

I SEMINÁRIO DE BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS AMAZÔNICOS

Alta Floresta-MT, 23 e 24 de setembro de 2013

CONTROLE IN VITRO DE *Ceratocystis* sp. POR DIFERENTES ISOLADOS DO FUNGO ANTAGONISTA *Trichoderma* sp.

CONTROL IN VITRO OF *Ceratocystis* sp. FOR DIFFERENT ISOLATED OF THE ANTAGONIST *Trichoderma* sp.

MACEDO¹, Daniel Gomes da Costa; SOUZA², Davi Amorim de; SANTOS³, Jonis Franklin Leite dos, SANTOS⁴, Denise Borkenhagen dos; DAVID⁵, Grace Queiroz; PERES⁵, Walmor Moya

¹Graduado em Engenharia Florestal (<u>danyson@ibest.com.br</u>); ²Acadêmico de Agronomia – UNEMAT *Campus* Alta Floresta – MT; ³Biólogo Especializado em Sistemas Agroflorestais; ⁴Pedagoga Especializada em Psicopedagogia; ⁵Professores do Departamento de Ciências Biológicas e Agronomia da UNEMAT – Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia

Resumo - Murcha de ceratocystis, doença de grande importância econômica para a eucaliptocultura. Trata-se de um patógeno que ataca o xilema e provoca a desintegração do sistema vascular, causando bloqueio dos vasos impedindo que a água absorvida pelo sistema radicular seja suprida na parte aérea da planta. O objetivo desse trabalho foi avaliar, a atividade antagônica de *Trichoderma* sp. a *Ceratocystis* sp. O fungo foi obtido a partir de *Eucalyptus urograndis* doentes, oriundo da região norte do município. O isolado foi transferido para o meio de cultura BDA e posteriormente adicionado ao centro das placas de Petri discos de 10 mm Ø de micélio do patógeno e encubado em BOD. A avaliação do crescimento foi realizada a partir de medições diárias do diâmetro da colônia. Os resultados foram submetidos à análise de variância em caso de significância as médias serão comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade.

PALAVRAS CHAVE: Proteção de plantas; fungos; doenças.

Abstract - Ceratocystis wilt, a disease of great economic importance to eucalypts. It is a pathogen that attacks the xylem and causes disintegration of the vascular system, causing blockage of blood vessels preventing water absorbed by the root system is supplied in the shoot of the plant. The aim of this study was to evaluate the antagonistic activity of *Trichoderma* sp. the *Ceratocystis* sp. The fungi was obtained from *Eucalyptus urograndis* patients coming from the north of the city. The strain was transferred to BDA culture medium and then added to the center of petri dishes 10 mm Ø discs mycelium of the pathogens and encubado in BOD. The growth evaluation was performed daily measurements from the diameter of the colony. The results were submitted to analysis of variance in case of significance are the averages compared by Tukey test at 5% probability.

KEYWORDS: Plants protection; fungi; diseases.

INTRODUÇÃO

O controle biológico se constitui em demanda atual e de alta importância para viabilizar a redução do uso inadequado de agroquímicos. Segundo MELLO *et al.* (2007) a utilização de agentes biológicos no controle de doenças, constituem-se alternativas viáveis para diminuir o potencial de inóculo de patógenos habitantes do solo, sem trazer danos ao meio ambiente. Os fungos do gênero Trichoderma são de



I SEMINÁRIO DE BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS AMAZÔNICOS

Alta Floresta-MT, 23 e 24 de setembro de 2013

grande importância econômica para a agricultura, uma vez que são capazes de atuarem como agentes de controle de doenças de várias plantas cultivadas.

A realização de trabalhos de controle biológico in vitro de fitopatógenos fúngicos é fundamental, uma vez que eles oferecem métodos de controle alternativos e oportunidades de gerar informações economicamente importantes para a seleção e utilização desses microrganismos no controle biológico.

Em vista disso, o presente trabalho visa avaliar o crescimento micelial de isolado de *Ceratocystis* sp. sobre o efeito do fungo antagônico *Trichoderma* sp., in vitro.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), *Campus* Alta Floresta - MT. O patógeno *Ceratocystis* sp. foi obtido através do isolamento de corte de caule de um clone híbrido de *Eucalyptus urograndis* (0,8 cm Ø) com sintoma de murcha.

A metodologia adotada para analisar o crescimento micelial de *Ceratocystis* sp. sob o efeito antagônico de *Trichoderma* sp. foi realizada pelo pareamento das colônias em placas de Petri através da transferência de discos de 10 mm contendo isolados de ambos os fungos para placas contendo meio de cultura BDA, sendo estes colocados em posições opostas na placa (3mm do bordo da placa). A testemunha constituiu na transferência para uma das extremidades da placa (3 mm da bordo da placa) de disco de isolados do patógeno contendo meio BDA (ETHUR, 2006).

As placas foram incubadas em ambiente controlado (BOD) em temperatura de 24°C e fotoperíodo de 12 horas. Foram realizadas medições diárias do crescimento das colônias, sendo estas iniciadas após 48 horas da transferência dos microorganismos e foi realizada pelo período que a testemunha levou para micelial toda a placa de Petri. Por meio de observações visuais foi verificada a invasão ou não de um fungo sobre outro, a formação de halo de inibição entre os fungos e formação de halo de inibição simultânea de um fungo sobre outro.

O delineamento foi inteiramente casualizado com 03 tratamentos e 07 repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância e em caso de significância as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade pelo programa Sisvar ® (FERREIRA, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constatou-se que o pareamento de *Ceratocystis* sp. com o isolado *Trichoderma* sp. demonstrou efeito significativo no crescimento micelial do fungo.

O isolado de *Trichoderma* sp. comportou-se como antagonista ao patógeno estudado, como apresentado na Tabela 1.

I SEMINÁRIO DE BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS AMAZÔNICOS

Alta Floresta-MT, 23 e 24 de setembro de 2013

Tabela 01. Crescimento micelial (mm), em função da inibição do crescimento de *Ceratocystis* sp. em cultivo pareado com isolado de *Trichoderma* sp. in vitro. Alta Floresta, MT. 2012.

Tratamentos	Médias Crescimento micelial (mm)		
	Ceratocystis sp.	2,57 b	4,67 b
Trichoderma sp.	4,07 a	13,00 a	37,00 a
Trichoderma sp. + Ceratocystis sp.	4,00 a	5,83 b	15,50 b
CV%	19,98	20,69	10,69

^{*} Médias seguidas de mesma letra dentro da mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O antagonismo de *Trichoderma* sp. é explicado pela produção de antibióticos, de amplo espectro, tais como gliotoxina, viridina, trichodermina, suzucacilina, alameticina e dermadina, que têm a capacidade de inibir o desenvolvimento de outros fungos (DENNIS & WEBSTER, 1971). Além de antibióticos, esse microrganismo produz enzimas, como celulase e hemicelulase, as quais degradam materiais lignocelulolíticos e causam lise na parede de células de fungos patogênicos (MELLO, 1996).

Estudos realizados por MELLO *et al.* (2007), com vários isolados de *Trichoderma* spp. pelo métodos de cultivo pareado, foram capazes de inibir o crescimento de *Sclerotium rolfsii*, colonizando totalmente o patógeno. A redução de crescimento de *Sclerotium rolfsii* pode ser atribuída á competição por espaço e por nutrientes presentes no meio de cultura, como também pela liberação de substâncias tóxicas. Este efeito também foi relatado por ÁVILA *et al.* (2005), ao avaliar o antagonismo de outros isolados de *Trichoderma* spp. contra *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotium sclerotium*.

MAY & KIMATI (1999) apud FARIA *et al.* (2002), também observaram diferenças entre isolados de *Trichoderma* quanto à capacidade para hiperparasitar *Phytophthora* spp. e utilizaram essas informações na seleção de isolados de *Trichoderma*, com potencial antagônico à *P. parasítica* e consideraram os melhores aqueles que inibiram o crescimento em mais de 66% da colônia do patógeno.

De acordo com DENNIS & WEBSTER (1971), *Trichoderma viride* e *Trichoderma koningii* são eficientes produtores de metabólitos voláteis em meio de cultura. Esses autores explicam que os antibióticos voláteis atuam sobre os fungos suscetíveis através da inibição do crescimento micelial e que isolados com capacidade para produzirem substâncias não voláteis nem sempre produzem substâncias voláteis. Os antagonistas selecionados no presente estudo são produtores tanto de metabólitos voláteis como de metabólitos.



I SEMINÁRIO DE BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS AMAZÔNICOS

Alta Floresta-MT, 23 e 24 de setembro de 2013

O isolado de *Trichoderma* sp. foi capaz de inibir o crescimento micelial do fungo *Ceratocystis* sp., sendo que o *Trichoderma* sp. apresentou maior antagonista.

AGRADECIMENTOS

A PROBIC/UNEMAT pelo auxílio financeiro e ao Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia pela concessão da bolsa de Iniciação Científica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁVILA, Z. R. et al. Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. antagônicos a *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotium sclerotium*. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. 30p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 117).
- DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species groups of Trichoderma III. Hyphal interactions. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 57, p. 59-363. 1971.
- ETHUR, L. Z. Dinâmica populacional e ação de *Trichoderma* no controle de fusariose em mudas de tomateiro e pepineiro. 2006. 154p. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.
- FARIA, A. Y. K. *et al.* Atividade antagônica in vitro de *Trichoderma harzianum* a patógenos de sementes de algodoeiro. **Revista Agricultura Tropical**, Cuiabá, v. 6, n. 1, p. 59-68, 2002.
- FERREIRA, D. F. **Sisvar: um programa para análises e ensino de estatística**. Lavras: DEX/UFLA, v.6, p.36-41, 2008.
- MELLO, I. S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Planta**. Passo Fundo, v. 4, p. 261-295, 1996.
- MELLO, S. C. M. *et al.* Cepas de *Trichoderma* para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc. **Fitosanidad**, v. 11, n. 1, p. 3-9, 2007.