

Potencial dos isolados de *Trichoderma asperellum* para o biocontrole da brusone (*Magnaporthe oryzae*) do arroz

Thatyane Pereira de Sousa¹, Amanda Abdallah Chaibub², Rejanne Lima Arruda³, Gisele Barata da Silva⁴, Marta Cristina Corsi de Filippi⁵

A brusone (*Magnaporthe oryzae*), é um dos principais fatores limitantes da produtividade do arroz no Brasil. O seu controle tem sido feito com o uso intensivo de agrotóxicos. O manejo integrado da brusone requer a adoção de práticas sustentáveis levando em consideração a segurança ambiental e alimentar. Fungos do gênero *Trichoderma* spp. são considerados como potenciais agentes de biocontrole e promotores de crescimento para muitas espécies de plantas. A concorrência que estabelece com o patógeno, aliado à capacidade de parasitismo e de produção de compostos antifúngicos são os mecanismos importantes para o biocontrole. O objetivo deste trabalho foi caracterizar o potencial de biocontrole, de diferentes isolados de *Trichoderma asperellum* ao patógeno *M. oryzae*. Foram utilizados quatro isolados de *T. asperellum* (Ufra.T06, Ufra.T09, Ufra.T12 e Ufra.T52) pertencentes à coleção de microorganismos do Laboratório de Proteção de Plantas da Universidade Federal Rural da Amazônia (LPP/UFRA). O isolado Py 10.900 de *M. oryzae* utilizado, pertence à coleção de fungos e microrganismos multifuncionais da Embrapa Arroz e Feijão. O ensaio, conduzido em delineamento inteiramente casualizado, constituiu-se de cinco tratamentos: Ufra.T06 x *M. oryzae*; Ufra.T09 x *M. oryzae*; Ufra.T12 x *M. oryzae*; Ufra.T52 x *M. oryzae*; *M. oryzae* (controle), em cinco repetições. Discos de 5 mm de diâmetro de cada isolado de *T. asperellum* foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura BDA, e incubadas por 48h; em seguida, um disco de 5 mm de diâmetro do patógeno foi depositado a 5 cm de distância do disco de *T. asperellum*, estabelecendo-se assim o pareamento de culturas, de acordo com Dennis & Webster (1971). Realizou-se a quantificação da atividade enzimática de protease durante o co-cultivo dos respectivos isolados *T. asperellum* e *M. oryzae*. Frascos erlenmeyers, contendo 25 ml de meio mínimo foram suplementados com 1 g de micélio de *M. oryzae*. Um mililitro de suspensão, contendo 10^8 con.mL⁻¹ de cada isolado de *T. asperellum* foi adicionado aos erlenmeyers, de acordo com o tratamento. Os frascos permaneceram em agitador rotatório (150 rpm à temperatura de 28 °C), durante três dias. Foram realizadas coletas do meio de cultura, de cada tratamento às 24, 48 e 72 horas após o início do ensaio, as quais foram centrifugadas à 10.000 rpm, por 20 minutos e armazenadas para posterior quantificação. O melhor tratamento do pareamento foi avaliado em Microscopia Eletrônica de varredura, a partir de fragmentos coletados entre as duas colônias crescidas em papel de filtro, submetidas à secagem em ponto crítico de CO₂ (aparelho Autosamdri®, 815, Série A) colocadas em stubs, onde foram submetidos à metalização, no aparelho metalizador Denton Vacuum, Desc VA. Após a metalização, os stubs contendo as amostras foram levados para a visualização em MEV - aparelho Jeol, JSM-6610, equipado com EDS, Thermo Scientific NSS Spectral Imaging para a obtenção das imagens. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0.05$), utilizando-se o software SPSS Statistics 21. No teste de pareamento todos os tratamentos inibiram o crescimento de *M. oryzae* em mais de 80%, o tratamento com o isolado Ufra.T09 apresentou o maior percentual de inibição à *M. oryzae* com, 91,18%, diferindo estatisticamente apenas do isolado Ufra.T52, que apresentou 83,79%. Para a atividade de protease o tratamento com o isolado Ufra.T52 apresentou um aumento na sua atividade em mais de 100%, de 24 para 72 horas e diferiu de todos os demais isolados em todos os horários de coleta. A análise da microscopia mostrou o crescimento vegetativo de *T. asperellum* (Ufra.T09) sob hifas de *M. oryzae*, que se apresentam mais espessas, ambas desenvolvidas no mesmo espaço. Foi possível documentar as hifas de *T. asperellum*, em atividade microparasítica, formando um anel em volta da hifa de *M. oryzae*. De acordo com os dados apresentados pode-se observar que os isolados de *T. asperellum* se distinguem quanto ao mecanismo empregado, como competição e produção de enzimas líticas, assim conclui-se que todos os isolados de *T. asperellum*, embora por mecanismos diferentes, possuem potencial como agentes de controle biológico no manejo de brusone do arroz, favorecendo assim uma possível utilização combinada destes isolados a fim de potencializar o biocontrole.

¹ Engenheira-agrônoma, estudante de Pós-graduação em Fitossanidade, Universidade Federal de Goiás, thatyane@hotmail.com

² Bióloga, Estudante de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, amandachaibub@gmail.com

³ Farmacêutica, estudante de Pós-graduação, Doutorado em Inovação Farmacêutica, Universidade Federal de Goiás, rejanne.lima.arruda@hotmail.com

⁴ Engenheira-agrônoma, D.Sc. em Fitopatologia, Universidade Federal Rural da Amazônia, gibarata@bol.com.br

⁵ Engenheira-agrônoma, Ph.D em Fitopatologia e Microbiologia, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, cristina.filippi@embrapa.br