

Efeito da Umidade do Substrato na Produção de Conídios de *Trichoderma* spp.

Katia Lisana do Nascimento Barbosa¹; Michelly Elen Leal Menezes¹; Ernando Ferreira Mota²; Carlos Alberto Tuão Gava³

Resumo

Este trabalho foi desenvolvido no laboratório de controle biológico da Embrapa Semi-Árido com o objetivo de verificar os efeitos da umidade do substrato na produção de conídios por *Trichoderma* spp. Foram utilizados os isolados da coleção: *T. harzianum* (LCB 47), *T. viride* (LCB 48), *T. koningii* (LCB 49), *T. polysporum* (LCB 50), mantidos na coleção do laboratório de controle biológico em tubos contendo meio de cultura, óleo mineral e suspensões de conídios de glicerol 20% congeladas a -80° C. Suspensões de conídios, a partir de placas de petri, foram utilizadas para a produção pré inoculo, distribuindo-se 1mL em frascos com teores de umidade de 10, 15, 20, 25, 30 e 40% e incubados em câmaras de germinação até esporulação. Após a esporulação, foram feitos dois experimentos para avaliar o efeito do teor de umidade e aeração sobre a produção de conídios. No experimento 1, frações de 10 g do pré-inoculo foram transferidas para sacos de propileno contendo arroz com diversos teores de umidade, autoclavado a 120° C por 15 min, com teor de umidade de 10, 15, 20, 25, 30, 40%, em seguida transferidos para câmara de crescimento ate 25° C até a máxima esporulação. No experimento 2, foram utilizados sacos de polipropileno com ou sem aeração obtidos através de microperfurações para

¹Estudante de Biologia, Universidade Estadual de Pernambuco-UPE, Petrolina-PE.

²Técnico de Laboratório, Embrapa Semi-Árido, Cx. Postal 23, 56302-970 Petrolina-PE. ³Engº Agrº, Pesquisador da Embrapa Semi-Árido.

gava@cpatsa.embrapa.br.

serem avaliados com teores de umidade de 15, 20, 30 e 40% e mantidos por 10 dias em câmara de crescimento a 28° C no escuro. Os experimentos 1 e 2 foram montados com 5 repetições por tratamento em um delineamento inteiramente casualizado. Foi possível verificar que os isolados apresentaram maior produção de conídios com teor de umidade ao redor de 30% (p/p), exceto para o isolado LPP 49.

Introdução

Espécies de fungos do gênero *Trichoderma* são os agentes de controle biológico de doenças mais estudados, tendo sido avaliados no controle de patógenos do solo (Chet, 1987), parte aérea (Elad et al., 1993, Harman et al., 1996), em campo e cultivo protegido (Hjeljord et al., 2000) e, ainda, como proteção pós-colheita (Mortuza & Ilag, 1999). Em condições de campo, para o controle biológico e manejo integrado de doenças, os resultados têm sido inconsistentes (Gulino, 1992). Essa situação pode ser reflexo de problemas como a época de aplicação do patógeno (nível de ação), qualidade do produto utilizado e mesmo problemas com a formulação.

No Submédio do Vale do São Francisco, a fruticultura visando a exportação tem demandado a geração de tecnologias de baixo impacto ambiental de forma a garantir a sustentabilidade ambiental e econômica. Tecnologias de controle de pragas e patógenos têm interessante nicho comercial tanto na agricultura convencional, no período de maturação dos frutos, quanto na agricultura orgânica. No entanto, há a necessidade de promover a melhoria da tecnologia de produção das formulações, de forma a garantir maior eficiência técnica e econômica com a utilização de produtos fitossanitários baseados em agentes de controle biológico.

Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do teor de umidade dos substratos sobre o crescimento e produção de conídios por *Trichoderma* spp., visando a maximização da eficiência de produção.

Material e Métodos

1 – Microrganismos e meios de cultura

Foram utilizados os isolados de *Trichoderma*: *T. harzianum* LCB 47, *T. viride* LCB 48, *T. koningii* LCB 49, e *T. polysporum* LCB 50, mantidos na coleção de microrganismos do Laboratório de Controle Biológico, em tubos contendo meio de cultura e óleo mineral e suspensões de conídeos em glicerol 20% congelado a -80° C.

2 – Produção de conídios

Inicialmente, foi obtida uma suspensão de conídios de *Trichoderma* spp. a partir de placas de Petri, contendo meio BDA $\frac{1}{4}$ da concentração normal, densamente colonizada, utilizando como dispersante uma solução de Triton X-100 0,05%. A suspensão de conídios foi utilizada para produção do pré-inóculo, distribuindo-se 1 mL em frascos contendo arroz com teores de umidade 15, 20, 30 e 40% e posterior incubação em câmaras de germinação (BOD), à temperatura de 28 °C até a esporulação.

3 – Avaliação do efeito do teor de umidade e aeração sobre a produção de conídios de *Trichoderma* spp.

Experimento 1 - Após a esporulação, frações de 10 g do pré-inóculo produzido em arroz com 30% de umidade em erlenmeyers, como descrito no item 2, foram transferidos para sacos de PVC contendo arroz com diferentes teores de umidade, autoclavado a 120 °C por 15 min com teor de umidade variando entre 10 e 40%. A seguir, foram transferidas para câmara de crescimento a 25 °C no escuro, até a máxima esporulação. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições.

Experimento 2 - Foi avaliado o efeito do teor de umidade e da aeração para o crescimento do fungo e produção de esporos por isolados de *Trichoderma* spp. Foram utilizados sacos de polipropileno com ou sem aeração para cada isolado e diferentes teores de umidade do substrato, mantidos por 10 dias em câmara de crescimento. O experimento foi montado em um esquema fatorial com 5 repetições por tratamento em delineamento inteiramente casualizado.

Em ambos os experimentos a produção de conídios foi avaliada através contagem de conídios, utilizando-se um hematocitômetro (câmara de Neubauer). Após a avaliação, os dados foram analisados, utilizando-se análise da variância ($p < 0,05$) e teste de Tukey ($p < 0,05$), testando-os em diferentes áreas, para diferentes épocas e condições de produção. Para alcançar a

normalidade da distribuição, os dados de contagem de conídios foram transformados em \sqrt{X} .

Resultados e Discussão

No experimento 1, foi possível verificar que os isolados obtiveram maior produção de conídios com teor de umidade do substrato em torno de 25 a 30% (p/p). Nos maiores teores de umidade, os isolados privilegiaram o crescimento vegetativo, promovendo extenso crescimento micelial, no qual predominou o micélio estéril.

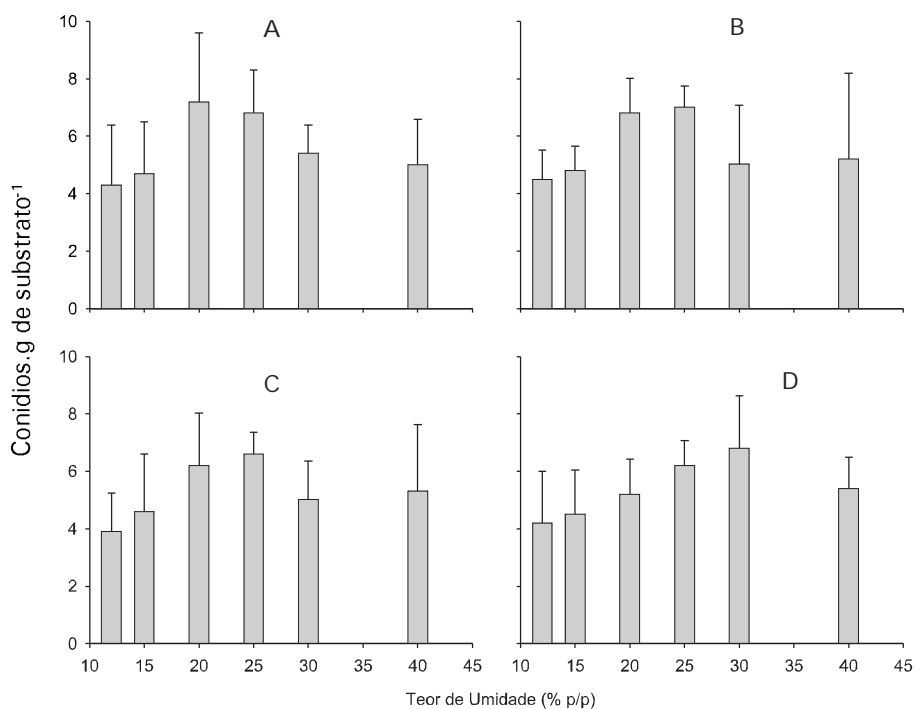


Figura 1 - Produção de conídios por *T. harzianum* LCB 47 (A), *T. koningii* LCB 48 (B), *T. viride* LCB 49 (C) e *T. polysporum* LCB 50 (D) em substrato contendo diferentes teores de umidade.

No experimento 2, os ensaios foram realizados em sacos de polipropileno contendo substrato com diferentes teores de umidade, verificou-se interação significativa entre os teores de umidade avaliados e as diferentes condições de aeração. Como se pode observar na Tabela 1, o teor de umidade interfere significativamente ($p \leq 0,05$) na quantidade de conídios produzidos pelos isolados em saco de polipropileno. Verifica-se ainda diferença no teor ótimo de umidade do substrato para a máxima produção de conídios com a presença ou ausência de aeração. Possivelmente, há perda de umidade através dos orifícios de aeração existentes nos sacos de polipropileno aerados.

Tabela 1 – Produção de conídios por isolados de *Trichoderma* spp. em substrato contendo diferentes teores de umidade em sacos de polietileno (\log_{10} número de conídios.g de substrato⁻¹).

Isolados	Com aeração			
	Umidade (% p/p)			
	15	20	30	40
<i>T. harzianum</i> LCB 47	4,5 ±2,15	5,4 ±0,77	7,2 ±1,53	5,0 ±1,76
<i>T. koningii</i> LCB 48	4,8 ±1,82	5,0 ±1,05	6,8 ±1,22	5,2 ±1,62
<i>T. viride</i> LCB 49	3,9 ±1,44	4,8 ±0,76	6,2 ±0,73	5,3 ±1,25
<i>T. polysporum</i> LCB 50	4,2 ±1,05	4,5 ±1,05	6,8 ±1,33	5,4 ±1,10

Isolados	Sem aeração			
	Umidade (% p/p)			
	15	20	30	40
<i>T. harzianum</i> LCB 47	2,7 ±1,53	4,8 ±1,82	3,1 ±1,62	2,1 ±2,44
<i>T. koningii</i> LCB 48	3,1 ±1,01	2,7 ±2,05	2,5 ±1,22	3,7 ±3,01
<i>T. viride</i> LCB 49	2,3 ±1,34	3,1 ±1,83	3,6 ±1,53	2,8 ±2,31
<i>T. polysporum</i> LCB 50	3,2 ±1,81	3,4 ±1,55	3,1 ±1,10	2,6 ±1,82

Conclusões

Com estes ensaios, foi possível verificar que os isolados apresentaram maior produção de conídios com teor de umidade de 30% (p/p). Em teores de umidade superiores a estes valores, os isolados privilegiam o crescimento vegetativo, promovendo extenso crescimento micelial, com a predominância de micélio estéril.