

## **Ação de herbicidas sobre o crescimento *in vitro* dos isolados *Trichoderma* e *Azospirillum***

**Action of herbicides on the growth *in vitro* of *Trichoderma* and *Azospirillum* isolates**

**Acción de herbicidas sobre el crecimiento *in vitro* de aislados de *Trichoderma* y *Azospirillum***

Recebido: 12/07/2022 | Revisado: 28/07/2022 | Aceito: 01/08/2022 | Publicado: 10/08/2022

### **Kellem Ângela Oliveira de Sousa**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1474-7730>  
Universidade Federal do Tocantins, Brasil  
E-mail: sousaka\_@hotmail.com

### **Tasso Tavares dos Santos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2735-1471>  
Universidade Federal do Tocantins, Brasil  
E-mail: agronomo.tasso@gmail.com

### **Celso Afonso Lima**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9684-0682>  
Universidade Federal do Tocantins, Brasil  
E-mail: celsoa.lima@hotmail.com

### **Milena Barreira Lopes**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4353-9394>  
Universidade Federal do Tocantins, Brasil  
E-mail: milena.barreira.lopes@gmail.com

### **Dalilla Moreira de Oliveira Moura**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7559-809X>  
Universidade Federal do Tocantins, Brasil  
E-mail: dalilla.moreira@mail.uft.edu.br

### **Ana Licia Leão Ferreira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9871-9819>  
Universidade Federal do Tocantins, Brasil  
E-mail: licia.leao@mail.uft.edu.br

### **Leticia Bezerra de Almeida**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9227-9042>  
Universidade Federal do Tocantins, Brasil  
E-mail: leticia.almeida@mail.uft.edu.br

### **Lillian França Borges Chagas**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0083-6452>  
Universidade Federal do Tocantins, Brasil  
E-mail: lillianfbc@uft.edu.br

### **Aloisio Freitas Chagas Junior**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7489-8701>  
Universidade Federal do Tocantins, Brasil  
E-mail: chagasjraf@uft.edu.br

### **Resumo**

O uso de microrganismos na agricultura surge como uma alternativa para o controle de doenças e na promoção de crescimento vegetal. Entretanto, o uso indiscriminado de herbicidas para determinada cultura pode comprometer a microbiota do solo. Diante disso, objetivou-se avaliar a compatibilidade *in vitro* dos herbicidas utilizados no manejo de plantas daninhas da cultura da soja sobre o comportamento de crescimento de *Trichoderma asperellum* e *Azospirillum brasilense*. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 4, com três repetições. O fator A correspondeu às doses dos herbicidas; e o fator B, aos quatro tipos de herbicidas, e para a testemunha o cultivo dos microrganismos em meio de cultura sem adição da solução dos herbicidas. O ensaio foi realizado em condições *in vitro*, e para o isolado de *T. asperellum* avaliou-se o crescimento micelial radial (CMR) e a esporulação dos isolados, e para o isolado de *A. brasilense* avaliou-se a formação de halo de inibição e unidade formadores de colônias (UFC mL<sup>-1</sup>). Tendo em vista que não apresentou significância, os herbicidas na menor dose afetaram o crescimento fúngico e microbiano dos isolados de *T. asperellum* e *A. brasilense*. Para ambos os isolados, o herbicida Crucial® e Boral® apresentaram maior interferência nos crescimentos microbianos.

**Palavras-chave:** Tolerância; Agroquímicos; Microrganismos promotores de crescimento vegetal; Ecotoxicologia.

## Abstract

The use of microorganisms in agriculture appears as an alternative for disease control and plant growth promotion. However, the indiscriminate use of herbicides for a particular crop can compromise the soil microbiota. Therefore, the objective was to evaluate the in vitro compatibility of herbicides used in the management of soybean weeds on the growth behavior of *Trichoderma asperellum* and *Azospirillum brasilense*. A completely randomized design was used, in a 2 x 4 factorial scheme, with three replications. Factor A corresponded to herbicide doses; and factor B, to the four types of herbicides, and for the control, the cultivation of microorganisms in culture medium without addition of the herbicide solution. The assay was carried out under in vitro conditions, for the isolate *T. asperellum*, radial mycelial growth (CMR) and sporulation of the isolates were evaluated, and for the isolate *A. asperellum*, inhibition halo formation and colony forming units per milliliters were evaluated (CFU mL<sup>-1</sup>). Considering that it was not significant, the herbicides at the lowest dose affected the fungal and microbial growth of the isolates *T. asperellum* and *A. brasilense*. For both isolates, the herbicide Crucial® and Boral® showed greater interference in their growth.

**Keywords:** Tolerance; Agrochemicals; Plant growth-promoting microorganisms; Ecotoxicology.

## Resumen

El uso de microorganismos en la agricultura aparece como una alternativa para el control de enfermedades y la promoción del crecimiento vegetal. Sin embargo, el uso indiscriminado de herbicidas para un cultivo en particular puede comprometer el microbiota del suelo. Por lo tanto, el objetivo fue evaluar la compatibilidad in vitro de herbicidas utilizados en el manejo de malezas de soja sobre el comportamiento de crecimiento de *Trichoderma asperellum* y *Azospirillum brasilense*. Se utilizó un diseño completamente al azar, en un esquema factorial 2 x 4, con tres repeticiones. El factor A correspondió a las dosis de herbicida; y factor B, a los cuatro tipos de herbicidas, y para el control, el cultivo de microorganismos en medio de cultivo sin adición de la solución herbicida. El ensayo se realizó en condiciones in vitro, y para el aislado de *T. asperellum* se evaluó el crecimiento radial micelial (CMR) y la esporulación de los aislados, y para el aislado de *A. brasilense* se evaluó la formación de halo de inhibición y unidad formadora de iones. colonias (UFC mL<sup>-1</sup>). Considerando que no fue significativo, los herbicidas a la dosis más baja afectaron el crecimiento fúngico y microbiano de los aislados de *T. asperellum* y *A. brasilense*. Para ambos aislamientos, el herbicida Crucial® y Boral® mostraron mayor interferencia en el crecimiento microbiano.

**Palabras clave:** Tolerancia; Agroquímicos; Microorganismos promotores del crecimiento vegetal; Ecotoxicología.

## 1. Introdução

A demanda mundial por alimento está atualmente no centro das preocupações científicas, e sem dúvidas é o maior desafio que será enfrentado pelos governos nos próximos anos. Ao mesmo tempo, convivemos com a necessidade de reduzir os impactos provocados pela atividade agrícola sobre o meio ambiente. O atual cenário produtivo convive com desafios fitossanitários que não são novos, que por vezes representam grande entrave para a obtenção de elevadas médias de produtividade, quais sejam a fitopatologia, a fertilidade e nutrição, a mitigação dos estresses e o manejo de pragas (Contini et al., 2018).

A cultura da soja, a principal no Brasil, sofre constantemente com os efeitos do controle ineficiente de plantas daninhas, podendo em alguns casos inviabilizar a exploração comercial de uma área a depender da espécie infestante e o grau de abrangência (Oliveira Jr., 2011). Com o advento do plantio direto o manejo químico de plantas daninhas tornou-se predominante dentre as técnicas de controle de invasoras, e com a introdução dos materiais transgênicos resistentes ao herbicida glifosato criou-se uma nova condição de predominância de um princípio ativo em detrimento de uma gama de outras moléculas que compõem o pool de ferramentas para tal fim (Andrade, 2018). O advento da soja e milho com a biotecnologia Roundup Ready® (RR) tornou o herbicida glifosato a molécula mais usada na agricultura brasileira e mundial, conduzindo assim a uma condição de pressão de seleção de linhagens de plantas daninhas resistentes a tal princípio ativo (Vargas, 2016).

O cenário passou a exigir o incremento de outras ferramentas no manejo. Novas moléculas, a associação de princípios ativos e a retomada de algumas ferramentas que entraram em relativo desuso com o passar do tempo, podendo citar como exemplo os herbicidas pré-emergentes (Patel, 2018). Algumas moléculas com esse modo de ação têm demonstrado boa eficiência no controle das principais plantas infestantes da cultura da soja atualmente, quais sejam: Diclosulan, Sulfentrazone e Flumioxazina (Sanhotene et al., 2017).

No solo, na região conhecida como rizosfera, as plantas estabelecem suas primeiras interações com os microrganismos presentes, e com os quais ela irá conviver até o encerramento de seu ciclo. Algumas interações são conhecidas e amplamente estudadas no meio científico, envolvendo plantas e fungos, além de alguns gêneros de bactérias (Reis, 2005). Exemplo disso são interações entre soja e bactérias do gênero *Rizobium*, do milho e o gênero *Azospirillum*, assim como a interação positiva entre o fungo *Trichoderma* e uma série de espécies vegetais. Pensando nessas interações e entendendo que seu sucesso impacta positivamente na produtividade dos cultivos é que se tem avaliado a compatibilidade entre importantes agroquímicos usado no manejo da cultura da soja, e microrganismos de interesse, como o *Trichoderma* e a bactéria *Azospirillum* (Chagas et al., 2017).

Com a crescente adoção de ferramentas microbiológicas no controle de doenças de solo, no controle de pragas ou ainda como biofertilizante, faz-se necessário a avaliação minuciosa e ampla das interações entre as mais diversas ferramentas biológicas e o aparato agroquímico utilizado no manejo agrícola, especialmente para os produtos cujo alvo seja o solo. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a compatibilidade em diferentes doses dos herbicidas Crucial®, Boral®, Spider® e Zethamax®, sobre o crescimento *in vitro* do fungo *Trichoderma asperellum* e da bactéria *Azospirillum brasilense*.

## 2. Metodologia

O experimento foi conduzido no Laboratório de Agromicrobiologia Aplicada e Biotecnologia da Universidade Federal do Tocantins (UFT), Campus de Gurupi. Foram utilizados o fungo *Trichoderma asperellum* (UFT 201) e bactéria *Azospirillum brasilense*, provenientes do mesmo laboratório.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizados, em esquema fatorial 2 x 4, com três repetições, em que o fator A correspondeu às doses dos herbicidas; e o fator B, aos quatro tipos de herbicidas, e para a testemunha o cultivo dos microrganismos em meio de cultura sem adição da solução dos herbicidas.

Os herbicidas foram Crucial® (Glifosato, 2 L ha<sup>-1</sup>) de aplicação em pós-emergência, Zethamax® (Imazetapir + Flumioxazina, 0,6 L ha<sup>-1</sup>) de aplicação pré-emergência e de pós-emergência, Boral® (Sulfentrazone, 1,2 L ha<sup>-1</sup>), de aplicação em pré-emergência e Spider® (Diclosulam, 41,7 g ha<sup>-1</sup>). As dosagens corresponderam a dose recomendada (D1) pelo fabricante e a segunda ao dobro da dose recomendada (D2). As soluções de herbicidas foram preparadas com 50 mL de água destilada esterilizada. As soluções foram esterilizadas por filtragem em disco de filtro de membrana 0,45 µm, acondicionadas em tubos Falcon previamente autoclavados e armazenadas em geladeira.

Para a instalação do experimento com o isolado *T. asperellum*, anteriormente foi multiplicado em placas de Petri (ø 90 mm) contendo substrato BDA (250 g de batata, 20 g dextrose, 20 g ágar, 250 mg de antibiótico Amoxicilina, para 1 L água destilada), e incubados a 27 °C por sete dias. Posteriormente, em câmara de fluxo laminar com as placas vertida com o meio BDA autoclavado foram espalhados 1 µL da solução de cada herbicidas, com auxílio de uma alça de Drigalski. Em seguida, inoculou-se um disco de micélio de 5 mm no centro da placa. Após a inoculação, as placas foram incubadas em câmara tipo BOD no escuro.

O crescimento micelial radial foi acompanhado diariamente, medindo-se o diâmetro da colônia do fungo com uma régua milimetrada. A medição foi feita até a testemunha ocupar toda a superfície do meio de cultura. Para avaliar o efeito sobre a esporulação, foi realizada, aos dez dias após a inoculação, a quantificação do número de esporos.

A esporulação do isolado de *T. asperellum*, determinada pela concentração de conídios, foi avaliada após 10 dias de incubação do fungo em BOD a 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas. Para isso foram adicionados 10 mL de água destilada sobre a colônia fúngica, seguido da raspagem da colônia com uma alça de Drigalski. Para tubos de ensaio contendo 9 mL de água destilada foi transferido 1 mL da suspensão, seguido da homogeneização do conteúdo em um agitador de tubos. Uma

alíquota da suspensão foi transferida para Câmara de Neubauer e realizada a contagem dos conídios em microscópio óptico. Os resultados foram expressos em concentração de conídios por mL de suspensão para cada placa.

Para o isolado *A. brasilense*, a multiplicação deu-se pelo meio CCY e incubados em estufa bacteriológica a 28 °C por três dias. Posteriormente, em câmara de fluxo laminar com as placas vertida com o meio CCY autoclavado, realizou-se estrias com a bactéria, com auxílio da alça de platina. Em seguida, discos de papel-filtro de 1cm de diâmetro foram mergulhados nas soluções de cada herbicida, nas duas concentrações, e colocados em contato com a superfície do meio de cultura já inoculado com a bactéria. Após incubação (24 h, 28±2 °C) e por um período de 3 dias, avaliou-se a presença ou ausência do halo de inibição no crescimento das colônias ao redor dos discos. O produto que apresentou halo de inibição ao redor do disco de papel foi classificado como incompatível, ao passo que o produto que não apresentou halo foi classificado como compatível com o herbicida. Para a determinação da Unidade Formadora de Colônias (UFC), após 72 horas de incubação foi realizada a diluição seriada, até a diluição 10<sup>5</sup>, em placas contendo em meio CCY, utilizou-se a diluição 10<sup>5</sup> a partir de uma alíquota da suspensão para a contagem da população microbiana em meio CCY em três repetições. A avaliação foi realizada por meio da contagem das colônias da bactéria, a olho nu, após de 72 hrs.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as comparações das médias foram feitas pelo teste de Scott-Knot a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SISVAR versão 5.7 (Ferreira, 2008).

### 3. Resultados e Discussão

A partir dos resultados obtidos verificou-se que para ambos isolados *T. asperellum* e *A. brasilense* submetidos aos diferentes herbicidas, a testemunha apresentou maior média, quando comparado aos tratamentos e as doses para todas as variáveis. Para números de conídios observou-se interação entre os fatores doses e herbicidas, porém a média da testemunha sobressaiu quanto comparado aos tratamentos submetidos aos fatores.

Para a testemunha do isolado *A. brasilense* não foi observado formação do halo para o crescimento microbiano, indicando que não apresentou incompatibilidade com a solução dos herbicidas sob as duas doses. Para a unidade formadora de colônia (UFC), a testemunha apresentou diferença significativa ( $p \leq 0,5$ ) quando comparado aos fatores, tipos de herbicidas e as doses.

O herbicida Crucial<sup>®</sup> se mostrou relativamente incompatível em mistura com o fungo *T. asperellum*, limitando o crescimento micelial radial (CMR) na ordem de 60% em relação à testemunha, em avaliação aos 7 dias (Tabela 1). Em menor proporção os herbicidas Boral<sup>®</sup> e Spider<sup>®</sup> também limitaram o CMR deste fungo na ordem de 44% (Tabela 1). Cabe ressaltar que o herbicida Zethamax<sup>®</sup> representou uma redução no CMR na ordem de 9% quando comparado com a testemunha sem a aplicação de herbicida, mesmo sendo composto por duas moléculas herbicidas inibidoras de enzimas que são alvo do Boral<sup>®</sup> (Protox) e Spider<sup>®</sup> (ALS).

Quanto ao herbicida Crucial<sup>®</sup> (Glifosato), a sua interferência com outros organismos presentes no solo, inclusive da comunidade microbiana nativa, especialmente na cultura da soja, mostrando-se inibitório ao crescimento de *Bradyrhizobium* spp. e a fungos micorrizicos (Malty et al., 2006), sendo o efeito negativo proporcional à dose aplicada. A ação da molécula de glifosato sobre fungos, especialmente fitopatogênicos, inibiu seu desenvolvimento ou a germinação de seus esporos (Soares et al., 2008).

**Tabela 1:** Crescimento micelial radial do isolado *Trichoderma asperellum* em função das doses e herbicidas em condições *in vitro*.

Herbicidas	Crescimento micelial (cm)
Crucial®	2,65 c
Spider®	3,77 b
Boral®	3,78 b
Zethamax®	6,15 a
Testemunha	6,77 a
CV (%)	10,15

Médias seguidas de letras distintas, nas colunas, são estatisticamente diferentes entre si pelo teste de Scott-Knott. C.V(%) = Coeficiente de Variação. Fonte: Autores.

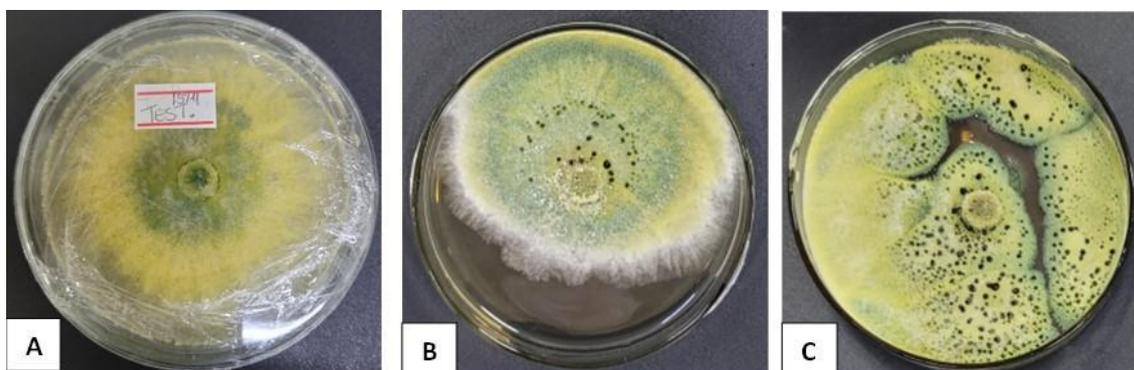
Em relação as doses aplicadas ao isolado *T. asperellum*, não teve significância para as doses utilizadas nas condições *in vitro* (Tabela 2), no entanto, a dose 1 (D1) apresentou maior sensibilidade ao isolado promovendo o efeito inibitório no crescimento micelial comparado a dose 2 (D2), que teve menor sensibilidade e proporcionou maior crescimento fúngico sob aplicação dos herbicidas (Figura 1). Independente das doses utilizadas, demonstra que houve efeito fungistático sobre o crescimento micelial radial durante o período que a testemunha alcançou crescimento máximo em toda área da placa.

**Tabela 2:** Crescimento micelial do isolado *Trichoderma* spp. em função das doses em condições *in vitro*.

Doses	Crescimento micelial (cm)
D1	3,79 b
D2	4,39 b
Testemunha	6,77 a
CV (%)	10,15

Médias seguidas de letras distintas, nas colunas, são estatisticamente diferentes entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância. C.V(%) = Coeficiente de Variação. Fonte: Autores.

**Figura 1:** Crescimento micelial do isolado *Trichoderma asperellum* em meio de cultura BDA: (A) Testemunha, (B) Submetido a dose 1 do herbicida comercial Crucial®; (C) Submetido a dose 2 do herbicida comercial Crucial®.



Fonte: Autores.

Os resultados encontrados neste trabalho condizem com Ramos (2016) em que o herbicida glifosato, na dose recomendada, tendeu a reduzir o crescimento micelial de cinco isolados de *Trichoderma* (UFT 201, UFT 202, UFT 203, UFT

204, UFT 205) como também os resultados de Tanney e Hutchison (2010), em que isolados de *Trichoderma* demonstraram menor crescimento micelial radial na presença de glifosato a partir de 1 ppm, sendo completamente inibidos na presença de 1000 ppm deste herbicida.

Como forma de controle para as plantas daninhas, os herbicidas, podem afetar organismos não alvos, a exemplo dos fungos antagonistas (Peixoto et al., 2010) como os que atuam no controle biológico e na promoção de crescimento vegetal. Rosa et al. (2010), apontam que os herbicidas podem influenciar no crescimento ou no desenvolvimento de diversos fungos fitopatogênicos ou saprófitos do solo. Esses autores observaram forte influência de princípios ativos de glifosato, halosulfuron e sethoxydim sobre isolados de *Rhizoctonia*, *Ceratocystis*, *Cryphonectria*, *Phytophthora*, *Macrophomina*, *Sclerotium*, *Fusarium* e *Mirothecium*.

Ao avaliar o efeito da interação para números de esporos do isolado *Trichoderma* em função das doses e os herbicidas, verifica-se que a testemunha obteve valores maiores e diferentes comparados aos tratamentos, porém a média da testemunha não diferiu dos tratamentos com herbicidas Spider® (Diclosulam) e Zethamax® (Imazetapir + Flumioxazina) como também para o fator das doses aplicadas, sobretudo para a dose 2 (Tabela 3). Em respeito ao desdobramento dos herbicidas frente as doses, os tratamentos com herbicidas Boral® (Sulfentrazone) e Crucial® (Glifosato) apresentou diferenças significativas para dose 1 em relação aos outros herbicidas, enquanto para a dose 2 não obteve significância, mas nota-se o tratamento com Crucial® submetido a dose 2 influenciou na redução números de esporos (Figura 2).

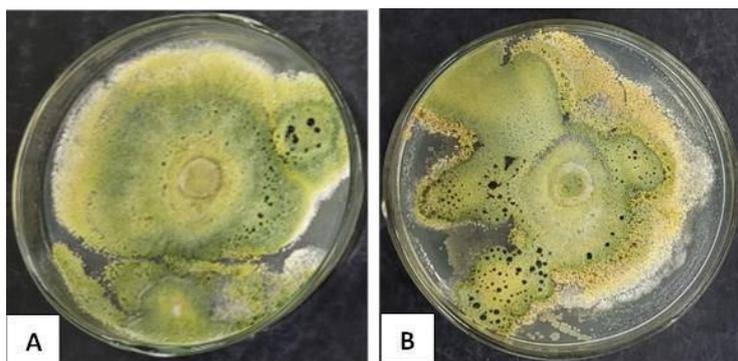
E em relação as doses frente os tratamentos com os herbicidas, a dose 1 estatisticamente promoveu interferência na esporulação do isolado *T. asperellum* comparado a dose 2, entretanto os valores médios obtidos para ambas as doses foram semelhantes. Tal resultado evidencia que os herbicidas Boral® e Crucial® aplicado sob a dose 1 promoveram maior redução na esporulação dos isolado *T. asperellum*, demonstrando seu ação antiesporulante sob condições *in vitro*. Desse modo, os resultados corroboram com Ramos (2016) que verificou que os herbicidas com os princípios ativos glifosato e sulfentrazone reduziram a esporulação de cinco isolados de *Trichoderma*, entretanto não diferiram entre si. A partir desses resultados pertinentes, a produção de esporos não é afetada significativamente o que possibilita o uso combinado com herbicidas.

**Tabela 3:** Número médio de esporos de isolados de *Trichoderma asperellum* aos sete dias após inoculação e aplicação de diferentes doses de herbicidas.

Herbicidas	Esporulação	
	D1	D2
Crucial®	41,83 Ba	45,00 Aa
Spider®	56,91 Aa	53,83 Aa
Boral®	40,41 Bb	55,83 Aa
Zethamax®	52,91 Aa	51,50 Aa
Testemunha	57,50 Aa	57,50 Aa
CV (%)	9,56	

Médias seguidas de letras distintas, nas colunas, são estatisticamente diferentes entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância. C.V(%) = Coeficiente de Variação. Fonte: Autores.

**Figura 2:** Crescimento micelial do isolado *Trichoderma* sp. submetido ao herbicida comercial Boral®: (A) Dose 1, (B) Dose 2.



Fonte: Autores.

Como mostra a Tabela 3, os herbicidas Spider® (Diclosulam) e Zethamax® (Imazetapir + Flumioxazina) apresentaram as menores médias para os números de esporos demonstrando baixo nível de toxicidade, logo possibilita o uso combinado com princípios ativos desses herbicidas, e segundo Sharma et al. (2015), verificaram a compatibilidade do isolado *Trichoderma viride* com herbicidas que apresentavam o princípio imazethapyr e pendimethalin, permitindo dessa forma a utilização ao mesmo tempo.

O comportamento do crescimento microbiano do isolado *A. brasilense* não apresentou presença de halo em função das doses de herbicidas, sendo indicativo que não houve incompatibilidade entre o microrganismo e os diferentes princípios ativos dos herbicidas. Para as Unidades Formadoras de Colônia (UFC), a testemunha apresentou diferença estatística comparado aos tratamentos, já entre os tratamentos não diferiram estatisticamente, mas observou-se interferência nos crescimentos das UFC (Tabela 4). Para os tratamentos com os princípios ativos dos herbicidas, o Boral® apresentou inibição de quase 92% de forma acentuada o crescimento microbiano comparado aos outros herbicidas, resultado semelhante com Schwerz et al. (2017), também observaram efeitos de limitação quando em contato com o herbicida sulfentrazone, submetido a maior dose aplicada do herbicida. Para os tratamentos com Spider®, Zethamax® e Crucial® apresentaram em média de 71,84%, 74,68% e 76,23% inibição do crescimento microbiano, respectivamente (Tabela 4).

Para os tratamentos em função das doses, não se verificou significância a 5%, mas nota-se que os valores apresentados demonstraram interferência, em que a menor dose (dose 1) apresentou maior redução de UFC comparado a dose 2, como mostra a menor dose ocasionou maior sensibilidade ao isolado *A. brasilense* (Tabela 5).

Segundo Santos et al. (2004), a toxicidade de um herbicida não está associada somente ao ingrediente ativo, mecanismo de ação ou grupo químico, mas também a fatores relacionados a características físico-químicas do produto comercial. Compostos presentes nas formulações dos agroquímicos, tais como solventes, surfactantes e agentes molhantes, podem estar diretamente associados ao efeito tóxico dos herbicidas sobre os microrganismos. Logo a aplicação de agroquímicos pode interferir positivamente na microbiota solo, quando estas moléculas são passíveis de serem metabolizadas pelos microrganismos, ou interferir negativamente, quando possuem a capacidade de intoxicar a população microbiana (Ferreira, 2016).

**Tabela 4:** Unidade Formadora de Colônias do isolado *Azospirillum* aos sete dias após inoculação e aplicação de diferentes doses de herbicidas.

Herbicidas	UFC (10 <sup>5</sup> )
Crucial <sup>®</sup>	61,33 b
Spider <sup>®</sup>	72,66 b
Boral <sup>®</sup>	21,16 b
Zethamax <sup>®</sup>	65,33 b
Testemunha	258,0 a
CV (%)	10,15

Médias seguidas de letras distintas, nas colunas, são estatisticamente diferentes entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância. C.V(%) = Coeficiente de Variação. Fonte: Autores.

**Tabela 5:** Crescimento microbiano do isolado *Azospirillum* sp em função das doses em condições *in vitro*.

Doses	Crescimento micelial (cm)
D1	49,50 b
D2	60,75 b
Testemunha	258,00 a
CV (%)	10,15

Médias seguidas de letras distintas, nas colunas, são estatisticamente diferentes entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância. C.V(%) = Coeficiente de Variação. Fonte: Autores.

A partir destes resultados são capazes de sugerir que os princípios ativos dos respectivos herbicidas sejam avaliados a nível de campo, visto que os testes foram realizados sob condições *in vitro* no laboratório, pois estão diretamente expostos ao máximo ao princípio ativo, o que não ocorre em campo, pois as condições de campo estão sujeitas a fatores abióticos e bióticos.

#### 4. Conclusão

Tendo em vista que não apresentou significância, os herbicidas na menor dose afetaram o crescimento fúngico e microbiano dos isolados de *Trichoderma asperellum* e *Azospirillum brasilense*.

Para ambos isolados, o herbicida Crucial e Boral apresentaram maior interferência nos crescimentos microbianos.

A partir destes resultados e considerando a sustentabilidade agrícola, há necessidades de pesquisas complementares estudando a compatibilidade de outros produtos fitossanitários químicos aos agentes promotores de crescimento vegetal *Trichoderma asperellum* e *Azospirillum brasilense*, tanto sob condições *in vitro* como *in vivo*.

#### Agradecimentos

Ao programa de Pós-graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal do Tocantins (PPGPV/UFT) e ao CNPq e Capes pelas concessões de bolsas.

#### Referências

Andrade, A. T., Torres, J. R. L., Paes, J. M. V., Teixeira, C. M., & Condé, A. B. T. (2018). Desafios do sistema plantio direto no Cerrado. *Informe Agropecuário*, 39, 18-26.

- Chagas, L. F. B., Chagas Junior, A. F., Soares, L. P., & Fidelis, R. R. (2017). *Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal. *Revista de Agricultura Neotropical*, 4, 97-102. <https://doi.org/10.32404/rean.v4i3.1529>.
- Contini, E., Gazzoni, D., Aragão, A., Mota, M., & Marra, R. (2018). Complexo soja - Caracterização e Desafios Tecnológicos. Série Desafios do Agronegócio Brasileiro (NT1). Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa).
- Ferreira, D. F. (2008). SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. *Revista Symposium*, 6, 36-41.
- Ferreira, P. S. H. (2016). *Seletividade dos herbicidas amicarbazone e sulfentrazone para cana soca seca, utilizando-se testemunha pareada, e ação na microbiota do solo*. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2016.
- Malty, J. S., Siqueira, J. O., & Moreira, F. M. S. (2006). Efeitos do glifosato sobre microrganismos simbióticos de soja, em meio de cultura e casa de vegetação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41, 285-291.
- Oliveira Jr., R. S. (2011). Mecanismos de ação de herbicidas. In: R.S. Oliveira Jr., J. Constantin, & M. H. Inoue (Eds.). *Biologia e manejo de plantas daninhas* (22nd ed., pp. 141–192). Omnipax.
- Patel, F. (2018). *Eficiência agrônômica e persistência de herbicidas pré-emergentes na cultura da soja*. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
- Peixoto, M. F. S. P., Borges, V. P., Borges, V. P., & Peixoto, C. P. (2010). Ação do trifluralin na micorrização e crescimento de plantas de amendoim (*Arachishypogaea*). *Planta Daninha*, 28, 609-614. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582010000300018>.
- Ramos, A. C. C. (2016). *Ação de herbicidas sob Trichoderma e eficiência da inoculação em mudas de mamão*. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Federal do Tocantins.
- Reis, V. M. (2005). *Interações entre plantas e microrganismos*. Embrapa Agrobiologia-Documentos.
- Rosa, D. D., Basseto, M. A., Cavariane, C., & Furtado, E. L. (2010). Efeito de herbicidas sobre agentes fitopatogênicos. *Acta Sci. Agron.*, 32, p. 379-383. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v32i3.3728>.
- Sanchotene, D. M., Dornelles, S. H. B., Bolzan, T. M., Voss, H. M. G., Escobar, O. S., Leon, C. B., Muller, E. N., & Shimóia, E. P. (2017). Desempenho de diferentes herbicidas pré-emergentes para controle de *Euphorbia heterophylla* na cultura da soja. *Perspectiva Erechim*, 41, 07-15.
- Santos, J. B., Jacques, R. J. S., Procópio, S. O., Kasuya, M. C. M., Sílvia, A. A., & Santos, E. A. (2004). Efeitos de diferentes formulações comerciais de glyphosate sobre estirpes de *Bradyrhizobium*. *Planta Daninha*, 22, 293-299.
- Schwerz, L. A., Petry, S., Pies, W.; Luz, A. C. P., Werlang, T., & Tironi, S. P. (2017). Desenvolvimento e fixação de nitrogênio in vitro de *Azospirillum amazonense* em diferentes doses de herbicidas. *Anais do IX Salão Internacional de ensino, pesquisa e extensão*, Santana do Livramento.
- Sharma, L. (2015). Studies on compatibility of *Trichoderma viride* with recommended fungicides, insecticides, herbicides and plant products against major soil borne pathogen. M.Sc. Thesis (Unpublished). Jawaharlal Nehru KrishiVishwaVidyalaya.
- Soares, R. M., Gazziero, D. L. P., Morita, D. A. S., Ciliato, M. L., Flausino, A. M., Santos, L. C. M., & Janegitz, T. (2008). Utilização de glyphosate para o controle de ferrugem da soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43, 473-477.
- Tanney, J. B., & Hutchison, L. J. (2010). The effects of glyphosate on the *in vitro* linear growth of selected microfungi from a boreal forest soil. *Canadian Journal of Microbiology*, 56, 138-144.
- Vargas, L., Adegas, F., Gazziero, D., Karan, D., Agostinetto, D., & Silva, W. T. (2016). *Resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil: histórico, distribuição, impacto econômico, manejo e prevenção*.