



Eficiência de *Trichoderma harzianum* e *Bacillus amyloliquefaciens* no controle biológico de fitopatógenos de solo

*Efficiency of *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens* in the biological control of soil phytopathogens*

SALVADORI, Camila Natacha¹; SCHUSTER-RUSSIANO, Maira Cristina²; DOS SANTOS, Joeliton Campani³; BARROS, Glécio⁴ MAZARO, Sergio Miguel⁵

¹ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, camilasalvadori@alunos.utfpr.edu.br; ² Universidade Tecnológica Federal do Paraná, maira.schuster@outlook.com; ³ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campanijeliton@gmail.com; ⁴ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, gleciobarros@alunos.utfpr.edu.br; ⁵ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, sergio@utfpr.edu.br;

RESUMO EXPANDIDO

Eixo Temático: Manejo de agroecossistemas

Resumo: O controle biológico de doenças visa introduzir um antagonista capaz de controlar um agente fitopatogênico e sem ocasionar prejuízos ao agroecossistema. Desta forma o trabalho teve por objetivo verificar o potencial de produto à base de *Trichoderma harzianum* em associação com *Bacillus amyloliquefaciens*, sobre os fitopatógenos de solo: *Sclerotinia sclerotiorum*, *Macrophomina phaseolina* e *Fusarium tucumaniae* e *Phomopsis longicolla*. O experimento foi conduzido em placas de Petri, contendo meio BDA (Batata, Dextrose e Agar), realizando confronto direto entre os antagonistas e os fitopatógenos, avaliando-se o crescimento micelial diariamente. Seguiu-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro repetições. Constatou-se que o produto biológico contendo *T. harzianum* + *B. amyloliquefaciens* exercem potencial de biocontrole sobre os fitopatógenos testados, reduzindo o crescimento micelial por meio dos mecanismos de ação de micoparasitismo das hifas dos patógenos e competição por espaço e nutrientes.

Palavras-chave: antibiose, antagonista, doenças, agroecossistemas.

Introdução

A utilização de seres vivos visando o controle de populações de outros seres nocivos, acontece no meio agrícola há muito tempo, e é denominado controle biológico (VIERA; FERNANDES; ANDREI, 2003). Atualmente, na agricultura, compreende-se que o uso de produtos biológicos é indispensável para que ocorram avanços no campo, uma vez que o uso de agrotóxicos promove, contaminação da biodiversidade, além de outros impasses, a resistência a doenças.

Somado a isso, é importante ressaltar que o uso dos produtos biológicos em substituição aos agrotóxicos é de grande relevância, já que a exposição aos agrotóxicos pode ocasionar diversos riscos ao meio ambiente (BRASIL, 2023). É



diante desse cenário que a agroecologia emerge no estudo e análise dos agroecossistemas ultrapassando a visão unidimensional; inserindo dimensões ecológicas, sociais e culturais. Buscando-se, sobretudo, um equilíbrio entre plantas, luz solar, solo, nutrientes, umidade e outros organismos (BLUME; REINIGER, 2007). Assim, preza-se pela utilização de produtos biológicos.

Cabe ressaltar que, dentre seus benefícios, além de não promover a resistência, os produtos biológicos também são de grande importância para o aumento de produtividade, além de garantir à saúde do trabalhador já que, grande parte desses produtos, não possui contraindicação de uso (JORGE; SOUZA, 2016).

Dentre os antagonistas utilizados no controle biológico de doenças, *Bacillus amyloliquefaciens* e *Trichoderma harzianum* estão entre os mais utilizados mundialmente, com eficácia comprovada para inúmeros microrganismos fitopatogênicos.

O gênero *Fusarium*, é um fitopatógeno, que ocasiona grandes perdas em diversas culturas. Apresentar pigmentação rósea, com massas de esporos de cor marrom-claro, e formação de clamidósporos (DOMINGUES; TÖFOLI; HARAKAVA, 2020). *Phomopsis longicolla* refere-se a fungos que formam picnídios escuros, constituindo linhas negras estreitas nos tecidos de plantas contaminadas (GOMES, 2008).

Já *Sclerotinia sclerotiorum* ocasiona necrose do caule, murcha e seca das folhas. Ao infectar uma cultura, tem crescimento de micélio cotonoso e branco na superfície dos tecidos lesionados e a presença de inúmeros escleródios pretos e grandes (BUENO; AMBROSIO; SOUZA, 2006). *Macrophomina phaseolina* é um fungo que gera picnídios marrom-escuros imersos, tornando-se irrompentes, abrindo-se por ostíolo apical. Esse fungo desenvolve microesclerócios em grande quantidade, constituindo um dos modos de sobrevivência desse fungo, assim como sua principal fonte de inóculo (EMBRAPA, 2014).

O objetivo deste trabalho foi verificar o potencial de um produto comercial à base de *Trichoderma harzianum* em associação com *Bacillus amyloliquefaciens*, sobre os fitopatógenos habitantes de solo: *Sclerotinia sclerotiorum*, *Macrophomina phaseolina* e *Fusarium tucumaniae* e *Phomopsis longicolla*.

Metodologia

O experimento foi realizado no Laboratório de Controle Biológico II em Dois Vizinhos, na Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

O experimento contou com Placas de Petri contendo 15 ml de meio BDA (Batata, Dextrose e Ágar) vertidas em câmara de fluxo. Para a metodologia de confronto direto entre os microrganismos, foi transferido utilizando alça de platina estéril, um disco de micélio de 7 mm de diâmetro do fitopatógeno do lado direito da placa, à



1cm de distância da borda. Para os antagonistas foi adicionado 5 µl do produto comercial contendo *Trichoderma harzianum* e *B. amyloliquefaciens* na concentração de 10^9 células/g.

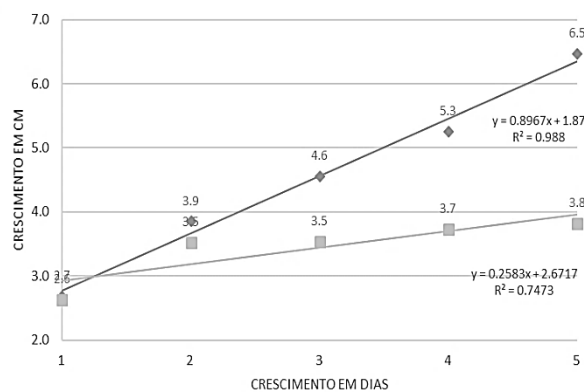
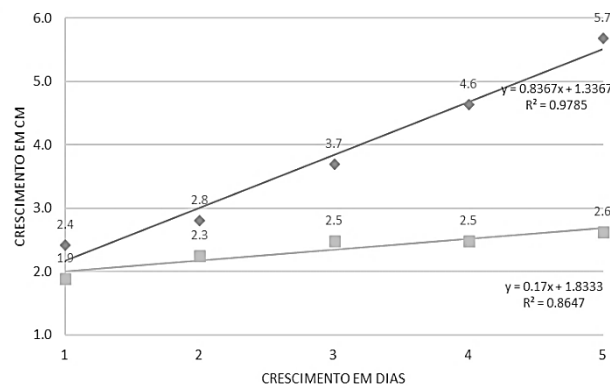
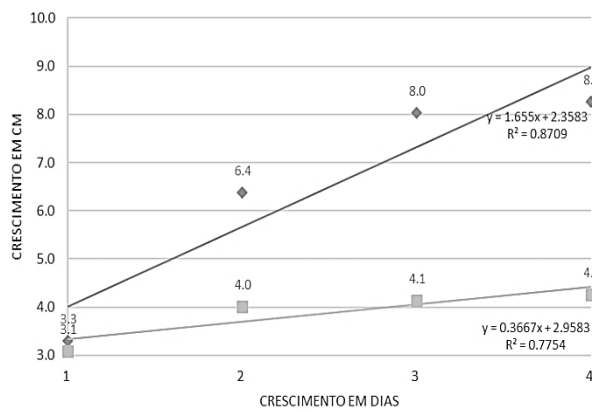
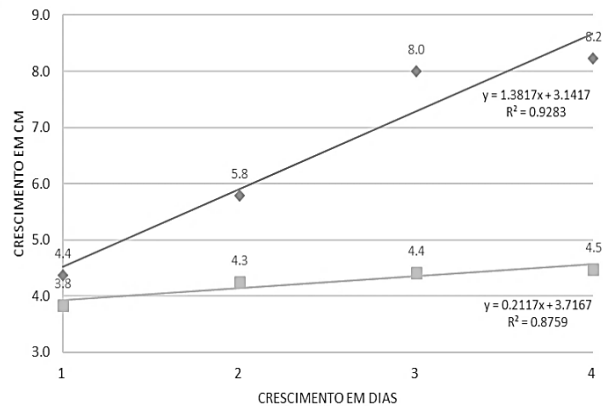
As placas foram fechadas com filme plástico e incubadas em BOD à 25°C com fotoperíodo de 12 horas. Cada placa correspondeu à uma unidade experimental. Estas placas foram medidas diariamente até o fechamento da testemunha (placas que contém apenas os fungos sem a interferência do produto), com a finalidade de avaliar o comportamento dos mesmos.

Para calcular o percentual de inibição do crescimento micelial (PIC), foi utilizado a fórmula de MENTEN et al. (1976) onde: $PIC = (\text{Crescimento da testemunha} - \text{Crescimento tratamento}) \times 100 \div \text{Crescimento da testemunha}$.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente ao acaso com quatro repetições, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (Scott knott à 5% de probabilidade), seguido da análise de regressão para obtenção de resultados através do software RBio.

Resultados e Discussão

Pela figura 1, pode-se observar que o produto comercial que contém a associação dos antagonistas *T. harzianum* + *B. amyloliquefaciens* reduziram em 45%, 49%, 54% e 41% o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*, *M. phaseolina* e *F. tucumaniae* e *P. longicolla* respectivamente.





◆ Testemunha ■ Trichoderma + Bacillus
 — Linear (Testemunha) — Linear (Testemunha)
 — Linear (Trichoderma + Bacillus) — Linear (Trichoderma + Bacillus)

Figura 1. Potencial dos antagonistas de *T. harzianum* associado com *B. amyloliquefaciens* sobre os fitopatógenos *S. sclerotiorum*, *M. phaseolina* e *F. tucumaniae* e *P. longicolla*. (respectivamente), expresso em crescimento micelial (cm) dos fitopatógenos ao longo do período de avaliação (dias). (CV= *S. sclerotiorum* 5,08%; *M. phaseolina* 9,71%; *F. tucumaniae* 14,22%; *P. longicolla* 11,02%).

Os resultados obtidos da ação de *Trichoderma* contra *M. phaseolina* estão de acordo com o estudo de Gava e Menezes (2012), o qual evidenciou que a aplicação dos isolados de *Trichoderma* spp. em áreas que apresentaram histórico prévio da incidência do fungo *M. phaseolina*, não foram observados sintomas associados a este patógeno no decorrer do experimento, controlando desta forma o microrganismo.

Em relação à ação do gênero *Trichoderma* sobre *S. sclerotiorum*, causadora do mofo branco, há estudos que evidenciam a eficácia desse agente biológico, visto a liberação de metabólitos pelos isolados de *Trichoderma* spp. que inibem o crescimento micelial de *S. sclerotiorum* comparados ao controle (ETHUR; CEMBRANEL; SILVA, 2001).

Zhang et al. (2016) verificaram que a cepa de *T. harzianum* T-aloe foi capaz de inibir em 51,2% o crescimento micelial de *S. sclerotiorum* quando em confronto; além de apresentar efeito como promotor de crescimento em soja, aumentando a atividade de peroxidase, superóxido dismutase e catalase, atuou também reduzindo o peróxido de hidrogênio nas folhas.

Quanto ao biocontrole de *F. tucumaniae*, estudo de Milanese et al. (2013), vai de encontro com os resultados obtidos, visto que observou-se efetividade do produto biológico no controle do fitopatógeno.

Modrzewska et al. (2022) ao estudarem cepas de *Trichoderma viride*, *T. viridescens* e *T. atroviride*, observaram que o antagonista quando em interação com *Fusarium* spp. colonizou de 75 a 100% da superfície do meio contendo arroz, após cinco dias em co-cultura, além de exercer micoparasitismo sobre o fitopatógeno e esporular. Observou-se também, uma inibição da biossíntese de micotoxinas desoxinivalenol em 73-98%, nivalenol em 87-100% e zearalenona em 12-100% dependendo da cepa utilizada, mostrando que o gênero *Trichoderma* é efetivo no controle biológico de fitopatógenos habitantes de solo.

O efeito observado pela associação de *T. harzianum* + *B. amyloliquefaciens* foi o de micoparasitismo do fitopatógeno e competição por espaço e nutrientes, como mostra a figura 2.

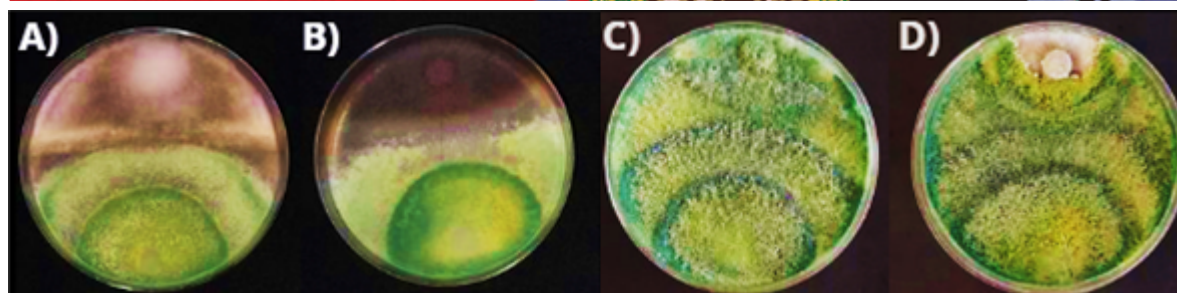


Figura 2. Micoparasitismo e competição exercida por *T. harzianum* associado com *B. amyloliquefaciens* sobre os fitopatógenos A) *S. sclerotiorum*, B) *M. phaseolina*, C) *F. tucumaniae* e D) *P. longicolla*.

Conclusões

Constatou-se que o produto à base contendo a associação de *T. harzianum* + *B. amyloliquefaciens* exercem potencial no controle biológico sobre os fitopatógenos testados, reduzindo seu crescimento micelial por meio dos mecanismos de ação de micoparasitismo das hifas e competição por espaço e nutrientes. Logo, se apresenta como uma excelente alternativa no manejo sustentável de agroecossistemas, garantindo segurança alimentar, pois proporciona a não utilização de produtos químicos.

Referências bibliográficas

BLUME, Elena; REINIGER, Lia. **Fundamentos da agroecologia**. Ministério da Educação, 2007. Pp.6

BRASIL. **Agrotóxico**. Instituto Nacional de Câncer (INCA). 2023.pp.1-16 Disponível em:<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/causas-e-prevencao-do-cancer/exposicao-no-trabalho-e-no-ambiente/agrotoxico>. Acesso em 21 de junho de 2023.

BUENO, César Júnior; AMBRÓSIO, Márcia Michelle de Queiroz; SOUZA, Nilton Luiz de. Ocorrência de Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Baryem Aster ericoides L. (White Show) no estado de São Paulo, Brasil.. **Summa Phytopathologica** [online]. V. 32, n. 3. pp. 293-294, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-54052006000300017>>.

DIAS, Pedro Paulo; BERBARA, Ricardo Luis Louro; FERNANDES, Maria do Carmo de Araújo. Controle de Rhizoctonia solani e Fusarium oxysporum f.sp. phaseoli por biopreparados de isolados de Trichoderma spp. **Summa Phytopathologica** [online]. V. 39, n. 4. pp. 258-262, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-54052013000400005>>.

DOMINGUES, Ricardo José; TÖFOLI, Jesus G.; ZANOTA, Samantha; HARAKAVA, Ricardo.. **Primeira ocorrência de fusarium solani em oliveiras cultivadas no Brasil**. Biológico, v. 82, 1-9, 2020. Disponível em:10.31368/1980-6221v82a10004.



EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Macrophomina phaseolina em soja.** ALMEIDA, Alvaro Manuel Rodrigues; SEIXAS, Claudine Dinali Santos; FARIAS, José Renato Bouças; OLIVEIRA, Maria Cristina Neves de; FRANCHINI, Julio Cezar; DEBIASI, Henrique; COSTA, Joaquim Mariano da; GAUDÊNCIO, Celso Almeida – Londrina: Embrapa Soja, 2014. 55 p. (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 2176-2937; n.346)

MODRZEWSKA, Marta; BLASZCYK, Lidia; STEPIEN, Lukasz Stepien; Monika Urbaniak. **Trichoderma versus Fusarium—Inhibition of Pathogen Growth and Mycotoxin Biosynthesis.** 2022. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/365711168_Trichoderma_versus_Fusarium-Inhibition_of_Pathogen_Growth_and_Mycotoxin_Biosynthesis. Acesso em: 21 jun. 2023

ETHUR, Luciana Zago; CEMBRANEL, Cláudia Zago; SILVA, Antonio Carlos Ferreira da. F. Seleção de Trichoderma spp. visando ao controle de Sclerotinia sclerotiorum, in vitro. **Ciência Rural**, 31(5), 885–887. 2001.

GAVA, Carlos Alberto Tuão; MENEZES, Michelly Elen Leal. Eficiência de isolados de Trichoderma spp no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 43, n. 4, p. 633-640, out-dez, 2012.

GOMES, Renata Rodrigues. Phomopsis spp. **Endófitos de plantas medicinais: diversidade genética e antagonismo ao fungo** Guignardia citricarpa. Dissertação. Ciências Biológicas. CURITIBA, 2008

JORGE, Daniela Macêdo; SOUZA, Carlos Augusto Vaz de. **O papel da regulamentação dos produtos de origem biológica no avanço da agroecologia e da produção orgânica no Brasil.** 2016. pp 1-24. IPEA. Disponível em: <<https://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/8810/1/O%20Papel%20da%20regulamenta%C3%A7%C3%A3o.pdf>>.

MENTEN, José. Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid. “in vitro”. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 1, n. 2, p. 57-66, 1976.

MILANESI, Paulo; BLUME, Elena; ANTONIOLI, Zaida Inês; FINGER, Geísa; DURIGON, M.; M.B Muniz. Biocontrole de *Fusarium* spp. com *Trichoderma* spp. e promoção de crescimento em plântulas de soja. **Revista de Ciências Agrárias**, 36(3): 347-356, 2013.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira Plantas e inseticidas (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da EFSC, 2003. Np16



FULI, Zhang; GE, Honglian; ZHANG, Fan; GUO, Ning; WANG, Yucheng; CHEN, Long; JI, Xiue; LI, Chengwei. Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* isolate T-aloe against *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. **Plant Physiol Biochem.** Mar; 100:64-74, 2016. doi: 10.1016/j.plaphy.2015.12.017. Epub 2016 Jan 8. PMID: 26774866.