

**FERMENTAÇÃO LÍQUIDA COMO MEIO PARA PRODUÇÃO MASSAL DE
CONÍDIOS DE *Trichoderma***

Morandi, M. A. B; Halfeld-Vieira, B. A.; Bettiol, W.

Embrapa Meio Ambiente

Problema abordado

O fungo *Trichoderma* é um dos agentes de biocontrole de doenças de plantas mais estudados e eficientes em uso na agricultura (BETTIOL et al., 2009). No Brasil há um aumento significativo do interesse desse agente no controle de diversas doenças como o mofo-branco nas culturas do feijoeiro e a soja. Estima-se que o fungo seja utilizado em três milhões de hectares anualmente no país (BETTIOL, 2011). A ampliação do uso do agente biológico é limitada hoje pela capacidade de produção massal e formulação dos esporos em produtos de qualidade.

Atualmente, o processo industrial se baseia no cultivo do fungo em meio sólido utilizando-se grãos de arroz, milho, sorgo, trigo ou em fubá de milho (SINGH; SRIVASTAVA; SINGH, 2007) em que o fungo coloniza esses substratos e produz esporos aéreos. Entretanto, este processo apresenta dificuldades de padronização de diversos fatores, como gradiente de temperatura, pH, umidade, concentração do substrato e tensão de O₂ (HÖLKER; HÖFER; LENZ, 2004). O processo de manipulação destes substratos e relativamente o longo período de fermentação (aproximadamente 7 dias) proporcionam a possibilidade de contaminação por fungos e bactérias. Além disso, o processo demanda grande espaço físico e intensiva mão-de-obra. Um exemplo desta limitação é relatado no processo de produção do Tricovab[®] em grãos de arroz pela CEPLAC, em que a presença de contaminantes é um dos principais entraves no processo de produção massal de *Trichoderma* (COSTA et al., 2006). Estes fatores interferem na qualidade do produto e fazem com que a eficiência do controle biológico seja questionada, acarretando na falta de credibilidade pelo produtor deste componente no manejo integrado de doenças e em prejuízos na produção.

Por outro lado, a fermentação em substrato líquido apresenta como principais vantagens a maior facilidade de padronização do processo, além de permitir uma multiplicação de propágulos em um menor período de tempo. Porém, a produção de esporos de *Trichoderma* por esse processo ainda constitui um desafio, principalmente devido à dificuldade de induzir a produção de conídios submersos do fungo nessas condições.

Entretanto, alguns trabalhos apontam que variações no processo de multiplicação em substrato líquido podem permitir que conídios com boa viabilidade e maior tolerância a fatores adversos sejam produzidos. Este desafio constituiu o foco desta proposta que buscou viabilizar a produção massal de conídios de *Trichoderma* por fermentação líquida.

A Embrapa Meio Ambiente possui uma coleção de isolados promissores deste antagonista (MORANDI et al., 2007), havendo necessidade de avanços para que o seu uso prático seja viabilizado.

Objetivos

O projeto teve como objetivo geral definir as condições de cultivo que viabilizam a produção massal do agente de controle biológico *Trichoderma* por meio da multiplicação em meio líquido, promovendo uma alternativa viável para a multiplicação do fungo com maior qualidade e padronização. Os objetivos específicos foram: determinar as condições de cultivo submerso que promovam a produção massal de conídios e validar as condições de produção massal de conídios de *Trichoderma* em meio líquido, em escala piloto.

Principais contribuições

A principal contribuição deste trabalho foi o estabelecimento de um protocolo de cultivo em meio líquido de *Trichoderma*. Foram avaliados e determinados os principais parâmetros para a produção de esporos de *Trichoderma asperellum* em fermentação líquida: relação carbono/nitrogênio do meio de cultura, pH no início do processo de fermentação, atividade de água, temperatura e fotoperíodo. Para cada parâmetro foi determinado a melhor faixa de forma individualizada. Após determinados, foi avaliada a fermentação em escala de laboratório utilizando os melhores parâmetros e estabelecido o protocolo de produção. O processo agora será otimizado para escalas maiores. Essas informações que compõem o Protocolo de Produção estão sendo avaliadas quanto à possibilidade de proteção intelectual.

Impactos Sociais, Econômicos e Ambientais

O estabelecimento de um processo de produção massal de conídios de *Trichoderma asperellum* em meio líquido permitirá a multiplicação em menor tempo que a fermentação em substrato sólido, vislumbrando-se um ganho em qualidade do produto, além de um maior retorno econômico ao setor industrial ligado a este segmento. Como consequência o usuário deverá obter um produto com menor preço e a sua melhor qualidade elevará o potencial de êxito deste fungo no biocontrole, atribuindo-se maior credibilidade ao controle biológico como componente no manejo integrado de doenças e, por conseguinte, redução no uso de agroquímicos.

O projeto desenvolveu o processo básico em escala de laboratório. O próximo passo é avaliar o desempenho da fermentação em escala piloto e comercial. Para isso, é importante a participação de empresas do setor interessadas na tecnologia. Serão buscadas parcerias com o setor produtivo para dar continuidade aos trabalhos na forma de desenvolvimento cooperativo, de forma a viabilizar comercialmente a tecnologia.

Referências

BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B.; PINTO, Z.V.; PAULA JÚNIOR, T.J.; CORREA, E.B.; MOURA, A.B.; LUCON, C.M.M.; COSTA, J.C.B.; BEZERRA, J.L. Bioprotetores comerciais para o controle de doenças de plantas. **Revisão anual de patologia de plantas**, Passo Fundo, v. 17, p. 111-147, 2009.

BETTIOL W. Biopesticides use and research in Brazil. **Outlooks on pest management**, Essex, v. 22, n. 6, p. 280-283, 2011.

COSTA, J.C.B.; BEZERRA, J.L.; VELOSO, J.L.M.; NIELLA, G.R.; BASTOS, C.N. Controle Biológico da vassoura-de-bruxa do cacauero na Bahia. In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T.J.P.; PALLINI, A. **Tecnologias alternativas para o controle de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG, p. 25-47, 2006.

HÖLKER, U.; HÖFER, M.; LENZ J. Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. **Applied microbiology and biotechnology**, Münster, v. 64, p. 175-186, 2004.

MORANDI, M.A.B.; POMELLA, A. W. V.; SANTOS, E.R. dos; FERNANDES, M.; CAOVILO, L. E.; FERNANDES, A. O. Selection of *Trichoderma* spp. isolates to control

the bean white-mold fungus *Sclerotinia sclerotiorum* in winter crops. In: MEETING OF THE WORKING GROUP "BIOLOGICAL CONTROL OF FUNGAL AND BACTERIAL PLANT PATHOGENS", 9., 2006, Spa, Belgium. **Proceedings...** IOBC/WPRS Bulletin, v. 30, n. 6, p. 79-82, 2007.

SINGH, A.; SRIVASTAVA, S.; SINGH, H.B. Effect of substrates on growth and shelf life of *Trichoderma harzianum* and its use in biocontrol of diseases. **Bioresource technology**, Essex, v. 98, p. 470-473, 2007.