



USO DE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. NO BIOCONTROLE DE *Curvularia* spp. *IN VITRO*

Wesley Buratto⁽¹⁾, Willian Buratto⁽²⁾, Grace Queiroz David⁽³⁾, Adriana Sorato⁽³⁾, Lucas Wenzel⁽¹⁾, Eduardo Henrique⁽¹⁾ e Vitor Guermândi⁽¹⁾

1. Introdução

No Brasil, com a expansão das áreas cultivadas com milho e uma exploração agrícola cada vez mais intensa, tem sido notado ao longo dos anos o aumento significativo no número de doenças, levando os agricultores à dependência do controle químico. Isso pode trazer diversas consequências ao meio ambiente e à saúde humana, e nem sempre proporcionando resultados de controle satisfatórios (Leite et al., 2006).

Dentre os métodos alternativos para o controle de doenças, encontram-se o controle biológico, que pode ser adotado dentro de um contexto de Manejo Integrado de Doenças (MID), que considera aspectos ecológicos, econômicos, toxicológicos e sociais para a tomada de decisão de controle (Silva et al., 2009). O *Trichoderma* spp. é um promissor agente de biocontrole. Segundo Melo (1998) é um fungo natural do solo, encontrado especialmente em solos orgânicos, que pode viver saprofiticamente ou parasitando outros fungos.

Os antagonistas pertencentes ao gênero *Trichoderma* são os mais pesquisados e exibem variabilidade entre as linhagens com relação as atividades de biocontrole, espectro de ação contra os hospedeiros, propriedades fisiológicas e bioquímicas e adaptabilidade ecológica e ambiental. Esta atividade de biocontrole tem sido intensamente estudada e deve-se, sobretudo à produção de enzimas líticas extracelulares degradadoras da parede celular de muitos fungos, tais como celulases, quitinases, β -1-D-glucanases, β -1,4-glucosidases e proteases (Corabi-Adell et al., 2002). Os primeiros sintomas da mancha de *Curvularia* spp. aparecem em formas de pequenas necroses nas folhas e, partem do centro em direção a bordas (Mandokhot & Basu Chaudhary, 1972).

Nesse enquadramento, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de isolados de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Curvularia* spp. *in vitro*.

⁽¹⁾Graduando(s) em Agronomia, Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), Alta Floresta - MT. E-mails: wesley-buratto@hotmail.com; lukas_wp@hotmail.com; eduardocolniza@gmail.com; vitorguermandi@hotmail.com;

⁽²⁾Engenheiro Agrônomo, Mestrando no Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGA), Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Sinop - MT. E-mail: willianburatto94@gmail.com

⁽³⁾Professora(s) Adjunta(s), UNEMAT, Alta Floresta - MT. E-mails: grace@unemat.br; adrianasorato@unemat.br



2. Material e Métodos

O trabalho foi realizado no período maio a julho de 2017, no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia, localizado no *Campus* 1 da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), em Alta Floresta - MT.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizados, com quatro tratamentos e cinco repetições. Foram estudados quatro tratamentos, que consistiram em três isolados de *Trichoderma* spp., sendo: 1) testemunha contendo apenas *Curvularia* spp. sem adição do antagonista, sendo apenas o disco com o patógeno; 2) *Trichoderma* extraído de substrato flórida; 3) *Trichoderma* extraído em solo com a cultura do milho; e 4) *Trichoderma* extraído em solo de pastagem. O fungo *Curvularia* spp. foi obtido em folhas de milho infectadas, coletadas a campo.

Os fungos foram repicados para placas de Petri contendo como meio de cultura, Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e acondicionados em câmara de germinação (BOD), por um período de 7 dias a 25 °C, com fotoperíodo de 12 em 12 h, para o desenvolvimento dos fungos. Para a identificação dos fungos foi utilizado microscópio óptico e apostila de fungos fitopatogênicos (Menezes, 1993).

Na avaliação do efeito dos isolados de *Trichoderma* spp. contra o patógeno foi utilizada a metodologia de pareamento de cultura (confronto direto) de Dennis & Webster (1971), na qual, foram utilizados discos de 10 mm de diâmetro, contendo micélio do patógeno e organismo controlador. Foram depositados os discos contendo os fungos nos extremos das placas de Petri (90 mm de diâmetro), o qual continha meio de cultura BDA sendo medido o crescimento micelial do início da borda do disco até onde se limitou o seu crescimento, sendo utilizada régua de 30 cm de comprimento, com as avaliações ocorrendo a cada 24 horas, sendo medições perpendiculares durante o período de quatro dias. Com o valor do crescimento micelial até o quarto dia foi avaliado o crescimento médio micelial (CMM).

O índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM) foi adquirido a partir das médias dos valores diários de crescimento micelial de cada tratamento que foram anotados diariamente, conforme proposto por Oliveira (1991): $IVCM = \Sigma(D - D_a)/N$

Em que:

D = diâmetro médio atual da colônia;

D_a = diâmetro médio da colônia do dia anterior;

N = número de dias após a inoculação.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, por meio do software SISVAR (Ferreira, 2011).





3. Resultados e Discussão

Na Tabela 1 são apresentados os valores médios de crescimento micelial no quarto dia de avaliação e o índice de velocidade de crescimento micelial de *Curvularia* spp. na presença de isolados de *Trichoderma* spp. Percebe-se que ambos foram influenciados pelos tratamentos, conforme revelou a análise de variância (teste F).

Tabela 1. Crescimento médio micelial (CMM) no quarto dia de avaliação e índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Curvularia* spp. na presença de isolados de *Trichoderma* spp. avaliados por pareamento de cultura. Laboratório de Microbiologia, Alta Floresta - MT, 2017.

Tratamentos	CMM	IVCM
	(4º dia)	
	----- cm -----	--- cm dia ⁻¹ ---
1- Testemunha (sem antagonista)	12,0 a	2,95 a
2- <i>Trichoderma</i> extraído em substrato	7,55 b	2,00 c
3- <i>Trichoderma</i> extraído em solo de cultura do milho	7,98 b	2,48 b
4- <i>Trichoderma</i> extraído em solo de pastagem	7,23 b	2,07 bc
Teste F (P>F)	**	**
CV (%)	5,24	8,57

Médias seguidas de letras distintas nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Teste F: ** - significativo a 1% de probabilidade. CV: coeficiente de variação.

Avaliando o CMM, os tratamentos 2, 3 e 4, não se diferenciaram estatisticamente entre si, sendo eles superiores apenas a testemunha. Bomfim et al. (2010), avaliando diferentes isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *Rhizopus Stolonifer*, verificaram que ao terceiro dia, todos os isolados de *Trichoderma* spp. inibiram o crescimento de *Rhizopus Stolonifer*. Encontrando resultado similar a este trabalho, mostrando a eficiência do controle do *Trichoderma* spp. sobre *Curvularia* spp. e *Rhizopus Stolonifer*.

Contudo, ao observar o IVCM é possível verificar que o T2 apresentou menor velocidade no desenvolvimento de *Curvularia* spp. em relação aos demais tratamentos não diferindo do T4, mostrando que os isolados *Trichoderma* spp. extraídos de substrato flórida (T2) e *Trichoderma* solo de pastagem (T4), possuem melhor eficiência no biocontrole de *Curvularia* sp, sobrepondo a colônia do fitopatógeno. A maior ação antagônica nesses tratamentos pode ter ocorrido devido a uma menor competição pelos nutrientes do meio, favorecendo o fungo



Trichoderma spp., ou uma maior produção de protease e cisteína, enzimas produzidas pelo *Trichoderma* spp. que inativam a capacidade enzimática do fitopatógeno (Bomfim et al., 2010).

4. Conclusão

O isolados de *Trichoderma* spp. apresentaram efeito biocontrolador *in vitro* ao fitopatógeno *Curvularia* spp., caracterizando-se como alternativa ao controle dessa doença, reduzindo o uso de defensivos agrícolas e reduzindo os impactos negativos ao meio Ambiente.

Referências

BOMFIM, M.P.; SÃO JOSÉ, A.R.; REBOUÇAS, T.N.H.; ALMEIDA, S.S.D.; SOUZA, I.V.B.; DIAS, N.O. Avaliação antagônica *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.36, n.1, p.61-67, 2010.

CORABI-ADELL, C.; LUCON, C.M.M.; KOIKE, C.M. Biodiversidade do gênero *Trichoderma* no estado de São Paulo—aspectos enzimáticos e potencial biocontrolador. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.69, p.188-191, 2002.

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.

FERREIRA D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, p.1039-1042, 2011.

LEITE, L.G.; TAVARES, F.M.; GINARTE, C.M.A.; CARREGARI, L.C.; BATISTA FILHO, A. Nematóides entomopatogênicos no controle de pragas. In: PINTO, A.S.; NAVA, D.E.; ROSSI, M.M.; MALERBO-SOUZA, D.T. (Eds.). **Controle biológico de pragas: na prática**. Piracicaba: ESALQ/USP, 2006. p.45-53.

MANDOKHOT, A.M.; BASU CHAUDHARY, K.C. A new leaf spot of maize incited by *Curvularia clavata*. **European Journal of Plant Pathology**, v.78, n.2, p.65-68, 1972.





MELO, I.D. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. **Controle biológico**, v.1, p.17-30, 1998.

MENEZES, M.; OLIVEIRA, S.M.A. **Fungos fitopatogênicos**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 1993. 277p.

OLIVEIRA, J.A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativa* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.)**. 1991. 111f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 1991.

SILVA, A.B.; BATISTA, J.L.; BRITO, C.H. Capacidade predatória de *Euborellia annulipes* (Lucas, 1847) sobre *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.31, n.1, p.7-11, 2009.

