

### Teste *in vitro* visando o controle biológico de isolados de *Aspergillus flavus* que contaminam amêndoas de Castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*)

SOUZA<sup>1\*</sup>, Inaira Leoni; LIMA-PRIMO<sup>2</sup>, Hyanameyka Evangelista; SCHURT<sup>2</sup>, Daniel Augusto; SANTOS<sup>1</sup>, Aline Ferreira; SOUZA<sup>2</sup>, Giovanni Ribeiro.

<sup>1</sup>Acadêmica de agronomia, <sup>2</sup>Estudante do curso de agronomia - UFRR, Bolsista Embrapa Roraima, UFRR, CEP: 69300-000 Boa Vista, RR; <sup>2</sup>Embrapa Roraima, CEP: 69301-970, Boa Vista, RR; E-mail: [inairaleoni@hotmail.com](mailto:inairaleoni@hotmail.com)

Palavras Chave: Controle biológico, *Aspergillus flavus*, *Trichoderma* spp., *Bertholletia excelsa*.

#### INTRODUÇÃO

O fungo predominante associado a amêndoas de castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*) é o fungo *Aspergillus* spp., especialmente espécies da Seção *Flavi*, que provocam o apodrecimento dos ouriços e produzem micotoxinas do tipo aflatoxinas (AFs), que são contaminantes naturais produzidas por fungos, que podem ter efeitos adversos para a saúde. Atualmente, as exportações de amêndoas de castanha estão seriamente comprometidas, pois a produção brasileira tem sido afetada por uma crescente contaminação por AFs. Diante disso, há necessidade de se investigar modos de redução da contaminação em amêndoas de castanha, para assegurar a segurança sanitária deste produto (VAN EGMOND et al., 2007).

O controle biológico de fungos produtores de micotoxinas apresenta-se como uma alternativa viável. Diante disso, o trabalho teve como objetivo avaliar o antagonismo *in vitro* de fungos do gênero *Trichoderma* spp. contra espécies do fungo *Aspergillus* spp.

#### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no laboratório de fitopatologia da Embrapa Roraima, utilizando-se 21 isolados do fungo *Trichoderma* spp., pertencentes a coleção de microrganismos. Também foram utilizados sete isolados do fungo *Aspergillus* spp. que foram isolados de amêndoas de Castanha-do-brasil provenientes de ouriços coletados de castanheiras cultivadas no Campo experimental Confiança da Embrapa-Cantá/RR. Tais isolados, foram replicados em placas de Petri de 90mm, e incubadas em B.O.D a 27 ± 2°C, onde foram replicados em meios de culturas diferentes para cada isolado, sendo eles o meio de cultura BDA para o *Trichoderma* spp. e o meio ágar coco para o *Aspergillus* spp. O verso e reverso da colônia no meio de cultura ágar coco foram observados após 96h, sob luz ultravioleta (365nm), para verificar a presença de um halo fluorescente azulado, o qual indica a presença de micotoxina. Inicialmente foram testados todos os 21 isolados de *Trichoderma* spp. contra apenas um isolado de *Aspergillus* spp. Para tal, discos de 5mm de diâmetro contendo micélio de cada isolado de *Trichoderma* spp. e *Aspergillus* spp. foram retirados de colônias com cinco dias de cultivo e depositados, simultaneamente, em extremidades opostas nas placas de Petri, contendo o meio de cultura BDA para avaliar o antagonismo dos isolados, conforme descrito por Mello ET AL. (2007). Foram utilizadas cinco repetições para cada isolado. Após sete dias de cultivo, avaliou-se o crescimento micelial dos fungos adotando a escala proposta por Bell et al. (1982) onde considera como antagonístico ou eficiente o patógeno que em sua escala recebe nota menor ou igual a 3,0. O mesmo procedimento foi adotado para avaliar o antagonismo dos cinco isolados eficientes de *Trichoderma* spp. contra outros seis isolados de *Aspergillus* spp.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 21 isolados de *Trichoderma* spp. testados, 19 apresentaram nota menor ou igual a 3,0, conforme valores determinados pelas notas da escala proposta por Bell et al. (1982), confirmando a capacidade destes em inibir o crescimento *in vitro* do fungo *Aspergillus* spp. Dentre os 19 isolados, selecionou-se cinco antagonistas mais eficientes que apresentaram notas de 2 a 2,5 na escala quando confrontado com um isolado de *Aspergillus* spp. Quando confrontados com os outros seis isolados, recebeu notas de 1,5 a 2, demonstrando que os cinco isolados testados apresentam alto antagonismo *in vitro*. Assim, tais isolados de *Trichoderma* spp. Apresentam efetivo controle biológico contra os fungos produtores de micotoxinas. Dados obtidos por outros autores evidenciam que diversos mecanismos podem estar envolvidos na ação antagonista de fungos do gênero *Trichoderma*, tais como parasitismo direto, antibiose e competição (BENHAMOU e CHET, 1996).

#### CONCLUSÕES

Cinco isolados de *Trichoderma* spp. se revelaram altamente efetivos *in vitro* contra sete isolados de *Aspergillus* spp. produtores de micotoxinas em amêndoas de castanha-do-brasil.

#### AGRADECIMENTOS

A Embrapa Roraima pela concessão da bolsa de iniciação científica pela disponibilização da infraestrutura possibilitando a realização desse experimento.

BELL, D.K.; WELLS, H.D.; MARKHAM, C. R. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*, v.72, n.4, p.379-382, 1982.

BENHAMOU, N.; CHET, I. Parasitism of *Sclerotia* of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*: ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathology*, v.86, n.4, p.405-416, 1996.

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.

VAN EGMOND, H.P.; SCHOTHORST, R.C.; JONKER, M.A. Regulations relating to mycotoxins in food: Perspectives in a global and European context. *Anal. Bioanal. Chem.*, v.389, p.147-157, 2007.