



ANTAGONISMO DE *Trichoderma* SOBRE O *Colletotrichum* sp ATRAVÉS DE PAREAMENTO DE CULTURAS

PRADO¹, Paula Karoline Baleeiro; DAVID², Grace Queiroz; CAMPIÃO¹, Miriam de Souza; OLIVEIRA¹, Thiago Duarte Sousa de; PEREIRA¹, Ana Cláudia de Araújo

¹Graduando de Engenharia florestal, Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta, MT. e-mail: karol_baleeiro@hotmail.com, miriam.soucampiao@gmail.com, thiago_dso.rp@hotmail.com, anaclaudiaaraujo0pereira@gmail.com

²Professor, Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta, MT. e-mail: gracequeiroz david@hotmail.com, walmorperes@unemat.br

Seção temática: Fitotecnia e Fitossanidade

Resumo: Fungos causadores de manchas foliares causam danos ao desenvolvimento das mudas. O biocontrole tem sido utilizado para intervir o crescimento destes fungos. O fungo *Trichoderma* tem atuado com eficiência na inibição de crescimentos de fitopatogênicos. O trabalho objetivou avaliar o antagonismo dos fungos *Trichoderma* contra o fungo causador de manchas foliares *Colletotrichum* sp. O fitopatógeno foi encontrado em uma muda de Acácia que aparentava estar infectada. Foram montados 4 tratamentos, sendo um deles a testemunha. As avaliações foram realizadas a cada 24 horas, durante sete (7) dias após a montagem dos tratamentos, através de medições do esporos dos fungos de cada tratamento. Observou-se esporos de *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma* sp. sobre a colônia de *Colletotrichum* sp nos tratamentos, com exceção da testemunha. Pode-se concluir que as 3 espécies de *Trichoderma* apresentam efeito controlador ao *Colletotrichum* sp.

Palavras chave: biocontrole; inibição de fungos.

ANTAGONISM OF *Trichoderma* ABOUT *Colletotrichum* sp THROUGH CROP PAIRING

Abstract: Fungi that cause leaf spots cause damage to the seedling development. The biocontrol has been used to intervene the growth of these fungi. The fungus *Trichoderma* has worked effectively in inhibiting phytopathogenic growths. The study evaluated the antagonism of *Trichoderma* fungi against the fungus causing leaf spot *Colletotrichum* sp. The pathogen was found in a change that appeared to be infected. Were mounted 4 treatments, um THEM Being a Witness. The evaluations were performed every 24 hours for seven (7) days after assembly of the treatments, through measurements of the fungal spores of each treatment. There was *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma* sp spores on the colony of *Colletotrichum* sp, in treatments, except for witness. It can be concluded that the three *Trichoderma* species have the controlling effect *Colletotrichum* sp.

Keywords: biocontrol; inhibition of fungi.



INTRODUÇÃO

As doenças de plantas são responsáveis por grandes perdas nas culturas de importância econômica, sendo os fungos os principais causadores de doenças (ALMEIDA, 2009). O problema mais frequente é a ocorrência de manchas foliares, causando danos, principalmente, nas fases de desenvolvimento das mudas em viveiros e nos primeiros seis meses após o transplante das mudas para o campo.

Um dos fungos causadores de manchas, é o *Colletotrichum* sp. Este fungo é encontrado em formas saprofiticas e patogênicas, são responsáveis por doenças importantes denominadas de antracnoses, uma doença que incide principalmente nas brotações jovens, ápices, folhas e ramos jovens. Os principais sintomas são: manchas escuras, irregulares, incidindo, principalmente nas bordas, causando deformações nas folhas jovens (JUNIOR, 2005).

O uso de microrganismo que antagonizam patógenos de plantas é uma saída sustentável para a problemática do controle de doenças (RIBEIRO, 2009).

O fungo *Trichoderma* é representado por fungos não patogênicos, que habitam o solo ou encontram-se como endofíticos em plantas e que exercem antagonismo a vários fitopatógenos, através do parasitismo e/ou antibiose (KRUGNER e BACCHI, 1995 apud TOCAFUNDO, 2008). É muito usado como agente de biocontrole para diversas enfermidades de plantas.

O controle biológico obtido com o uso de isolados de *Trichoderma* é definido pelo resultado final de um complexo de diferentes mecanismos, que atuando sinergicamente, levam o controle de doenças (RIBEIRO, 2009).

A partir deste contexto, o estudo objetivou avaliar a inibição de crescimento do fungo *Colletotrichum* sp. com três diferentes tipos de fungos isolados do gênero *Trichoderma*, sendo: *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma* sp.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da UNEMAT, campus de Alta Floresta – MT.

Para obter um fungo fitopatogênico, avaliou-se diversas mudas do viveiro municipal de Alta Floresta – MT, até encontrar uma que apresentava manchas foliares potencialmente características de doença causada por patógenos. A muda de Acácia contaminada foi cedida para a realização do estudo.

As folhas foram cortadas com tesoura em pequenos quadrados apresentando a região limítrofe entre a parte sadia e a parte lesionada. A porção foliar cortada de cada folha passou por um processo de desinfecção com álcool, hipoclorito e água destilada para que qualquer fungo além do patógenos fosse eliminado. Posteriormente foram colocadas em Placa de Petri contendo Batata-Dextrose-Ágar (BDA) para crescimento e identificação do fungo. As placas foram deixadas em câmara de germinação BOD, que tem fotoperíodo de 12 horas e temperatura controlada. Após alguns dias, para a identificação dos fungos foram feitas lâminas e observadas com o auxílio de um microscópio com lente de 40x10, concluindo-se que o fungo contaminador era o *Colletotrichum* sp. e que o mesmo poderia ser utilizado para o estudo. A identificação de fungos é possível através de características morfológicas de esporos, esporóforos e corpos de frutificação.



Os agentes de biocontrole utilizados foram: *Trichoderma viride*, obtido da coleção de culturas de fungos do laboratório; *Trichoderma harzianum*, obtido a partir do produto *Trichodermit*® SC; *Trichoderma* sp., obtido da amostra de solo retirado do pátio da indústria Brasil Tropical Pisos (indústria de pisos e decks).

O antagonismo foi testado por pareamento de culturas. Este método consiste em colocar numa mesma Placa de Petri, contendo meio de cultura adequado para crescimento de ambos, discos de cultura do antagonista e do fitopatógeno em lados diametralmente opostos.

Inicialmente, procedeu-se à inoculação do meio de Batata-Dextrose-Ágar (BDA). Placas de Petri, contendo 10 ml do meio, receberam dois discos de micélio/ágar de 9 mm de diâmetro cada, que foram colocados em extremos opostos da placa, sendo um do patógeno *Colletotichum* sp. e outro do *Trichoderma* sp. Como testemunhas, utilizaram-se placas inoculadas unicamente com o patógeno.

O experimento constituiu 80 unidades amostrais dispostas da seguinte forma: 4 tratamentos com 4 repetições cada, sendo que cada repetição foi composta por 5 unidades amostrais, formando vinte (20) placas com o *Trichoderma viride* (T1); vinte (20) placas com o patógeno e o *Trichoderma* sp (T2); vinte (20) placas com o patógeno e o *Trichoderma harzianum* (T3) e vinte (20) placas com o patógeno como testemunha (T4). Totalizando oitenta (80) placas. Todas as placas foram colocadas em câmara incubadora com temperatura e fotoperíodo controlados (25°C e 12 horas de luz).

As avaliações foram realizadas a cada 24 horas, durante sete (7) dias após a montagem dos tratamentos. A avaliação da inibição do crescimento do patógeno foi realizada pela medição do diâmetro das colônias. O micélio de cada colônia foi medido com uma régua em centímetros (cm), de acordo com o espaço existente entre as duas. Para calcular o crescimento micelial foi aplicada a fórmula de Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM):

$$IVCM = \sum \frac{D - Da}{N}$$

Onde: IVCM = índice de velocidade de crescimento micelial; D= diâmetro médio atual da colônia; Da= diâmetro médio da colônia do dia anterior; N= número de dias após a inoculação.

Para cálculo da porcentagem de inibição foi aplicada a fórmula de PIC (Porcentagem de inibição de crescimento micelial):

$$\%inibição = \left(\frac{cres\ test - cresc\ trat}{cres\ trat} \right) * 100$$

Onde: cres test = crescimento da testemunha; cres trat = crescimento do tratamento.

Para a determinação dos tratamentos mais eficientes, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e ao teste de médias pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade pelo software SISVAR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO



Observamos que nos primeiros dias, o antagonista já ocasionou inibição satisfatória no crescimento micelial do patógeno pelo teste de pareamento de culturas.

Como nos resultados do ensaio de pareamento de culturas de Almeida (2009) que, revelaram que o antagonista colonizou e produziu esporos sobre a maioria das colônias de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum musae*, neste trabalho foi possível a visualização dos esporos do *Trichoderma* sobre as colônias do *Colletotrichum*, caracterizando micoparasitismo.

Os índices de inibição de crescimento do *Colletotrichum* sp em cada tratamento foram: *Trichoderma viride* inibiu 78,56%, já o *Trichoderma* sp inibiu 81,71%, o *Trichoderma harzianum* inibiu 75,31% e *Colletotrichum* sp não houve inibição (0%) por ser testemunha, não contendo nenhuma espécie de *Trichoderma*. A testemunha é o quanto o fungo crescerá se não estiver junto a um antagonista. Independente tipo do *Trichoderma*, ele exerceu inibição de crescimento do patógeno.

O *Colletotrichum* sp diferiu estatisticamente pois não havia a presença de nenhuma espécie de *Trichoderma*. Considerando apenas os tratamentos com os dois (2) fungos, eles não diferem entre si estatisticamente, porém o *Trichoderma viride* apresentou média de velocidade de crescimento maior (Tabela 1). O fungo *Trichoderma*, em todos os tratamentos, apresentou rápido crescimento micelial em BDA, já a testemunha apresentou crescimento mais demorado e levou 14 dias para preencher totalmente a placa de Petri, não diferindo entre si estatisticamente. O *Colletotrichum* sp, isolado junto ao *Trichoderma* sp, apresentou menor crescimento com média 0,93. O *Trichoderma viride* foi o que mais cresceu, com média de 5,51.

Tabela 1. Resultado do Índice de Velocidade de Crescimento Micelial

Tratamento	Fungo	
	<i>Trichoderma</i>	<i>Colletotrichum</i> sp
<i>Trichoderma viride</i> + <i>Colletotrichum</i> sp	1,86 a	0,33 a
<i>Trichoderma</i> sp + <i>Colletotrichum</i> sp	1,76 a	0,31 a
<i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Colletotrichum</i> sp	1,77 a	0,47 a
<i>Colletotrichum</i> sp	0,00 b	0,90 b

CV (%) *Trichoderma* = 7,31; CV (%) *Colletotrichum* sp = 19,75. Médias seguidas de mesma letra na coluna, não se diferenciam entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Pesquisas realizadas por Almeida (2009) também apresentou o domínio dos metabólitos sobre o crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos. Devido a isso, consideramos que o *Trichoderma* sp pode apresentar maior antagonismo por antibiose. A ação antagonista 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 e WEBSTER, 1971 apud SANTOS, 2012).

Michereff et al. (1993) citado por Santos (2012) também observou em estudos *in vitro* com culturas pareadas a inibição do crescimento de *Colletotrichum graminicola* por isolados de *Trichoderma* sp. e ainda destacaram que estas espécies



produziram metabólitos extracelulares difusíveis que inibiram o crescimento do patógeno.

CONCLUSÕES

Concluiu-se que diferentes tipos de *Trichoderma* (*Trichoderma* sp, *Trichoderma viride* e *Trichoderma harzianum*) apresentam efeito controlador ao fungo causador da antracnose *Colletotrichum* sp.

O isolado do fitopatógeno *Colletotrichum* sp junto ao *Trichoderma* sp teve maior inibição que os outros isolados.

Assim o uso do controle biológico mostra-se uma alternativa promissora, sendo o *Trichoderma* sp. o agente de biocontrole. O antagonista *Trichoderma* já existe no solo naturalmente, é um agente biológico que possui propriedades benéficas, esse gênero fúngico constitui um grande potencial agente de controle da antracnose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, W.K.D.S. Antagonismo de *Trichoderma viride* sobre fungos fitopatogênicos, *Colletotrichum spp.*, *Cercospora musae* e *Asperisporium caricae* em fruteiras tropicais. **Revista Brasileira De Agroecologia**, Porto Alegre, v. 4, n. 2, p. 1374-1378, 2009.

JUNIOR, A.G.; AUER, C.G. **Cultivo de Erva-mate**. Brasília: Embrapa Florestas, 2005. 17 p.

RIBEIRO, T.S. **O fungo *Trichoderma* spp no controle de fitopatógenos: dificuldades e perspectivas**. 2009. 35 f. Pós graduação (Especialização em Tecnologias inovadoras no manejo integrado de pragas e doenças) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

SANTOS, C.C. Influência de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Thielaviopsis paradoxa*. **Scientia Plena**, Aracaju, v. 8, n. 4, p. 5-5, 2012.

TOCAFUNDO, F. **Avaliação De Isolados De *Trichoderma* Spp. No Controle De *Phytophthora Palmivora* Em Mamoeiro**. 2008. 66 f. Dissertação (Mestrado em Produção vegetal) - Universidade Estadual De Santa Cruz, Ilhéus, 2008.