

## Uso de *Trichoderma* spp. para o Controle da Antracnose em *Euterpe precatoria* no Acre

Keila Kris da Costa<sup>1</sup>, Conceição Paula Bandeira Rufino<sup>2</sup>, Paulo Eduardo França de Macedo<sup>3</sup> e Sônia Regina Nogueira<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduada em Ciências Biológicas, União Educacional do Norte, bolsista do CNPq na Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

<sup>2</sup>Bióloga, mestre em Ciência e Inovação Tecnológica, União Educacional do Norte, Rio Branco, AC.

<sup>3</sup>Engenheiro-agrônomo, mestre em Fitopatologia, analista da Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

<sup>4</sup>Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

**Resumo** – O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de *Trichoderma* spp. no controle da antracnose do açai-solteiro. Foram utilizados dez isolados desse fungo. Avaliou-se in vitro o antagonismo de *Trichoderma* sobre quatro isolados de *Colletotrichum gloesporioides*. No ensaio in vivo os isolados de *Trichoderma* spp. foram utilizados para colonização de substrato vegetal oriundo de casca de castanha-do-brasil. Mudanças de *Euterpe precatoria* foram crescidas em tubetes contendo esse substrato para o controle biológico da antracnose. O experimento permaneceu por 10 meses no viveiro, sendo realizadas avaliações mensais da severidade da doença. Os resultados in vitro mostraram que os isolados de *Trichoderma* spp. apresentaram efeito antagonista ao fitopatógeno, inibindo seu crescimento, destacando-se os isolados 188 e 191. Em relação à severidade da doença, os resultados mostraram que os isolados de *Trichoderma* spp. foram eficientes para o controle da antracnose nas condições de viveiro. As avaliações foram realizadas mensalmente por um período de 10 meses e o isolado 191 destacou-se dos demais na redução da severidade da doença, confirmando os resultados da avaliação in vitro. Os resultados demonstraram bom potencial de *Trichoderma* na composição das estratégias para o controle da antracnose em açai-solteiro.

Termos para indexação: açai, antagonismo, biocontrole.

## Introdução

O estímulo a novos plantios de açai-solteiro tem demandado grande produção de mudas, no entanto, alguns problemas como a alta taxa de mortalidade no viveiro e no campo, ocasionada por doenças, têm reduzido a quantidade e qualidade das mudas, o que dificulta a implantação de novas áreas (Nogueira et al., 2013). A principal doença na fase de produção de mudas e início de plantio é a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum gloesporioides*. O manejo adequado dessa doença é fundamental para o sucesso na implantação de novos campos de produção (Nogueira et al., 2013).

Dados da literatura mostram que muitas doenças em cultivos protegidos tendem a se tornar mais severas, pois além dos fatores ambientais mais favoráveis, também devem ser considerados o estado nutricional das plantas e as condições de irrigação que podem ser mais favoráveis aos patógenos. A adoção de diferentes métodos de controle de doenças em plantas constitui parte do manejo integrado, fundamental para um controle eficiente da doença.

Sendo assim, o controle biológico envolve ações combinadas de fatores bióticos e abióticos do ambiente na manutenção das densidades características da população, ou seja, do equilíbrio natural, pois muitos organismos, pragas potenciais, podem ser mantidos em densidades muito abaixo dos níveis de danos, por inimigos naturais que ocorrem naturalmente no campo (Machado et al., 2012).

As espécies do gênero *Trichoderma* estão entre as mais estudadas, pois são encontradas naturalmente em quase todos os tipos de solo e agem contra fitopatógenos por diferentes mecanismos de ação, com a promoção do crescimento das plantas e indutores de resistência contra diversos patógenos, com efeitos benéficos para as plantas (Brotman et al., 2010).

Segundo Machado et al. (2012), Weindlin, em 1936, realizou o primeiro trabalho utilizando *Trichoderma* no controle de doenças causadas em citros por *Rhizoctonia solani* Kühn e a partir daí vários trabalhos foram feitos. O potencial de *Trichoderma* spp. como agente de biocontrole é conhecido há mais de 60 anos, e muitos isolados são simbiotes de plantas e podem atuar no controle de fitopatógenos (Brotman et al., 2010). Este trabalho teve como objetivo avaliar diferentes isolados do fungo *Trichoderma* spp. contra o fitopatógeno *Colletotrichum gloeosporioides* em condições in vitro e in vivo.

## Material e métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Acre. Para obtenção dos isolados de *Trichoderma* spp. foram coletadas amostras de solo e raízes em diferentes locais. Os isolados de *C. gloeosporioides* foram obtidos de folhas de *E. precatória* com sintomas típicos de antracnose.

O antagonismo in vitro foi feito pelo método do pareamento de colônias em meio de cultura, sendo os discos de micélio do antagonista e patógeno depositados em lados opostos de placas de Petri contendo o meio BDA + cloranfenicol. As placas foram mantidas em câmara de crescimento a 25° C com fotoperíodo de 12 horas. Aos 7 e 10 dias de incubação foi realizada a avaliação do antagonismo com uso de escala de notas baseada no critério de Bell et al. (1982).

Posteriormente, os isolados de *Trichoderma* spp. avaliados no ensaio in vitro foram utilizados para colonização de substrato oriundo de castanha-do-brasil e crescimento de mudas de *E. precatória* a fim de se verificar seu efeito na indução de crescimento e na redução da severidade da antracnose. O experimento foi montado em delineamento experimental de blocos ao acaso, com 11 tratamentos (10 isolados de *Trichoderma* spp. mais a testemunha). Foram utilizadas quatro repetições por tratamento e a parcela experimental continha cinco plantas, totalizando 220.

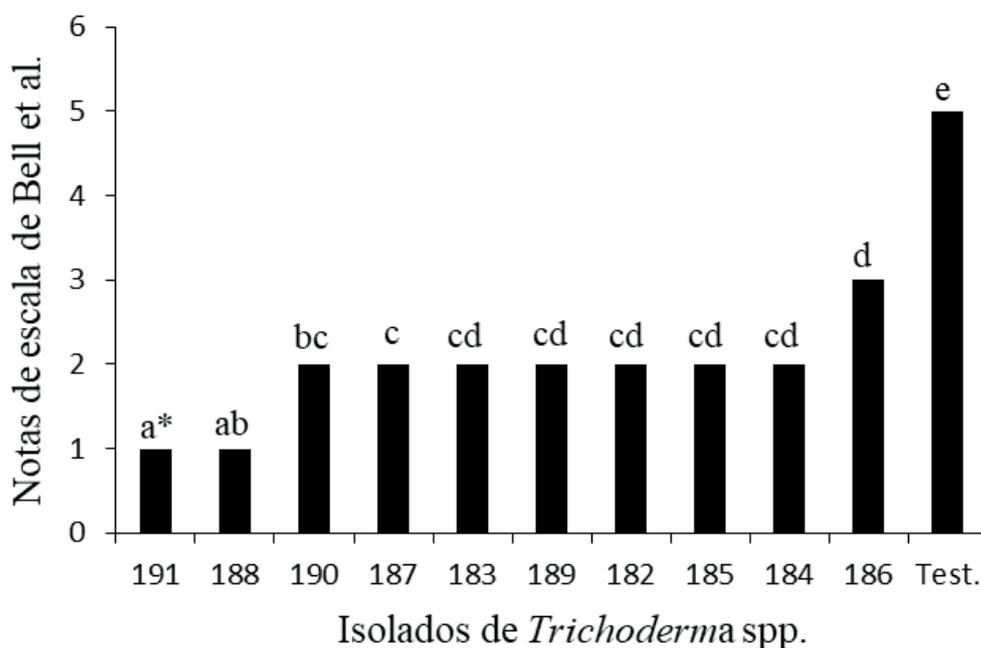
As mudas permaneceram no viveiro por 10 meses, sendo as avaliações da severidade realizadas mensalmente utilizando-se uma escala visual de notas. Ao final do experimento foram quantificadas as variáveis altura da planta, diâmetro do coleto e número de folhas. Também foram obtidos os dados de massa verde e de massa seca de parte aérea e da raiz das plantas, a fim de se avaliar o efeito do uso de *Trichoderma* spp. no crescimento das plantas. Os dados foram submetidos à análise Anova, programa Sisvar, e as médias foram comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott (1974) ao nível de 5% de probabilidade.

## Resultados e discussão

O estudo de antagonismo in vitro é uma forma utilizada para auxiliar a seleção massal de agentes de biocontrole. Pelo experimento realizado verificou-se que todos os isolados do antagonista testados inibiram o patógeno. Rocha (1997) observou que espécies de *Trichoderma* spp. foram seletivas contra diferentes fungos fitopatogênicos. A forma de ação dos isolados de *Trichoderma* spp. utilizados neste trabalho pode ter ocorrido por diferentes mecanismos como liberação de metabólitos (antibiose), pela competição de nutrientes no meio de cultura e/ou micoparasitismo, uma vez que

foram observadas diferentes reações nas placas de Petri. Foi possível observar alo de inibição do crescimento micelial de *C. gloesporioides* em algumas placas. Também foi observado o crescimento total do *Trichoderma* sobre o fitopatógeno, evidenciando características de micoparasitismo e grande capacidade de crescimento do agente de controle biológico. Segundo Bell et al. (1982), isolados do gênero *Trichoderma* conseguem detectar e localizar hifas de fungos suscetíveis, crescendo em sua direção, possivelmente em resposta a estímulos químicos produzidos pela hifa hospedeira.

Como os experimentos 1 e 2 apresentaram a razão de variâncias de 0,079/0,063, valor menor que 7, consideraram-se as variâncias como homogêneas pelo critério de Pimentel (1985) e procedeu-se à análise conjunta dos dois experimentos. Não houve interação significativa entre isolados de *Trichoderma* spp. versus isolados de *C. gloesporioides* ( $p = 0,4519$ ). Foi detectado efeito significativo de isolados de *Trichoderma* spp. ( $p = 0,0001$ ). Os isolados de *Trichoderma* spp. diferiram entre si pelo teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ), sendo 191 e 188 os mais eficientes. Todos os isolados de *Trichoderma* spp. reduziram o crescimento in vitro do patógeno quando comparados à testemunha (Figura 1).



**Figura 1.** Notas atribuídas ao pareamento dos diferentes isolados de *Trichoderma* spp. contra *Colletotrichum gloesporioides*.

Barras seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

O estudo de antagonismo in vitro é uma forma utilizada para auxiliar a seleção massal de agentes de biocontrole e direciona a seleção de isolados, entretanto, nem todos aqueles que apresentam efeitos inibitórios in vitro conseguem exercer o mecanismo de antagonismo in vivo (Bell et al., 1982).

Na Tabela 1 estão apresentadas as respostas do desenvolvimento das mudas de *E. precatória*, crescidas em substrato oriundo do processamento de casca de castanha-do-brasil colonizado com dez isolados de *Trichoderma* spp. Para as variáveis de crescimento analisadas, número de folhas, diâmetro do coleto, massa verde da parte aérea e raiz e massa seca da parte aérea e raiz (Tabela 1), não foram verificadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os isolados de *Trichoderma* spp. e nem mesmo na testemunha controle.

**Tabela 1.** Crescimento de mudas de *Euterpe precatoria* em substrato de castanha-do-brasil colonizado com *Trichoderma* spp.

<i>Trichoderma</i> spp.	NF <sup>(1)</sup>	AP	DC	MVPA	MVR	MSPA	MSR
1 (182)	4,35a	25,25b	10,21a	20,30a	16,50a	6,18a	3,60a
2 (183)	3,95a	23,06b	11,03a	19,23a	17,14a	5,85a	3,69a
3 (184)	4,00a	28,60a	11,13a	22,02a	18,05a	6,75a	4,08a
4 (185)	4,30a	27,47a	11,83a	20,27a	18,65a	6,18a	4,21a
5 (186)	3,95a	25,71b	11,59a	21,96a	18,24a	6,41a	3,95a
6 (187)	3,80a	24,56b	12,31a	20,12a	19,32a	6,51a	4,10a
7 (188)	3,72a	25,21b	11,27a	18,92a	17,68a	6,02a	4,06a
8 (189)	4,05a	24,99b	11,63a	19,57a	18,73a	6,01a	3,91a
9 (190)	4,05a	24,10b	11,98a	18,04a	16,40a	5,53a	3,85a
10 (191)	4,05a	25,93b	12,21a	21,66a	19,41a	6,51a	4,21a
11 Controle	3,75a	28,60a	12,13a	21,87a	20,73a	7,17a	4,81a
<b>CV (%)</b>	<b>8,41</b>	<b>8,20</b>	<b>8,49</b>	<b>15,17</b>	<b>14,47</b>	<b>12,79</b>	<b>16,00</b>

<sup>(1)</sup>NF = Número de folhas. AP = Altura da planta (cm). DC = Diâmetro do colo (mm). MVPA = Massa verde da parte aérea. MVR = Massa verde da raiz. MSPA = Massa seca da parte aérea. MSR = Massa seca da raiz. CV = Coeficiente de variação.

Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Scott-Knott.

Para a variável altura da planta houve efeito significativo. A análise evidenciou a formação de dois grupos de resposta, destacando-se dos demais os isolados 184, 185 e a testemunha (controle), atingindo a maior média de crescimento da planta, quando comparados aos outros tratamentos. Os demais tratamentos não diferiram estatisticamente entre si. Segundo Donoso et al. (2008), a presença de *Trichoderma harzianum*, associado com substrato à base de composto orgânico e inoculado via fertirrigação, proporcionou um incremento significativo em relação à altura da planta e também um bom desenvolvimento do sistema radicular de mudas de *Pinus radiata* em condições de viveiro. Promwee et al. (2014) estudaram em mudas de *Hevea brasiliensis* a incorporação de *T. harzianum* em substrato, a qual proporcionou maior crescimento em mudas cultivadas em vasos. Neste trabalho os resultados indicaram que as mudas de açaí-solteiro crescidas em substrato colonizado com *Trichoderma* spp. não apresentaram diferenças significativas para massa verde e massa seca das raízes.

Em relação à severidade da doença causada por antracnose em *E. precatoria*, os resultados mostraram que os isolados de *Trichoderma* spp. foram eficientes para o controle da doença nas condições de viveiro (Figura 2). O isolado 191 destacou-se dos demais na redução da severidade da doença (Tabela 2).

Silva et al. (2012) trabalharam com 60 isolados de *Trichoderma* spp. e também com o produto comercial *Trichoderma*, para a promoção do crescimento e indução de resistência sistêmica à antracnose, causada por *Colletotrichum lagenarium* em pepineiro, e relataram que 19 isolados apresentaram melhor desempenho quanto à redução dos sintomas de antracnose. Pedro et al. (2012), ao avaliarem a capacidade de *Trichoderma* spp. em promover o crescimento de plantas de feijão e reduzir a severidade da antracnose do feijoeiro (*Colletotrichum lindemuthianum*), utilizando 60 isolados de *Trichoderma* spp., destacaram sete isolados na redução da severidade da antracnose nas plantas tratadas, demonstrando efeito positivo do uso de *Trichoderma* no controle de doenças de plantas.



Fotos: Keila Kris da Costa



**Figura 2.** Severidade de antracnose em mudas de açaí-solteiro crescidas com substrato colonizado com *Trichoderma* spp.

**Tabela 2.** Avaliação da severidade da antracnose em açaí-solteiro utilizando escala visual de notas.

<i>Trichoderma</i> spp. (isolado)	Avaliação (nota de severidade)								
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>	8 <sup>a</sup>	9 <sup>a</sup>
1 (182)	2,05a	2,10a	2,05a	2,40a	3,15a	3,15a	3,80a	2,70a	2,85b
2 (183)	2,00a	2,05a	2,05a	2,15a	2,90a	2,90a	3,35a	2,80ab	3,00bc
3 (184)	2,05a	2,10a	2,05a	2,05a	3,10a	3,10a	3,45a	2,90ab	2,75ab
4 (185)	2,00a	2,05a	2,05a	2,15a	3,05a	3,05a	4,00a	2,95ab	2,85b
5 (186)	2,05a	2,05a	2,10a	2,20a	2,80a	2,80a	3,95a	2,65a	2,85b
6 (187)	2,15a	2,05a	2,20a	2,30a	2,80a	2,80a	3,65a	2,70a	2,85b
7 (188)	2,00a	2,15a	2,05a	2,20a	2,72a	2,72a	3,77a	2,92ab	2,90b
8 (189)	2,00a	2,10a	2,25a	2,40a	2,95a	2,95a	3,35a	2,90ab	2,65ab
9 (190)	2,05a	2,15a	2,00a	2,30a	3,10a	3,10a	4,05a	2,90ab	2,85b
10 (191)	2,00a	2,10a	2,15a	2,40a	3,10a	3,10a	3,55a	2,80ab	2,35a
11 Controle	2,00a	2,10a	2,10a	2,25a	2,75a	2,75a	3,55a	3,35b	3,45c
<b>CV (%)<sup>(1)</sup></b>	<b>3,36</b>	<b>7,75</b>	<b>7,41</b>	<b>9,63</b>	<b>8,39</b>	<b>8,39</b>	<b>10,60</b>	<b>8,67</b>	<b>7,00</b>

<sup>(1)</sup>CV = Coeficiente de variação.

Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Scott-Knott.

Os resultados deste trabalho indicam bom potencial do uso de *Trichoderma* spp. na composição das estratégias para o controle da antracnose em açaí-solteiro. Ainda é necessário ajustes na metodologia de avaliação, como ampliação do número de isolados a serem testados e definição de uma adubação mínima para composição do substrato no qual as plantas crescerão, uma vez que o substrato de castanha-do-brasil demonstrou não ser suficiente para suprir as demandas nutricionais, o que pode ter dificultado a diferenciação do efeito do *Trichoderma* no crescimento das plantas.

## Conclusões

Todos os isolados de *Trichoderma* spp. comportaram-se como bons antagonistas a *Colletotrichum gloeosporioides* in vitro, destacando-se os isolados 188 e 191.

Os isolados de *Trichoderma* spp. reduziram a severidade da antracnose nas mudas de *Euterpe precatória*.

Os resultados demonstraram o bom potencial do *Trichoderma* na composição das estratégias para o controle da antracnose em açaí-solteiro.

## Referências

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.

BROTMAN, Y.; GUPTA, K. J.; VITERBO, A. *Trichoderma*. **Current Biology**, v. 20, p. R390-R391, 2010.

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

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

NOGUEIRA, S. R.; MACEDO, P. E. F. de; ANDRADE NETO, R. de C.; GONÇALVES, R. C.; LUNZ, A. M. P. Antracnose em mudas de *Euterpe precatoria* no Acre. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 46.; REUNIÃO BRASILEIRA DE CONTROLE BIOLÓGICO, 11., 2013, Ouro Preto. **Expofito**. Ouro Preto: UFV, 2013. 1 CD-ROM.

PEDRO, E. A. de S.; HAKAKAVA, R.; LUCON, C. M. M.; GUZZO, S. D. Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 11, p. 1589-1595, 2012.

PIMENTEL, G. F. **Curso de estatística experimental**. 11.ed. São Paulo: Nobel, 1985. 466 p.

PROMWEE, A.; ISSARAKRAISILA, M.; INTANA, W.; CHAMSWARNG, C.; YENJIT, P. Phosphate solubilization and growth promotion of rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) by *Trichoderma* Strains. **Journal of Agricultural Science**, v. 6, n. 9, p. 8-20, 2014.

ROCHA, J. R. S. **Controle biológico de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente da antracnose do maracujazeiro (*Passiflora edulis f. flavicarpa*), com espécies de *Trichoderma***. 1997. 147 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

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, n. 12, p. 1609-1617, 2012.