

EFEITO BIOHERBICIDA DE *Trichoderma koningiopsis* COMBINADO COM HERBICIDA SINTÉTICO EM PLANTAS DANINHAS DE VERÃO**CAUÊ BETIATO BIENIEK^{1,2*}, XAIANE KARINE HAHN^{2,3}, ALINE FRUMI CAMARGO^{2,4}, HELEN TREICHEL^{2,5}, ALTEMIR JOSE MOSSI^{2,6}****1 Introdução**

Uma das maiores dificuldades da agricultura é a presença de ervas daninhas resistentes à herbicidas comerciais, isto ocorre devido ao uso inadequado de herbicidas ao longo dos anos (PEROTTI et al., 2020). Até meados da segunda guerra mundial utilizou-se para o manejo de plantas daninhas principalmente o controle mecânico, rotação de culturas e seleção de sementes, o que demandava intenso trabalho com resultado muito variável (SCHROEDER, 1992).

A adoção do controle químico, a partir dos anos 60, representou um avanço significativo no manejo de plantas daninhas. No entanto, o uso demasiado desses produtos permitiu o surgimento de biótipos resistentes a diversos mecanismos de ação (VIDAL et al., 2006), existindo, atualmente, 522 casos de plantas resistentes a herbicidas no mundo, além do crescente surgimento de casos de resistência cruzada ou múltipla a vários mecanismos de ação (HEAP, 2023).

Os bioherbicidas utilizam principalmente microrganismos para o controle de plantas daninhas (KLAIC et al., 2015). Camargo et al. (2019), observaram ação sinérgica entre o fungo *Trichoderma koningiopsis* e herbicidas sintéticos, que quando aplicados em conjunto, obteve 100% de controle das plantas alvos com aplicação da metade da dosagem recomendada de glifosato. Assim, estudos do efeito do bioherbicida produzido a partir de *Trichoderma koningiopsis* sob as características fisiológicas, bioquímicas e morfológicas nas plantas daninhas e cultivadas, bem como o estudo da formulação do bioherbicida, tornam-se importantes para continuidade dos trabalhos que vem sendo realizados pelo grupo de pesquisa, e para formulação de um bioproduto efetivo para o controle das plantas daninhas.

¹Acadêmico do curso de Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim, **Bolsista**, contato: cauebetiatobieniek@gmail.com.

²Grupo de Pesquisa: Laboratório de Agroecologia e Laboratório de Microbiologia e Bioprocessos (LAMIBI).

³Acadêmica do curso de Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim.

⁴Doutoranda em Biotecnologia e Biociências, Universidade Federal de Santa Catarina, *campus* Florianópolis.

⁵Doutora em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim.

⁶Eng. Agrônomo, Dr. em Ecologia e Recursos naturais, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim, **Orientador**.

2 Objetivos

Este trabalho tem como objetivo investigar as alterações bioquímicas nas plantas daninhas e cultivadas em resposta à aplicação do bioherbicida de *Trichoderma koningiospsis* combinado com herbicidas sintéticos.

3 Metodologia

As pesquisas foram desenvolvidas na UFFS – Campus Erechim e utilizou o *Trichoderma koningiospsis*. Este fungo foi isolado da planta daninha *Digitaria horizontalis* por Reichert Júnior et al. (2019), e já apresentou resultados promissores em outras pesquisas realizadas no grupo de pesquisas.

Os herbicidas químicos utilizados foram herbicidas do grupo G, inibidores da EPSPs (enolpiruvil-shikimato-fosfato sintetase), com diferentes formulações: Roundup Original (Sal isoprolamina), Roundup WG (Sal de amônio) e Zapp Qi (Sal potássico). Para este experimento utilizou-se três espécies, sendo elas: *Glycine max* (Soja), *Ipomoea hederifolia* (corda-de-viola) e *Bidens pilosa* L. (picão-preto).

Os experimentos foram conduzidos com delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 4 repetições para cada tratamento em sendo 3 plantas por vaso de 5 L contendo substrato. Os tratamentos foram aplicados sob pulverização manual com borrifador, utilizando um volume de aplicação de 20 mL para os tratamentos envolvendo os herbicidas sintéticos e 35 mL do composto bioherbicida diretamente na parte aérea das plantas aplicados 16 dias após a emergência, conforme Tabela 1.

Tabela 1. Tratamentos do subprojeto.

Tratamentos			
Testemunha	1	Roundup WG 100% da dose	7
Somente com meio de Cultivo	2	Roundup WG 50% da dose	8
Somente com <i>Trichoderma Koningiospsis</i>	3	Roundup WG 50% da dose + <i>Trichoderma</i>	9
Roundup Original 100% da dose	4	Zapp Qi 100% da dose	10
Roundup Original 50% da dose	5	Zapp Qi 50% da dose	11
Roundup Original 50% da dose + <i>Trichoderma</i>	6	Zapp Qi 50% da dose + <i>Trichoderma</i>	12

Todos os tratamentos foram realizados para as três espécies de plantas.

Após a aplicação a coleta de folhas foi realizada em quatro (4) momentos: (C1) no dia 1 após a aplicação; (C2) no dia 5 após aplicação; (C3) no dia 10 após aplicação e (C4) no dia 15 após a aplicação.

Para a determinação da atividade das enzimas peroxidases foi seguido a metodologia proposta por Khan e Robinson (1994), sendo a leitura de absorvância realizada em espectrofotômetro UV-VIS (Cirrus 80, FEMTO, Brasil), 470 nM. A equação 1 foi utilizada para

a medida de atividade das enzimas:

$$AE \text{ (U/mL)} = (ABS/(V * t)) * 1000$$

Onde: AE = atividade específica; Equação (1)
 ABS = leitura da absorbância;
 t = tempo de reação (min); V = volume de enzima (mL);

Para a determinação das celulases foi seguido método proposto o proposto por Ghose (1987), descrito inicialmente por Miller (1959). A atividade da amilase foi calculada baseada em uma curva de glicose e expressa em U mL⁻¹.

4 Resultados e Discussão

Nas Tabelas 2, 3 e 4 são apresentados os resultados das atividades enzimáticas de Peroxidase e Celulase para cultura da soja (*Glycine max*) e as plantas daninhas corda-de-viola (*Ipomoea hederifolia*) e picão-preto (*Bidens pilosa*).

Na Tabela 2 observa-se em soja maior presença de peroxidase na presença do *Trichoderma koningiospsis* até a coleta C3, especialmente o tratamento 9 (Roundup WG 50% da dose + *Trichoderma*). Todos tratamento tiveram baixa atividade de celulase.

Tabela 2. Atividade enzimática das folhas de Soja (*Glycine max*), expressa em U mL⁻¹.

Tratamentos	Peroxidase				Celulase			
	C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4
1	19,50	70,83	27,67	38,58	0,0000	0,0138	0,008	0,0315
2	24,00	54,17	38,83	2,83	0,0024	0,0160	0,0085	0,0039
3	81,25	57,92	31,33	52,58	0,0005	0,0143	0,0029	0,0000
4	16,67	62,33	58,67	107,25	0,0000	0,0160	0,0000	0,0000
5	24,67	82,33	33,00	45,92	0,0024	0,0063	0,0010	0,0000
6	35,25	73,75	39,25	39,17	0,0058	0,0078	0,0007	0,0027
7	25,75	89,33	34,92	73,42	0,0046	0,0124	0,0000	0,0053
8	41,92	39,17	50,75	69,50	0,0061	0,0136	0,0000	0,0000
9	36,83	101,83	136,92	58,17	0,0032	0,0061	0,0051	0,0000
10	21,42	97,75	40,25	85,92	0,0061	0,0145	0,0000	0,0027
11	26,58	51,42	30,42	43,92	0,0027	0,0017	0,0056	0,0036
12	33,17	38,92	34,08	1,83	0,0036	0,0085	0,0053	0,0022

*C1 = 1º dia após a aplicação; C2 = 5º dia após a aplicação; C3 = 10º dia após a aplicação; C4 = 15º dia após a aplicação;

Entre as espécies analisadas a corda-de-viola foi a que apresentou maior atividade de peroxidase, nos tratamentos com e sem a presença do fungo, sendo os tratamento com maior atividade o 6 (Roundup Original 50% da dose + *Trichoderma*) e o 10 (Zapp Qi 100% da dose). Também observou-se para esta espécie uma baixa atividade de celulase.

Tabela 3. Atividade enzimática das folhas de corda-de-viola (*Ipomoea hederifolia*), expressa em U mL⁻¹.

Tratamentos	Peroxidase				Celulase			
	C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4
1	41,08	92,08	89,33	196,92	0,0000	0,0092	0,0070	0,0099
2	56,92	80,08	101,83	37,17	0,0007	0,0233	0,0039	0,0218
3	80,25	77,75	148,92	93,08	0,0017	0,0136	0,0051	0,0063
4	32,33	215,58	202,67	168,67	0,0015	0,0218	0,0036	0,0000
5	37,38	188,08	227,63	169,75	0,0005	0,0187	0,0029	0,0000
6	51,17	240,00	154,25	184,92	0,0007	0,0128	0,0034	0,0056
7	104,58	214,17	8,33	182,83	0,0005	0,0293	0,0000	0,0029
8	91,58	110,17	182,42	146,42	0,0034	0,0160	0,0022	0,0000
9	65,42	126,58	156,83	150,83	0,0027	0,0208	0,0000	0,0010
10	88,58	162,75	232,92	205,13	0,0000	0,0036	0,0007	0,0027
11	58,92	143,17	176,67	143,08	0,0017	0,0044	0,0017	0,0075
12	35,67	122,50	146,25	40,83	0,0007	0,0104	0,0015	0,0036

*C1 = 1º dia após a aplicação; C2 = 5º dia após a aplicação; C3 = 10º dia após a aplicação; C4 = 15º dia após a aplicação.

Para picão-preto (Tabela 4), observou-se menor atividade enzimática (peroxidase e celulase) com exceção do tratamento 7 (Roundup WG 100% da dose) para peroxidase.

Tabela 4. Atividade enzimática das folhas de picão-preto (*Bidens pilosa*), expressa em U mL⁻¹.

Tratamentos	Peroxidase				Celulase			
	C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4
1	0,17	0,83	1,00	3,58	0,0000	0,0046	0,0044	0,0213
2	1,83	1,58	2,50	1,33	0,0034	0,0240	0,0029	0,0230
3	2,33	1,83	1,25	3,17	0,0022	0,0155	0,0041	0,0378
4	1,42	49,83	10,92	1,42	0,0017	0,0182	0,0002	0,0000
5	1,92	73,92	7,33	7,42	0,0036	0,0143	0,0058	0,0034
6	2,25	73,33	8,67	-	0,0000	0,0063	0,0019	-
7	1,92	139,50	7,50	-	0,0007	0,0138	0,0002	-
8	2,25	16,50	6,58	54,83	0,0015	0,0148	0,0036	0,0000
9	2,17	10,17	19,75	6,75	0,0012	0,0073	0,0000	0,0010
10	1,75	8,33	22,25	31,67	0,0056	0,0145	0,0000	0,0034
11	2,92	9,50	5,67	5,17	0,0007	0,0065	0,0063	0,0010
12	1,00	56,00	6,25	10,17	0,0010	0,0073	0,0017	0,0024

*C1 = 1º dia após a aplicação; C2 = 5º dia após a aplicação; C3 = 10º dia após a aplicação; C4 = 15º dia após a aplicação; - = Sem amostragem.

5 Conclusão

Não se observou, de maneira geral, que a presença do *Trichoderma koningiospsis* aumento a produção das enzimas analisadas (Peroxidase e Celulase) e conseqüentemente não se pode inferir à estas enzimas a ação bioherbicida observada em trabalhos anteriores.

Referências Bibliográficas:

CAMARGO, A. F.; STEFANSKI, F. S.; SCAPINI, T.; WEIRICH, S. N.; ULKOVSKI, C.; CAREZIA, C.; BORDIN, E. R.; ROSSETTO, V.; REICHERT Jr. F.; GALON, L.; FONGARO, G.; MOSSI, A. J. e TREICHEL, H.. Resistant weeds were controlled by the combined use of herbicides and bioherbicidas. **Environ Qual Manage**. V.29, p.37-42, 2019.

Ghose TK. 1987. Measurement of cellulase activities. *Pure and Applied Chemistry*, 59(2):257-268.

HEAP, I. International survey of herbicide resistant weeds. Online. Internet. 2023. Disponível em <<http://www.weedscience.com>>. Acesso em: 10 de agosto de 2023.

Khan AA, Robinson DS. 1994. Hydrogen donor specificity of mango isoperoxidases. *Food Chemistry*. 49(4):407-410.

KLAIC, R.; KUHN, R.C.; FOLETTI, E.L.; DAL PRÁ, V.; JACQUES, R.J.S.; GUEDES, J.V.C.; TREICHEL, H.; MOSSI, A.J.; OLIVEIRA, D.; OLIVEIRA, J.V.; JAHN, S.L.; MAZUTTI, M.A. Na overview regarding bioherbicide and their production methods by fermentation. In: **Fungal Biomolecules: Sources, Applications and Recent Developments**. 1ed.: John Wiley & Sons, Ltda. p. 183-199, 2015.

PEROTTI, V. E.; LARRAN, A. S.; PALMIERI, V. E.; MARTINATTO, A. K.; PERMINGEAT, H. R. Herbicide resistant weeds: A call to integrate conventional agricultural practices, molecular biology knowledge and new technologies. **Plant Science**, v. 290, 110255, 2020.

REICHERT JÚNIOR, F. W.; SCARIOT, M. A.; FORTE, C. T.; PANDOLFI, L.; DIL, J. M.; WEIRICH, S.; CAREZIA, C.; MULINARI, J.; MAZUTTI, M. A.; FONGARO, G.; GALON, L.; TREICHEL, H.; MOSSI, A. J. New perspectives for weeds control using autochthonous fungi with selective bioherbicide potential. *Heliyon*, v. 5, p. 1-7, 2019.

SCHROEDER, D. Biological control of weeds: a review of principles and trends. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.27, p.191-212, 1992.

VIDAL, R. A; LAMEGO, F. P; TREZZI, M. M; Diagnóstico da resistência aos herbicidas em plantas daninhas. **Planta Daninha**, v. 24, p. 597-604, 2006.

Palavras-chave: Bioproduto; bioherbicida; controle biológico; manejo de plantas daninhas; sustentabilidade.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2022-0132.

Financiamento: FAPERGS.