

10886 - Atividade antagonista de oito isolado de *Trichoderma* spp. a dois isolados de *Fusarium* sp., in vitro.

Antagonist activity of eight isolates of Trichoderma spp. two isolates of Fusarium sp. in vitro.

SOARES, Eriksen Patric Silva¹; AZEVEDO, Daiana Maria Queiroz²; RODRIGUES, Gabriel Rebelo²; FROIS, Mauricio Rodrigues²; SILVA, Gleiciane Carla Gomes da²; SALES, Nilza de Lima Pereira².

¹Mestrando em produção vegetal semiárido, Universidade estadual de Montes Claros - UNIMONTES, campus Janaúba – MG. eriksenpatric@yahoo.com.br; ²Universidade Federal de Minas Gerais–UFMG, campus Montes Claros - MG. daianamaria3@yahoo.com.br; gabriel.rebelorodrigues@gmail.com; mauriciofrois20@yahoo.com.br; gleicinhacarla@yahoo.com.br; nsales_ufmg@hotmail.com.

Resumo: A definição de controle biológico, é a diminuição da soma de inoculo ou das atividades determinantes da doença, provocada por um patógeno, realizada por um ou mais organismos que não seja o homem. Objetivou-se com esse estudo avaliar o a porcentagem de inibição do agente de controle biológico (*Trichoderma* sp.), sobre o patógeno (*Fusarium* spp.). O experimento foi desenvolvido seguindo o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 8x2 sendo oito isolados de *Trichoderma* sp. (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7 e T8) versus dois isolados de *Fusarium* sp. (F1 e F2). Avaliou-se a porcentagem de inibição dos tratamentos sobre o patógeno. Observou-se que o *Trichoderma* spp. possui grande potencial de inibição de *Fusarium* sp., sendo observada diferença entre os isolados. Para os dois isolado de *Fusarium* sp. o tratamento que obteve melhor media de porcentagem de inibição foi o T8, sendo seguido pelo tratamento 2 para o F1 e sendo seguido pelo tratamento 6 para o F2.

Palavras -Chave: Inibição, controle biológico, pareamento.

Abstract: The definition of biological control is to decrease the amount of inoculum or activities determinants of disease caused by a pathogen, carried out by one or more entities other than the man. The objective of this study to evaluate him to percentage of inhibition of biological control agent (*Trichoderma* sp.) On the pathogen (*Fusarium* spp.). The experiment was conducted following a completely randomized design in factorial 8x2 with eight isolates of *Trichoderma* sp. (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7 and T8) versus two isolates of *Fusarium* sp. (F1 and F2). We evaluated the percentage of inhibition of the treatments on the pathogen. It was observed that *Trichoderma* spp. has great potential for inhibition of *Fusarium* sp. difference was observed among isolates. For both isolated from *Fusarium* sp. treatment who had the best average of the percentage of inhibition was T8, followed by treatment 2 for F1 and being followed by treatment for 6 F2.

Keywords: Inhibition, biological control, pairing.

Introdução

Segundo Henning (2005), a importância da patologia de sementes reside no fato de que aproximadamente 90% das culturas utilizadas para alimentação são propagadas por sementes. Dessas, o milho (*Zea mays* L.) é uma das principais propagadas por sementes. Os principais fungos patogênicos transmitidos pelas sementes de milho são *Fusarium moniliforme*, *Diplodia maydis* e *F. graminearum* Schwabe (GOMES et al., 1981; LUZ,

1997; TANAKA; BALMER, 1980).

A seleção de microrganismos antagonista constitui a base essencial de todo o programa de controle biológico de doenças de plantas, determinando as chances de sucesso do controle biológico. Todos os métodos de seleção de antagonistas são baseados em evidências de que o organismo pretendente intervém, de algum modo, no desenvolvimento do patógeno ou reduz a doença, sendo que interferência implica em algumas formas de destruição ou inibição, podendo ser analisada tanto “*in vitro*” como “*in vivo*” (MELO, 1998).

Um protocolo de seleção de antagonistas para controle biológico progride logicamente através de vários estágios, sendo em teoria de “*in vitro*” (testes em placas de Petri e/ou lâminas) para “*in vivo*” sob condições controladas (MACHADO, 1999; MELO, 1998).

O método de pareamento de culturas fungicas é o mais largamente utilizado em estudos de antagonismo *in vitro*, existindo numerosos relatos de sucesso na seleção de microrganismos, visando ao controle biológico de fitopatógenos. E ainda o teste *in vitro* tem a possibilidade de avaliar um grande número de isolados antagonistas (MARIANO, 1993). É um método que permite mensurar o crescimento micelial, bem como os tipos de interação, como hiperparasitismo, formação de clamidosporos, dentre outros (FARIA *et al.*, 2002).

O *Trichoderma spp.* é um importantes fungos saprófitas de solo, e várias espécies são antagonistas a outros microrganismos (MELO, 1996). Os mecanismos de ação pelos quais o *Trichoderma spp.* pode atuar são: antibiose, hiperparasitismo, competição e também pode atuar em alguns casos através de promoção de crescimento (MELO, 1996).

Tendo em vista a propriedade inibitória de *Trichoderma spp.* sobre o desenvolvimento de fungos patogênicos e a importância de *Fusarium sp.*, para o sementes de milho, o presente trabalho teve por objetivo investigar a atividade antagonista, “*in vitro*”, do *Trichoderma spp.* ao *Fusarium sp.*

Material e métodos

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia no Instituto de Ciências Agrárias da UFMG, em Montes Claros, Minas Gerais. Foram testados 8 isolados de *Trichoderma spp.* em atividade antagônica a 2 isolados de *Fusarium sp.*

Os isolados de *Trichoderma spp.*, foram obtidos de rizosfera de sorgo ICA (T1), em rizoplano sorgo ICA (T2), rizosfera milho ICA (T3), rizoplano milho ICA (T4), isolado da micoteca 13 (T5), isolado micoteca 19 (T6), rizoplano milho comunidade de Jacaré Distrito de Montes Claros – MG (T7), e um isolado obtido de Lavra – MG (T8). Os isolados de *Fusarium sp.* foram obtidos de dois cultivares de sementes de milho sendo o isolado 1 de milho Argentino (F1), e o segundo de Híbrido Duplo (F2).

Os discos de micélio obtidos das margens de colônias de *Trichoderma spp.* e *Fusarium sp.*, foram cultivadas, por 7 dias, em meio BDA, a 25°C em fotoperíodo de 12 horas (ALFENAS; MAFIA, 2007).

Para o ensaio *in vitro* foi empregado o método de pareamento de disco de culturas fungicas. Cada placa de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo o meio de cultura (BDA), recebeu dois discos de micélio de 5 mm de diâmetro, em lados opostos da placa, sendo

um do patógeno *Fusarium sp.* (F1 e F2) e outro do isolado de *Trichoderma spp.* (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7 e T8) a ser avaliado. Como testemunha, usou-se o patógeno cultivado isoladamente, colocando-se um disco de micélio no centro de cada placa. As placas foram mantidas em BOD 25 + ou – 2°C e fotoperíodo de 12 horas.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 8x2, onde foram utilizados oito diferentes isolados de *Trichoderma* (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7 e T8) para 2 diferentes isolado de *Fusarium* (F1 e F2) , com 4 repetições, cada placa constituindo uma repetição. As avaliações foram ao sétimo dias de incubação. Decorrido esse período determinou-se a colônias dos patógenos, por meio de uma régua milimetrada medindo-se o comprimento das culturas, e para a testemunha foi feita a medição nos dois sentidos da placa (horizontal e vertical) .

Para o cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial, foi aplicada a fórmula: % inibição = $[(cr_{test} - cr_{trat}) / cr_{test}] \times 100$, onde: cr_{test} = crescimento radial da testemunha; cr_{trat} = crescimento radial tratamento (MENTEN *et al.*, 1976).

Resultados e discussão

Os resultados foram significativos e mostram que a maioria dos tratamentos não diferiram estatisticamente entre si, apenas o tratamento T8 foi estatisticamente diferente do tratamento T3, T4 e T6 para o F1. O tratamento que obteve maior média de porcentagem de inibição foi o isolado T8, aproximadamente 85 % de inibição contra o F1, e sendo seguido pelo T2, que impetrou em torno de 79% de inibição. E para o F2, somente o T4 diferiu estatisticamente dos tratamento T6, T7 e T8, novamente o T8 obteve melhor media sendo, aproximadamente 80% de inibição contra o F2, sendo seguido pelo T6 e T7, que alcançou em torno de 78 e 77% de inibição respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1: Médias da porcentagem de inibição do *Fusarium sp.* obtido de milho argentino (F1), e médias da porcentagem de inibição do *Fusarium sp.* obtido de milho híbrido duplo (F2) em cultivo pareado com oito isolados de *Trichoderma spp.*, Montes Claros, 2010.

<i>Fusarium sp. F1</i>	
Tratamentos	Porcentagem de inibição (médias) e comparações
T1	77.6667 AB
T2	78.6667 AB
T3	74.0000 B
T4	72.0000 B
T5	77.6667 AB
T6	76.6667 B
T7	77.3333 AB
T8	84.6667 A
CV	4.346

<i>Fusarium sp. F2</i>	
Tratamentos	Porcentagem de inibição (médias) e comparações
T1	76.7898 AB
T2	74.3649 AB
T3	74.7113 AB
T4	69.8614 B
T5	76.7898 AB
T6	77.8291 A
T7	77.1363 A
T8	80.6005 A
CV	3.921

*Médias seguidas por mesma letra maiúsculas na coluna e minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Este trabalho corrobora com Silva *et al.* (2008), onde foi realizado experimento testando *Trichoderma sp.* contra *Phytophthora citrophthora*, sendo confirmado também por Bomfim *et al.* (2009), que realizou experimento com *Trichoderma sp.*, para inibir o crescimento *Rhizopus*.

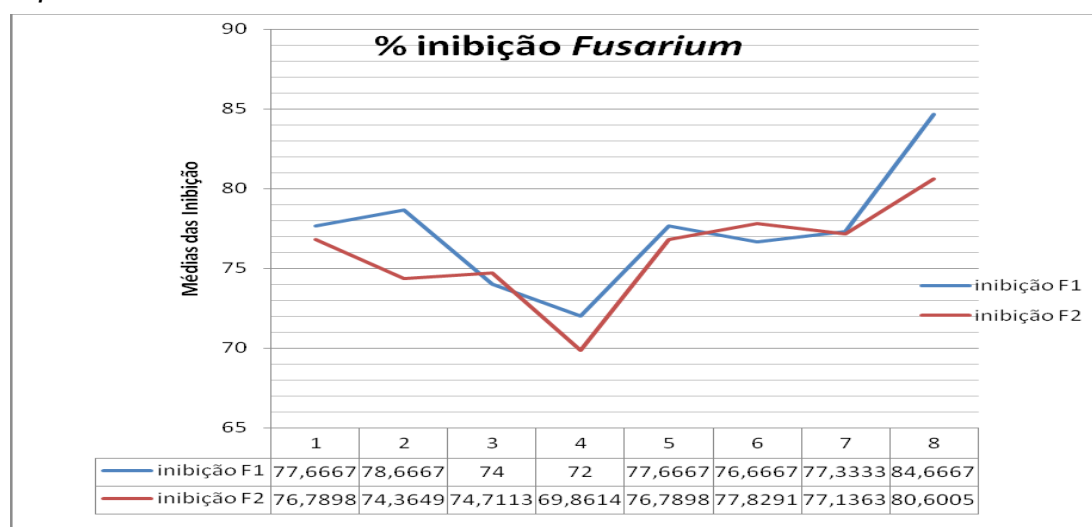


Figura 1 : Porcentagem de inibição do *Fusarium sp.* obtido de milho híbrido duplo (F2) em cultivo pareado com oito isolados de *Trichoderma spp.*, Montes Claros, 2010.

E ainda alcançou resultados parecidos com os obtidos por Louzada *et al.* (2009), que trabalhando com controle biológico usando diferentes isolados de *Trichoderma spp.*, contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani in vitro*, observou que o diferentes isolados tinha efeito diferente sobre o mesmo patógeno, o mesmo observado neste trabalho. Em relação ao diferentes isolados de *Fusarium sp.*, essas influenciaram no crescimento micelial. Para todos os oito isolados de *Trichoderma spp.* verificou que um mesmo isolado de *Trichoderma spp.* teve efeito inibitório diferente para os isolados de *Fusarium sp.* (figura 1). Isso pode ser explicado por ser diferentes isolados de *Fusarium sp.*, o F2 é mais agressivo que o F1, por isso teve uma menos percentagem de inibição pelo *Trichoderma spp.*

Conclusão

Com o presente trabalho, foram obtidos dados que indicam o potencial antagonista de oito isolados de *Trichoderma spp.* provenientes de diferentes áreas, contra dois isolados de *Fusarium sp.* E o isolado de *Trichoderma spp.* que obteve maiores medias de porcentagem de inibição foi o isolado 8. Sendo que o T4 foi o tratamento que obteve piores porcentagem de inibição e diferiu estatisticamente dos demais nos dois experimentos.

Agradecimentos

A FAPEMIG pelo apoio financeiro.

Referências

- ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: UFV. 382p. 2007.
- BETTIOL, W. (Ed.). **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Jaguariúna. EMBRAPA-CNPDA. 1991.
- BOMFIM, M. P.; JOSÉ, A. R. S.; 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 Phytopathol.**, Botucatu, v. 36, n. 1, p. 61-67, 2010.
- FARIA, A. Y. K.; CASSETARI NETO, D.; ALBUQUERQUE, M. C. A. 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.
- GOMES, J., CARVALHO, A.O.R. & NAZARENO, N.R.X. **Avaliação estadual de cultivares de milho**. Londrina, IAPAR, Informe de pesquisa, 40. 1981.
- HENNING, A.A. **Patologia e tratamento de sementes: noções gerais**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 52p. (Embrapa Soja. Documentos, 264). Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/download/alerta/documento264.pdf>>. Acesso em: 05/07/2011.
- LUZ, W.C. da. **Tratamento de sementes de milho com fungicidas**. Passo Fundo: Embrapa-CNPT, Circular Técnica, 7. 1997

LOUZADA, G.A.S., CARVALHO, D.D.C., MELLO, S.C.M., LOBO JÚNIOR, M., MARTINS, I.; BRAÚNA, L.M. Antagonist potential of *Trichoderma* spp. from distinct agricultural ecosystems against *Sclerotinia sclerotiorum* and *Fusarium solani*. **Biota Neotrop.** 9(3): <http://www.biotaneotropica.org.br/v9n3/en/abstract?article+bn02509032009>.

MACHADO, J.C. **Manejo sanitário de sementes no controle de doenças**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999.

MARIANO, R. L. R. Métodos de seleção “*in vitro*” para controle microbiológico. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 1, p. 369–409, 1993.

MELO, I.S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELLO, I.S.; AZEVEDO, J.L. (Eds.). **Controle biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998. v.1, 264p.

MELO, I.S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 4, p. 261-295, 1996.

MENTEN, J. O. M.; MINUSSI, C. C.; CASTRO, C.; KIMATI, H. 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.

SILVA, K. S.; REBOUÇAS, T. N. H.; Bomfim, M. P.; Silva, D. S.; José; A. R. S.; Benett C. G. S. Atividade antagônica *in vitro* de isolados de *Trichoderma* spp. ao fungo *Phytophthora citrophthora*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 749-754, out./dez. 2008.

TANAKA, M. A. S.; BALMER, E. Efeito da temperatura e dos microrganismos associados ao tombamento na germinação de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.5, n.1, p.87-93, 1980.