

## Ajuste de Metodologia para Detecção de Resistência de *Trichoderma* spp. ao Fungicida Carbendazim em Microplacas

Amanda Carvalho Monteiro da Silva<sup>1</sup>, Elder Tadeu Barbosa<sup>2</sup> e Murillo Lobo Junior<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Graduanda em Agronomia, estagiária da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

<sup>2</sup> Farmacêutico, técnico da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

<sup>3</sup> Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

**Resumo** - O controle biológico se tornou uma prática bem aceita na agricultura e pesquisas vêm investindo em avanços no uso de microrganismos benéficos, que incluem a compatibilidade com produtos fitossanitários como os fungicidas, os herbicidas e os inseticidas. A compatibilidade com pesticidas usados nas lavouras tem influência direta no desenvolvimento desses bioagentes, e é um ponto crítico do seu sucesso. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi otimizar uma metodologia desenvolvida para detectar isolados de *Trichoderma* spp. resistentes ao fungicida Carbendazim, que afeta mais de 40 gêneros de fungos. O método proposto utiliza microplacas de poliestireno transparente com 96 poços e substitui o corante Alamar Blue pela resazurina. A resazurina é o principal componente do Alamar Blue, utilizado como indicador colorimétrico de viabilidade e proliferação celular que, através de reações de oxidação-redução, passa da cor azul (forma oxidada e não fluorescente) para rosa (forma reduzida e fluorescente). A redução ocorre quando o isolado de *Trichoderma* spp. consegue crescer na presença do fungicida e do corante. Foram analisados quatro isolados de *Trichoderma* spp. da coleção de fungos e microrganismos multifuncionais da Embrapa Arroz e Feijão, com concentrações de inóculo de  $1 \times 10^5$ ,  $10^6$  e  $10^7$  conídios de *Trichoderma* spp. mL<sup>-1</sup> e o fungicida Carbendazim nas concentrações 10 ppm, 100 ppm e 1000 ppm suspensos em meio líquido Czapek com 0,05% de ágar. Com as combinações entre as suspensões de conídios e soluções do fungicida, mais as respectivas testemunhas, foram obtidos 32 tratamentos para cada isolado. Para as testemunhas foi utilizada água estéril e meio Czapek + 0,05% de ágar. Os ensaios foram realizados com a distribuição em cada poço de 60 µL de suspensão de conídios + 10 µL do corante Resazurim + 140 µL da suspensão do fungicida por microplaca. Posteriormente, as placas foram vedadas com filme plástico e incubadas em BOD a 25 °C no escuro. Foram realizadas as leituras em espectrofotômetro após 24, 48 e 72 horas com absorbância em 570 e 600 nm, com auxílio do programa Gene 5, versão 2.0. Após a leitura, observou-se que os quatro isolados apresentaram sensibilidade ao fungicida. Testes de comparação demonstraram diferenças entre os corantes quanto ao tempo de incubação, onde Alamar Blue requer um tempo mais curto em comparação com a resazurina para se obter os resultados. A vantagem da resazurina sobre o Alamar Blue é financeiro. O custo de 10 mL de Alamar Blue é de aproximadamente R\$400,00, enquanto o de 10 mL de resazurina é de aproximadamente R\$0,43, com uma diferença bastante expressiva no preço desses reagentes. O método proposto com o uso da resazurina demonstrou ser rápido e eficiente na comparação de isolados de *Trichoderma* spp. quanto à reação ao fungicida Carbendazim, sendo um método de baixo custo, com pouca necessidade de espaço e mão de obra.