



## Controle biológico de fungos causadores de doenças em hortaliças *Biocontrol of fungi that cause diseases in vegetables*

SARMENTO, Beatriz Cristina da Rocha<sup>1</sup>; SEVERO, Robinson<sup>2</sup>; ABUD, Kauê Carreteiro Pantoja<sup>3</sup>; SARMENTO, Letícia Manuele dos Santos<sup>4</sup>; LUSTOSA, Denise Castro<sup>5</sup>; VIEIRA, Thiago Almeida<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Oeste do Pará (Ufopa), beatriz98cristina.stm@gmail.com; <sup>2</sup> Ufopa, robinson.severo@gmail.com; <sup>3</sup> Ufopa, kauecarreteiro@hotmail.com; <sup>4</sup> Ufopa, leticiasarmento36@gmail.com; <sup>5</sup> Ufopa, denise.lustosa@ufopa.edu.br; <sup>6</sup> Ufopa, thiago.vieira@ufopa.edu.br

### RESUMO EXPANDIDO

#### Eixo Temático: Manejo de agroecossistemas

**Resumo:** *Trichoderma* é o agente de controle biológico mais estudado e utilizado para o controle de doenças de plantas, com efeitos direto ou indireto sobre os fitopatógenos. Objetivou-se avaliar, *in vitro*, isolados de *Trichoderma* no controle de cinco fitopatógenos de hortaliças. Foram realizados dois testes: taxa de crescimento em cultivo individual e o antagonismo, em cultura pareada. Todos os isolados de *Trichoderma* apresentaram maior taxa de crescimento em relação aos fitopatógenos. No teste de confrontação direta, o isolado Tam03 ocasionou as maiores reduções nos diâmetros médios das colônias dos fitopatógenos, em relação aos controles. Os isolados de *Trichoderma* testados apresentaram potencial, *in vitro*, para o controle biológico dos fitopatógenos alvos. No entanto, outros testes *in vitro* e, *in vivo*, são necessários para a comprovação dessa potencialidade observada inicialmente, principalmente quando se pensa na aplicação desses organismos em cultivos orgânicos e/ou agroecológicos.

**Palavras-chave:** biocontrole; fitopatógenos; *trichoderma*.

#### Introdução

O Brasil é um país que tem a agricultura como base da sua economia interna e externa, necessitando de aumentos constantes na produção e oferta de alimentos. No entanto, o aumento da produção de alimentos, na maioria das vezes, vem acompanhado do uso intensivo de produtos químicos na agricultura, ocasionando sérios danos ao meio ambiente e à saúde humana e animal (SAVITA; SHARMA, 2019), o que fortalece a busca por medidas de controle de doenças em plantas que não ocasionam impactos negativos, como por exemplo, o controle biológico, importante para o desenvolvimento de um sistema de produção sustentável.

Além disso, existe a preocupação com a degradação do solo causada por agroquímicos e uma alta demanda por produtos orgânicos, o que tem impulsionado pesquisas com microrganismos agentes de biocontrole (STEILMANN et al., 2019). A utilização crescente do controle biológico vem aumentando de 10 a 15% no mundo por ano, em busca por novos agentes, além dos micro e macrorganismos que



normalmente já são usados na agricultura; atualmente se utilizam os bioestimulantes, biofertilizantes e bioagentes, onde se enquadram os macro e microrganismos, semioquímicos, extratos de plantas, entre outros (PARRA, 2019).

Dentre os microrganismos utilizados para este fim, destacam-se fungos do gênero *Trichoderma*, que são capazes de controlar fitopatógenos por meio de competição por espaço e nutrientes, micoparasitismo de estruturas de resistência, antibiose, indução de resistência em plantas a patógenos, promoção de crescimento de plantas (MACHADO et al., 2012). Esse fungo é um dos agentes de controle biológico mais estudado e utilizado na produção agrícola brasileira e mundial (BETTIOL et al., 2019). Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar isolados de *Trichoderma* provenientes da região Amazônica no controle biológico, *in vitro*, de fungos causadores de doenças em hortaliças.

## Metodologia

Os fungos causadores de doenças nas hortaliças avaliadas foram obtidos em propriedades de horticultores familiares, no município de Santarém, Pará, Brasil, sendo estes: *Alternaria* sp. (couve), *Alternaria* sp. (tomate), *Cercospora* sp. (alface), *Cercospora* sp. (chicória) e *Colletotrichum* sp. (cebolinha). Os isolados de *Trichoderma* utilizados como agentes de biocontrole foram cedidos pela Micoteca do Laboratório da Fitopatologia da Ufopa (Tam01, Tam02, Tam03 e Tam04), todos provenientes da região Amazônica, sendo três da espécie *Trichoderma asperellum* e um em fase de identificação (Tam04).

Para avaliar o potencial dos isolados de *Trichoderma* no controle dos fitopatógenos foram montados três testes, *in vitro*: a) taxa de crescimento, em cultivo individual, foi determinada pela fórmula adaptada de Lilly e Barnett (1951), b) confrontação direta (DENNIS; WEBSTER, 1971a) e, c) produção de compostos tóxicos voláteis (DENNIS; WEBSTER, 1971b).

Em todos os ensaios, os fungos foram incubados em temperatura de  $\pm 25$  °C e fotoperíodo 12 horas. Na determinação da taxa de crescimento, os diâmetros das colônias foram medidos às 24h e 48h e, nos demais ensaios, diariamente, até que o primeiro tratamento ocupasse a placa.

O delineamento experimental no ensaio da taxa de crescimento foi inteiramente casualizado (DIC), com três repetições e, DIC, em esquema fatorial, nos ensaios de confrontação direta e produção de compostos voláteis, com quatro repetições. Com todos os dados obtidos foram realizadas análises de variância e comparação das médias dos tratamentos pelo teste de Tukey ( $p \leq 0.05$ ), por meio do software estatístico Assistat Versão 7.7 Beta (SILVA; AZEVEDO, 2016).



## Resultados e Discussão

Todos os isolados de *Trichoderma* apresentaram maiores crescimento micelial e taxa de crescimento que os fitopatógenos. O *Trichoderma* Tam04 foi o fungo com maior taxa de crescimento (Tabela 1; Figura 1). A velocidade de crescimento de Tam04 foi 44 vezes mais rápido do que aquela apresentada pelo fitopatógeno *Cercospora* sp. obtido de folhas de chicória e 7,3 vezes mais rápida do que a observada para *Alternaria* sp. proveniente de folhas de couve. Os agentes de biocontrole são considerados competidores agressivos, o que permite rápida colonização e alta competitividade e, essa característica é uma grande vantagem no controle biológico (SILVA et al., 2007).

Tabela 1. Crescimento micelial no período de 24 e 48 horas e, taxa de crescimento dos fitopatógenos e isolados de *Trichoderma* spp.

Tratamentos	Crescimento micelial (mm)		Taxa de crescimento (mm/h)
	24 horas	48 horas	
<i>Alternaria</i> sp. (couve)	7,9 c	15,2 d	0,30 d
<i>Alternaria</i> sp. (tomate)	8,1 c	16,4 d	0,34 d
<i>Cercospora</i> sp. (alface)	14,9 b	27,3 c	0,52 c
<i>Cercospora</i> sp. (chicória)	5,2 c	6,5 e	0,05 e
<i>Colletotrichum</i> sp. (cebolinha)	5,0 c	12,5 c	0,31 d
<i>Trichoderma asperellum</i> Tam01	20,6 a	56,8 b	1,51 b
<i>Trichoderma asperellum</i> Tam02	21,1 a	57,5 b	1,52 b
<i>Trichoderma asperellum</i> Tam03	18,0 ab	53,9 b	1,50 b
<i>Trichoderma</i> sp. Tam04	18,2 ab	70,9 a	2,20 a
CV(%)	8,4	4,2	4,7

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0.01$ ).

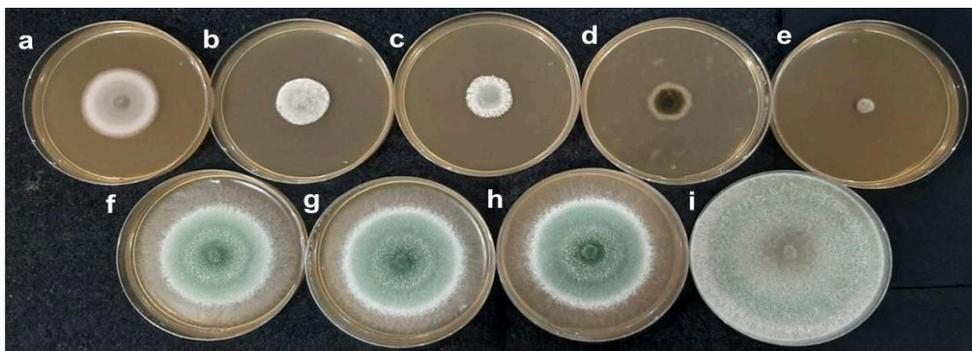


Figura 1. Colônias dos fitopatógenos e dos agentes de controle biológico, após 48 horas de incubação. Fitopatógenos: a) *Cercospora* sp. (alface), b) *Alternaria* sp. (tomate), c) *Colletotrichum* sp. (cebolinha), d) *Alternaria* sp. (couve) e, e) *Cercospora* sp. (chicória). Agentes de controle biológico: f) *Trichoderma asperellum* - Tam01, g)



*Trichoderma asperellum* - Tam02, h) *Trichoderma asperellum* - Tam03 e, i) *Trichoderma* sp. - Tam04.

No teste de confrontação direta (pareamento), observou-se ao terceiro dia que os isolados de *Trichoderma* já ocupavam mais da metade da placa, tendo o fungo Tam04, já ultrapassado essa marca e encostado na colônia do fitopatógeno. O biocontrole, *in vitro*, realizado por isolados de *Trichoderma* é atribuído ao seu rápido crescimento, que resulta em um estímulo próprio, e competição por espaço e nutriente (BONFIM et al., 2010).

Houve diferença significativa para os fatores isoladamente (fitopatógenos e agentes de biocontrole), bem como para a interação entre eles. O isolado de *Trichoderma* Tam03 foi o agente de controle biológico que ocasionou as maiores reduções no diâmetro médio das colônias de todos os fitopatógenos confrontados (Tabela 2).

A capacidade de *Trichoderma* inibir o desenvolvimento de patógenos é explicada pela produção de antibióticos, como trichodermina, dermadina, alameticina, viridina, gliotoxina e de enzimas como hemicelulase, celulase e lignocelulolíticas, capazes de ocasionar a lise celular de fungos fitopatogênicos (BROETTO et al., 2014).

Tabela 2. Diâmetro médio das colônias dos fitopatógenos, no teste de confrontação direta, aos três dias após a montagem.

Fitopatógenos	Diâmetro Médio das Colônias (mm)				
	Isolados de <i>Trichoderma</i>				
	Controle	Tam01	Tam02	Tam03	Tam04
<i>Alternaria</i> sp. (couve)	22,3 aB	17,7 aC	32,3 aA	8,9 aD	23,7 aB
<i>Alternaria</i> sp. (tomate)	20,3 aB	17,2 aB	29,1 bA	7,7 aC	17,9 bcB
<i>Cercospora</i> sp. (alface)	20,8 aB	16,2 aC	31,0 abA	8,3 aD	18,3 bcBC
<i>Cercospora</i> sp. (chicória)	21,6 aB	17,6 aC	31,0 abA	7,5 aD	16,2 cC
<i>Colletotrichum</i> sp. (cebolinha)	19,5 aB	14,7 aC	29,7 abA	6,8 aD	19,7 bB
CV(%) = 8,7					

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,01$ ).

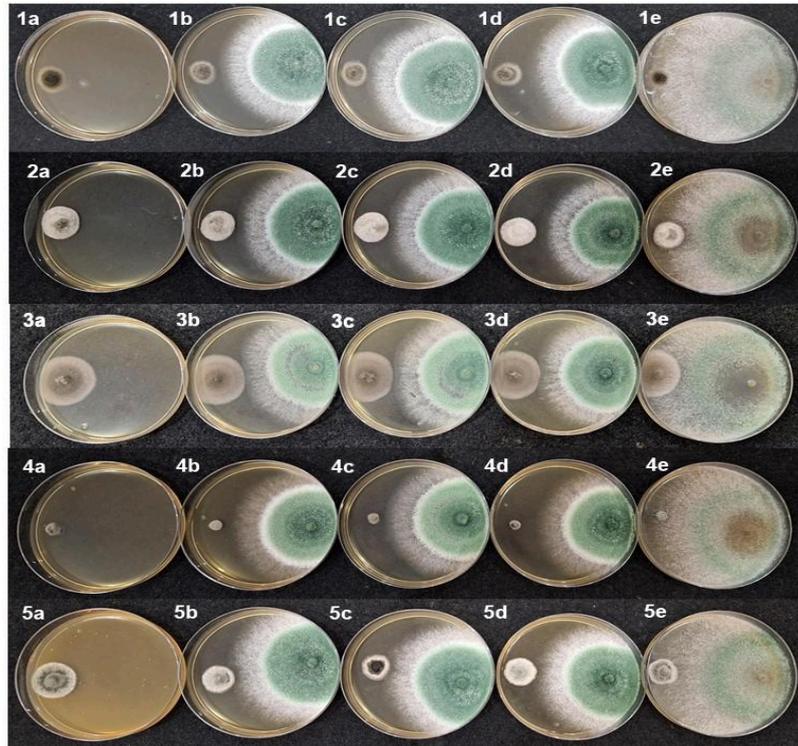


Figura 2. Colônias dos fitopatógenos e dos agentes de controle biológico, após três dias de incubação, no teste de confrontação direta. 1a. controle - *Alternaria* sp. (couve) e 1b, 1c, 1d e 1e: *Alternaria* sp. (esquerda) x Tam01, Tam02, Tam03 e Tam04 (direita), respectivamente. 2a. controle - *Alternaria* sp. (tomate) e 2b, 2c, 2d e 2e: *Alternaria* sp. (esquerda) x Tam01, Tam02, Tam03 e Tam04 (direita), respectivamente. 3a. controle - *Cercospora* sp. (alface) e 3b, 3c, 3d e 3e: *Cercospora* sp. (esquerda) x Tam01, Tam02, Tam03 e Tam04 (direita), respectivamente. 4a. controle - *Cercospora* sp. (chicória) e 4b, 4c, 4d e 4e: *Cercospora* sp. (esquerda) x Tam01, Tam02, Tam03 e Tam04 (direita), respectivamente. 5a. controle - *Colletotrichum* sp. (cebolinha) e 5b, 5c, 5d e 5e: *Colletotrichum* sp. (esquerda) x Tam01, Tam02, Tam03 e Tam04 (direita), respectivamente.

## Conclusões

Os isolados de *Trichoderma* testados apresentaram potencial, *in vitro*, para o controle biológico dos fitopatógenos alvos. No entanto, outros testes *in vitro* e *in vivo*, são necessários para a comprovação dessa potencialidade observada inicialmente, principalmente quando se pensa na aplicação desses organismos em cultivos orgânicos e/ou agroecológicos no campo.

## Agradecimentos

Agradecimentos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos e a Universidade Federal Oeste do Pará (Ufopa), pelo suporte de laboratórios para realização deste trabalho.



## Referências bibliográficas

- BETTIOL, W.; SILVA, J.C.; CASTRO, M.L.M.P. Uso atual e perspectivas do *Trichoderma* no Brasil. In: MEYER, M.C.; MAZARO, S.M.; SILVA, J.C. (eds). **Trichoderma uso na agricultura**. Brasília, DF: Embrapa, 2019. 538 p.
- BOMFIM, M. P.; SÃO JOSÉ, A. R.; REBOUÇAS, T. N. H.; ALMEIDA, S. S.; 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**, v. 36, n. 1, p. 61-67, 2010.
- BROETTO, L. et al. Crescimento micelial e produção de microescleródios de *Macrophomina phaseolina* confrontado com diferentes isolados de *Trichoderma* sp. **Scientia Agraria**, v. 13, n. 4, p. 310-317, 2014.
- DENNIS, C.; WEBSTER J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: III. Hyphal interactions. **Transactions of the British Mycological Society**, v.57, p.363-369, 1971a.
- DENNIS, C.; WEBSTER J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*: II. Production of volatile antibiotics. **Transactions of the British Mycological Society**, v.57, p.41-48, 1971b.
- LILLY, G.V., BARNETT, H. L. Physiology of the fungi. **New York: McGraw-Hill Book**, 1951. 464p
- PARRA, J. R. Controle Biológico na Agricultura Brasileira. **Entomological Communications**, v.1, ec01002, 2019.
- SAVITA; SHARMA, A. Fungi as Biological Control Agents. In: GIRI, B.; PRASAD, R.; WU, Q-S.; VARMA, A. (eds) **Biofertilizers for Sustainable Agriculture and Environment**. Soil Biology, vol. 55, 2019.
- SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **Afr. J. Agric. Res.**, v.11, p.3733–3740, 2016.
- SILVA, J. B. T.; MELLO, S. C. M. **Utilização de *Trichoderma* no controle de fungos fitopatogênicos**. 1. ed. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 17 p.
- STEILMANN, P.; MAZON, S.; VARGAS, T.O. Uso do *Trichoderma* em hortaliças. In: MEYER, M. C.... [et al.]. **Trichoderma: uso na agricultura**. Brasília, DF: Embrapa, 2019. p.455-469.