazeiro, enquanto os demais são provenientes de diferentes biomas. Os isolamentos foram realizados pelo método de diluição em série de partículas de solo (WOLLUM, 1982), utilizando-se o meio de Martin para desenvolvimento das colônias. O meio de batata-dextrose-ágar (BDA) foi utilizado para purificação e armazenamento dos isolados. A incubação das culturas ocorreu em incubadora do tipo B.O.D. (marca Nova Técnica, 374 CDG), regulada para temperatura de 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas.

Para produção do inoculante, três discos de micélio-ágar (9 mm de diâmetro), retirados de culturas cultivadas por sete dias em meio BDA, foram transferidos para sacos plásticos autoclaváveis (42 cm de comprimento e 28 cm de largura) contendo o substrato sólido. Este, que consistiu de 200 g de arroz parboilizado, foi umedecido com 120 mL de água destilada e, então, autoclavado a 120 °C durante 25 minutos, antes de receber o fungo. O cultivo ocorreu em sala de incubação, onde a temperatura se manteve a 25 °C e o fotoperíodo de 12 horas, durante 10 dias.

Preparação das estacas de caule e enraizamento

Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação, na Estação Biológica da Universidade de Brasília (UnB), onde a temperatura variou de 23 – 25 °C e a umidade relativa foi mantida em torno de 80%. Estacas com 15 cm de comprimento e sem folhas (NOGUEIRA, 2007) foram obtidas de caules de clones de maracujazeiro-azedo da variedade MAR 2050, pertencentes à coleção da Faculdade de Agronomia e Veterinária da UnB. As bases das estacas foram mergulhadas por 600 segundos em solução de AIB 1000 ppm (SOUZA, 2006), e em seguida, plantadas à profundidade de cinco centímetros, em substrato comercial à base de vermiculita mais casca de *Pinus* sp. (Plantmax®), previamente inoculado com os isolados de *Trichoderma* spp., na proporção de 5 g de arroz colonizado kg⁻¹ de substrato. Nos tratamentos sem AIB, as bases das estacas foram mergulhadas por 600 segundos em água destilada e, então, procedeu-se o estaquiamento em substrato previamente inoculado com *Trichoderma*, na mesma proporção acima, foi incluído um tratamento de controle, com as bases das estacas mergulhadas em água destilada e plantadas em substrato sem *Trichoderma*. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, seguindo o esquema fatorial 6 x 2, totalizando 12 tratamentos, sendo cinco isolados de *Trichoderma* + controle (fator a), com (1000 ppm) e sem AIB (fator b), com quatro repetições.

c) Análise estatística

A parcela experimental foi constituída de um vaso com quatro plantas. Aos 90 dias, as estacas foram coletadas, determinando-se a porcentagem de estacas enraizadas. Para determinação do incremento da matéria fresca e seca, as plantas foram pesadas, acondicionadas em sacos de papel e levadas à estufa a 50 °C, onde permaneceram por 72 horas.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Também se realizou a análise de correlação linear, entre as variáveis, baseando-se na significância de seus coeficientes. Na classificação de intensidade da correlação para $p \leq 0,01$, esta foi considerada muito forte ($r \pm 0,91$ a $\pm 1,00$), forte ($r \pm 0,71$ a $\pm 0,90$), média ($r \pm 0,51$ a $\pm 0,70$) e fraca ($r \pm 0,31$ a $\pm 0,50$), de acordo com Guerra e Livera (1999).

Para os cálculos referentes às análises estatísticas utilizou-se o programa computacional “SANEST” (ZONTA; MACHADO, 1995).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos evidenciaram efeito diferenciado de isolados do fungo *Trichoderma* sobre o enraizamento e o incremento de matéria fresca e seca nas estacas de maracujazeiro (Figuras 1 e 2; Tabela 1).

O isolado CEN 201 foi o único que não apresentou diferença em relação ao controle, enquanto os isolados CEN 280, CEN 523, CEN 524 e CEN 251 não diferiram significativamente entre si. Com relação ao acúmulo de matéria seca, os maiores valores médios foram verificados com os isolados CEN 280 e CEN 523, que não diferiram do CEN 524, nem do CEN 251, o qual não diferiu significativamente do CEN 201 e do controle.

Ao serem comparados os tratamentos com e sem AIB em matéria fresca (Tabela 1), efeito positivo com a adição do regulador de crescimento foi verificado apenas com o isolado CEN 251. Este dado obtido corrobora relatos de Pires, (2007), ao demonstrar que estacas tratadas com AIB apresentaram maior índice de massa fresca de parte aérea. Entretanto, para os demais isolados aqui estudados e para o controle (sem o fungo) os valores médios da massa da matéria fresca obtidos com adição do regulador de crescimento foram inferiores aos obtidos sem sua adição, embora este efeito tenha sido significativo apenas com os isolados CEN 280 e CEN 201.

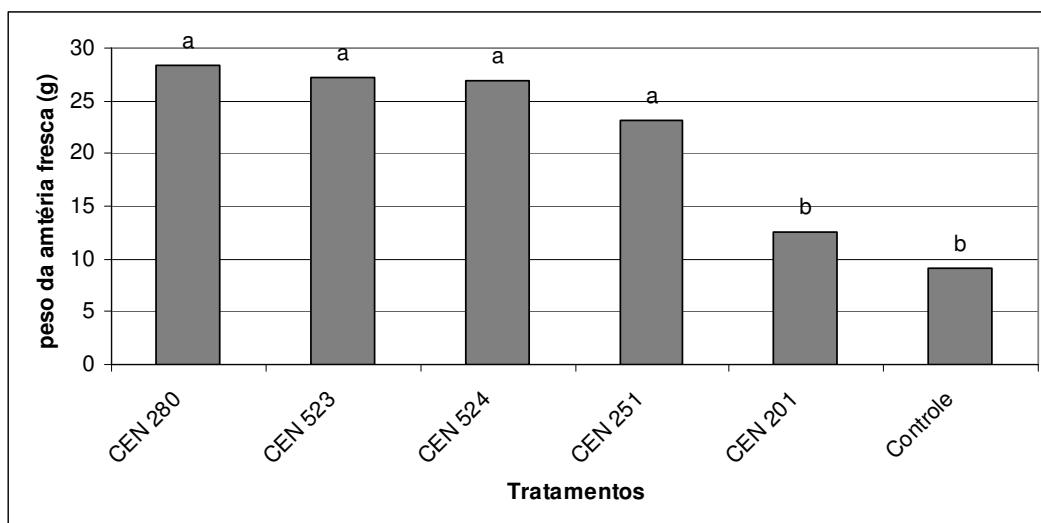


Figura 1. Efeito do *Trichoderma* no incremento de matéria fresca (g) em plantas oriundas de estacas de maracujazeiro, independente do uso de AIB, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Duncan.

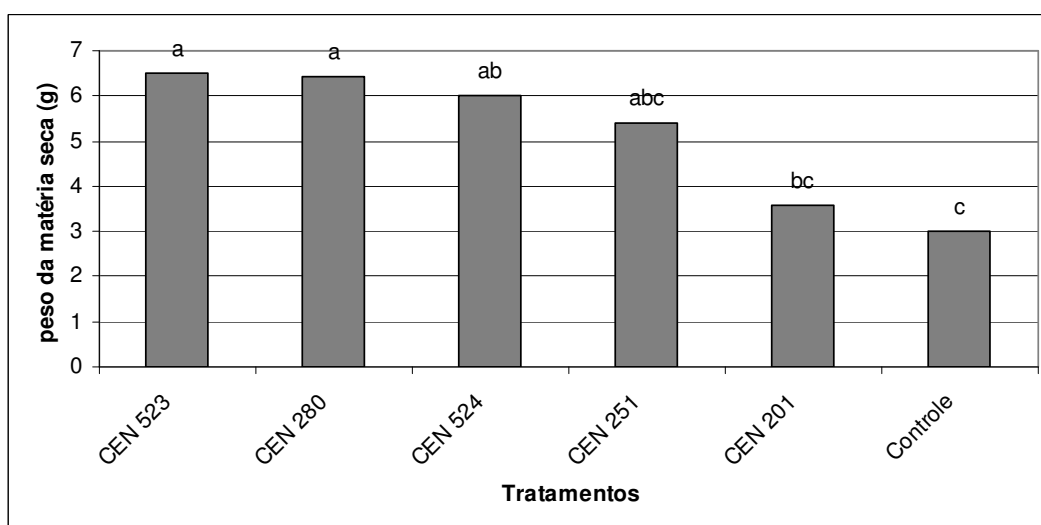


Figura 2. Valores médios de matéria seca (g) de plantas de maracujá obtidas pelo tratamento das estacas com isolados de *Trichoderma*, independente do uso de AIB, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Duncan.

Tabela 1. Valores médios de matéria fresca (g) obtida em mudas de maracujazeiro produzidas por estacas submetidas a tratamento com diferentes isolados de *Trichoderma*, com e sem hormônio (AIB).

Hormônio	CEN 280	CEN 523	CEN524	CEN 201	CEN251	Controle
0 AIB	35,07 a A	32,55 a A	30,90 ab A	18,10 bc A	15,47 c B	10 c A
1000 ppm AIB	21,65 ab B	21,92 ab A	22,97 a A	6,95 c B	30,87 a A	8,42 bc A

* Médias seguidas de mesma letra, maiúsculas na vertical e minúsculas na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de significância.

Três dos cinco isolados testados apresentaram efeitos positivos significativos, em relação ao controle, com relação ao acúmulo de matéria seca: CEN 280, CEN 523 e CEN 524. (Figura 2). Neste caso, o efeito do AIB não se mostrou significativo e, por isso, são apresentadas apenas as médias gerais, na Tabela 2. Estudos realizados por Santos (2008) demonstraram que, além desses três isolados, CEN 201 também se destacou como promotor de crescimento, em ensaios conduzidos em casa de vegetação, utilizando *Glycine Max* (L.) Merrill, *Zea mays*, e

Phaseolus vulgaris L., Tsahouridou e Thanassouloupoulos (2001) observaram que isolados de *T. koningii* promoveram maior emergência de sementes de *Solanum lycopersicum*, assim como o incremento de matéria seca e fresca. Resende (2004) também verificou maior acúmulo de matéria seca nas raízes das plantas de *Zea mays* oriundas de sementes inoculadas com *T. harzianum*.

Com relação ao enraizamento das estacas, não foi detectado efeito significativo do uso de *Trichoderma*, quando se desconsiderou o uso de AIB, nas análises (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito do *Trichoderma* no enraizamento de estacas de maracujá independente do uso de AIB.

Tratamentos	CEN 201	CEN 251	CEN 280	CEN 523	CEN 524	Controle
Peso (g)	67,79 a	66,66 a	66,66 a	65,62 a	62,5 a	57,26 a

* Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si ao nível de 5% de significância, pelo teste de Duncan.

Na presença de AIB os isolados CEN 524 e CEN 201 apresentaram os maiores valores médios de porcentagem de estacas enraizadas. Porém, tais valores não diferiram significativamente dos obtidos com os isolados CEN 251 e CEN 523. Este,

por sua vez, não diferiu do CEN 280 e do controle (sem o fungo). O CEN 524 foi o único, para o qual, o efeito da adição de regulador de crescimento diferiu significativamente (Tabela 3).

Tabela 3. Efeito de isolados de *Trichoderma* como indutor de enraizamento de estacas de maracujá com e sem AIB.

	CEN 524	CEN 201	CEN 251	CEN 523	CEN 280	Controle
COM AIB	88,33 a A	79,16 a A	77,08 ab A	58,33 abc A	52,08 bc A	50 c A
SEM AIB	50 a B	60,41 a A	56,25 a A	72,91 a A	72,91 a A	64,58 a A

* Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na vertical e minúscula na horizontal, não diferem entre si ao nível de 5% de significância, pelo teste de Duncan.

Os resultados obtidos neste trabalho estão em concordância com relatos de Fachinello (1995), cujos dados obtidos indicaram a eficiência, tanto de AIB quanto de Ácido α -naftalenoacético (ANA), em promover enraizamento de estacas de maracujazeiro. Segundo esses autores, os dois reguladores de crescimento são citados como eficientes e superaram o efeito de outro fitormônio ácido indol-3-acético (AIA) também avaliado.

Harman (2000) relatou promoção de crescimento verificada com um isolado comercial de *T. harzianum* (T-22), nas culturas de *Glycine Max* (L.) Merrill e *Zea mays*, além de incremento na produção de frutos de *Capsicum annum* L., comparativamente ao controle (plantas não tratadas com o fungo). Esse isolado vem sendo utilizado comercialmente, em vários países, como princípio ativo de inoculantes de efeito biofungicida e promotor de desenvolvimento de plantas. Altmore, et al. (1999) postulou que a promoção de crescimento, pelo menos no caso do isolado T-22, reside na sua capacidade de solubilização de nutrientes importantes para a planta. Trabalhos nesta

linha de pesquisa já haviam sido conduzidos por Kleifeld e Chet (1992), que relatou um aumento na produção de massa seca de plantas de *Cucumis sativum* tratadas com *T. harzianum*, tanto em solo autoclavado (26%) quanto em solo não autoclavado (43%). Carvalho Filho, et al (2008) demonstraram produção de AIA por isolados de *T. harzianum*, assim como colonização de raízes e incremento de parte aérea em clones de híbridos de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis* (G100). Baker (1988) postulou que o aumento do crescimento induzido por espécies de *Trichoderma*, resultaria no controle de patógenos secundários, aliado à produção de fatores estimulantes de crescimento.

Portanto, o presente trabalho vem a contribuir com informações sobre o efeito de fungos do gênero *Trichoderma*, pertencentes à Coleção de Microrganismos para Controle Biológico de Fitopatógenos e Plantas Daninhas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, na promoção de desenvolvimento em plantas, assim como sua associação com AIB, em uma espécie frutífera de grande relevância.

Vale salientar que a utilização de reguladores de crescimento tem sido indicada com o objetivo de acelerar a formação de raízes, aumentar o percentual de enraizamento das estacas, promover a melhoria da qualidade das mudas e aumentar a uniformidade no viveiro. Para Albuquerque e Albuquerque, (1981), o teor adequado de auxina exógena para estímulo do enraizamento depende da espécie e da concentração de auxina existente no tecido. Estudos conduzidos por Pires (2007) evidenciaram o efeito de AIB no enraizamento de maracujazeiro. Efeito semelhante foi relatado por Chaves (2004), que obteve 100% de enraizamento de estacas de maracujazeiro tratadas com AIA. Do mesmo modo, Junqueira (2006) obtiveram bons resultados, utilizando esse hormônio, em estacas de espécies de *Passiflora* nativas do cerrado.

CONCLUSÕES

A associação de *Trichoderma* spp. com AIB para enraizamento de estacas de maracujazeiro não foi vantajosa. No entanto, é importante que estudos com o uso de isolados de *Trichoderma*, associados ou não com reguladores de crescimento, sejam realizados no futuro para observação desses efeitos em outras culturas.

Os isolados testados no presente estudo não promoveram enraizamento das estacas de maracujazeiro.

O uso de *Trichoderma* spp. proporcionou resultados positivos no incremento de matéria fresca e seca de plantas de maracujá oriundas de estacas.

ABSTRACT: This work aimed to study the effect of isolates of *Trichoderma* on rooting and development of cuttings of *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. together with indol butyric-3- acid (IBA). The experiments were performed under greenhouse conditions, adopting the experimental design of randomized blocks in factorial scheme (6x2) and using the following treatments: five isolates of *Trichoderma*, with and without application of the hormone IBA, with four replications. The experimental plot consisted of a pot with four plants. The analysis of data revealed significant differences among treatments for dry matter weight of *Passiflora* plant. The five isolates of *Trichoderma* showed positive effect on increasing both dry and fresh weight. There was an Significant interaction between factors with and without hormone. No significant effect of *Trichoderma* was found. However, the isolates showed positive effects on fresh and dry mass of *Passiflora* cuttings.

KEYWORDS: Fungus. Promoter of plant growth. *Passiflora edulis*.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, T. C. S. de; ALBUQUERQUE, J. A. S. de. **Influência do tipo de estaca e de alguns reguladores de crescimento no enraizamento e desenvolvimento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 6., Recife. Anais. Recife: UFPE, 1981. n. 3, p. 762-770.
- AGRIANUAL: **Anuário da agricultura Brasileira**, São Paulo. (Ed) FNP Consultoria & comércio, 2007. 516p.
- ALVARENGA, L. R.; CARVALHO, V. D. **Uso de substâncias promotoras de enraizamento de estacas frutíferas**. Informe Agropecuário. Belo Horizonte, v. 9, n. 101, p. 47-55, 1983.
- ALTOMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJORKMAN, T.; HARMAN G. E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 7, p. 2926-2933, 1999.
- BAKER, R. *Trichoderma* spp. as plant growth stimulants. **Critical Reviews in Biotechnology**, Boca Raton. v. 7, n. 1, p. 97-105. 1988.
- BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. **Biocontrol, Mechanisms of *Trichoderma* Strains**. **International Microbiology**, v. 7, p. 249-260. 2004.

CARVALHO FILHO, M. R.; MELLO, S. C. M.; SANTOS R. P.; MENÉZES J. E. **Avaliação de isolados de *Trichoderma* na promoção de crescimento, produção de ácido idolacético *in vitro* e colonização endófitica de mudas de eucalipto.** Boletim de pesquisa e desenvolvimento. Embrapa: Brasília-DF, 2008. n. 226.

CHAVES, R. C.; JUNQUEIRA, M. T. V.; MANICA, I.; PEIXOTO, J. R.; PEREIRA, A. V.; FIALHO J. F. **Enxertia de maracujazeiro-azedo em estacas herbáceas enraizadas de espécies de passiflora nativas.** Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 26, n.1, p. 120-124, 2004.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G. R. de L. **Propagação de plantas frutíferas de clima tropical.** Pelotas: (Ed.) Universitária, 1995. 178p. 2.ed.

GUERRA, N. B.; LIVERA, A. V. S. **Correlação entre o perfil sensorial e determinações físicas e químicas do abacaxi cv. pérola.** Revista Brasileira de Fruticultura. Cruz das Almas, v. 21, n. 1, p. 32-35, 1999.

HARMAN, G. E. **Myth and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22.** Plant Disease, v. 84, p. 377-393, 2000.

JUNQUEIRA, N. T. V.; LAGE, D. A. C.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R.; BORGES, T. A.; ANDRADE, S. R. M. **Reação a doenças e produtividade um clone de maracujazeiro-azedo propagado por estaquia e enxertia em estacas herbáceas de *Passiflora silvestre*.** Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal - SP, v. 28, n. 1, p. 97-100, 2006.

KLEIFELD, O.; CHET, I. ***Trichoderma*: plant interaction and its effects on increased growth response.** Plant Soil, v. 144, n. 2, p. 267-272, 1992.

MINAMI, K.; TESSARIOLI NETO, J.; PENTEADO, S. R.; ESCARPARI FILHO, J. A. **Produção de mudas hortícolas de alta qualidade.** Piracicaba: ESALQ/SEBRAE.155p, 1994.

NOGUEIRA, A. M.; CHALFUN, N. N. J.; DUTRA, L. F.; VILLA, F. **Propagação de figueira (*Ficus carica* L.) por meio de estacas retiradas durante o período vegetativo.** Ciência e Agrotecnologia, v. 31, n. 3, p. 914-920, 2007.

PIRES, M. C. **Propagação do maracujazeiro por estaquia e enxertia em estacas enraizadas.** 2007. 87 f. Dissertação (Mestrado em ciências agrárias) - Faculdade de agronomia e medicina veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

SANTOS, H. A. ***Trichoderma* spp. como promotores de crescimento em plantas e como Antagonistas A *Fusarium oxysporum*.** 2008. 94 f. Dissertação (Mestrado em ciências agrárias) – Faculdade de agronomia e medicina veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

RESENDE, M. L. **Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento.** Ciência e agrotecnologia, Lavras- MG, v. 28, p. 793-798. 2004.

SOUZA, P. V. D.; CARNIEL, E.; FOCESATO, M. L. **Efeito da composição do substrato no enraizamento de estacas de maracujazeiro azedo.** Revista Brasileira de Fruticultura, v. 28, n. 2, 2006.

SOUZA, F. X.; ARAÚJO, C. A. T. **Avaliação dos métodos de propagação de algumas Spondias agroindustriais.** Fortaleza: Embrapa-CNPAT, 1999. p. 1-4 (Comunicado técnico, 31).

TSAHOURIDOU, P. C.; THANASSOULOPOULOS C. C. **Proliferation of *Trichoderma coningii* in the tomato rhizosphere and the suppression of damping-off by *Sclerotium rolfsii*.** Soil biology & biochemistry. Elmsford- NY, v. 34, p. 767-776, 2001.

ZONTA, E. P.; MACHADO, A. A. **Sistema de análises estatísticas (SANEST) para microcomputadores.** In: SIMPÓSIO DE ESTATÍSTICA APLICADA À EXPERIMENTAÇÃO, 1995, Piracicaba-SP, anais. Campinas, Fundação Cargill, 1995. p. 17-18.

WOLLUM, A. G. **Cultural Methods for Soil Microorganisms.** In: MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. Methods of soil analysis: chemical and microbiologic properties. Madison: Soil Science of America, p. 781-802, 1982.