



**Universidade Federal do Tocantins  
Campus de Gurupi  
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia**

**ANTÔNIO CARLOS COSTA RAMOS**

**AÇÃO DE HERBICIDAS SOB *TRICHODERMA* E EFICIÊNCIA DA INOCULAÇÃO EM  
MUDAS DE MAMÃO**

**GURUPI - TO  
2016**



**Universidade Federal do Tocantins  
Campus de Gurupi  
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia**

**ANTÔNIO CARLOS COSTA RAMOS**

**AÇÃO DE HERBICIDAS SOB *TRICHODERMA* E EFICIÊNCIA DA INOCULAÇÃO EM  
MUDAS DE MAMÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Tocantins como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Aloísio Freitas Chagas Jr

**GURUPI - TO  
2016**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

R175◆ Ramos, Antônio Carlos Costa .  
Ação de herbicidas sob trichoderma e eficiência da inoculação em mudas de mamão. / Antônio Carlos Costa Ramos. – Gurupi, TO, 2016.  
63 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Gurupi - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Biotecnologia, 2016.

Orientador: Prof. Dr. Aloísio Freitas Chagas Júnior

1. Antagonista. 2. Biocontrole. 3. Promotor de crescimento vegetal. 4. Viabilidade. I. Título

**CDD 660.6**

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

Universidade Federal do Tocantins  
Campus de Gurupi  
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia

**ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE ANTONIO CARLOS COSTA RAMOS, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS**

Aos 26 dias do mês de fevereiro do ano de 2016, às 14:00 horas, no Bloco 14 BIS, reunir-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Orientador Dr. Aloísio Freitas Chagas Junior do Campus Universitário de Gurupi/ Universidade Federal do Tocantins (UFT), Prof. Dr. Clóvis Maurílio de Souza do Campus de Gurupi/Universidade Federal do Tocantins (UFT), Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Lillian França Borges Chagas, do Campus Universitário de Gurupi/ UFT, e sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de **ANTÔNIO CARLOS COSTA RAMOS**, intitulada "**AÇÃO DE HERBICIDAS SOB TRICHODERMA E EFICIÊNCIA DA INOCULAÇÃO EM MUDAS DE MAMÃO**". Após a exposição, o discente será arguido oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo parecer aprovado, habilitando-o(a) ao título de Mestre em Biotecnologia. Nada mais havendo, será lavrada a presente ata, que, após lida e aprovada, será assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. Aloísio Freitas Chagas Junior  
Universidade Federal do Tocantins - UFT  
Orientador

Prof. Dr. Clóvis Maurílio De Souza  
Universidade Federal do Tocantins - UFT  
1º Examinador

Prof. Dr<sup>a</sup>. Lillian França Borges Chagas  
Universidade Federal do Tocantins - UFT  
2º Examinadora

Gurupi, 26 de fevereiro de 2016

Prof. Dr. Gessiel Newton Scheidt  
Coordenador do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia

## **DEDÍCO**

A minha amada mãe Joaquina Costa Ramos e ao meu pai Antônio Francisco das Neves (*in memoriam*) as minhas irmãs (Luzimaria, Luzineide, Vanda e Cleidimira, que falta vocês me fazem) aos meus tios Otacílio Fernandes da Silva e Maria Gonçalves de Amorim, que sempre me apoiou durante esta fase da vida. Agradeço a todos pela confiança, carinho e amor.

“É na educação dos filhos que se revelam as virtudes dos pais”.

*(Coelho Neto)*

## **AGRADECIMENTO**

Neste momento de grande felicidade em que mais uma etapa de minha vida é terminada, são muitas as pessoas a quem quero deixar meu carinho e gratidão.

Primeiramente agradeço a Deus. Muitas foram às lutas, maiores foram às vitórias, e isso porque o Senhor se fez sempre presente, transformando as minhas fraquezas em força e as derrotas em vitórias. Seja dada a minha gratidão por te me proporcionado chegar até aqui.

A toda minha família obrigada pela paciência, pelo incentivo, pela força e principalmente pelo carinho.

Gostaria de agradecer ao meu orientador Prof. Dr. Aloísio Freitas Chagas Junior, pela orientação, ensinamentos, confiança, dedicação, paciência, risadas, amizade e conselhos dados durante todo o período de trabalho apoio e estímulo à minha formação profissional e pelo exemplo de profissionalismo e competência.

Aos membros do nosso grupo de pesquisa Micro-Bio do Laboratório de Microbiologia da incubadora de empresas da UFT (Layssah, Alanna, Jeane, Gaspar, Alexandre, Aquiles, Gabriel, Magno, Andre, Lillian e Aloísio).

A todos do laboratório de manejo integrado de praga “MIP” em especial o professor Raimundo Wagner de Sousa Aguiar e Suetônio pelo convívio, amizade durante todos esses anos.

Ao Prof. Dr. Gessiel Newton Scheidt por ter acreditado em mim,

A Prof. Lillian França Borges Chagas pelos ensinamentos durante essa jornada.

Ao meu ex-coorientador e amigo Dr. Marcio Akio Ootani pela amizade, dedicação nos ensinamentos, pelas idéias para a realização de diversos trabalhos. Meu muito obrigado.

Ao Prof. Dr. Gil Rodrigues; que me ajudou muito, incluindo a confirmação da identificação do fungo.

Aos técnicos, mestrando e doutorando dos laboratórios de Fitopatologia e Solos (Dalmácia, Damiana, Ronice e Túlio), pela amizade e colaboração nos trabalhos;

Aos membros da banca, pela disponibilidade em contribuir com o nosso trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia-UFT, por possibilitar a concretização desse trabalho.

A Empresa JCO fertilizantes pelo apoio a pesquisa e a realização do projeto.

Ao Dr. Magno Rodrigues fitopatologista da JCO fertilizantes, também, pela colaboração e ensinamentos durante a execução do trabalho.

Meu muito obrigado!



## RESUMO

Fungos do gênero *Trichoderma* apresentam potencial para o controle de fitopatógenos e para a promoção do crescimento vegetal. Pesquisas com diferentes culturas comprovam essa capacidade e agregam informações sobre os mecanismos de ação desses bioagentes, contudo, ainda são pouco conhecidos os mecanismos de ação na promoção do crescimento em ausência de fitopatógenos. Além disso, o controle químico de doenças de plantas não é totalmente eficiente, uma vez que o patógeno penetra no tecido vascular da planta. Diante disso, este trabalho teve como objetivos, nos três capítulos apresentados, avaliar a fungitoxicidade dos herbicidas Glifosato e Sulfentrazone sobre o crescimento micelial e a esporulação de *Trichoderma* isolados do solo no Tocantins; avaliar o efeito da inoculação de isolados de *Trichoderma* em mudas de mamão em casa de vegetação e avaliar a contagem de esporos e viabilidade de conídios de *Trichoderma* de diferentes espécies utilizando dois substratos, arroz comum (*Oryza sativa*) e milho (*Pennisetum glaucum*). O herbicida glifosato não afetou o crescimento micelial radial dos isolados UFT 204 e UFT 202, para os demais isolados os herbicidas promoveram uma pequena redução no número de esporos de *Trichoderma*. Para a inoculação em mamão, todos os isolados proporcionaram crescimento das plantas em todas as variáveis analisadas, com e sem fósforo natural, comparando com a testemunha. O isolado UFT 201 foi superior para massa seca da parte aérea, o isolado UFT 202 para massa seca da raiz e MIX para massa seca total com fósforo natural. Sem fósforo natural o tratamento MIX foi superior aos demais em todas as variáveis. As avaliações em substratos após o período de incubação de sete dias, nota-se que os isolados UFT 25, UFT 63, UFT 313 e UFT 14 foram os que obtiveram a maior esporulação com médias variando de  $2,3 \times 10^9$  (UFT 14) e  $2,7 \times 10^9$  (UFT 25) esporos  $g^{-1}$  em arroz integral e  $3,9 \times 10^9$  (UFT 79) esporos  $g^{-1}$ , em milho. Os isolados UFT 313, UFT 14, UFT 37, UFT 79, UFT 205, UFT 201 e UFT 314, demonstrou excelente esporulação e viabilidade entre os substratos, com porcentagens de 98 a 100% de germinação dos conídios  $ml^{-1}$ , e 94 a 100% para os UFT 313, UFT 79, UFT 205, UFT 201 UFT 25 e UFT 37 em milho. Para os testes de compatibilidade os isolados UFT 25 x UFT14, UFT25 x UFT313, UFT 63

x UFT37 demonstraram interação significativa pelo teste quando comparado por cultura mista entre micélio.

**Palavras-chave:** Antagonista. Biocontrole; Promotor de crescimento vegetal; Viabilidade.

## ABSTRACT

Fungi of the genus *Trichoderma* present potential for the control of phytopathogens and to promote plant growth. Different research cultures prove this ability and aggregate information about the mechanisms of action of these bioagentes, however, are still little known mechanisms of action in promoting growth in the absence of plant pathogens. In addition, the chemical control of plant diseases is not fully effective, since the pathogen penetrates the vascular tissue of the plant. Given this, this work had as objectives in three chapters presented, evaluating the fungitoxicidade of the herbicides Glyphosate and Sulfentrazone on the mycelial growth and sporulation of *Trichoderma* isolated from the soil in Tocantins; determine the effect of inoculation of *Trichoderma* in papaya seedlings in the greenhouse and assess spore count and viability of conidia of *Trichoderma* in different species using two substrates, rice (*Oryza sativa*) and pearl millet (*Pennisetum glaucum*). The herbicide glyphosate did not affect mycelial radial growth of the isolates UFT 202 and UFT 204, for other isolated herbicides promoted a small reduction in the number of spores of *Trichoderma*. For the inoculação in all the isolates papaya provided plant growth in all the analyzed variables, with and without natural phosphate, comparing with the witness. The isolated UFT 201 was superior to the dry mass, the isolated UFT 202 to root dry mass and MIX to total dry mass with phosphate. Without natural phosphate isolate MIX was superior to others in all variables. The reviews on substrates after an incubation period of seven days, note that the isolates UFT 25, UFT 63, UFT 313 and UFT 14 were those who obtained the highest sporulation with averages ranging from  $2.3 \times 10^9$  (UFT 14) and  $2.7 \times 10^9$  (UFT 25) spores  $g^{-1}$  in brown rice and  $3.9 \times 10^9$  (UFT 79) spores  $g^{-1}$ , in millet. The isolates UFT 313, UFT 14, UFT 37, UFT 79, UFT 201, UFT 205 and UFT 314, demonstrated excellent sporulation and viability among the substrates, with percentages of 98 to 100% germination of the conidia  $mL^{-1}$ , and 94 to 100% UFT 313, UFT 79, UFT 205, UFT 25, UFT 201 and UFT 37 in millet. For the compatibility test the isolates UFT 25 x UFT14, UFT25 x UFT313, UFT 63 x UFT37 demonstrated interaction UFT significant by comparison test by mixed culture between mycelium.

**Keywords:** Antagonist; Biocontrol plant-growth promoter; Viability.

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>14</b>
<b>CAPÍTULO I: AÇÃO DOS HERBICIDAS GLIFOSATO E SULFENTRAZONE SOB <i>TRICHODERMA</i> ISOLADOS DE SOLO DO TOCANTINS.</b>	
RESUMO.....	16
ABSTRACT.....	17
INTRODUÇÃO .....	18
MATERIAL E MÉTODOS .....	20
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
CONCLUSÕES .....	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	<u>26</u>
<b>CAPÍTULO II: <i>TRICHODERMA</i> COMO PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE MUDAS DE MAMÃO.</b>	
RESUMO.....	33
ABSTRACT.....	34
INTRODUÇÃO .....	35
MATERIAL E MÉTODOS .....	36
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
CONCLUSÕES .....	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	45
<b>CAPÍTULO III: AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ESPOROS E VIABILIDADE DE CONÍDIOS EM DIFERENTES SUSTRATOS.</b>	
RESUMO.....	50
ABSTRACT.....	51
INTRODUÇÃO .....	52
MATERIAL E MÉTODOS .....	53
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
CONCLUSÕES .....	60
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	61

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

**Tabela 1:** Ação de herbicidas glifosato e sulfentrazone sobre o crescimento micelial e radial de *Trichoderma* spp., após sete dias de incubação.....22

**Tabela 2:** Número médio de esporos de isolados de *Trichoderma* spp., aos sete dias após a aplicação do herbicida.....24

### CAPÍTULO II

**Tabela 1:** Código de acesso no GenBank para os isolados de *Trichoderma* spp., (Região TEF- translationelongationfactor) utilizados nesse estudo.....37

**Tabela 2:** Biomassa de mudas de mamão (*Carica papaya*) inoculadas com *Trichoderma* spp., com e sem adubação com fosfato natural, 20 dias após o plantio<sup>1</sup>.....39

**Tabela 3:** Biomassa de mudas de mamão (*Carica papaya*) inoculadas com *Trichoderma* spp., com e sem adubação com fosfato natural, 40 dias após o plantio<sup>1</sup>.....41

### CAPÍTULO III

**Tabela 1:** Representação das interações entre isolados de *Trichoderma* spp.,.....55

**Tabela 2:** Esporulação média de esporos 1g/9 mL do fungo *Trichoderma* spp., e substrato (arroz e milho) por sete dias (25°C ± 2 °C com fotofase de 12 horas, por sete dias).....57

**Tabela 3:** Viabilidade de conídios 1g/9 ml do fungo *Trichoderma* spp., em substrato (arroz e milho) meio de cultura BDA por 7 dias (T =25 °C ± 2 °C com fotofase de 12 horas, por sete

dias).....58

**Tabela 4:** Avaliação de interação entre diferentes isolados de *Trichoderma* spp., em meio de cultura BDA por 7 dias (T =25 °C ± 2 °C com fotofase de 12 horas, por 7 dias).....59

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO II

**Figura 1.** Eficiência relativa de mudas de mamão, inoculadas com isolados de *Trichoderma* com e sem adubação de fosfato natural em relação à testemunha sem inoculação, 20 dias após o plantio. A: com fosfato natural, B: sem fosfato natural.....40

**Figura 2.** Eficiência relativa de mudas de mamão, inoculadas com isolados de *Trichoderma* com e sem adubação de fosfato natural em relação à testemunha, 40 dias após o plantio. A: com fosfato natural, B: sem fosfato natural.....42

### CAPÍTULO III

**Figura 1.** Produção de esporos *Trichoderma* spp., em milho e arroz comum.....54

**Figura 2.** Tubos de ensaios contendo milho e arroz para análise de viabilidade de conídios.....55

**Figura 3.** Diagrama esquemático das interações entre duas linhagens diferentes de fungos filamentosos crescidos em ágar batata dextrose (Modificado de Stahl e Cristensen, 1992).....56

## INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil, a questão do uso dos defensivos agrícolas é preocupante, pois segundo ANVISA, IBGE e FAO desde 2008 o Brasil é o maior comprador e consumidor de agrotóxico do mundo. Nos últimos 10 anos a venda de agrotóxico no Brasil cresceu 190% isso e mais que o dobro da média mundial de 93%. Dos 50 agrotóxicos utilizados no Brasil 15 são proibidos na Europa.

Entretanto, tem surgido alternativas que possa diminuir esse uso de agrotóxicos. O fungo do gênero *Trichoderma* spp., compreende fungos de vida livre, que se reproduzem assexuadamente, presentes com mais frequência em solos de regiões de clima temperado e tropical. Esses fungos também colonizam madeira, onde a fase sexual teleomorfa (gênero *Hypocrea*) é frequentemente encontrada. Apesar de existir diversas linhagens não possuem ciclo sexual conhecido assim são classificadas na sub-divisão Deuteromycotina (Harman et al., 2004).

Algumas linhagens de *Trichoderma* são utilizadas no controle de fitopatógenos e na promoção de crescimento vegetal devido a sua versatilidade de ação, como parasitismo, antibiose e competição, além de atuarem como indutores de resistência das plantas contra doenças. Essas características tornam *Trichoderma* um dos fungos mais pesquisados em condições de laboratório, casa de vegetação e campo (HARMAN et al. 2004; DONOS et al., 2008; DELGADO et al., 2007; FILHO et al., 2008; LOUZADA et al., 2009; HOYOS-CARVAJAL et al., 2009; BERNARDES et al., 2010; CARVALHO et al., 2011; MACHADO et al., 2015).

Fungos do gênero *Trichoderma* representam os principais agentes de biocontrole de fitopatógenos utilizados na agricultura. O isolamento e a seleção *in vitro* destes fungos antagonistas são etapas fundamentais para o estabelecimento de programas de controle biológico e a composição de produtos comerciais (SILVA et al., 2007; BRAÚNA, 2011; ARAUJO et al., 2012).

A utilização do controle biológico constitui uma estratégia de grande interesse e importância para viabilizar a redução ou substituição do uso de defensivos. Dessa forma, diversas pesquisas vêm testando produtos alternativos que visem reduzir os problemas fitossanitários (BETTIOL et al, 2009). Espécies de *Trichoderma* possuem um arsenal de mecanismos de ação e produzem



substâncias antimicrobianas que garantem um amplo espectro de atividade contra diferentes fitopatógenos. Portanto, possuem capacidade de controlar várias doenças. Algumas linhagens de *Trichoderma* possuem capacidade de desencadear uma série de alterações morfológicas e bioquímicas na planta, levando à ativação dos seus mecanismos de defesa contra vários fitopatógenos (LORITO et al., 2010).

Dessa forma, o trabalho está apresentado em três capítulos com os respectivos objetivos:

Capítulo I: Ação dos herbicidas glifosato e sulfentrazone sob *Trichoderma* spp., isolados de solos no Tocantins.

Capítulo II: *Trichoderma* como promotor de crescimento de mudas de mamão.

Capítulo III: Avaliação da produção de esporos e viabilidade de conídios em dois substratos.

## CAPITULO I

### AÇÃO DOS HERBICIDAS GLIFOSATO E SULFENTRAZONE SOB *Trichoderma* spp., ISOLADOS DO SOLO NO TOCANTINS

#### RESUMO

O uso de herbicidas está cada vez mais comum e frequente, pois esses defensivos químicos visam o controle de plantas daninhas, e podem afetar organismos não alvos, a exemplo dos fungos antagonistas. Uma vez que essas moléculas podem afetar a ação do agente de controle biológico, objetivou-se avaliar a fungitoxicidade dos herbicidas glifosato e sulfentrazone sobre o crescimento micelial e a esporulação de *Trichoderma* spp., isolados de solos de Tocantins. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizados, em esquema fatorial 5 x 5 x 2, sendo cinco isolados de *Trichoderma* spp., cinco doses de herbicidas e dois herbicidas, com três repetições. Os herbicidas utilizados foram Roundup Original (Glifosato, 2 L ha<sup>-1</sup>) e Boral (Sulfentrazone, 1,2 L ha<sup>-1</sup>), nas seguintes dosagens 0, 50, 100, 150 e 200% das doses recomendadas para a cultura da soja. Na testemunha, foram tratados via pulverização de água destilada estéril. Avaliaram-se o crescimento micelial radial (CMR) e a esporulação dos isolados após aplicação dos herbicidas. Observaram-se diferenças de sensibilidade dos isolados para o mesmo produto testado. O isolado UFT 204 se mostrou mais agressivos que os demais Isolados de *Trichoderma*. O herbicida glifosato não afetou o crescimento micelial radial dos isolados UFT 204 e UFT 202, no entanto, os herbicidas promoveram uma pequena redução no número de esporos dos isolados de *Trichoderma*.

**Palavras-chave:** Antagonista, Controle biológico, Fungos.

## ACTION OF GLYPHOSATE AND SULFENTRAZONE HERBICIDES OVER *TRICHODERMA* SPP., ISOLATED SOIL IN TOCANTINS

### ABSTRACT

The use of herbicides is increasingly common and frequent, as these agrochemicals aimed at weed control and may affect non-target organisms, like the antagonistic fungi. Since these molecules can affect the action of biological control agent, this work aimed to evaluate the fungi toxicity of glyphosate and sulfentrazone herbicides on mycelial growth and sporulation of *Trichoderma* spp., in Tocantins. A completely randomized design in a factorial 5 x 5 x 2 was applied with five *Trichoderma* spp., isolates, five doses of herbicides, two herbicides with three replications. The herbicides were used Roundup Original (Glyphosate, 2 L ha<sup>-1</sup>) and Boral (Sulfentrazone, 1.2 L ha<sup>-1</sup>), with the following dosages 0, 50, 100, 150 and 200% of recommend doses for soybean. In the control trial test it was treated via sterile distilled water spray. The radial mycelial growth (CMR) and sporulation of isolates was evaluated after herbicide application. Sensitivity differences were observed of isolates tested for the same product, the isolated UFT 204 was more aggressive than the other isolates of *Trichoderma*. Glyphosate herbicide did not affect the radial mycelial growth of UFT 202 and UFT 204 isolates, however, the herbicides provided a small reduction in the spore numbers of *Trichoderma*.

**Keywords:** Antagonist, Biological control, Fungi.

## INTRODUÇÃO

A restrição mundial ao uso de produtos químicos para a prevenção de doenças das plantas têm sido um dos principais temas discutidos nos meios científicos na busca de novas alternativas ao controle de fitopatógenos, como o controle biológico, a fim de atender as exigências do mercado consumidor (BETTIOL & MORANDI 2009).

Entre os produtos biológicos utilizados para o controle biológico têm-se os biofungicidas. Estes fungicidas biológicos são promissores para utilização na agricultura, pois atingem alguns nichos que o controle químico não é capaz de atuar eficientemente. Movimentos organizados podem motivar um declínio da ação regulatória dos pesticidas químicos, aliado à resistência das pragas e como consequência serem substituídos ou ter seu uso diminuído em ambientes que se deseja manter as comunidades microbianas do solo, além do interesse da população por produtos orgânicos cada vez maiores (GORGEN et al., 2009).

Os fungos do gênero *Trichoderma* spp., são considerados micro-organismos de vida livre e estão entre os mais estudados e conhecidos agentes de biocontrole no mundo (VERMA et al., 2007; DIANESE et al., 2009; BOMFIM et al., 2010). Estes micro-organismos são capazes de atuar como agentes de controle de doenças de várias plantas cultivadas, promotores de crescimento e indutores de resistência de plantas a doenças (FORTES et al., 2007; LUCON., 2008; SILVA et al., 2011).

Algumas linhagens desse gênero vêm recebendo grande atenção da comunidade científica, por sua versatilidade de ação, como: antibiose, hiperparasitismo e competição. Apresentam uma diversidade de estratégias de sobrevivência, que os tornam fungos altamente competitivos no ambiente, e mostram boa capacidade de proliferação na rizosfera (RESENDE et al. 2004; MELO, 2009). Estes micro-organismos têm a capacidade de controlar os patógenos das sementes, entre outros aspectos positivos tais como promotor de crescimento, controle de enfermidades do solo, ajuda na decomposição da matéria orgânica, estimula no crescimento de raízes e pelos absorventes, resistência sistêmica contra pragas, nematicidas, além de melhorar a qualidade

do solo permite melhor nutrição (VITERBO et al. 2005; PERAZZOLLI et al., 2008; VINALE et al., 2008; CAPRONI et al., 2012; CHAGAS et al., 2014).

É importante entender que a eficiência destes agentes biológicos é afetada diretamente pelos fatores bióticos locais, tais como a presença de bactérias antagonistas de solo (YEDIDIA et al., 2002), e também por fatores abióticos, tais como: tipo de solo, umidade, pH, temperatura, metais pesados e resíduos de pesticidas (LUCON, 2009).

Entretanto, é importante mencionar que os produtos biológicos diferem dos químicos, pois não podem ser utilizados em locais em condições ambientais e biológicas muito diferentes entre si. Isso porque, devido serem organismos vivos, devem sobreviver colonizar e se multiplicar na planta ou no ambiente.

Como o uso de herbicidas está cada vez mais comum e frequente, algumas medidas importantes devem ser tomadas, pois, embora estes defensivos químicos visem o controle de plantas daninhas, eles podem afetar organismos não alvos, a exemplo dos fungos antagonistas (PEIXOTO et al., 2010). Bem como, os herbicidas podem influenciar no crescimento ou no desenvolvimento de diversos fungos fitopatogênicos ou saprófitos do solo (ROSA et al., 2010).

A ação do glifosato, que é um herbicida de pós-emergente qualificado como não seletivo e de ação sistêmica, vem sendo amplamente utilizado para o controle de plantas daninhas anuais ou perenes. O uso intensivo deste herbicida pode afetar o desenvolvimento dos fungos entomopatogênicos de ocorrência natural. Pesquisadores como ARAÚJO et al. (2003), indicam que a presença do glifosato no solo pode causar alterações na população microbiana, no entanto, JÚNIOR (2006) cita que a eficiência de alguns pesticidas aplicados no solo após vários anos tem diminuído, provavelmente, devido a adaptação dos micro-organismos a estes produtos, levando a rápida degradação logo após a sua aplicação.

Outro herbicida importante, o sulfentrazone, que faz parte do grupo das ariltriazolinonas, tem seu mecanismo de ação relacionado com a inibição da enzima protoporfirinogênio oxidase (Protox) (NANDIHALLI & DUKE 1993). MARTINES et al. (2007) pontuaram que não há registros na literatura sobre a identificação de micro-organismos que degradem a sulfentrazona. Ressaltam ainda que esse herbicida destaca-se como um dos mais utilizados nas principais

culturas do Brasil. SILVA et al. (2014), avaliando diferentes tipos de solo e épocas de aplicação, sugeriram que esse herbicida afeta nos indicadores microbiológicos físicos, químicos e biológicos do solo em diferentes solos e épocas estudadas. No solo franco-arenoso, o sulfentrazone é o mais prejudicial à biomassa microbiana, à colonização micorrízica e aos micro-organismos solubilizadores de fosfato inorgânico.

Uma vez que essas moléculas podem afetar a sobrevivência de micro-organismos benéficos do solo, objetivou-se avaliar a fungitoxicidade dos herbicidas Glifosato e Sulfentrazone sobre o crescimento micelial e a esporulação de *Trichoderma* spp., isolados de solos no Tocantins.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no laboratório de microbiologia, no período de Janeiro a Fevereiro de 2015, na Universidade Federal do Tocantins (UFT), Campus de Gurupi.

Foram utilizados cinco isolados de *Trichoderma* spp., sendo, UFT 201, UFT 202, UFT 203, UFT 204 e UFT 205, provenientes da coleção micológica do Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Tocantins, Campus de Gurupi.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizados, em esquema fatorial 5 x 5 x 2, com três repetições, em que o fator A correspondeu aos isolados de *Trichoderma* spp., o fator B, às doses dos herbicidas; e o fator C, aos dois tipos de herbicidas.

Os herbicidas utilizados foram Roundup Original (Glifosato, 2 L ha<sup>-1</sup>) de aplicação em pós-emergência e Boral (Sulfentrazone, 1,2 L ha<sup>-1</sup>), de aplicação em pré-emergência. Foram aplicadas as seguintes dosagens 0, 50, 100, 150 e 200% das doses recomendadas para a cultura da soja visando o controle de plantas daninhas. Na testemunha, foram tratados via pulverização de água destilada estéril.

As soluções do herbicida foram preparadas com 10 mL de água destilada esterilizadas. As soluções foram esterilizadas por filtração em disco de filtro de membrana 0,45 µm, acondicionadas em tubos Falcon estéril.

Os isolados de *Trichoderma* foram multiplicados em placas de Petri tamanho 90 mm contendo substrato BDA (250 g de batatas, 20 g dextrose, 20 g ágar, 250 mg de antibiótico Ampicilina, para 1 L água destilada), e incubados a 27 °C por sete dias. Para instalação do experimento utilizou-se o substrato BDA. Posteriormente o substrato foi submetido ao processo de esterilização por autoclavagem e em seguida foi vertido em placas de Petri 90 mm sob condições favoráveis (Bancada de Fluxo laminar PCR Vertical Mod. PCR 3).

Foram adicionados discos de micélio de 0,6 cm de diâmetro retirados de colônia com aproximadamente sete dias e transferidos para o centro de placas de Petri. Em seguida as placas foram submetidas à pulverização dos herbicidas com auxílio de uma Torre de Potter®, onde foi aplicado um volume de 100 µL sobre os micélios. Após, as placas foram mantidas e incubadas em câmara tipo B.O.D e submetidas à temperatura de 25 °C em fotoperíodo de 12 horas de luz.

O crescimento micelial radial foi medido diariamente, com o auxílio de um paquímetro manual medindo-se o diâmetro da colônia do fungo. A medição foi feita até a testemunha ocupar toda a superfície do meio de cultura, ocorrendo em aproximadamente 48 horas. Para avaliar o efeito sobre a esporulação, foi realizada, aos sete dias após a inoculação, a quantificação do número de esporos. Para isso, cada placa foi lavada com 10 mL de água destilada estéril e, com auxílio de um pincel de cerdas macias, realizou-se o desprendimento dos esporos do meio de cultura. A solução foi filtrada em gaze, e a contagem dos esporos foi feita em câmara de Neubauer.

Os dados foram submetidos à análise de variância, e as comparações das médias foram feitas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Para isto, utilizou-se o programa estatístico ASSISTAT versão 7.7 beta (SILVA, 2008).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os herbicidas afetaram o crescimento micelial radial (CMR) dos isolados de *Trichoderma* spp., UFT 202, UFT 205, UFT 203 e UFT 201 (Tabela 1). Os isolados UFT 205, UFT 203 e UFT 201 apresentaram-se mais sensíveis a partir de 50% da dose comercial do herbicida de pós-emergência glifosato, com redução de 21,9, 17,26 e 18,04% respectivamente no CMR em relação à dose 0

sem aplicação de produtos. Porém, conforme houve aumento da concentração do produto o CMR manteve-se constante (Glifosato).

**Tabela 1:** Ação de herbicidas Glifosato e Sulfentrazone sobre o crescimento micelial e radial de *Trichoderma* spp., após sete dias de incubação.

Tratamentos	Doses (%)				
	0	50	100	150	200
<b>Glifosato - Pós-emergência</b>					
UFT 201	16,17 ab	14,63 a	11,77 a	11,80 ab	12,37 ab
UFT 202	10,70 b	8,70 b	8,30 a	7,97 c	12,13 b
UFT 203	16,07 ab	8,70 b	9,33 a	9,80 bc	11,40 b
UFT 204	17,77 a	13,20 ab	12,67 a	14,77 ab	13,73 ab
UFT 205	16,10 ab	12,47 ab	13,57 a	16,17 a	17,53 a
CV (%)	21.87	24.00	25.90	22.48	20.21
<b>Sulfentrazone - Pré-emergência</b>					
UFT 201	85,00 a	69,67 b	74,00 a	69,67 a	69,00 b
UFT 202	85,00 a	85,00 a	85,00 a	85,00 a	85,00 a
UFT 203	85,00 a	70,33 b	74,67 a	72,33 a	66,33 bc
UFT 204	85,00 a	85,00 a	85,00 a	85,00 a	85,00 a
UFT 205	85,00 a	66,33 b	69,33 a	67,67 a	63,33 c
CV (%)	0.75	3.03	3.76	4.29	2.62

Médias seguidas pela mesma letra na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Os isolados UFT 204 e UFT 202 não apresentaram sensibilidade ao glifosato, não constando redução no CMR nas doses utilizadas (Glifosato). WARDLE & PARKINSON (1990) explicam que certos compostos podem influenciar direta ou indiretamente na população fúngica, sendo assim sugerem que dependendo do produto os fungos possuem a capacidade de assimilação e degradação destes materiais utilizando-os como fonte de nutrientes para seu crescimento.

O mecanismo de ação do Glifosato é bastante singular porque ele é o único herbicida capaz de inibir especificamente a enzima 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfatossintase (EPSPS) que catalisa a condensação do ácido chiquimico e do



fosfato piruvato, evitando, assim, a síntese de três aminoácidos essenciais triptofano, fenilalanina e tirosina (ZABLOTOWICZ & REDDY, 2004). A enzima EPSPS de todas as plantas, fungos e da maioria das bactérias isoladas e caracterizadas até hoje é inibida pelo glifosato. O glifosato é um potente inibidor da enzima EPSPS. As bactérias que produzem a EPSPS podem desenvolver-se na presença de concentrações que seriam tóxicas para outros organismos. Assim, a transferência de gene com tolerância ao glifosato a uma planta suscetível confere a esta à tolerância ao glifosato (GRUYS & SIKORSKI, 1999).

Há evidência de que os herbicidas podem influenciar no crescimento ou no desenvolvimento de diversos fungos do solo. ROSA et al. (2010) observaram forte interferência de glyphosate, halosulfuron e sethoxydim sobre isolados de *Rhizoctonia*, *Ceratocystis*, *Cryphonectria*, *Phytophthora*, *Macrophomina*, *Sclerotium*, *Fusarium* e *Mirothecium*.

O herbicida utilizado em pré-emergência o Sulfentrazone apresentou ação sobre os isolados UFT 202, UFT 205, UFT 203 e UFT 201 a partir de 50% da dose comercial, com redução de 20, 10,96, 14,11% e 10,96%, respectivamente, no CMR em relação à dose zero, considerando essas sensibilidades moderada. Conforme houve aumento da concentração do produto o CMR apresentou uma redução na maior concentração de 200% para os isolado UFT 205, UFT 203 e UFT 201 de 6,17, 4,56 e 6,60%, respectivamente, em relação à dose de 50% (Tabela 1). Por outro lado, o herbicida sulfentrazone, não afetou o CMR do isolado UFT 204 mesmo na presença do dobro da dose comercial (Sulfentrazone).

REIS et al. (2013) trabalhando com o herbicida oxadiazon, que possui o mesmo mecanismo de ação do sulfentrazone, inibidor da PROTOX, observou diferentes reduções de CMR em isolados *Trichoderma* spp., onde o isolado CE 66 não foi afetado pelo herbicida, o isolado TRI 02 apresentou sensibilidade moderada, com redução de 16% do CMR, e os isolados AJAM 118 e TRI 01 foram mais sensíveis, com reduções de 66 e 35%, respectivamente.

No campo, o antagonista *Trichoderma* presente no solo ou na planta pode estar exposto a baixas e altas concentrações dos pesticidas, dessa forma, justifica-se a variação de dosagem dos herbicidas neste trabalho.

Para os fungos antagonistas, pouco se sabe da interação destes com os demais métodos de controle, principalmente o químico, devido ao potencial de impacto negativo das moléculas disponíveis. Entre os poucos relatos, constata-se que o trifluralin não afeta o crescimento do antagonista *Trichoderma viride*, porém o paraquat retarda seu crescimento (GHANNOUM et al., 1989).

Na Tabela 2 está representado o número médio de esporos de isolados de *Trichoderma* após a aplicação de herbicidas de pré e pós-emergência. A esporulação dos isolados de *Trichoderma* na presença de herbicidas foi menos afetada em relação à variável crescimento micelial radial. Observa-se que as esporulações dos isolados de *Trichoderma* não se diferiram estatisticamente (Tabela 2).

**Tabela 2** - Número médio de esporos de isolados de *Trichoderma* spp., aos sete dias após a aplicação de herbicidas.

Tratamentos	Dose %				
	0	50	100	150	200
<b>Glifosato (Pós - emergência)</b>					
UFT 204	17,8 a	13,2 a	12,7 a	14,8 a	13,7 a
UFT 202	10,7 a	8,7 a	8,3 a	8,0 a	12,1 a
UFT 205	16,1 a	12,5 a	13,6 a	16,2 a	17,5 a
UFT 203	16,1 a	8,7 a	9,3 a	9,8 a	11,4 a
UFT 201	16,2 a	14,6 a	11,8 a	11,8 a	12,4 a
<b>Sulfentrazone (Pré-emergência)</b>					
UFT 204	25,0 a	23,4 a	23,1 a	23,4 a	25,5 a
UFT202	14,4 a	13,7 a	12,8 a	13,7 a	15,5 a
UFT 205	21,5 a	19,0 a	19,1 a	19,0 a	20,6 a
UFT 203	20,2 a	18,3 a	18,7 a	18,3 a	19,2 a
UFT 201	22,0 a	19,8 a	20,4 a	19,8 a	21,4 a

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A pesar de não apresentar diferença estatística nota-se o isolado UFT 203 obteve uma redução na esporulação de 45,9%, na concentração de 50% da dose comercial, em comparação a dose zero. De acordo com CAMPBELL & ALTMAN (1977), frequentemente, baixas doses de herbicidas têm mostrado

efeitos estimulatórios, porém eles podem apresentar efeitos inibitórios quando usados em altas doses.

O número médio de esporos para o herbicida Sulfentrazone, também não se diferiram estatisticamente, porém apresentaram uma pequena redução no número de esporos. Em geral o isolado que apresentou maior número de esporos foi o UFT 204 e o menor foi o isolado UFT 202, correspondente a características particulares de cada isolado (Tabela 2).

De acordo com BOTELHO & MONTEIRO (2011), ainda que os mecanismos de inibição de micro-organismos pelos herbicidas sejam ainda pouco conhecidos, foram constatados efeitos adversos de pesticidas aos organismos não alvos. Ressalta-se que é necessário que haja integração e averiguação da compatibilidade dos métodos de controle de doenças, pragas e plantas daninhas para que se possa realizar um manejo integrado eficiente e pouco impactante ao ambiente.

## **CONCLUSÕES**

O herbicida glifosato não afetou o crescimento micelial radial dos isolados UFT 204 e UFT 202.

Os herbicidas não afetaram a redução do número de esporos dos isolados de *Trichoderma* spp., não interferindo na esporulação de forma significativa.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRAFIA

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R.; ABARKELLI, R. B. Effect of Glyphosate on the Microbial Activity of Two Brazilian Soils. **Chemosphere**, London, v. 52, p. 799-804, 2003.

ARAUJO, F. F. DE; BRAGANTE, R. J.; BRAGANTE, C. E. Controle genético, químico e biológico de meloidoginose na cultura da soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**., v. 42, n. 2, p. 220–224, 2012

BERNARDES, T. G.; SILVEIRA, P. M; MESQUITA, M. A. C; Regulador de crescimento de *Trichoderma harzianum* aplicados em sementes de feijoeiro cultivado em sucessão a culturas de cobertura, **Pesquisa Agropecuária Tropical**., Goiânia, v. 40, n. 4, p. 439-446, out./dez. 2010.

BETTIOL, W.; GHINI, R; MARIANO, R. R. L.; MICHEREFF, S. J.; MATTOS, L. P. V.; ALVARADO, I. C. M.; PINTO, Z. V. Supressividade a fitopatógenos habitantes do solo. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. (Ed.). Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas.: **Embrapa Meio Ambiente**, Jaguariúna p. 187-208, 2009.

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

BOTELHO, A. A. A.; MONTEIRO, A. C. Sensibilidade de fungos entomopatogênicos a agroquímicos usados no manejo da cana-de-açúcar. **Bragantia**, v. 70, n. 2, p. 361-369, 2011.

BRAÚNA, L. M. Controle Biológico do Mofo Branco por Isolados de *Trichoderma* nas Culturas de Soja e Feijão Comum. 2001. 82 f. **Dissertação** (Mestrado em Fitopatologia). Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

CAMPBELL C. L.; ALTMAN, J. Pesticide-plant disease interactions: Effect of cycloate on growth of *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, v. 67, n. 4, p. 557-560, 1976.

CAPRONI, C. M.; FERREIRA, S.; GONÇALVES, E. D.; SOUZA, A. das G. Resposta às aplicações de *Trichoderma*, óleo de Nim e Vertimec no controle de nematoide na cultura do morango. **Revista Agrogeoambiental**, Pouso Alegre, v. 4, n. 3, 2012.

CARVALHO FILHO, M. R.; MELLO, S. C. M. de; SANTOS, R. P. dos; MENÊZES, J. E. Avaliação de isolados de *Trichoderma* na promoção de crescimento, produção de ácido indolacético in vitro e colonização endofítica de mudas de eucalipto. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, 226. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2008.

CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M. DE; JÚNIOR, M. L.; GERALDINE, A. M. Biocontrol of seed pathogens and growth promotion of common bean seedlings by *Trichoderma harzianum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 8, p.822-828, ago, 2011.

CHAGAS JÚNIOR, A. F; OLIVEIRA, A. G.; SANTOS, G. R.; REIS, A. F. B.; CHAGAS, L. F. B. Promoção de Crescimento em Feijão-caupí Inoculado com Rizóbio e *Trichoderma* spp., no Cerrado. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 27, n. 3, p. 190-199, jul-set, 2014.

DELGADO, G. V.; MACEDO, M. A.; SANTOS, R. P.; MARTINS, I.; MELLO, S. C. M.; Inibição do Crescimento de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma* spp., In Vitro. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, 214. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, 2007.

DIANESE, A. C.; BLUM, L. E. B.; DUTRA, J. B.; LOPES, L. F. Aplicação de fosfito de potássio, cálcio ou magnésio para a redução da podridão-do-pé do mamoeiro

em casa de vegetação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 8, p. 2309-2314, 2009.

DONOSO, E.; LOBOS, G.A. E ROJAS, N. Efecto de *Trichoderma harzianum* y compost sobre el crecimiento de plántulas de *Pinus radiata* em viveiro. **Bosque**, Valdivia, v. 29, n. 1, p. 52-57, 2008.

FORTES, F. O.; SILVA, A. C. F.; ALMANÇA, M. A. K.; TEDESCO, S. B. Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. por *Trichoderma* spp., **Revista Árvore**, v. 31, p. 221-228, 2007

GORGEN, C. A.; SILVEIRA NETO, A. N.; CARNEIRO, L. C.; RAGAGNIN, V. A.; LOBO JUNIOR, M. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 12, p. 1583-1590, 2009.

GHANNOUM, M. A.; AFZAL, M.; HASAN, RAH.; DHAMI, MSI. Variation in growth and fatty acid contents of *Trichoderma viride* induced by herbicides. **Journal of Environmental Sciences**, Health, v. 24, n. 8, p. 957-966, 1989.

GRUYS, K.J.; SIKORSKI, A. Inhibitors of tryptophan, phenylalanine, and tyrosine biosynthesis as herbicides. In: SINGH, B.K. (Ed.). Plant amino acids - **Applied Biochemistry and Biotechnology**. New York: Marcel Dekker, Inc, p. 357-365, 1999.

HARMAN, G. E.; PETZOLDT, R.; COMIS, A. E CHEN, J. Interactions between *Trichoderma harzianum* Strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. **Plant Physiology**, v. 94, n. 2, p. 146-153, 2004.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I. E LORITO, M. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, p. 43–56, 2004.

HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S. E BISSETT, J. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. **Biological Control**, v. 51, n. 3, p. 409–416, 2009.

JÚNIOR, J. V. C. Avaliação do Impacto do Herbicida Glifosato na Microbiota do Solo e Biodegradação por Cepas de *Fusarium*. 2006. 102 f. **Dissertação** (Mestrado em Microbiologia Agrícola e Ambiente) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

LORITO, M.; WOO, S. L.; HARMAN, G. E.; MONTE, E. Translational research on *Trichoderma*: from omics to the field. **Annual Review of Phytopathology**. v. 48. p. 395-417, 2010.

LOUZADA, G. A. S.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; JÚNIOR, M. L.; MARTINS, I. E.; BRAÚNA, L. M. Potencial antagônico de *Trichoderma* spp., originários de diferentes ecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biota Neotropica**, v. 9, n. 3, p. 145–149, 2009.

LUCON, C. M. M. *Trichoderma* no controle de doenças de plantas causadas por patógenos de solo. São Paulo: **Instituto Biológico/Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal**, (Comunicado Técnico, 77), 7 p. 2008.

LUCON, C. M. M. Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma* spp., São Paulo: **Instituto Biológico/Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal**, (Comunicado Técnico, 94) 8 p. 2009.

MACHADO, D. F.M; TAVARES, A. P; LOPES, S. J; SILVA, A. C. F. *Trichoderma* spp., na emergência e crescimento de mudas de cambará (*Gochnatia polymorpha* Less.) Cabrera). **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 39, n. 1, p. 167-176, 2015.

MARTINEZ, C. O.; SILVA, C. M. M. de S.; FAY, E. F. Caracterização de bactérias e fungos envolvidos na degradação de sulfentrazona em solos. In: **Congresso**

**Virtual Iberoamericano sobre Gestion de Calidad em Laboratorios**, 4, 2007, Barcelona. Resúmenes. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. 4p. 2007.

MELO, S. R.; ZILLI, J. E. Fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijão-caupí recomendadas para o Estado de Roraima. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 9, p. 1177-1183, 2009.

NANDIHALLI, U. B.; DUKE, S. O. The porphyrin pathway as a herbicide target site. In: DUKE, S. O.; MENN, J. J.; PLIMMER, J. R. (Ed.). Pest control with enhanced environmental safety. Washington: American Chemical Society, (**American Chemical Society Symposium Series**, 524) p. 62-72, 1993.

PEIXOTO, M.F.S.P., BORGES, V.P., BORGES, V.P. e PEIXOTO, C.P. Ação do trifluralin na micorrização e crescimento de plantas de amendoim (*Arachis hypogaea*). **Planta Daninha**, v. 28, n. 3, p. 609-614, 2010.

PERAZZOLLI, M.; DAGOSTIN, S.; FERRARI, A.; ELAD, Y.; PERTOT, I. Induction of systemic resistance against *Plasmopara viticola* in grapevine by *Trichoderma harzianum* T39 and benzothiadizole. **Biological Control**, v. 47, p. 228-234, 2008.

POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas – uma visão empresarial. In: Bettiol, W. e Morandi, M.A.B. (Ed.). Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. **Embrapa Meio Ambiente**, Jaguariúna, p. 238–244. 2009.

REIS, M. R., LEÃO, E. U., SANTOS, G. R., SARMENTO-BRUM, R. B. C., GONÇALVES, C. G., CARDON, C. H.; SILVA, D. B. Impacto de Herbicidas em Isolados de *Trichoderma* spp., **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 31, n. 2, p. 419-426, 2013.

ROSA, D. D.; BASSETO, M. A.; CAVARIANI, C.; FURTADO, E. L. Efeito de herbicidas sobre agentes fitopatogênicos. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, n. 3, p. 379-383, 2010.



SILVA, J. B. T.; MELLO, S. C. M. **Utilização de *Trichoderma* no controle de fungos fitopatogênicos**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007.

SILVA, V. N. da; GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M.; HAKAKAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp., em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, p. 1609-1618, 2011.

SILVA, D. V.; SILVEIRA, H. M.; FERREIRA, E. A.; CARVALHO, F. P.; CASTRO NETO, M. D.; SILVA, A. A.; SEDIYAMA, T. Aspectos fisiológicos da mandioca após a aplicação dos herbicidas fluazifop-p-butil e fomesafen. **Revista Ceres**, v. 61, n. 2, p. 178-183, 2014.

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.

VERMA, M., BRAR S. K, TYAGI, R. D, SURAMPALLI, R. Y, VALÉRO, J. R. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp., Panoply of biological control. **Biochemical Engineering Journal**, Kansas City, v. 37, n. 1, p. 1-20, 2007.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E.L.; MARRA, R.; WOO S. L.; LORITO M. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Maryland Heights, v. 72, n. 1-3, p. 80-86, 2008.

VITERBO, A. RAMOT, O, CHERMIN, L. Y, CHET, I. *Trichoderma* mitogen-activated protein kinase signaling is involved in induction of plant systemic resistance. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 71, n. 10, p. 6241-6246, 2005.

WADLE, D. A.; PARKINSON, D. Influence of the herbicide glyphosate on soil microbial community structure. **Plantandsoil**, Amsterdam, v. 122, n. 1, p. 29-37, 1990.

YEDIDIA, I.; SHORESH, M.; KEREM, Z.; BENHAMOU, N.; KAPULNIK, Y.; CHET I. Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and the accumulation of phytoalexins. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 97, n. 12, p. 567-576, 2002.

ZABLOTOWICZ, R. M.; REDDY, K. N. Impact of glyphosate and *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean: a minireview. **Journal of Environmental Quality**, v. 33, p. 825-831, 2004.

## CAPÍTULO II

### *Trichoderma* COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO DE MUDAS DE MAMÃO

#### RESUMO

Nesse trabalho objetivou-se determinar o efeito de *Trichoderma* spp., no desenvolvimento das características agrônômicas da muda de mamão. O experimento foi conduzido em casa de vegetação. Os tratamentos utilizados foram a inoculação de cinco isolados de *Trichoderma*, um tratamento MIX com a mistura dos cinco isolados e uma testemunha sem inoculação, em solo com e sem adubação com fosfato natural. Os isolados de *Trichoderma* foram repicados em arroz autoclavados e após sete dias de incubação, foram retirados 30 g de arroz de cada saco colonizado com isolado de *Trichoderma* e homogeneizado em 2 kg de solo. O solo foi adubado com 0,3 g de fosfato natural em 2 kg de solo. Foram feitas avaliações de biomassa e eficiência relativa. Os isolados que proporcionaram crescimento das plantas estatisticamente superior, na presença de fosfato natural, foram UFT 57, UFT 201, UFT 202, UFT 203, UFT 205 e MIX comparando com a testemunha. O isolado UFT 201 foi superior para massa seca da parte aérea. O isolado UFT 202 para massa seca da raiz e MIX para massa seca total com fosfato natural. Sem fosfato natural o tratamento com MIX foi superior aos demais em todas as variáveis. Os isolados de *Trichoderma* são eficientes na promoção de crescimento vegetal de mudas de mamão.

**Palavras-chave:** Micro-organismos; Crescimento vegetal; Bioinoculante.

## TRICHODERMA AS PROMOTER OF PAPAYA SEEDLINGS GROWTH

### ABSTRACT

This study aimed to determine the effect of *Trichoderma* spp., in the development of agronomic characteristics of papaya seedlings. The experiment was conducted in a greenhouse. The treatments were the inoculation of five isolates of *Trichoderma*, a MIX treatment with a mixture of five isolates and a control without inoculation, in soil with and without fertilization with rock phosphate. The *Trichoderma* isolates were subcultured on autoclaved rice and after seven days of incubation, 30 g were taken from each bag of rice colonized with *Trichoderma* and homogenized in 2 kg of soil. The soil was fertilized with 0.3 g of rock phosphate in 2 kg of soil. Reviews of biomass and relative efficiency were made. Isolates gave statistically superior growth of plants in the presence of phosphate rock, in UFT 57 UFT201 UFT202 UFT 203 UFT 205 isolates and MIX compared to the control. Isolated UFT 201 was superior to dry mass of the aerial part. The isolated UFT 202 to root dry mass and MIX to total dry mass with natural phosphate. With no natural phosphate, the MIX treatments was superior to others in all the variables. *Trichoderma* isolates are effective in promoting plant papaya seedlings growth.

**Keywords:** Micro-organisms; Plant growth; Bioinoculator.

## INTRODUÇÃO

O Brasil se destaca no cenário mundial ocupando o terceiro lugar como maior produtor de frutas (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2014). Em 2013, o Brasil exportou um total de 711,869 mil toneladas de frutas, 2,7% a mais que o ano anterior (FAO, 2015). A fruticultura está presente em todos os estados brasileiros garantindo uma colheita satisfatória, movimentando em torno de 40 milhões de toneladas de frutas frescas ao mercado interno e externo desde 2004 e ocupando uma área superior a 2 milhões de hectares.

O mamão (*Carica papaya* L.) pertence à família Caricaceae, é uma árvore frutífera cultivada em regiões tropicais e subtropicais (RAMASWAMY et al., 2010) de rápido crescimento, capaz de produzir durante o ano todo. Essa cultura tem uma grande importância social e elevada expressão econômica, conhecida por seus benefícios nutricionais e várias aplicações cosméticas e medicinais (MALABADI et al., 2011).

A Bahia e o Espírito Santo são os estados que se destacam no País pela maior produção da fruta, responsáveis por 45% e 32%, respectivamente (IBGE, 2015). Os principais problemas que afetam a cultura do mamoeiro decorrem de sua susceptibilidade a pragas e doenças (OLIVEIRA et al., 1996), principalmente as viroses que causam grandes perdas na produção (LIMA et al., 2001). Os vírus causadores de a mancha anelar (*Papaya ringspot virus*- PRSV) e causador da meleira (*Papaya meleira virus*-PMeV) constituem um dos maiores entraves para a produção e implantação de novos polos produtores (DANTAS & MORALES, 1996).

Com relação a parte nutricional o fósforo (P) é um elemento essencial de suma importância para o desenvolvimento vegetal (NAUTIYAL, 1999), ocupa aproximadamente 0,2% da matéria seca vegetal quando se trata de desenvolvimento de planta. É um nutriente essencial para o aumento da produtividade da biomassa das plantas em solos de climas tropicais (NOVAIS & SMYTH, 1999). Para incremento dessa biomassa, o que se tem observado nos últimos anos é a utilização de micro-organismos na agricultura. Esses agentes biológicos, independente da estratégia a ser considerada, auxiliam de forma

viável para diminuir vulnerabilidade das plantas aos patógenos habitantes do solo, sem causar danos ao meio ambiente (MELLO et al. 2007).

Os fungos do gênero *Trichoderma* são de grande importância 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 das plantas às doenças (POMELLA et al., 2009; CAMARGO-CEPEDA et al., 2014; DILNEY et al., 2014).

Há uma série de fatores quanto à promoção de crescimento vegetal obtida por *Trichoderma* spp., no qual as pesquisas da atualidade comprovam claramente como a produção de antibióticos, de metabólitos primários e secundários, de fitohormônios, vitaminas, a solubilização de fosfatos e o controle de fitopatógenos (MACHADO et al., 2012; CHAGAS et al., 2015; ).

Desse modo, o objetivo deste trabalho foi determinar o efeito da inoculação de isolados de *Trichoderma* spp., em mudas de mamão em casa de vegetação.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado no período de julho a agosto de 2015, conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal do Tocantins (UFT), Campus Universitário de Gurupi, localizada a 11°43'45" de latitude Sul e 49°04'07" de longitude Oeste e altitude de 280 m. As avaliações de biomassa e produtividade foram conduzidas no Laboratório de Microbiologia, localizado na Incubadora de Empresas da UFT, Campus Gurupi.

Para a instalação dos experimentos, foram utilizados vasos com capacidade de 2 L, preenchidos com solo classificado como Latossolo Vermelho Amarelo distrófico (peneirado) de textura média, na profundidade de 0-20 cm, obtido na própria estação experimental da UFT, possuindo as seguintes características: 4,0 cmolc dm<sup>-3</sup> de Ca; 0,9 cmolc dm<sup>-3</sup> de Mg; 0,1 cmolc dm<sup>-3</sup> de K; 2,8 mg dm<sup>-3</sup> de P; 0,06 cmolc dm<sup>-3</sup> de Al; 8,3 cmolc dm<sup>-3</sup> de CTC; 5,0 cmolc dm<sup>-3</sup> de soma de bases (S); 61% de saturação de bases (V); pH 5,8 em água; 1,7% de matéria orgânica; textura de 79, 5,0 e 16% de areia, silte e argila,

respectivamente: P e K – extrator Mehlich 1;  $Al^{3+}$ ,  $Ca^{2+}$  e  $Mg^{2+}$  – Extrator KCl ( $1 \text{ mol L}^{-1}$ ) (EMBRAPA, 1999).

Os tratamentos utilizados foram a inoculação individual de cinco isolados de *Trichoderma* spp., (UFT 57, UFT 201, UFT 202, UFT 203, UFT 205), uma inoculação com um MIX dos cinco isolados de *Trichoderma*, e uma testemunha sem inoculação, em solos com e sem adubação com fosfato natural em duas épocas de avaliação aos 20 dias e aos 40 dias após plantio. Os isolados utilizados foram provenientes da micoteca do laboratório de microbiologia da UFT, todos com potencial de crescimento vegetal.

Os isolados utilizados no presente trabalho foram caracterizados pelo sequenciamento da região TEF (Translation Elongation Fator) e identificados pelos códigos de acesso no GenBank (Tabela 1).

**Tabela 1.** Códigos de acesso no GenBank para os isolados de *Trichoderma* spp., (Região TEF–translation elongation factor) utilizados neste estudo.

Isolados	Identificação da Espécie	Acesso GenBank	Referência
UFT 201	<i>T. asperelloides</i> GJS 04-217	DQ381958	Samuels et al. (2010)
UFT 202	<i>T. harzianum</i> CIB T23	EU279989	Hoyos-Carvajal et al. (2009b)
UFT 203	<i>T. harzianum</i> CIB T23	EU279989	Hoyos-Carvajal et al. (2009b)
UFT 204	<i>T. Longibrachiatum</i> DAOM	EU280046	Hoyos-Carvajal et al. (2009b)
UFT 205	<i>T. asperelloides</i> GJS 04-217	DQ381958	Samuels et al. (2010)

Os isolados foram colocados para crescer separadamente em placas de Petri contendo meio BDA (batata, dextrose e ágar) e incubados à temperatura de  $27 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  com fotoperíodo de 12 horas, por sete dias, período determinado para o crescimento das colônias de *Trichoderma* spp., (DIANESE et al., 2012).

Sacos de polipropileno contendo 250 g do arroz mais 250 mL de água destilada foram autoclavados à  $121 \text{ }^\circ\text{C}$  por 1 hora. Após o resfriamento, o arroz foi inoculado com seis discos de 6 mm de diâmetro de cada isolado, separadamente, contendo micélios e esporos de *Trichoderma* spp., e meio BDA e incubados em câmara de crescimento tipo B.O.D. com temperatura de  $27 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas por sete dias. A cada dois dias, o substrato contendo arroz foi revolvido,

para facilitar as trocas gasosas, a quebra dos agregados miceliais e o aumento da esporulação.

Após os sete dias de incubação, foram retirados 30 g de arroz de cada saco colonizado com o isolado de *Trichoderma* spp., e misturados em 2 kg de solo. Quando ao fosfato natural, foi pesado 0,3 g e misturado em 2 kg de solo nos tratamentos com adubação de fosfato natural. Foram semeadas quatro sementes por vaso, sendo feito o desbaste aos 15 dias após a germinação, deixando duas plantas por vaso. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizados (DIC) com cinco repetições.

Após os 20 e 40 dias após o plantio (DAP) as plantas foram colhidas e o material coletado foi lavado em água corrente e levado para secar em estufa a 60 °C para determinação da massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST). Com os dados de biomassa da segunda avaliação, determinou-se a eficiência relativa de cada tratamento, calculada segundo a fórmula:  $ER = (MSPA \text{ inoculada com os isolados} / MSPA \text{ sem inoculante}) \times 100$ .

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de agrupamento de média Duncan a 5% de probabilidade utilizando o programa estatístico ASSISTAT versão 7.7 beta (SILVA, 2008).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A influência da inoculação dos isolados de *Trichoderma* em mamão em todas as variáveis avaliadas mostraram resultados com diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos com e sem fosfato natural para a massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST), aos 20 dias após o plantio (DAP) (Tabela 2). Dentre os tratamentos com inoculação dos isolados de *Trichoderma*, a MSPA foi superior para os tratamentos com o isolado UFT 201 e MIX com e sem fosfato. Para a MSR e MST os isolados UFT 202 e MIX foram superiores com e sem fosfato, já o tratamento com Mix foi superior nos tratamentos sem fosfato natural para MSR e MST. Com a adição do fosfato natural houve crescimento das plantas estatisticamente superior com a inoculação dos isolados UFT 57, UFT 201, UFT 202, UFT 203, UFT 205 e MIX, comparando com



a testemunha (Tabela 1), com destaque para os isolados UFT 201 onde foi superior a MSPA, UFT 202 a MSR e MIX a MST com fosfato natural. Em relação aos tratamentos sem fosfato natural o MIX foi superior aos demais em todas as variáveis.

**Tabela 2:** Biomassa de mudas de mamão (*Carica papaya*) inoculadas com *Trichoderma* spp., com e sem adubação com fosfato natural, 20 dias após o plantio.<sup>1</sup>

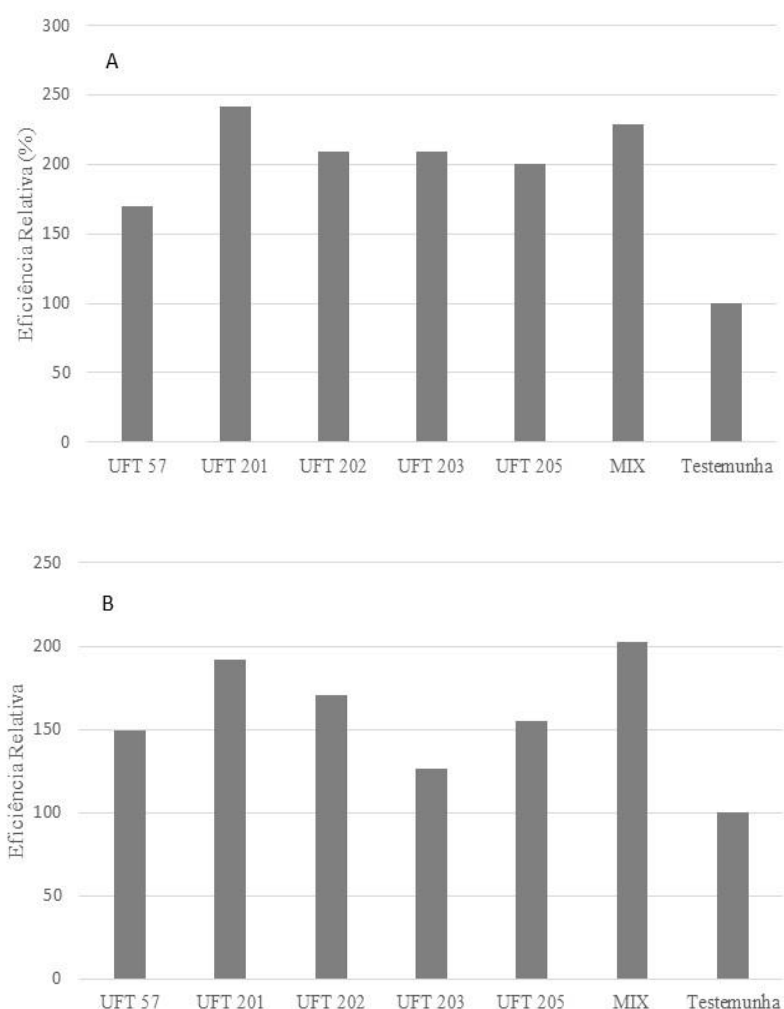
<b>Tratamentos</b>	<b>MSPA (mg)</b>	<b>MSR (mg)</b>	<b>MST (mg)</b>
<b>Com FN</b>			
UFT 57	114,0 b	102,8 b	216,8 b
UFT 201	161,8 a	80,0 c	241,8 ab
UFT 202	140,3 ab	129,3 a	269,6 a
UFT 203	140,0 ab	82,8 c	222,8 b
UFT 205	134,3 ab	81,5 c	215,8 b
MIX	153,0 a	124,5 a	277,5 a
Testemunha	67,0 c	64,5 d	131,5 c
CV (%)	13,1	12,6	10,8
<b>Sem FN</b>			
UFT 57	86,0 b	77,8 b	163,8 b
UFT 201	110,5 a	65,5 b	176,0 b
UFT 202	98,0 a	73,8 b	171,8 b
UFT 203	72,8 c	82,0 b	154,8 b
UFT 205	89,3 b	68,5 b	157,8 b
MIX	116,5 a	115,5 a	232,0 a
Testemunha	57,5 d	40,8 c	98,3 c
CV (%)	18,8	19,4	14,9

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

No estágio inicial de desenvolvimento da cultura aos 20 (DAP), houve resposta significativa da inoculação de *Trichoderma* spp., podendo ser explicado pelo fato de que na fase inicial da cultura, o fungo se estabeleceu completamente no solo.

Quanto à eficiência relativa (ER), que relaciona a biomassa da parte aérea, dos tratamentos inoculados com *Trichoderma* com e sem fosfato natural, foi observado valores superiores ( $p < 0,05$ ) para os tratamentos com inoculação de *Trichoderma* com fosfato natural. Houve um aumento de 57 a 146%, respectivamente em relação a testemunha. Já com inoculação de *Trichoderma* sem fosfato natural, houve um aumento de 30 a 110% comparando com a testemunha (Figura 1).

Os dados obtidos no presente trabalho corroboram com resultados obtidos na literatura, ou seja, a aplicação de *Trichoderma*, de modo geral, proporciona aumento nas características agrônômicas avaliadas (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2009; CARVALHO et al., 2011).



**Figura 1:** Eficiência relativa de mudas de mamão, inoculadas com isolados de *Trichoderma* com e sem adubação de fosfato natural em relação à testemunha

sem inoculação, 20 dias após o plantio. A: com fosfato natural, B: sem fosfato natural.

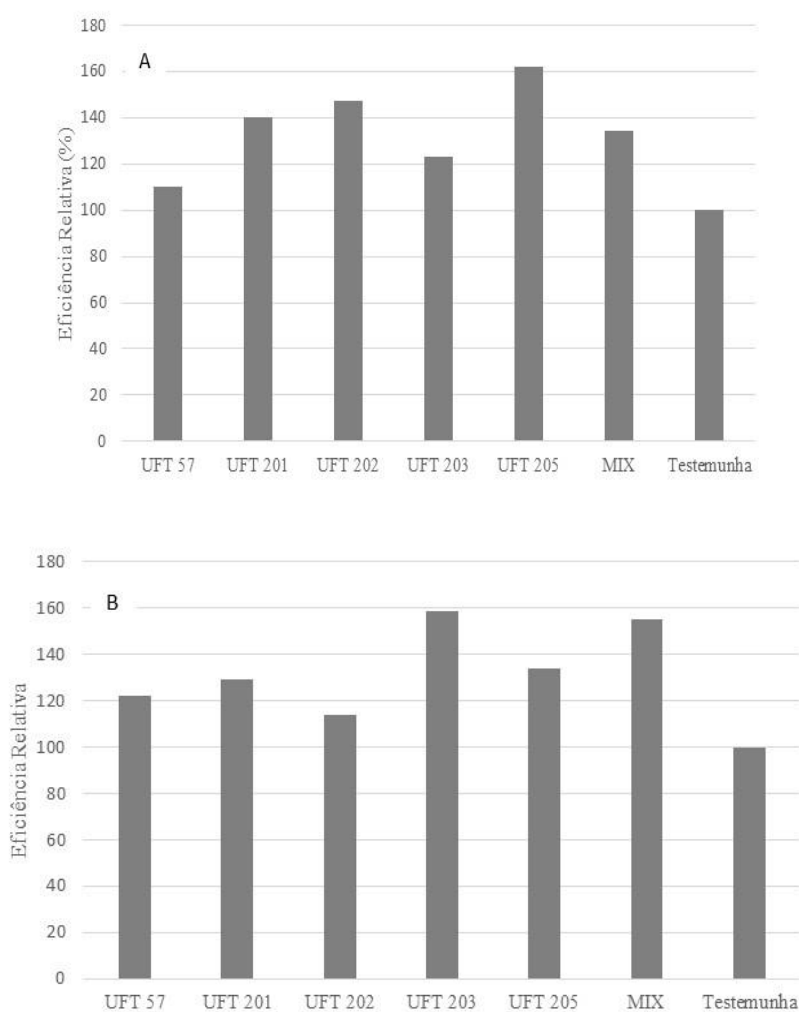
Para a avaliação aos 40 (DAP), houve diferença significativa para os parâmetros MSPA, MSR e MST. Os tratamentos com isolados de *Trichoderma* spp., com e sem adubação com fosfato natural, foram superiores ( $p < 0,05$ ) comparados com a testemunha (Tabela 3). Dentre os tratamentos com inoculação de *Trichoderma*, o tratamento com o isolado UFT 205 foi superior ( $p < 0,05$ ) em todas variáveis MSPA, MSR e MST aos 40 DAP com fosfato natural.

**Tabela 3:** Biomassa de mudas de mamão (*Carica papaya*) inoculadas com *Trichoderma* spp., com e sem adubação com fosfato natural, 40 dias após o plantio.<sup>1</sup>

Tratamentos	MSPA (mg)	MSR (mg)	MST (mg)
<b>Com FN</b>			
UFT 57	216 c	283 c	499 d
UFT 201	275 b	305 bc	580 bc
UFT 202	288 ab	292 bc	580 bc
UFT 203	242 bc	326 b	568 c
UFT 205	318 a	362 a	680 a
MIX	263 b	347 ab	610 b
Testemunha	196 cd	209 d	405 e
CV (%)	13,1	14,2	11,1
<b>Sem FN</b>			
UFT 57	174 bc	154 d	328 c
UFT 201	184 b	198 c	382 bc
UFT 202	163 c	209 c	372 bc
UFT 203	228 a	205 c	433 b
UFT 205	191 b	321 a	512 a
MIX	221 a	275 b	496 a
Testemunha	143 d	127 e	270 d
CV (%)	11,2	12,2	11,3

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Quanto à ER aos 40 DAP, os tratamentos inoculados com *Trichoderma* com fosfato natural foram superiores, com aumento de 16 a 62% em relação a testemunha. Nos tratamentos sem adubação com fosfato natural a ER obteve um aumento de 16 a 58% em relação a testemunha (Figura 2). De acordo com Bae et al., (2009), plantas de cacau inoculadas com *T. hamatum* e submetidas ao stress hídrico, tiveram aumento no crescimento de raízes, aumento no peso fresco e seco de raiz e maior teor de água nas raízes, com ou sem exposição a condições de seca.



**Figura 2:** Eficiência relativa de mudas de mamão, inoculadas com isolados de *Trichoderma* com e sem adubação de fosfato natural em relação à testemunha, 40 dias após o plantio. A: com fosfato natural, B: sem fosfato natural.

Os resultados alcançados no presente estudo não diferem da maioria dos encontrados na literatura (PEREIRA, 2012; CHGAS JUNIOR et al., 2014; MACHADO et al., 2015), no qual o *Trichoderma* promove benefícios no que diz respeito biomassa das plantas. A promoção de crescimento ocasionada por micro-organismos do solo ocorre devido à ação de vários fatores, podendo envolver produção de fitohormônios vegetais, produção de vitaminas ou conversão de materiais a uma forma disponível para a planta, absorção, translocação de minerais e controle de patógenos (FILHO et al., 2008). O benefício de tais organismos na agricultura, além do controle de fitopatógenos e promoção do crescimento vegetal, pode proporcionar o melhor estabelecimento de mudas no campo (AULER et al., 2013; CARVALHO et al., 2008; MACHADO et al., 2015). Algumas linhagens aumentam a superfície total do sistema radicular, possibilitando um maior acesso aos elementos minerais. Shores & Harman (2008) observaram que a espécie de *T. harzianum* proporcionou resultados semelhantes para a biomassa de raízes de milho.

Outras pesquisas têm demonstrado que sementes tratadas com *Trichoderma* têm tido um papel importante para o aumento da biomassa de plantas como o eucalipto (FILHO et al., 2008), arroz (ALMANÇA, 2005), mamoeiro e tomateiro (TAVARES, 2009) e milho (RESENDE, 2004).

Em observações feitas por Harman et al. (2012), a interação de *Trichoderma* spp., com a planta, ocorre devido mudanças na arquitetura da raiz, aumentando a área de superfície da mesma, devido a colonização pelo fungo, o que conseqüentemente altera a fisiologia da planta, resultando em inúmeros benefícios como: resistência ao stress hídrico, absorção de fertilizantes nitrogenados, resistência à patógenos e eficiência fotossintética.

Machado et al. (2012) ressaltaram também, que pesquisas comprovam que *Trichoderma* spp., é eficiente, prático e seguro quanto aos métodos de aplicação, biocontrole e promoção de crescimento vegetal.

## **CONCLUSÃO**

Os isolados de *Trichoderma* identificado como contribuem para o crescimento de mudas de mamão, com destaque para os isolados UFT 201, UFT 202, UFT 205 e MIX.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ALMANÇA, M. A. K. *Trichoderma* spp., no controle de doenças e na promoção do crescimento de plantas de arroz. 2005. 81f. **Dissertação** (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA. Santa Cruz do Sul: **Ed. Gazeta Santa Cruz**, p. 64-67, 2014.

AULER, A. C. V.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S.C.M. Antagonismo de *Trichoderma harzianum* a *Sclerotium rolfsii* nas culturas do feijoeiro e soja. **Revista Agro@ambiente Online**, v. 7, p. 359-365, 2013.

BAE, H.; SICHER, R. C.; KIM, M. S.; KIM, S. H.; STREM, M. D.; MELNICK, R. L.; BAILEY, B. A. The beneficial endophyte *Trichoderma hamatum* isolate DIS 219b promotes growth and delays the onset of the drought response in *Theobroma cacao*. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 3279-3295, 2009.

CAMARGO-CEPADA, D.F.; AVILA, E.R. Efectos del *Trichoderma* sp., Sobre el crecimiento y desarrollo de la arveja (*Pisum sativum* L.) **Ciencia y Agricultura**, Colombia, v. 11, n. 1, p. 91-100, 2014.

CARVALHO FILHO, M. R.; MELLO, S. C. M.; SANTOS, R. P.; MENÊZES, J. E. Avaliação de isolados de *Trichoderma* na promoção de crescimento, produção de ácido indolacético in vitro e colonização endofítica de mudas de eucalipto: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília (**Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, 226), 2008.

CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M. DE; JÚNIOR, M. L.; GERALDINE, A. M. Biocontrol of seed pathogens and growth promotion of common bean seedlings by *Trichoderma harzianum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 8, p. 822-828, ago, 2011.

CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; CORTÉS-PENAGOS, C; LÓPEZ-BICIO, J. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 149, n. 3, p. 1579-1592, 2009.

CHAGAS JR, A. F.; OLIVEIRA, A. G.; SANTOS, G. R.; REIS, A. F. B.; CHAGAS, L. F. B. Promoção de crescimento em feijão-caupí inoculado com rizóbio e *Trichoderma* spp., no cerrado. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 3, p. 190-199, 2014.

CHAGAS, L. F. B.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; CARVALHO, M. R. de; MILLER, L. de O.; COLONIA, B. S. O. Evaluation of the phosphate solubilization potencial of *Trichoderma* strains (Trichoplus JCO) and effects on rice biomass. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Temuco, v. 15, n. 3, p.794-804, 2015.

DANTAS, J. L. L.; MORALES, C. F. G. Melhoramento genético do mamoeiro. In: MENDES, L.G.; DANTAS, J.L.L.; MORALES, C.F.G. (Ed.). Mamão no Brasil. Cruz das Almas: **UFBA/Embrapa-CNPMF**, p. 121-143, 1996.

DILNEY, O. D.; BARBIAN, J. M.; GONÇALVES, E. D. V.; BOTELHO, L.; ETHUR, L. Z.; KUHN, O. J.; BONETT, L. P. Inibição do crescimento in vitro de *Sclerotinia sclerotiorum*, causador de mofo branco, por isolados de *Trichoderma* spp., **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 12, n. 3, p. 132-136, jul./set. 2014.

DIANESE, A. de C.; BLUM, L. E. B.; MELLO, S. C. M. de. Uso de *Trichoderma* spp., para o manejo da podridão-do-pé-do-mamoeiro causada por *Phytophthora palmivora* Butler. Planaltina-DF: **Embrapa Cerrados**, 18 p., 2012.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Manual de métodos de análise de solos. 2. ed. Rio de Janeiro: **Centro Nacional de Pesquisa de Solos**. EMBRAPA - CNPS, p., 212, 1999.



FILHO, M.R.C. et al. Avaliação de isolados de *Trichoderma* na promoção de crescimento, produção de ácido indolacético in vitro e colonização endofítica de mudas de eucalipto. (**Boletim de pesquisa e desenvolvimento 226**), Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2008.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION–FAO. Fao Statistical Yearbook-World Food and Agriculture. Disponível em <[www.fao.org](http://www.fao.org)>. Acesso em 16/06/2015.

HARMAN, G. E.; HERRERA-ESTRELLA.; BENJAMIN, A.; HORWITZ.; LORITO, M. Special issue: *Trichoderma* from Basic Biology to Biotechnology. **Microbiology**, v. 158, p. 1-2, 2012.

HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. **Biological Control**, v. 51, p. 409-416, 2009.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/cgi-bin/prtabl>>. Acesso em: 16/06/2015.

LIMA, R. C. A.; LIMA, J. A. A.; SOUZA Jr., M. T.; PIO-RIBEIRO, G.; ANDRADE, G. P. Etiologia e estratégias de controle de viroses do mamoeiro no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 689-702, 2001.

MACHADO; D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: O fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.

MACHADO, D. F. M.; TAVARES, A. P.; LOPES, S. J.; SILVA, A. C. F. *Trichoderma* spp., na emergência e crescimento de mudas de cambará (*Gochnatia polymorpha* Less.) Cabrera). **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 39, n. 1, p. 167-176, 2015.

MALABADI, R. B.; KUMAR, S. V.; MULGUND, G. S.; NATARAJA, K. Induction of somatic embryogenesis in Papaya (*Carica papaya*). **Research in Biotechnology**, v. 2, n. 5, p. 40-55, 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.

MENDES, L. G.; DANTAS, J. L. L.; MORALES, C. F. G. **Mamão no Brasil.**: (Ed.) UFBA/Embrapa-CNPMPF, Cruz das Almas p. 159-172, 1996.

NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing micro-organisms. **FEMS Microbiology Letters**, v. 110, p. 265- 270, 1999.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais.** Viçosa, MG, 1999. 399 p.

OLIVEIRA, R. P.; DANTAS, J. L. L.; ALMEIDA, E. P.; NICKEL, O.; VILARINHOS, A. D.; MORALES, C. F. G. **Uso da biotecnologia no melhoramento genético e propagação do mamoeiro.** In: MENDES, L. G.; DANTAS, J. L. L.; MORALES, C. F. G. Mamão no Brasil. Cruz das Almas: EAUFBA; EMBRAPA, CNPMPF, 1996. 179p.

PEREIRA, G. V. N. Promoção do Crescimento de Mudas de Maracujazeiro Inoculadas com *Trichoderma* spp., 2012. 67 f. **Dissertação** (Mestrado em Fitotecnia)–Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, BA. 2012.

POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas- Uma visão empresarial. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: Uso e perspectivas.** (Ed). Embrapa Meio Ambiente, Cap. 15, p. 241-244, 2009.

ANANDAN, R.; PHAN, D. P.; SOORIANATHASUNDARAM, K.; KUMAR, N.; THIRUGNANAKUMAR, S.; SUDHAKAR, D.; BALASUBRAMANIAN, P. Somatic embryogenesis in *carica papaya* through zygotic embryo derived callus culture. **Acta Horticulturae**, v. 851, p. 201-208, 2010.

RESENDE, M. L. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 4, p. 793-798, 2004.

SAMUELS, G. J.; ISMAIEL, A.; BON, M. C.; DE RESPINIS, S.; PETRINI, O. *Trichoderma asperellum* sensu lato consists of two cryptic species. **Mycologia**, v. 102, n. 4, p. 944-966, 2010.

SILVA, F. de A. S. ASSISTAT. Versão 7.6 beta. Campina Grande, 2008. Disponível em: <http://www.assistat.com/indexp.html>. Acesso em: 27/09/2015.

SHORESH, M.; HARMAN, G. E. The Molecular Basis of Shoot Responses of Maize Seedlings to *Trichoderma harzianum* T22 Inoculation of the Root: A Proteomic Approach. **Plant Physiology**, v. 147, p. 2147–2163, 2008.

TAVARES, G. M. Podridão do pé do mamoeiro: infestação em solos de cultivo, controle alternativo com indutores de resistência e *Trichoderma* e avaliação dos mecanismos de defesa envolvidos. 2009. 113 f. **Tese** (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2009.

## CAPITULO III

### AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ESPOROS E VIABILIDADE DE CONÍDIOS EM DOIS SUBSTRATOS

#### RESUMO

Neste trabalho o objetivo foi avaliar a contagem de esporos e viabilidade de conídios de *Trichoderma* de diferentes espécies utilizando dois substratos, o arroz comum (*Oryza sativa*) e milho (*Pennisetum glaucum*), bem como as interações entre isolados de *Trichoderma*. Utilizou-se os delineamentos inteiramente casualizados, sendo doze isolados de *Trichoderma* com três repetições, para ambos experimentos. Observou-se que os isolados UFT 25, UFT 63, UFT 313 e UFT 14 foram os que obtiveram a maior esporulação com médias variando de  $2,3 \times 10^9$  (UFT 14) e  $2,7 \times 10^9$  (UFT 25) conídios  $g^{-1}$ , em arroz integral e  $3,9 \times 10^9$  (UFT 79) conídios  $g^{-1}$ , em milho. Os isolados UFT 314, UFT 79, UFT 37, UFT 201, UFT 57, UFT 312, UFT 205 e UFT 92 obtiveram um menor número de esporos em arroz integral, já em milho foram os isolados UFT 14, UFT 57, UFT 205, UFT 37, UFT 63, UFT 201, UFT 314, UFT 25, UFT 312, UFT 92 e UFT 313. Para todos os isolados cultivados em arroz não foi observado diferença significativa na viabilidade de conídios. Todos os isolados apresentaram alta viabilidade de conídios entre os substratos, com porcentagens de 88 a 100% de germinação dos conídios  $g^{-1}$  em arroz, e de 77 a 100% de germinação dos conídios  $g^{-1}$  em milho. As interações entre isolados foram significativas somente para UFT 25 x UFT 14, UFT 25 x UFT 313 e UFT 63 x UFT 37, apresentaram as melhores interações quanto ao teste de compatibilidade.

**Palavras-chave:** Fungos; Esporulação; Viabilidade; Compatibilidade.

## SPORES PRODUCTION ASSESSMENT AND CONIDIA VIABILITY IN TWO SUBSTRATES

### ABSTRACT

In this work the aim was to evaluate the spore count and viability of different *Trichoderma* species conidia using two different substrates, the common rice (*Oryza sativa*) and millet (*Pennisetum glaucum*), as well as the interactions between *Trichoderma* isolates. It was used the complete randomized design, with twelve *Trichoderma* isolates with three replicates for both experiments. It was observed that the isolated UFT 25 UFT 63 UFT 313 and UFT 14 obtained higher spore production around  $2.3 \times 10^9$  (UFT 14) and  $2.7 \times 10^9$  (UFT 25) conidia  $g^{-1}$ , in whole grain rice and  $3.9 \times 10^9$  (UFT 79) conidia  $g^{-1}$  in millet. The UFT 314, UFT 79, UFT 37, UFT 201, UFT 57, UFT 312, UFT 205 and UFT 92 have obtained a smaller number of spores in whole grain rice, as well as, the UFT 14, UFT 57, UFT 205, UFT 37, UFT 63, UFT 201 UFT 314 UFT 25, UFT 312 UFT 92 and UFT 313 isolates in millet. For all the isolates grown in rice was not observed significant difference in viability of conidia. All isolates showed high viability of conidia between substrates, with percentages of 88 to 100% germination of the conidia  $g^{-1}$  in rice, and 77 to 100% germination of the conidia  $g^{-1}$  in millet. The interactions between isolates were significant only for UFT 25 x UFT 14 UFT, UFT 25 x UFT 313 and UFT 63 x UFT 37 presented the best interactions regarding the compatibility test.

**Keywords:** Fungi; Sporulation; Viability; Compatibility

## INTRODUÇÃO

Nos últimos anos empresas, biólogos, fitopatologistas, microbiologista e biotecnologistas têm dado ênfase ao fungo pertencente ao gênero *Trichoderma* spp., pois o mesmo tem uma fantástica aplicabilidade na agricultura minimizando os gastos com produtos químicos sintéticos além de diminuir os impactos que esses produtos causa no ecossistema. O micro-organismo tem uma grande potencial como agente de controle biológico principalmente contra fitopatógenos, bactérias, insetos e fitoparasitas nematóides, portanto as espécies de *Trichoderma* têm recebido atenção científica.

Esse micro-organismo foi descrito por Persoon em 1794 e um fungo filamentoso saprófito é encontrado em grande abundância no solo principalmente aqueles ricos em matéria orgânica. Suas espécies competem por espaços, nitrogênio, água, nutriente e por antibiose, mecanismos que libera os metabólicos (enzimas compostos e antifúngicos) voláteis e não voláteis que inibem o desenvolvimento de outros micro-organismos por parasitismo, além de ser um ótimo antagonista. Exsudados e células mortas das raízes e folhas incorporadas ou sobre o solo são importantes fontes de alimentos.

Os fungos do gênero *Trichoderma* são pertencentes a um grupo de fungos filamentosos que pertencem à divisão Eumycota, subdivisão Deuteromycota, classe Hyphomycetes, ordem Moniliales, família Moniliaceae (MELO, 1991; SAMUELS, 2006). Dentre os micro-organismos mais estudados o *Trichoderma* se destaca com mais de 100 espécies filogenéticas deste gênero reconhecidas (DRUZHININA et al., 2006). Os relatos da literatura atual comprovam que os primeiros estudos e experimentos com o fungo *Trichoderma* foram em meados de 1930, onde se realizou os primeiros ensaios utilizando esse fungo como alternativa para o controle biológico de fungos fitopatogênicos.

Por estes motivos, este trabalho teve como objetivo avaliar a contagem de esporos e viabilidade de conídios de *Trichoderma* spp., de diferentes espécies utilizados os substrato arroz comum (*Oryza sativa*) e milho (*Pennisetum glaucum*).

## MATERIAL E MÉTODOS

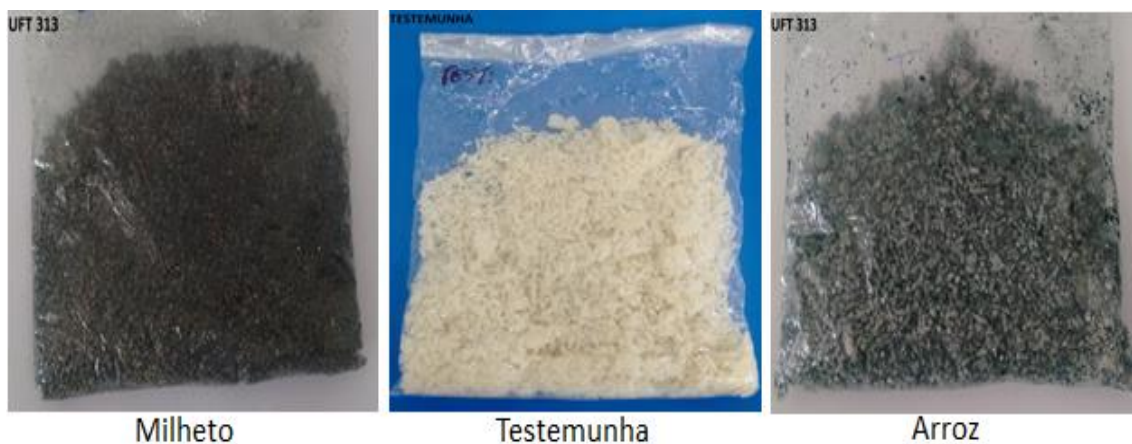
O experimento foi conduzido no Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Tocantins (UFT), Campus Universitário de Gurupi, localizada a 11°43'45" de latitude Sul e 49°04'07" de longitude Oeste e altitude de 280 m.

### Repicagem e inoculação do *Trichoderma* em arroz e milho

Os isolados são pertencentes ao banco de coleção da micoteca do laboratório de microbiologia da Universidade Federal do Tocantins.

Os 12 isolados foram colocados para crescer separadamente em placas de Petri contendo meio BDA (batata, dextrose e ágar), e a manipulação do experimento foi executada em câmara de fluxo laminar esterilizada (30 minutos com a luz ultravioleta), e incubada à temperatura de  $25 \pm 2$  °C com fotoperíodo de 12 horas, por sete dias, período determinado para o crescimento das colônias de *Trichoderma* (DIANESE et al., 2012).

Após os sete dias, os isolados foram repicados para sacos de polipropileno contendo 170 g do arroz mais 80 mL de água destilada, e autoclavados à 121 °C por 1 hora. Foram repicados cinco discos de 6 mm de diâmetro de cada isolado, separadamente, contendo micélios e esporos de *Trichoderma* em meio BDA. Em seguida cada saco de arroz com cada isolado foram incubados em câmara de crescimento tipo B.O.D. com temperatura de  $25 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12 horas por sete dias. A cada três dias, os dois substratos foram revolvidos, para facilitar as trocas gasosas, a quebra dos agregados miceliais e o aumento da esporulação (Figura 1).



**Figura 1.** Produção de esporos *Trichoderma* spp., em milho e arroz comum.

### Contagem de esporos

Após os sete dias de incubação realizaram-se as avaliações, a partir de suspensões de esporos obtidas pela adição de 9 mL de H<sub>2</sub>O e 1 g do substrato colonizado em tubo e em seguida homogeneizado em vortex. De cada uma das suspensões, retirou-se uma alíquota para contagem dos esporos, com auxílio da câmara de Neubauer. A análise dos dados foi pela média das contagens de esporos de cada isolado de *Trichoderma*. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizados (DIC) com três repetições.

### Viabilidade de conídios

Após os sete dias de incubação realizaram-se as avaliações a partir da mesma suspensões de esporos obtidas para a contagem de esporos. Foram feitas as diluições com concentrações a ser analisada de 10<sup>3</sup>. Diante disso, foi colocado 4 gotas em placas de Petri de 90x15 mm contendo meio (BDA<sup>1/5</sup>). As placas foram incubadas por 10 horas em temperatura de 25 °C na ausência de luz. Após este período, as mesmas foram levadas para microscópio ótico e realizou-se a contagem de 100 conídios germinados (Figura 2).





**Figura 2.** Tubos de ensaios contendo milho e arroz para análise de viabilidade de conídios.

### Teste de compatibilidade *in vitro*

Os testes foram realizados em meio de cultura BDA. Dois discos de 6 mm de cada isolados foram colocados em lados opostos das placas de Petri, onde os mesmos ficaram com uma distância de 1 cm da borda da placa e 7 cm entre isolados.

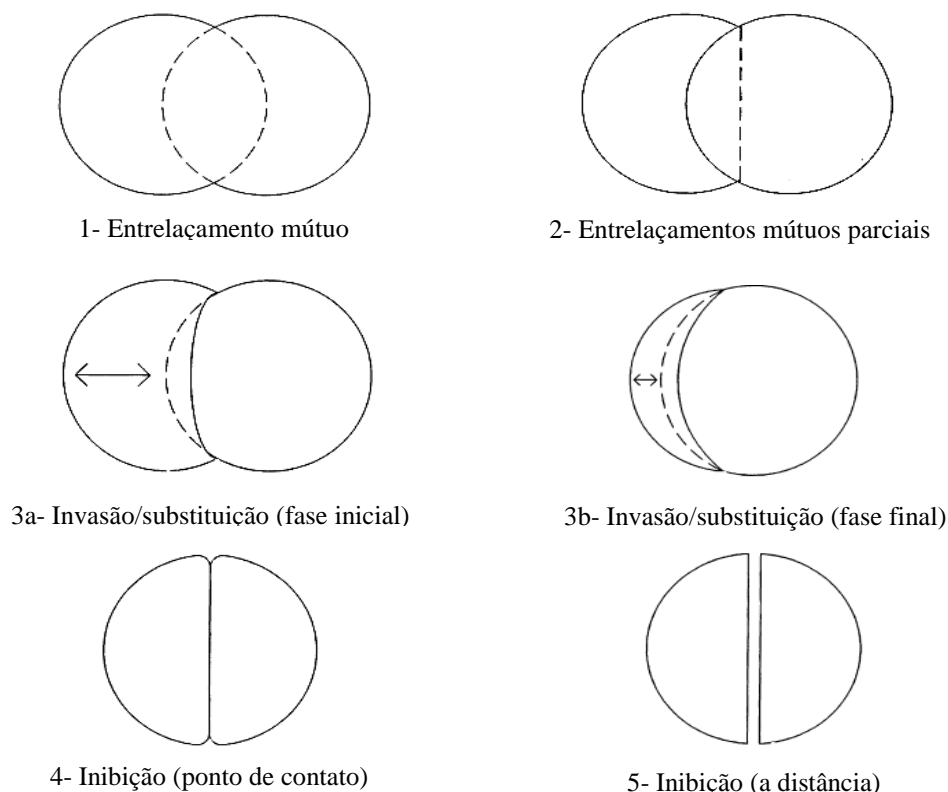
A manipulação do experimento foi executada em câmara de fluxo laminar esterilizada (20 minutos com a luz ultravioleta). Em seguida as placas foram incubada à temperatura de  $25 \pm 2$  °C com fotoperíodo de 12 horas, por sete dias, período determinado para o crescimento das colônias de *Trichoderma* (DIANESE et al., 2012).

Após sete dias de crescimento foram feitas as avaliações das possíveis interações entre os 6 isolados de *Trichoderma* spp., para avaliar as diferentes interações fúngicas entre os isolados (Tabela 1, Figura 3).

**Tabela 1.** Representação das interações entre os isolados de *Trichoderma*.

Interação	Definição
1 Entrelaçamento mútuo	Crescimento em que ambos os fungos crescem sem sinal macroscópico de interconexões.
2 Entrelaçamento mútuo parcial	Crescimento onde o fungo cresce acima ou abaixo do outro sem qualquer zona de inibição.
3 Invasão/substituição	Um micélio cresce sobre o outro e começa

		consumi-lo, podendo substituí-lo.
4	Inibição (ponto de contato)	Os fungos aproximam-se um do outro até com uma linha de demarcação de 1 a 2 mm, entre as duas colônias claramente visíveis.
5	Inibição (à distância)	Inibição a uma distância > 2 mm.



**Figura 3.** Diagrama esquemático das interações entre duas linhagens diferentes de fungos filamentosos crescidos em ágar batata dextrose (Modificado de Stahl e Cristensen, 1992).

As interações foram realizadas por oposição direta entre culturas duplas de micélio, conforme descrito por Skidmore & Dickinson (1976), Stahl & Christensen (1992) e Molla et al. (2001). Os cinco modos de interações entre fungos filamentosos são mostrados na Tabela 1 e Figura 3.

## RESULTADOS E DISCURSÃO

A análise dos dados da esporulação dos 12 isolados do fungo *Trichoderma* spp., em arroz e milho apresentaram resultados significativos conforme a (Tabela 2), Os seguintes isolados UFT 14, UFT 25, UFT 37, UFT 63, UFT 79 e UFT 313 obtiveram a maior esporulação com médias variando de  $1,4 \times 10^9$  a  $2,7 \times 10^9$  esporos  $g^{-1}$ , em arroz. Em milho, os isolados com maior esporulação foram UFT 79, UFT 92, UFT 312 e UFT 313, com esporulação média variando de  $1,1 \times 10^8$  a  $3,9 \times 10^9$  esporos  $g^{-1}$ .

Os isolados UFT 57, UFT 92, UFT 201, UFT 205, UFT 312 e UFT 314 apresentaram menor número de esporos em arroz variando de  $1,8 \times 10^7$  a  $5,2 \times 10^7$  esporos  $g^{-1}$ . Já em milho os isolados com menor número de esporos foram UFT 14, UFT 25, UFT 37, UFT 57, UFT 63, UFT 201, UFT 205, UFT 314.

**Tabela 2.** Esporulação média de esporos 1 g/9 ml do fungo *Trichoderma* spp., em substrato arroz e milho.

Tratamentos	Esporulação de conídios ( $\times 10^7$ a $\times 10^9$ )	
	Arroz	Milho
UFT 25 ( <i>T. harzianum</i> )	$2,7 \times 10^9$	$9,4 \times 10^7$
UFT 63 ( <i>T. virens</i> )	$2,6 \times 10^9$	$6,8 \times 10^7$
UFT 313 (Não identificado)	$2,5 \times 10^9$	$1,4 \times 10^9$
UFT 14 ( <i>T. harzianum</i> )	$2,3 \times 10^9$	$6,7 \times 10^6$
UFT 37 ( <i>T. pinnatum</i> )	$1,6 \times 10^9$	$6,7 \times 10^7$
UFT 79 ( <i>T. harzianum</i> )	$1,4 \times 10^9$	$3,9 \times 10^9$
UFT 92 ( <i>T. virens</i> )	$5,2 \times 10^7$	$1,1 \times 10^8$
UFT 205 -Harz ( <i>T. asperelloides</i> )	$5,0 \times 10^7$	$4,7 \times 10^7$
UFT 312 (Não identificado)	$3,7 \times 10^7$	$1,1 \times 10^8$
UFT 57 ( <i>T. virens</i> )	$2,5 \times 10^7$	$4,3 \times 10^7$
UFT 201- GOK ( <i>T. asperelloides</i> )	$2,0 \times 10^7$	$7,0 \times 10^7$
UFT 314 (Não identificado)	$1,8 \times 10^7$	$8,8 \times 10^7$
C.V.	2,07	1,1

Esporulação média ( $\times 10^7$  a  $10^9$  esporos. $g^{-1}$  de substrato). Tukey ao nível de 5 % de probabilidade.

Os dois substratos permitiram o crescimento dos isolado, embora os melhores fossem em arroz. Uma alta produção de esporos também foi observada por alguns autores nos substratos testados por eles, tais como raiz de mandioca triturada e torta de algodão, farinha de vagens de algaroba, grãos de sorgo, serragem de madeira com farelo de trigo, sendo que a menor esporulação foi obtida nos substratos de torta de algodão, torta de algodão com mandioca, arroz com casca, farelo de trigo, trigo, mistura eco solo, bagaço de cana-de-açúcar, casca de arroz e turfa (LARANJEIRA et al.,1996; KOIKE & LUCON, 2003).

Conforme Leite (2003), para obter uma excelente esporulação de conídios em larga escala, tem se utilizados cereais de baixo custo destacando-se o arroz. Alguns autores citam o arroz parboilizado como um eficiente substrato para obtenção de inóculo de *D. pulvinata* (CATALÃO, 2004; MELO, 2006).

Entretanto, nos últimos anos pesquisadores tem testado diversos tipos de substratos, buscando um novo cereal que seja eficiente e de baixo custo como Napier triturado, casca de arroz e casca de cana. O arroz ainda tem sido um dos substratos mais utilizados para o crescimento e esporulação de fungos agentes de biocontrole de interesse biotecnológico.

Com relação à viabilidade dos conídios, os resultados demonstram que para alguns isolados utilizando o arroz e milho houve diferença significativa na viabilidade dos conídios obtidos (Tabela 3). Houve alta esporulação e alta viabilidade entre os substratos, com porcentagens de 88 a 100% de germinação dos conídios g<sup>-1</sup> em arroz e 77 a 100% em milho. Porém, as maiores médias de percentagem de conídios viáveis foram encontradas para os isolados UFT 14, UFT 37, UFT 79, UFT 205 e UFT 313 para o arroz e UFT 25, UFT 79, UFT 201, UFT 205 e UFT 313 para milho.

**Tabela 3.** Viabilidade de conídios 1g/9 ml do fungo *Trichoderma* spp., em substrato arroz e milho.

Tratamentos	Conídios viáveis (%)	
	Arroz	Milho
UFT 313 (Não identificado)	100 a	100 a
UFT 14 ( <i>T. harzianum</i> )	100 a	90 d
UFT 37 ( <i>T. pinnatum</i> )	100 a	94 b
UFT 79 ( <i>T. harzianum</i> )	100 a	100 a
UFT 205 -Harz ( <i>T. asperelloides</i> )	100 a	100 a
UFT 201 – GOK ( <i>T. asperelloides</i> )	98 b	100 a

UFT 314 (Não identificado)	98 b	89 d
UFT 312 (Não identificado)	96 c	92 c
UFT 63 ( <i>T. virens</i> )	96 c	78 f
UFT 25 ( <i>T. harzianum</i> )	94 d	100 a
UFT 57 ( <i>T. virens</i> )	89 e	81 e
UFT 92 ( <i>T. virens</i> )	88 e	77 f
C.V	0,60	0,66

Viabilidade média (esporos.g<sup>-1</sup> de substrato). Médias seguidas de mesma letra, minúscula na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade.

Quanto a interações micelial, dos 12 isolados de *Trichoderma* comparados entre si, cada um obteve uma nota de 1-5 o qual corresponde a diferentes interações (Tabela 4). Os resultados comprovam a possibilidade que ambos micro-organismos, sendo do mesmo gênero, poder haver inibição do crescimento do outro. Os isolados de *Trichoderma* avaliados nesse estudo demonstraram resultados significativamente diferentes quando comparados pelo teste de compatibilidade entre culturas duplas de micélio.

**Tabela 4.** Avaliação de interação entre diferentes isolados de *Trichoderma* spp., em meio de cultura BDA.

Tratamentos	Interação
UFT 25 x UFT14	1
UFT25 x UFT313	1
UFT 63 x UFT37	1
UFT63 x UFT79	2
UFT25 x UFT63	3 a
UFT63 x UFT14	3 a
UFT313 x UFT37	3 a
UFT37 x UFT79	3 a
UFT63 x UFT313	3 b
UFT14 x UFT79	4
UFT14 x UFT37	4
UFT25 x UFT79	4
UFT25 x UFT37	4
UFT313 x UFT79	4
UFT313 x UFT14	4

Os isolados UFT 25 x UFT14, UFT25 x UFT313, UFT 63 x UFT37 demonstraram interação significativa pelo teste de compatibilidade quando comparado por cultura mista entre micélio. A formação do halo é um indicador da

produção de substâncias antibióticas além dos compostos metabólitos voláteis e não voláteis (DENNIS & WEBSTER, 1971).

## **CONCLUSÕES**

O arroz e o milho são excelentes substratos para a esporulação e viabilidade de conídios do fungo do gênero *Trichoderma*.

Quanto ao teste de compatibilidade as melhores interações foram entre os isolados UFT 25 x UFT14, UFT 25 x UFT 313 e UFT 63 x UFT 37.

## REFERENCIAS BIBLIGRAFICAS

CATALÃO, G. L. **Cultivo de *Dicyma pulvinata* para o biocontrole de *Microcyclusulei Hevea* spp.**, Monografia de Graduação. Brasília, DF, Faculdades da Terra de Brasília. 2004.

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Propriedades antagonistas de espécies Grupos de *Trichoderma*, Produção de antibióticos não-volátil. **Transactions of the British Mycological Society**. Soe, v. 57, p. 25-39, 1971.

DIANESE, A. de C.; BLUM, L. E. B.; MELLO, S. C. M. de. Uso de *Trichoderma* spp., para o manejo da podridão-do-pé-do-mamoeiro causada por *Phytophthora palmivora* Butler. Planaltina-DF: **Embrapa Cerrados**, 18 p., 2012.

DRUZHININA, I. S.; KOPCHINSKIY A.; KUBICEK, C. P. The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. **Mycoscience**, v. 47, p. 55-64, 2006.

KOIKE C. M.; LUCON, C. M. M. Efeito de diferentes fatores na esporulação crescimento de isolados de *Trichoderma* spp., **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, supl. 3, p. 96-99, 2003.

LARANJEIRA, D.; OLIVEIRA, S. M. A. DE; MENEZES, M., NEVES, R. P. Efeito de diferentes substratos na esporulação de espécies de *Trichoderma*. **Summa Phytopatologica**, v. 22, p. 178-181, 1996.

LEITE, L. G.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; ALVES, S. B. **Produção de fungos entomopatogênicos**. Ribeirão Preto: A.S. Pinto, 92 p., 2003.

MELO, D.F. Produção, armazenamento, estabilidade e eficiência de linhagens de *Dicyma pulvinata* (Berk & M.A. Curtis) Arx [syn. *Hansfordia pulvinata* (Berk & Curtis)] no biocontrole para o mal-das-folhas da seringueira. 2006. 130 f. **Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)**, Brasília, DF, Universidade de Brasília, 2006.

MELO, I. S. Potencialidades da utilização de *Trichoderma* spp., no controle biológico de doenças de plantas. In: BETIOL, Wagner. (Org) **Controle Biológico de doenças de plantas**; Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA. p. 135-156, 1991.

MOLLA, A. H.; SHAMSUDDIN, Z. H.; HALIMI, M. S.; MORZIAH, M., PUTEH, A. B. Potential for enhancement of root growth and nodulation of soybean co-inoculated with *Azospirillum* and in laboratory systems. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, ,v. 33, n. 4, p. 457-463, 2001.

PERSOON CH. **Disposita Fungo Rum Methodica Neues Mag Bot de Römer**; 1: 81-128. 1794.

SAMUELS, G. J. *Trichoderma*: Systematics, the sexual state, and ecology. **Phytopathology**, v. 96, p. 195-206, 2006.

SKIDMORE, A. M.; DICKINSON, C. H.; PREECE, T. F. **Interactions in relation to biological control of plant pathogens**. In: (Eds.) Microbiology of aerial plant surfaces. New York. Academic Press. pp. 507-528, 1976.

STAHL PD, CHRISTENSEN M. In vitro mycelial interactions among members of a soil microfungal community. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 24, p. 309-316, 1992.