

14533 - *Trichoderma* e óleo vegetal: alternativas para o controle de fitopatógenos de espécies florestais

Trichoderma and vegetable oil: alternative for plant pathogens control of forest species

FERREIRA, Thayná da Cruz¹; BERNARDES, Vanessa Pimentel¹; SOUSA, Bruna Cristine Martins de²; LUSTOSA, Denise Castro³; VIEIRA, Thiago Almeida³

1 Acadêmica do Curso de Engenharia Florestal, Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), thayna_ferreira_9@hotmail.com; vanessapb07@hotmail.com; 2 Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas, UFOPA, bruna0909martins@hotmail.com; 3 Docentes do IBEF/UFOPA. denise.lustosa@ufopa.edu.br; thiago.vieira@ufopa.edu.br.

Resumo

Objetivou-se avaliar *Trichoderma* e óleo essencial de Cumaru no controle de fitopatógenos de espécies florestais. *Trichoderma* TC e TCE foram avaliados através da confrontação direta e produção de compostos voláteis sobre *Fusarium* spp. isolados de Angelim, Angelim pedra, Louro e Maçaranduba. Nas avaliações, mediu-se o diâmetro médio das colônias dos desafiantes. Testou-se a atividade fungitóxica do óleo nas concentrações: 0; 0,10; 0,25; 0,50 e 1,25 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ sobre *Pestalotiopsis* spp. isolados de Angelim da mata e Paricá e, *Lasiodiplodia* sp. obtido de Paricá. Na confrontação direta, TCE reduziu o crescimento de *Fusarium* de A. pedra e Maçaranduba em 26% e 40,1%, respectivamente, enquanto que, na produção de compostos voláteis, TC reduziu as colônias de *Fusarium* de Angelim em 17% e de Maçaranduba em 22,45%. O óleo a 1,25 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ reduziu o crescimento em 82,2%, 84,4% e 88,9% para *Pestalotiopsis* de Paricá, Maçaranduba e A. pedra, respectivamente e, em 50% o crescimento de *Lasiodiplodia*.

Palavras-chave: Atividade fungitóxica; confrontação direta; biocontrole; controle alternativo.

Abstract

This paper aimed to evaluate *Trichoderma* and Cumaru essential oil on the control pathogens in forest species. *Trichoderma* TC and TCE were evaluated through direct confrontation and production of volatile compounds on *Fusarium* spp. isolates of Angelim Angelim pedra, Louro and Maçaranduba. In the evaluations, we measured the mean diameter of colonies of challengers. Tested the fungitoxicity activity of the oil at concentrations: 0, 0.10, 0.25, 0.50 and 1.25 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ on *Pestalotiopsis* spp. isolates Angelim da mata and Paricá and *Lasiodiplodia* sp. obtained Paricá. In direct confrontation, TCE reduced the growth of *Fusarium* of Angeleim pedra and Maçaranduba, 26% and 40.1%, respectively, whereas in the production of volatile compounds, TC reduced the colonies of *Fusarium* of Angelim in 17% and 22.45% in Maçaranduba. The oil 1.25 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ reduced the growth 82.2%, 84.4% and 88.9%% for *Pestalotiopsis* of Paricá, Maçaranduba and A. pedra, respectively, and, 50% in *Lasiodiplodia* growth.

Key words: Fungitoxic activity; direct confrontation; biocontrol; alternative control.

Introdução

O uso de fungicidas químicos e de micro-organismos antagonistas pode atuar de melhor forma no controle de doenças de plantas, quando aplicadas em conjunto (PAULA JUNIOR, et al. 2008). Enquanto os fungicidas possuem efeito temporário e precisam de frequentes aplicações durante o ciclo das culturas, os agentes de biocontrole são capazes de se estabelecer, habitar e dispersar no ecossistema

(ÁVILA et al. 2005), tornando esses agentes biológicos uma alternativa viável para minimizar o potencial de inóculo de patógenos, em especial do solo, sem trazer prejuízos ao meio ambiente (MELLO et al. 2007). Dentre os micro-organismos, destaca-se o fungo *Trichoderma*, que tem sido largamente utilizado como antagonista eficaz no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos.

Outra medida alternativa que vem sendo bastante pesquisada são os óleos e extratos vegetais (SOUZA et al., 2007), que podem apresentar propriedades antifúngicas capazes de reduzir o crescimento de muitos fungos que ocasionam doenças em plantas. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de isolados de *Trichoderma* sp. e do óleo de Cumaru no controle alternativo de fitopatógenos de espécies florestais da Amazônia.

Metodologia

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), em Santarém, PA.

Nos ensaios com *Trichoderma*, utilizaram-se dois isolados (TC e TCE) provenientes da região de Santarém (APA de Alter do Chão), na avaliação dos seus potenciais como agentes de biocontrole de quatro isolados de *Fusarium* spp. obtidos de *Manilkara huberi* (Maçaranduba), *Laurus nobilis* (Louro), *Hymenolobium* sp. (Angelim) e *Hymenolobium flavum* (Angelim da mata), através dos testes: a) confrontação direta, onde um disco de micélio dos fitopatógenos e dos isolados de *Trichoderma* foram colocados equidistantes, em placas de Petri, contendo BDA e, b) produção de metabólitos voláteis, no qual depositou-se, centralmente, em tampas de placas contendo BDA um disco de meio contendo estruturas do antagonista em uma tampa e, na outra o desafiante. Estas foram sobrepostas e vedadas, lateralmente, com membrana plástica.

Em ambos os testes, as testemunhas consistiram do plaqueamento apenas dos fitopatógenos, que foram incubados a 25°C, sob fotoperíodo 12h; as avaliações consistiram da medição do diâmetro médio das colônias dos desafiante e, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial, com três repetições.

A atividade antifúngica do óleo de *Dipteryx odorata* (Cumaru) foi avaliada sobre o crescimento micelial de *Pestalotiopsis* spp. isolados de Angelim pedra (*Dinizia excelsa*), Maçaranduba e Paricá (*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*); *Lasiodiplodia* sp. de Paricá e, *Alternaria* sp. de Eucalipto (*Eucalyptus* sp.), em diferentes concentrações: 0,10; 0,25; 0,50 e 1,25 $\mu\text{L.mL}^{-1}$. O óleo foi previamente filtrado em membrana de Millipore (porosidade 0,22 μm) e adicionado em meio BDA, fundente ($\cong 45^\circ\text{C}$), nas quantidades ajustadas para a obtenção das concentrações estabelecidas, sendo o meio homogeneizado e vertido em placas de Petri, nas quais depositou-se, centralmente, um disco de meio (0,4 cm), contendo as estruturas dos desafiante. Estes foram incubados a $\pm 25^\circ\text{C}$ sob fotoperíodo de 12 horas. As testemunhas consistiram do cultivo apenas em meio BDA, sem a presença do óleo (concentração zero). As avaliações consistiram da medição diária do diâmetro das colônias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial, com quatro repetições.

Resultados e discussões

No teste de produção de compostos voláteis sobre os isolados de *Fusarium*, houve diferença estatística significativa para cada fator isoladamente, bem como para a interação entre eles. Broetto et al. (2012) encontram resultados semelhantes trabalhando com diferentes isolados de *Trichoderma* sp. no biocontrole de *Fusarium* sp. de milho.

O isolado TC proporcionou maior redução no diâmetro médio das colônias dos fitopatógenos, diferindo estatisticamente do isolado TCE e da testemunha, sendo que estes não diferiram entre si. Em relação aos fitopatógenos avaliados, os isolados de *Fusarium* de angelim da mata e louro, apresentaram maior redução no crescimento micelial, não diferindo estatisticamente entre si, enquanto que *Fusarium* obtido de angelim apresentou menor redução no diâmetro médio da colônia, embora não tenha diferenciado do isolado de maçaranduba.

Na interação entre os agentes de biocontrole e desafiantes, o isolado de *Trichoderma* TC diferiu do TCE e da testemunha, proporcionando maior redução no crescimento micelial dos isolados de *Fusarium* provenientes de Louro, Maçaranduba e Angelim, enquanto que *Trichoderma* TCE ocasionou menor crescimento no isolado obtido de Angelim da mata (Tabela 1).

TABELA 1. Diâmetro médio das colônias dos isolados de *Fusarium* spp. confrontados com os isolados de *Trichoderma* spp., pelo teste de produção de compostos voláteis.

	Desafiantes			
	Diâmetro Médio das Colônias (cm)			
	<i>Fusarium</i> sp. (Louro)	<i>Fusarium</i> sp. (Angelim mata)	<i>Fusarium</i> sp. (Maçaranduba)	<i>Fusarium</i> sp. (Angelim)
Testemunha	2,40 bB	2,30 abB	2,90 aA	2,90 aA
TCE	2,33 bCD	2,13 bD	2,93 aAB	3,10 aA
TC	2,75 aA	2,50 aAB	2,25 bB	2,40 bAB

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Analisando a interação no teste de pareamento, observou-se que o isolado TC reduziu o crescimento do isolado proveniente de Louro, diferindo do isolado TCE e da testemunha, enquanto que, a maior redução proporcionada pelo isolado TCE foi para o *Fusarium* obtido de Angelim da mata, diferindo dos demais tratamentos. Ambos isolados do agente de biocontrole não diferiram da testemunha em relação ao *Fusarium* de Maçaranduba e Angelim (Tabela 2). Remuska e Pria (2007), avaliando o efeito de um isolado de *Trichoderma* sp. no controle de oito fitopatógenos, concluíram que este agente de biocontrole mostrou-se eficiente como antagonista apenas para o fitopatógeno *Sclerotium rolfsii*, com redução de 33,9% no seu crescimento. Por outro lado, Carvalho et al., (2011) trabalhando com seis isolados de *Trichoderma harzianum* no controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* encontraram que todos os isolados avaliados apresentaram antagonismos *in vitro* contra o fitopatógeno.

TABELA 2. Diâmetro médio das colônias dos isolados de *Fusarium* spp. confrontados com os isolados de *Trichoderma* spp., pelo teste de pareamento.

Tratamentos	Desafiantes			
	<i>Fusarium</i> sp. (Louro)	<i>Fusarium</i> sp. (Angelim mata)	<i>Fusarium</i> sp. (Maçaranduba)	<i>Fusarium</i> sp. (Angelim)
Testemunha	2,50 abB	3,00 aAB	3,37 aA	2,97 aAB
TCE	3,07 aA	2,23 bB	2,00 bB	2,40 aAB
TC	2,33 bB	2,33 bA	2,47 bA	2,60 aA

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação ao óleo de Cumaru, houve diferença estatística significativa entre todos os fatores analisados. Todas as concentrações proporcionaram inibição de crescimento dos fitopatógenos, embora essa redução não tenha ocorrido de forma linear, com o aumento das concentrações. Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Guimarães et al., (2011), que avaliando a atividade antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do citral sobre a inibição micelial de diferentes fitopatógenos encontrou que para o isolado do fungo *Colletotrichum gloesporioides* a inibição do seu crescimento diante as concentrações de citral, não foi linear.

Na interação entre os fatores, os isolados de *Pestalotiopsis* provenientes de Maçaranduba, Paricá e Angelim pedra foram bastante sensíveis ao óleo, na concentração de $1,25 \mu\text{L.mL}^{-1}$ apresentando diâmetro da colônia de 0,8 cm; 0,7 cm e 0,5 cm, correspondendo a uma redução de 82,2%, 84,4% e 88,9%, respectivamente. Segundo Silva (2001), a reunião de vários componentes na composição de óleos essenciais, pode atuar em harmonia sinérgica e apresentar uma ampla gama de atuação fungicida ou fungistática.

Conclusões

Os isolados de *Trichoderma* TC e TCE reduziram o crescimento micelial da maioria dos fitopatógenos das espécies florestais avaliadas, sendo o isolado TC, o mais eficiente.

O óleo de Cumaru na maior concentração avaliada proporcionou alta redução no crescimento dos isolados de *Pestalotiopsis* provenientes de Maçaranduba, Paricá e Angelim pedra.

Os resultados encontrados neste trabalho sugerem que os isolados de *Pestalotiopsis* avaliados são espécies diferentes.

Referências Bibliográficas

ÁVILA, Z.R., CARVALHO, S.S., BRAÚNA, L.M., GOMES, D.M.P.A., SILVA, M.C.F. & MELLO, S.C.M. **Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. antagônicos a *Sclerotium rolfii* e *Sclerotinia sclerotiorum*.** Embrapa Recursos Genéticos, Brasília. 30p, 2005.

- BROETO. L.; PAZDIRA. C.P; RAVAGNANI. K.L; MEINERZ.C.C; COLTRO. S; KUHN. J.O. Avaliação *in vitro* de Isolados de *Trichoderma* sp. no Controle de *Fusarium* sp. do Milho. **Departamento de Defesa Fitossanitária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)**, Santa Maria, RS, Brasil, 2012.
- CARVALHO, D.D.C.; MELLO, S.C.M.; LOBO JÚNIOR, M; SILVA, M.C. Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* *in vitro* e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, v.36, n.1, p.28-34, 2011.
- GUIMARÃES, L.G.L.; CARDOSO, M.G.; SOUSA, P.E.; ANDRADE, J.; VIEIRA, S.S. Atividade antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do citral. **Revista Ciência Agronômica**, v.42, n.2, p.464-472, 2011.
- MELLO, S.C.M., ÁVILA, Z.R., BRAÚNA, L.M., PÁDUA, R.R. & GOMES, D. Cepas de *Trichoderma* para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc. **Fitosanidad.**, v.11, n.1, p.3-9, 2007.
- PAULA JÚNIOR, T.J., VIEIRA, R.F., TEIXEIRA, H., COELHO, R.R., CARNEIRO, J.E.S., ANDRADE, M.J.B. & REZENDE, A.M. **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na região central brasileira: 2007-2009**. EPAMIG-CTZM, 180p. 2008.
- REMUSKA. C.A; PRIA. D.M. Efeito de *Bacillus thuringiensis* e *Trichoderma* sp. no crescimento de fungos fitopatogênicos. **Publ. UEPG Ci. Exatas Terra, Ci. Agr. Eng.**, v.13, n.3, p.31-36, 2007.
- SILVA, A.R. **Tudo sobre aromaterapia: como usá-la para melhorar sua saúde física, emocional e financeira**. 2a. Ed. São Paulo SP. Editora Roca Ltda. 2001
- SOUZA AEF; ARAÚJO E; NASCIMENTO LC. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolados de grão de milho. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, p.465-470, 2007.