

Avaliação *in vitro* de Isolados de *Trichoderma* sp. no Controle de *Fusarium* sp. do Milho

Laline Broetto^{1,3}, Paulo Cezar Pazdiora², Leoni Kappes Ravagnani^{1,4}, Cristiane Claudia Meinerz^{1,5}, Sidiane Coltro^{1,6} e Odair José Kuhn^{1,7}

¹Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, Marechal Cândido Rondon, PR. Programa de pós-graduação *Stricto Sensu* em Agronomia; ²Universidade Federal do Pampa - UNIPAMPA, Itaqui, RS. p.pazdiora@hotmail.com; ³lalineb@hotmail.com ⁴leoni@yahoo.com.br; ⁵crismeinerz@hotmail.com; ⁶scoltr@hotmail.com; ⁷ojkuhn@gmail.com

RESUMO – A crescente conscientização dos problemas causados no ambiente pelos produtos químicos tem impulsionado a busca por tecnologias e o desenvolvimento de métodos alternativos de controle de doenças de plantas. O presente trabalho teve por objetivo examinar o potencial de diferentes isolados de *Trichoderma* spp. nativos da Região Oeste do Paraná, no controle biológico de *Fusarium* sp. Para avaliação do potencial dos antagonistas foi utilizado a técnica do confronto direto. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, sendo 9 tratamentos (9 isolados de *Trichoderma*), com 5 repetições, resultando em 45 parcelas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5%. Todos os isolados de *Trichoderma* spp. apresentaram rápido crescimento micelial e com apenas cinco dias de incubação, os antagonistas já apresentavam uma inibição no desenvolvimento de *Fusarium* sp. Os isolados TLB 4 e TLB 14 foram o que apresentaram maior agressividade, porém não diferiram dos TLB 9, TLB 12 e TLB 3. Esse grupo pode ser considerado eficiente na supressão de *Fusarium* sp., pois impediu quase que totalmente o seu desenvolvimento.

Palavras-chave: *Zea mays* L., controle alternativo, controle biológico, doença.

Introdução

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, ficando atrás apenas dos Estados Unidos da América (EUA) e da China. Por ser uma das culturas mais explorada do país, totalizou na safra 2009/2010 em torno de 53,2 milhões de toneladas (MAPA, 2011). Segundo Castro et al. (2009), o milho pela sua versatilidade de uso é um dos mais importantes produtos do setor agrícola brasileiro.

Vários fatores podem afetar o rendimento do milho, entre eles, disponibilidade hídrica, fertilidade do solo, população de plantas, sistema de cultivo, potencial produtivo e manejo de plantas daninhas, pragas e doenças (FANCELLI & DOURADO-NETO, 2003).

A partir da década de 1990, ocorreu um aumento na frequência de doenças no milho, causando perdas econômicas em diversas regiões, o que levou ao uso intenso de defensivos agrícolas para se tentar reduzir ao máximo essas perdas (CUNHA, 2010).

Entre as doenças de maior destaque encontra-se a causada pelos fungos do gênero

Fusarium, não só por causar patologias em plantas, mas também pela possibilidade de algumas espécies produzirem toxinas (PINTO, 2005).

No Brasil, a questão do uso dos defensivos agrícolas é preocupante, pois segundo Spadotto et al. (2004), no período entre 1964 e 2004, o consumo de agrotóxicos no País aumentou 700%.

Em contrapartida, à crescente conscientização dos problemas causados no ambiente pelos produtos químicos, tem-se impulsionado a busca por tecnologias e o desenvolvimento de métodos alternativos de controle de doenças de plantas, considerados ambientalmente mais seguros (STANGARLIN et al., 2008). Dessa forma, diversas pesquisas vêm testando produtos alternativos que visem reduzir os problemas fitossanitários (BETTIOL et al., 2005).

Um indutor biótico que tem sido largamente utilizado como antagonista eficaz no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos é o *Trichoderma* sp. (GRIGOLETTI JUNIOR et al., 2000). *Trichoderma* sp. são fungos naturais de solos de clima temperado e tropical, que podem viver saprofiticamente ou parasitando outros fungos (HARMAN et al., 2004).

O presente trabalho teve por objetivo examinar o potencial de diferentes isolados de *Trichoderma* sp. nativos da Região Oeste do Paraná, no controle biológico de *Fusarium* sp.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *campus* de Marechal Cândido Rondon – PR.

O isolamento do fungo *Fusarium* sp. foi realizado a partir de tecidos doentes de uma planta de milho, sendo utilizado para cultivo o meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA).

O isolamento do fungo *Trichoderma* sp. foi realizado pelo método de isca, que consistiu em inserir no solo de nove locais diferentes do Oeste do Paraná, escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, os quais foram parasitados por *Trichoderma* sp. (ETHUR et al., 2005).

Para o confronto direto foi realizado o teste de pareamento de culturas. Para isso, um disco de meio de cultura BDA, de 10 mm de diâmetro, contendo micélio do patógeno foi colocado a uma distância de 0,5 cm do bordo de uma nova placa de Petri contendo meio BDA. As placas assim preparadas foram incubadas por 48 h a 23 °C, com fotoperíodo de 12 h. Após esse período, foi colocado um disco de meio de cultura (10 mm de diâmetro) contendo micélio e conídios de *Trichoderma* na outra extremidade da placa. Essas placas foram incubadas em câmara de crescimento a 23 °C, com fotoperíodo de 12 h (ETHUR et al., 2005).

As avaliações foram realizadas após 10 dias do acréscimo do patógeno, de acordo com os critérios (Tabela 1) propostos por Bell et al. (1982) e adaptado por Rodrigues (2010).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC). Sendo 9 tratamentos (9 isolados diferentes de *Trichoderma*), com 5 repetições, resultando em 45 parcelas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5%, utilizando o software SISVAR, versão 5.1 (FERREIRA, 2008).

Resultados e Discussão

Todos os isolados de *Trichoderma* sp. apresentaram rápido crescimento micelial e, com apenas cinco dias de incubação, os antagonistas já apresentavam inibição no desenvolvimento de *Fusarium* sp.

Bomfim et al. (2010) encontram resultados semelhantes trabalhando com diferentes isolados de *Trichoderma* sp. no biocontrole de *Rhizopus stolonifer*.

Na Figura 1 são apresentadas as médias dos valores das notas obtidas pela análise de variância, para os diferentes isolados de *Trichoderma* sp., onde pode-se observar os efeitos dos tratamentos, que foram estatisticamente diferentes pelo teste de Scott-Knott.

Observa-se que o teste agrupou os isolados em três grupos diferentes. Os isolados TLB4 e TLB14 apresentaram a menor nota (1,6), porém não diferiram estatisticamente dos isolados TLB9, TLB12 e TLB3. Esse grupo pode ser considerado o de maior eficiência na supressão de *Fusarium* sp., impedindo quase que totalmente o desenvolvimento, pois cresceram por toda a placa de Petri, porém não se sobrepôs ao disco do fitopatógeno.

Silva et al. (2008) encontraram efeito significativo na supressão de *Phytophthora citrophthora*, utilizando diferentes isolados de *Trichoderma* sp.

O segundo grupo, composto pelo isolados TLB17 e TLB2, que apresentaram médias de notas entre 2,6 e 2,8, também podem ser considerados eficientes na supressão de *Fusarium* sp., pois cresceram sobre $\frac{3}{4}$ da placa de Petri, tendo um crescimento maior do que o fitopatógeno.

Os isolados TLB6 e TLB15, não foram eficientes na supressão de *Fusarium* sp., apresentaram médias de notas entre 3,4 e 3,6.

Segundo Ethur (2006), pela técnica de confrontação direta com isolados de *Trichoderma* sp. pode-se considerar isolados *muito eficientes* aqueles que apresentarem notas entre 1,0 e 1,5, e *eficientes* aqueles que apresentarem notas entre 2,0 e 2,5.

Conclusões

Todos os isolados de *Trichoderma* sp. apresentaram rápido crescimento e os isolados TBL 4, TLB 14, TLB 9, TLB 12 e TLB 3 foram os eficientes na supressão de *Fusarium* sp., impedindo quase que totalmente o desenvolvimento do patógeno.

Literatura Citada

BETTIOL, W.; GHINI, R.; MORANDI, M. A. B. Alguns métodos alternativos para o controle de doenças de plantas disponíveis no Brasil. In: VENEZON, M.; PAULA JUNIOR, T. J. de; PALLINI, A. Controle alternativo de pragas e doenças. Viçosa: EPAMIG/CTZM, p. 163-183, 2005.

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

CASTRO, L. V. M. de; VELOSO, N. M. M.; PEREIRA, O. J. de; OLIVEIRA, F. L. de. Rendimento industrial e composição química de milho de alta qualidade protéica em relação a híbridos comerciais. Pesquisa Agropecuária Tropical, Goiânia, v.39, n.3, p.233-242, 2009.

CUNHA, J. P. A. R. da; SILVA, L. L. da; BOLLER, W.; RODRIGUES, J. F. Aplicação aérea e terrestre de fungicidas para o controle de doenças do milho. Revista Ciência Agronômica, Fortaleza, v.41, n.3, p.366-372, 2010.

ETHUR, L.Z., BLUME, E., MUNIZ, M., DA SILVA, A.C.F., STEFANELO, D.R. & DA ROCHA, E.K. Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* em pepineiro cultivado em estufa. Fitopatologia Brasileira, Santa Maria, RS, v.30, p.127-133, 2005.

ETHUR, L.Z. Dinâmica populacional e ação de *Trichoderma* no controle de fusariose em mudas de tomateiro e pepineiro. 2006. 154f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2006.

FANCELLI, A. L.; DOURADO-NETO, D. Milho: estratégias de manejo para alta produtividade. Piracicaba: Esalq/USP/LPV, 2003. 208p.

FEREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. Revista Científica Symposium, Lavras, v. 6, n.2, p.36-41, 2008.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; SANTOS, A.F.; AUER, C.G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. Revista Floresta v. 30, 2000. p. 155-165.

HARMAN, G. E. et al. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature

Review Microbiology. v. 2, p. 43-56, 2004.

MAPA – Ministério da Agricultura. Cultura – Milho. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/milho>>. Acesso em: 13 de maio de 2012.

PINTO, N.F.J. de A. Grãos Ardidos em Milho. Circular Técnica, 66: dezembro de 2005- Embrapa milho e sorgo- Sete Lagoas, MG.

RODRIGUES, J. *Trichoderma* spp. associado a níveis de adubação NPK no patossistema *Sclerotinia sclerotiorum* – feijoeiro. 2010. 84 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

SILVA, K. S.; REBOUÇAS, T. N. H.; BOMFIM, M. P.; SILVA, D. S.; SÃO JOSÉ, A. R.; BENETT, C. G. S. Atividade antagônica in vitro de isolados de *Trichoderma* spp. ao fungo *Phytophthora citrophthora*. Semina: Ciências Agrárias, Londrina – PR, v. 29, n. 4, p.749-754, 2008.

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F.; LUCHINI, L. C.; ANDREA, M. M. 2004. Monitoramento de risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP. 29p.

STANGARLIN, J. R. ; KUHN, O J ; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Controle de doenças de plantas por extratos de origem vegetal. Revisão Anual de Patologia de Plantas. v. 16, p. 265-304, 2008.

Tabela 1. Escala utilizada para teste de pareamento de culturas proposto por Bell et al.(1982) e adaptado por Rodrigues (2010).

Notas	Escala de avaliação
1	Antagonista cresce por toda a placa de Petri e sobre o disco do patógeno
2	Antagonista cresce por toda a placa de Petri, porém não sobre o patógeno
3	Antagonista cresce sobre $\frac{3}{4}$ da placa de Petri
4	Antagonista cresce sobre $\frac{2}{3}$ da placa de Petri
5	Antagonista e patógeno crescem até metade da placa de Petri
6	Patógeno cresce sobre $\frac{2}{3}$ da placa de Petri
7	Patógeno cresce por toda a placa de Petri

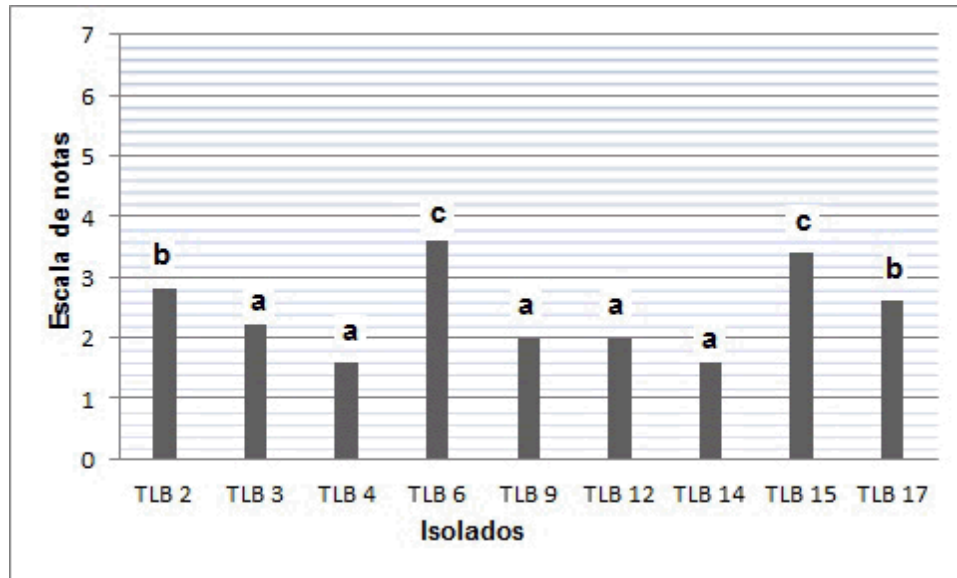


Figura 1 – Médias de notas atribuídas pela técnica de confrontação direta aos isolados de *Trichoderma* sp. (TLB), quanto à inibição de crescimento micelial de *Fusarium* sp. Médias seguidas com mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.