

## Influência de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Thielaviopsis paradoxa*

C. C. Santos<sup>1</sup>, F. A. de Oliveira<sup>2</sup>; M. S. dos Santos<sup>3</sup>; V. Talamini<sup>4</sup>; J. M. S. Ferreira<sup>5</sup>; F. J. dos Santos<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Estudante de Engenharia Florestal (UFS), Bolsista Embrapa, Laboratório de Fitopatologia, Embrapa Tabuleiros Costeiros, Cx. P. 44, 49025-040, Aracaju-SE

<sup>2</sup>Pesquisador, Bolsista Pós-Doutorado FAPITEC/CNPq, Laboratório de Fitopatologia, Embrapa Tabuleiros Costeiros, Cx. P. 44, 49025-040 Aracaju-SE

<sup>3</sup>Estudante de Ciências Biológicas Bacharelado, Universidade Tiradente, 49032-490, Aracaju-SE

<sup>4</sup>Pesquisador, Laboratório de Fitopatologia, Embrapa Tabuleiros Costeiros, Cx. P. 44, 49025-040, Aracaju-SE

<sup>5</sup>Pesquisador, Laboratório de Controle Biológico, Embrapa Tabuleiros Costeiros, Cx. P. 44, 49025-040, Aracaju-SE

<sup>6</sup>Analista, Laboratório de Controle Biológico, Embrapa Tabuleiros Costeiros, Cx. P. 44, 49025-040, Aracaju-SE

carloscsantos@bol.com.br

(Recebido em 20 de novembro de 2011; aceito 20 de fevereiro de 2012)

O controle biológico comumente vem sendo constituído como uma alternativa ao uso de produtos químicos para o controle de pragas e doenças. Fungos do gênero *Trichoderma* são de grande importância econômica para a agricultura, uma vez que são capazes de atuarem como agentes de controle de doenças de várias plantas cultivadas. O fungo *Thielaviopsis paradoxa*, anamórfico do ascomiceto *Ceratocystis paradoxa* é o agente causal da doença conhecida como resinose do coqueiro. A doença tem se disseminado gradualmente aumentando o número de propriedades e de coqueiros infectados a cada ano. O objetivo do trabalho foi observar a influência inibitória do *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial do *Thielaviopsis paradoxa*. Foram utilizados para o experimento 10 isolados de *Trichoderma* spp. provenientes de diferentes regiões do Brasil (TC101, TC102, TC103, TC104, TC105, TC106, TC107, RS201, TC109, TC110) e um isolado do fungo *Thielaviopsis paradoxa* (TC 003). Para verificar a ação antagonista dos isolados de *Trichoderma* spp. sobre *T. paradoxa* utilizou-se o pareamento de culturas em placas de Petri. A capacidade antagonista dos isolados de *Trichoderma* spp. foi avaliada aos sete e aos 14 dias após o pareamento, utilizando a escala de notas de Bell et al.(1982), que varia de 1 a 5. Os isolados TC 107, TC 105, TC 106, TC 103, TC 102, TC 110 e TC 109 foram os mais eficientes *in vitro* para o controle de *T. paradoxa* em relação ao demais testados, assim, ocasionaram melhor potencial hiperparasita com relação ao fungo fitopatogênico.

Palavras-Chave: Antagonismo, controle biológico, hiperparasitismo, resinose.

The Biological control has been commonly established as an alternative to using chemicals to control pests and diseases. fungi of the genus *Trichoderma* are of great economic importance for agriculture, since they are able to act as agents of disease control in various crops. The fungus *Thielaviopsis paradoxa*, anamorphic of the ascomycete *Ceratocystis paradoxa* is the causal agent of the disease known as resinose coconut. The disease has spread gradually increasing the number of properties and coconut trees infected each year. The objective of this study was to observe the inhibitory influence of *Trichoderma* spp. on the mycelial growth of *Thielaviopsis paradoxa*. Were used for the experiment 10 strains of *Trichoderma* spp. from different regions of Brazil (TC101, TC102, TC103, TC104, TC105, TC106, TC107, RS201, TC109, TC110) and one isolate of the fungus *Thielaviopsis paradoxa* (TC 003). To verify the antagonistic action of *Trichoderma* sp. on *T. paradoxa* used the pairing of cultures in Petri dishes. The antagonistic ability of *Trichoderma* spp. were evaluated at seven and fourteen days after pairing, using the scale from Bell et al., ranging from 1 to 5. Isolates CT 107, CT 105, CT 106, CT 103, CT 102, CT 110 and CT 109 were the most effective "in vitro" to control *T. paradoxa* in relation to other tested thus led to the best potential hiperparasitism pathogenic fungus.

Keywords: Antagonism, biological control, hiperparasitism, resinose.

## 1. INTRODUÇÃO

Devido a crescente preocupação com relação ao uso de agrotóxicos e as questões ambientais cada vez mais com foco em sustentabilidade, a busca de fontes de controle biológico para o manejo de pragas e doenças são necessárias, embora não seja uma prática generalizada. O controle biológico comumente vem sendo constituído como uma alternativa ao uso de produtos químicos para o controle de pragas e doenças. Segundo Batista Filho (2006), o controle biológico é definido como a ação de organismos que mantêm a população de outros organismos considerados pragas ou doenças, em um nível mais baixo do que ocorreria em sua ausência.

Os fungos do gênero *Trichoderma* são de grande importância econômica para a agricultura, uma vez que são capazes de atuarem como agentes de controle de doenças de várias plantas cultivadas, promotores de crescimento e indutores de resistência de plantas a doenças (Mohamed e Haggag 2006, Fortes et al. 2007). Para Gauch (1996), o *Trichoderma* pode interagir com o patógeno de diversas maneiras, tais como antibiose, competição, parasitismo, hipovirulência, predação ou indução de defesa do hospedeiro.

Levando em conta todos esses fatores o *Trichoderma* é, sem dúvida, o agente de controle biológico de doenças de plantas mais estudado no Brasil e em outros países da América Latina (Bettiol et al., 2008).

O fungo *Thielaviopsis paradoxa*, anamórfico do ascomiceto *Ceratocystis paradoxa* é o agente causal da doença conhecida como resinose do coqueiro. No Brasil os primeiros relatos de sua ocorrência surgiram em 2004 e desde então, a doença tem se disseminado gradualmente aumentando o número de propriedades e de coqueiros infectados a cada ano (Warwick et al., 2004).

O *T. paradoxa* é um fungo que produz dois tipos diferentes de esporos assexuados, endoconídios e clamidósporos, este último poderá sobreviver por longos períodos no solo. Na fase teleomórfica é conhecido como *Ceratocystis paradoxa* e, nesta fase ele é raramente observado em ambientes naturais (Elliot, 2011). A adição de agentes antagonistas em solos com propágulos de *T. paradoxa* poderá ser eficiente no controle da resinose por promover redução do inóculo inicial do fitopatógeno. Por isso a busca por isolados de *Trichoderma* spp que sejam capazes de exercer ação antagônica contra este patógeno de solo é extremamente importante.

Para os cocoicultores brasileiros a resinose ainda é motivo de desafio, e estudos de técnicas de controle eficiente são imprescindíveis. Diante disto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade antagonista de isolados de *Trichoderma* spp. com potencial para serem utilizados como agentes no biocontrole de *Thielaviopsis paradoxa*.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os isolados de *Trichoderma* e *T. paradoxa* utilizados para realização deste trabalho pertencem à coleção do banco de fungos do Laboratório de Controle Biológico e do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Tabuleiros Costeiros. Foram utilizados para o experimento 10 isolados de *Trichoderma* spp., sendo um comercial e os restantes provenientes de diferentes Estados do Brasil (TC101- formulação comercial, TC102- Ceará, TC103- Ceará, TC104- Pará, TC105- Sergipe, TC106- Rio Grande do Norte, TC107- Sergipe, RS201- Rio Grande do Sul, TC109- Rio de Janeiro, TC110- Sergipe) e um isolado do fungo *Thielaviopsis paradoxa* (TC 003) obtido a partir de lesão típica da resinose em estipe do coqueiro.

A ação antagônica do *Trichoderma* sobre *T. paradoxa* foi avaliada por meio do teste de pareamento de culturas. Os isolados de ambos os fungos foram repicados para placas de petri com meio de cultura batata-dextrose-agar (BDA) e incubados em câmara incubadora do tipo BOD à temperatura de 25°C, com fotoperíodo de 12 horas. Alcançados sete dias de crescimento do *Trichoderma* spp. e *T. paradoxa* foram realizados os pareamentos. Para tanto foi colocado em um dos lados da placa de petri, um disco de cultura do patógeno e no outro lado um disco de cultura do agente candidato a antagonista, ambos a 1,0 cm de distância da borda da placa. O experimento seguiu o delineamento inteiramente ao acaso com 11 tratamentos (10 isolados do agente candidato a antagonista mais a testemunha) com cinco repetições. A testemunha

consistiu de placas contendo discos com colônias do patógeno. Após o pareamento as placas foram mantidas em incubadora tipo BOD em temperatura de 25°C, com fotoperíodo de 12 horas.

A capacidade antagonista dos isolados de *Trichoderma* spp. foi avaliada aos sete e aos catorze dias após o pareamento, utilizando a escala de notas de Bell et al., (1982), concedendo notas que variam de 1 a 5, onde: 1 - Antagonista cresce e ocupa toda placa; 2 - Antagonista cresce sobre 2/3 da placa; 3 - Antagonista e patógeno crescem até metade da placa; 4 - Patógeno cresce sobre 2/3 da placa; 5 - Patógeno cresce por toda placa de petri. As análises estatísticas das variáveis estabelecidas nos pareamentos foram processadas pelo software SISVAR 4.3.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos resultados obtidos pela escala adotada, verifica-se que aos sete dias a influência dos isolados de *Trichoderma* spp.: TC 103, TC 106, TC 105, TC 102 e TC 107 sobre *Thielaviopsis paradoxa* já ocasionaram inibição satisfatória no crescimento micelial do fitopatógeno. Na presença dos isolados *Trichoderma* spp.: TC 110, TC 101, TC 109, TC 104 e RS 201 nota-se um moderado potencial de inibição do fungo patogênico.

Porém, aos catorze dias, foi observado que os 10 isolados de *Trichoderma* spp. apresentavam potencial antagonístico para inibição do crescimento micelial do *Thielaviopsis paradoxa* (Figura 1).

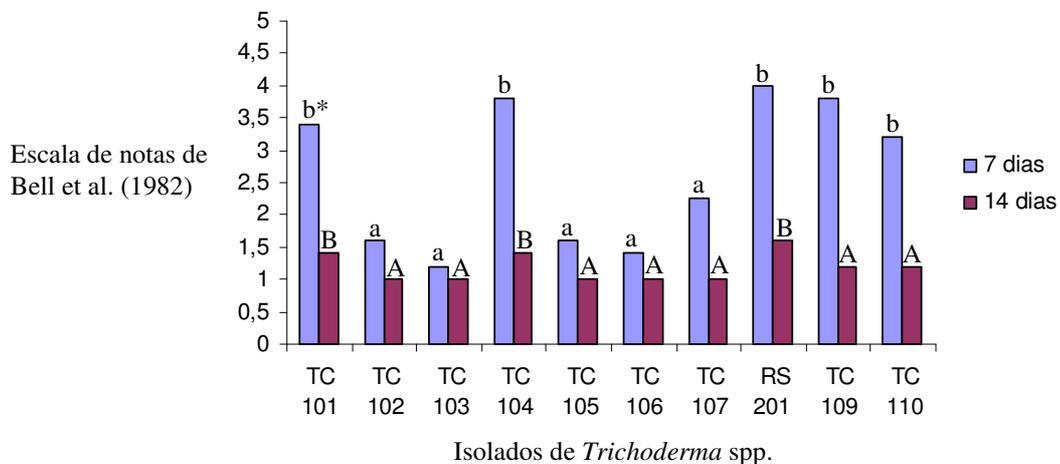


Figura 1. Notas atribuídas ao cultivo pareado do *Thielaviopsis paradoxa* com diferentes isolados de *Trichoderma* spp. avaliadas aos 7 e aos 14 dias após o pareamento.

\* Barras seguidas pela mesma letra minúscula aos 7 dias e maiúscula aos 14 dias de avaliação não diferem entre si pelo teste Scott-knott.

( $P \leq 0,001$ ).

Foi observado ainda que, os maiores valores médios de inibição ao final do experimento foram obtidos com os isolados de *Trichoderma* spp. TC 107, TC 105, TC 106, TC 103, TC 102, TC 110 e TC 109, respectivamente, dada pela nota 1, ocupando toda a placa, inclusive colonizando todo o micélio do patógeno. Tais isolados podem ser caracterizados como potenciais agentes de biocontrole com ação hiperparasita *in vitro* (Figura 2). Silveira et al. (1994) apresentaram resultados semelhantes com isolados de *Trichoderma* spp., evidenciando a

capacidade variável de inibir o crescimento micelial e produção de escleródios de *Sclerotinia rolfsii* em feijão e caupi.

Neste trabalho foi possível a visualização de emaranhados de hifas dos isolados de *Trichoderma* spp. sobre o patógeno, mostrando a sua capacidade parasítica. Esses resultados evidenciam que, além do parasitismo direto, diversos mecanismos podem estar envolvidos na ação antagonista de fungos do gênero *Trichoderma*, tais como antibiose e competição (Benhamou & Chet 1996, Fravel 2005). Melo (1991), acrescenta que, uma forma de ação do *Trichoderma* é o hiperparasitismo, onde o fungo hospedeiro é enrolado pelas hifas do parasita que libera as enzimas degradadoras da parede, penetrando no fungo patogênico, utilizando-se dele para obter alimento e por fim ocasionando sua morte.

Bell et al., (1982), salienta que a capacidade de produção de antibióticos pelos antagonistas, podem interferir no desenvolvimento do fitopatógeno, bem como a competição destes por espaço e nutrientes. Para Melo (1996), além de antibióticos, *Trichoderma* spp. produzem enzimas, como celulase e hemicelulase, capazes de degradar materiais lignocelulolíticos e causar lise na parede de células de fungos patogênicos. A ação antagonista de *Trichoderma* spp. é explicado pela produção de antibióticos, de amplo espectro, tais como gliotoxina, viridina, trichodermina, suzucacilina, alameticina e dermadina, que têm a capacidade de inibir o desenvolvimento de outros fungos (DENNIS; WEBSTER, 1971). Michereff et al., (1993) também observou em estudos *in vitro* com culturas pareadas a inibição do crescimento de *Colletotrichum graminicola* por isolados de *Trichoderma* spp. e ainda destacaram que estas espécies produziram metabólitos extracelulares difusíveis que inibiram o crescimento do patógeno.

Ainda segundo Bell et al., (1982), o antagonismo *in vitro* é uma forma utilizada apenas para seleção massal de candidatos a agentes de biocontrole, pois, nem todos aqueles que apresentam efeitos inibitórios *in vitro* conseguem exercer o mecanismo de antagonismo *in vivo*. Em testes semelhantes Reis et al. (1995) selecionaram três isolados de *Trichoderma* classificados como muito eficientes, no pareamento, *in vitro* contra *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli de feijoeiro sendo que apenas um foi eficiente no controle do patógeno, em tratamentos de sementes. Em estudos Wells et al. (1972), observou que espécies de *Trichoderma* podem ser diferencialmente seletivas contra diferentes fungos. Deste forma os isolados promissores observados no presente estudo serão testados em condições de campo como forma preventiva de controle do fitopatógeno no solo.

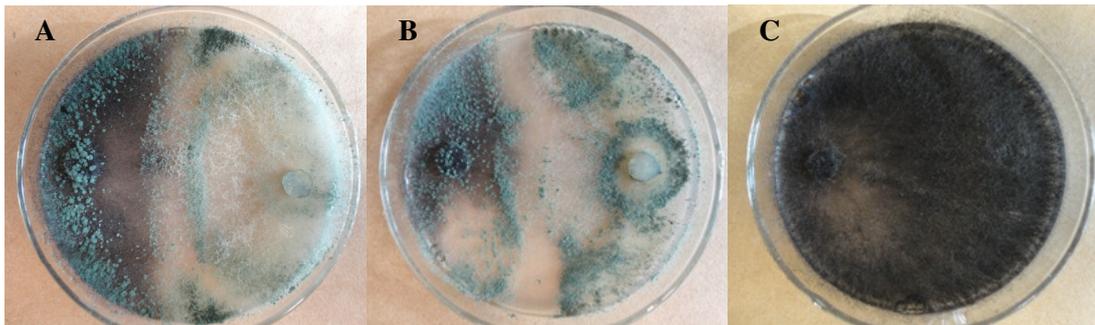


Figura 2. Crescimento micelial de *Thielaviopsis paradoxa* (à esquerda) em pareamento com isolados de *Trichoderma* sp. (à direita nas figuras A e B): A: isolado TC107; B: isolado TC105; C: testemunha.

#### 4. CONCLUSÃO

Com o cultivo pareado foi possível verificar que todos os isolados de *Trichoderma* spp. testados inibiram o crescimento micelial de *T. paradoxa*.

Os isolados com maior eficiência *in vitro* para o controle de *T. paradoxa* foram: TC 107, TC 105, TC 106, TC 103, TC 102, TC 110 e TC 109.

- 
1. BATISTA FILHO, A. Controle Biológico: Alternativa para uma agricultura sustentável. In: Controle biológico de insetos e ácaros. Boletim Técnico Instituto Biológico, São Paulo, n.15, p.1-3, julho 2006.
  2. BELL, D.K.; WELLS, H.D.; MARKHAM, C.R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*, v. 72, n. 4, p.379-382, 1982.
  3. BENHAMOU, N. & CHET, I. 1996. Parasitism of *Sclerotium rolsfii* by *Trichoderma harzianum*: ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathology* 86(4):405-416.
  4. BETTIOL, W.; GHINI, R.; MORANDI, M.A.B.; STADNIK, M.J.; KRAUS, U.; STEFANOVA, M.; PRADO, A.M.C. Controle biológico de doenças de plantas na América Latina. FEALQ. 2008. pp. 303-331.
  5. DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* III. Hyphal interactions. *Transactions of the British Mycological Society*, Cambridge, v. 57, p. 59-363. 1971.
  6. ELLIOT, M. *Thielevisopsis* trunk rot of palm. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/PP/PP14300.pdf> Acesso em 13, Set, 2011.
  7. FORTES, F.O., SILVA, A.C.F., ALMANÇA, M.A.K.; TEDESCO, S.B. 2007. Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. por *Trichoderma* spp. *Rev. Árvore* 31(2):221-228.
  8. FRAVEL, D.R. 2005. Commercialization and implementation of biocontrol. *Ann. Rev. Phytopathol.* 43(1):337-359.
  9. GAUCH, F. Micoparasitismo de espécies de *Pythium* com oogônio equinulado e o controle de *Pythium ultimum* Trow causador de tombamento de mudas, em hortaliças. 1996. 94 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília.
  10. MELO, I. S. de. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. Revisão Anual de Patologia de Plantas, Passo Fundo, 4:261-295, 1996.
  11. MELO, I. S. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. (Org.). Controle biológico de doenças de plantas. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. (EMBRAPA-CNPDA. Documentos, 15).
  12. MICHEREFF, S.J.; MENEZES, M.; MARIANO, R.L.R. Antagonismo de espécies de *Trichoderma* sobre *Colletotrichum graminicola*, agente da antracnose do sorgo em condições de laboratório. *Summa Phytopathologica*, (19): 14-17, 1993.
  13. MOHAMED, H.A.L.A.; HAGGAG, W.M. 2006. Biocontrol potential of salinity tolerant mutants of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum*. *Braz. J. Microbiol.* 37(2):181-191. *Phytopathology* 62(4):442-447.
  15. REIS, A., OLIVEIRA, S.M.A. de, MENEZES, M. *et al.* Potencial de isolados de *Trichoderma* para biocontrole da murcha de *Fusarium* do feijoeiro. *Summa Phytopathologica*, v.21, p.16-20, 1995. 16. SILVEIRA, N.S.S.; Michereffi, S.J.; Menezes, M.; Takaki, G.M.C. Potencial de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *Sclerotium rolsfii* em feijoeiro. *Summa Phytopathologica*, 20:22-25, 1994.
  17. WARWICK, D. R.N.; FERREIRA, J.M.S.; PASSOS, E.E.M. Ocorrência de resinose do estipe do coqueiro provocada por *Chalara paradoxa* em Sergipe. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, DF, 29(4):413, 2004.
  18. WELLS, H.D., BELL, D.K. & JAWORSKI, C.A. 1972. Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biocontrol agent for *Sclerotium rolsfii*.