

USO DE ISOLADOS DE *Trichoderma* NO CONTROLE DO FUNGO CAUSADOR DA ANTRACNOSE DO MAMOEIRO

Regiane F. Miranda^{1*}, Cirano José Ulhoa², Leonardo M. de Conto³, Francilina A. Costa⁴.

1. Estudante do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Católica Dom Bosco
2. Pesquisador da Universidade Federal de Goiás – Departamento de Bioquímica - ICB/Orientador
3. Estudante de Agronomia da Universidade Católica Dom Bosco – Departamento de Microbiologia
4. Professora da Universidade Católica Dom Bosco - Departamento de Microbiologia/Orientadora

Resumo

A antracnose é uma doença que limita a exportação e comercialização do mamão, causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. O controle biológico vem crescendo nos últimos anos, sendo um método de controle alternativo. O objetivo do trabalho é a utilização do fungo *Trichoderma* sp. no controle da antracnose, causada pelo fungo *C. gloeosporioides* no mamoeiro. Foram utilizados onze isolados de *Trichoderma* nativos, isolados de diferentes regiões do estado Mato Grosso do Sul, contra de *C. gloeosporioides*. Foram realizados os testes de pareamento e de metabolitos voláteis. Os isolados CS 101, AM 104 e TC101 obtiveram maiores inibições do fitopatógeno no teste de pareamento. No teste de metabolitos voláteis o isolado AB 103 foi o que exibiu maior ação antifúngica em relação ao fitopatógeno. Todos os isolados de *Trichoderma* avaliados inibiram o crescimento do *C. gloeosporioides*, apresentando potencial para controlá-lo.

Palavras-chave: *Colletotrichum gloeosporioides*, Mamão, Controle Biológico.

Apoio financeiro: PROSUC/Capes.

Introdução

O Brasil está entre os maiores produtores de mamão no mundo, ocupando a terceira posição com 12,5% (FAO, 2016). O mamão é um fruto do tipo climatérico, sendo um alvo fácil para inúmeras doenças que aparecem na pós-colheita (FONTES et al., 2008). De grande importância nas regiões tropicais e subtropicais do mundo o fungo de gênero *Colletotrichum* sp. é um importante fitopatógeno, causador de diversas doenças como a antracnose no mamão, com uma elevada importância econômica no Brasil (SERRA & SILVA, 2004).

A antracnose é causada pelo fungo *Colletotrichum* sp., que apresenta diferentes variações quanto a sua sintomatologia de infecção em diferentes hospedeiros. A antracnose é responsável por um dos principais fatores limitantes na exportação de mamão, por ser uma doença de pós-colheita causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (SERRA & SILVA, 2004). Sem medidas de controle a antracnose pode ocorrer em cerca de 91% dos frutos em pós-colheita (LIBERATO & COSTA, 1997). Cerca de 30% das frutas tropicais comercializadas no Brasil são perdidas por doenças na pós-colheita (TAVARES, 2004).

O uso de tratamentos químicos é uma estratégia muito importante no controle de doenças, porém, com o uso excessivo na pré-colheita vem elevando a resistência de raças de patógenos tornando-os tolerantes, gerando uma ameaça em pós-colheita, e o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* criou resistência a fungicidas (MORAES et al., 2008). A utilização do controle biológico é essencial na diminuição de problemas com uso e fungicidas e a diminuição de resistência dos fitopatógenos (FERNANDES et al. 2010).

O *Trichoderma* vem sendo utilizado no controle de vários fitopatógenos (LORITO et al. 2010). As pesquisas sobre o mesmo vêm crescendo por ser um fungo versátil, produtores de enzimas degradantes de paredes celulares de demais fungos e produção de substâncias antifúngicas, é altamente competitivo em diversos ambientes, o que garante sua alta capacidade de proliferação na rizosfera (LOUZADA et al., 2009).

Desta forma, o objetivo do trabalho foi avaliar o potencial de isolados de *Trichoderma* nativos obtidos em propriedades do estado de Mato Grosso do Sul na inibição do crescimento do *C. gloeosporioides* causador da antracnose no mamoeiro.

Metodologia

O experimento foi realizado no laboratório de Microbiologia da Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), Campo Grande, MS. Foram utilizados onze isolados de *Trichoderma* obtidos de diferentes regiões do estado de Mato Grosso do Sul. O fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, foi isolado de frutos de mamão que apresentavam sintomas de antracnose. Todos os fungos isolados foram armazenados em placas de Petri em BOD a temperatura de 25°C.

O teste de pareamento foi realizado entre os onze isolados de *Trichoderma* contra o isolado de *C. gloeosporioides*. Foram retirados discos (10mm de diâmetro) de ágar com micélio de *C. gloeosporioides* e dos isolados de *Trichoderma* os quais foram retirados de colônias cultivadas por três dias. Os discos foram depositados nas extremidades opostas com 1cm da borda da placa de Petri contendo meio de batata dextrose ágar - BDA solidificado. A inoculação dos fungos foi realizada em intervalos de tempos diferentes, devido a velocidade de crescimento micelial dos isolados de *Trichoderma* em relação do *C. gloeosporioides*, onde este último foi colocado 48 horas antes. As placas foram armazenadas em BOD em fotoperíodo de 12 horas a uma temperatura de 25°C. Após sete dias de cultivo, o crescimento micelial dos fungos foram avaliados, conforme

escala proposta por Bell et al. (1982). O experimento foi realizado com cinco repetições, em delineamento inteiramente casualizado, onde conforme Louzada et al. (2009), serão considerados antagonísticos ou eficientes os isolados de *Trichoderma* que apresentarem nota menor ou igual a 3 foram considerados.

Para a realização do teste de produção de metabolitos voláteis foi utilizado os onze isolados de *Trichoderma* individualmente contra o isolado de *C. gloeosporioides*. O teste consistiu em posicionar fundos de placas de Petri umas sobre as outras, após ter vertido meio BDA solidificado em cada uma delas. Na extremidade inferior da placa, colocou-se os onze isolados de *Trichoderma*, individualmente, e na superior, *C. gloeosporioides*, ambos na forma de disco de ágar (10 mm de diâmetro) contendo micélio. Lateralmente, os fundos foram vedados com filme PVC em seguida, as placas foram incubadas em temperatura de 25°C com fotoperíodo de 12 horas, utilizando o crescimento do controle como referência. A placa com crescimento contendo apenas *C. gloeosporioides* foi utilizada como controle, e após 16 a 17 dias ocorreu o preenchimento total de micélio da placa de Petri com o *C. gloeosporioides*, foi realizado a avaliação do efeito de metabolitos voláteis com inibição de crescimento do patógeno e *Trichoderma* nas placas. A medição da colônia do patógeno foi realizada com um paquímetro. O diâmetro total das placas utilizadas foi de 8,5 cm. A inibição do *Trichoderma* foi maior quando o diâmetro da colônia do patógeno foi menor. O teste foi realizado com cinco repetições em delineamento inteiramente casualizado, mais um controle.

Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste de Scott-Knott (1974), a 5% de probabilidade, empregando-se o programa estatístico Sisvar®.

Resultados e Discussão

A partir dos resultados obtidos dos testes de pareamento apresentados na Tabela 1, é possível observar que todos os isolados tiveram potencial antagonístico sobre o fungo *C. gloeosporioides*, inibindo o seu crescimento, por apresentarem nota inferior ou igual a 3, segundo escala de Bell et al. (1982).

Houve diferença entre os isolados de *Trichoderma* no antagonismo contra o fungo *C. gloeosporioides* (Tabela 1). Os isolados CS 101, AM 104 e TC 101 foram os que apresentaram uma maior ocupação nas placas de Petri, onde os mesmos passaram por cima do fungo *C. gloeosporioides* (Figura 1A). Os isolados ALL 42 e PP 101 foram os que apresentaram menor capacidade de antagonismo em relação aos demais isolados, com notas de 2.67 e 2.72 (Tabela 1). O teste indicou um rápido crescimento dos isolados de *Trichoderma* em relação ao *Colletotrichum gloeosporioides*, se mostrando altamente competitivo em meio de cultura BDA.

Tabela 1. Potencial antagonístico de isolados de *Trichoderma* e crescimento micelial de colônias (cm) de *C. gloeosporioides* submetidas a efeito de metabolitos voláteis produzidos *in vitro* por isolados de *Trichoderma* nativos de Mato Grosso do Sul.

Isolados	<i>C. gloeosporioides</i>	Isolados	<i>C. gloeosporioides</i> (cm)
CS 101	1.24 a	AB 103	1.48 a
AM 104	1.24 a	B 201	2.23 b
TC 101	1.24 a	CS 101	2.37 b
AB 103	1.28 a	AM 102	2.43 b
B 201	1.72 b	T 00	2.47 b
AM 102	1.96 c	ALL 42	2.49 b
AB 102	2.01 c	AM 104	2.72 b
T 00	2.13 c	AB 102	2.72 b
T 29	2.27 c	TC 101	2.75 b
ALL 42	2.67 d	T 29	3.26 c
PP 101	2.72 d	PP 101	4.37 d
CV (%)	17.14	CV (%)	19.43

Médias na coluna seguida de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Perello et al. (2003), relata que o mecanismo mais eficaz de inibição que o fungo *Trichoderma* exerce sobre os patógenos é o mecanismo de ação, como a competição por nutrientes, espaço, água e outros. Tal relato pode ser correlacionado a este trabalho para explicar a inibição do crescimento. No trabalho realizado por Chagas et al. (2016), a inibição do fungo *Colletotrichum clivia* foi bastante satisfatória, onde dos 56 isolados de *Trichoderma* 46 inibiram 96% do crescimento do fungo *C. clivia*. Como podemos observar que os isolados ALL 42 e PP 101 (Tabela 1), tiveram notas próxima a 3, apresentando uma baixa inibição de crescimento micelial do fungo *C. gloeosporioides*.

No teste de efeito de metabolitos voláteis conforme a Tabela 1, verificou-se que todos os isolados inibiram o crescimento do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, havendo uma diferença entre os isolados de *Trichoderma*. O isolado de *Trichoderma* AB 103 foi o que mais exibiu uma maior ação antifúngica em relação ao fungo *C. gloeosporioides*, com aproximadamente 83% de inibição do crescimento micelial do fitopatógeno (Tabela 1, Figura 1B), sendo superior aos demais isolados. Porém, todos apresentaram inibição ao crescimento micelial do *C. gloeosporioides*, o isolado PP 101 foi o que apresentou menor ação antifúngica, ocupando 49% da placa. Os isolados B 201, CS 101, AM 102, T 00, ALL 42, AM 104, AB 102 e TC 101 apresentaram o mesmo potencial de inibição de crescimento do fitopatógeno.

Carvalho et al. (2014), relata que para haver diferença entre os isolados na capacidade de inibição de crescimento, conforme observado neste trabalho (Tabela 1), há uma variação na produção de metabolitos voláteis entre os diferentes isolado da mesma espécie entre os gêneros. No trabalho de Marques et al. (2018), os isolados da espécie de *Trichoderma brevicompactum*, resultaram na inibição de crescimento micelial dos

fungos *C. gloeosporioides* e *Sclerotium rolfsi*. Sobre a redução do crescimento do *Colletotrichum gloeosporioides*, pode ser explicado pela ocorrência do mecanismo de antibiose, que é a interação de um ou mais metabolitos produzidos por um indivíduo tendo efeito sobre outro (STADNIK & BETTIOL, 2000).

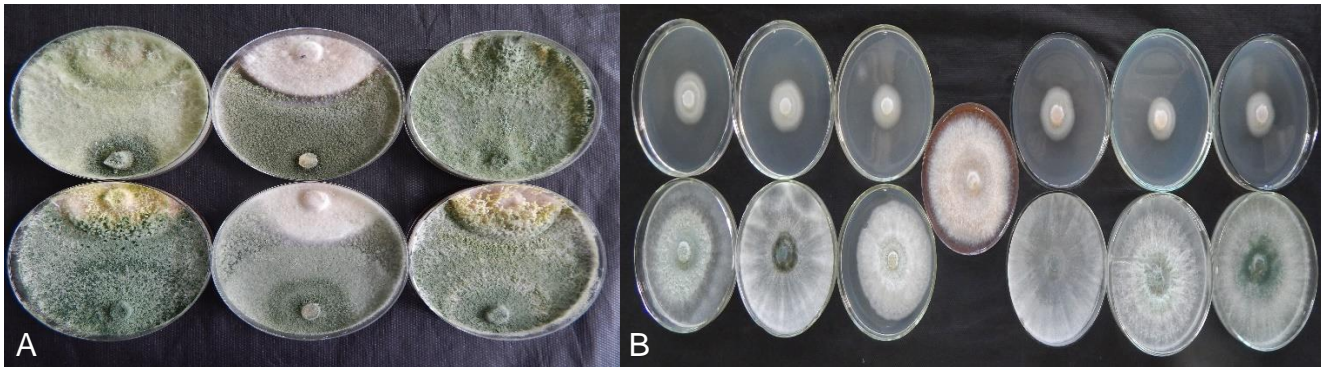


Figure 1. Teste de pareamento entre *Trichoderma* contra *C. gloeosporioides* (A). Efeito dos metabolitos voláteis de *Trichoderma* contra *C. gloeosporioides* (B).

Conclusões

Todos os isolados de *Trichoderma* inibiram o crescimento micelial do fungo *C. gloeosporioides*, tendo eficiência no controle do fitopatógeno. Os isolados CS 101, AM 104 e TC 101 foram os que apresentaram um maior destaque de antagonismo em relação aos demais.

No teste de metabolitos voláteis todos os isolados de *Trichoderma* inibiram o crescimento micelial do *C. gloeosporioides*. O isolado AB 103 foi o que exibiu uma maior ação antifúngica em relação ao fungo *C. gloeosporioides*.

Referências bibliográficas

- BELL, D.K. et al. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytop.*, v. 72, n.1, p.379-382, 1982.
- CARVALHO, D. D. C. et al. **Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli by *Trichoderma harzianum* and its use for common bean seed treatment.** *Tropical Plant Pathology*, New York, v. 39, p. 384-391, 2014.
- CHAGAS, L.F.B., et al. **Bioprospecção de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum cliviae* e *C. truncatum*.** *Revista brasileira Biociencia*, Porto Alegre, v. 14, n.4, p. 238-242, out/dez. 2016.
- FAO - **Food and Agriculture Organization of United Nations.** Disponível em: <www.fao.org>. Acesso em: 10 de março de 2019.
- FERNANDES, F. L. et al. **Controle biológico natural de pragas e interações ecológicas com predadores e parasitoides em feijoeiro.** *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 26, n. 1, p. 6-14, Jan./Feb. 2010.
- FONTES, R.V., et al. **Atividade da pectinametilsterase e sua relação com a perda de firmeza da polpa de mamão cv. Sunrise Solo e Tainung 1.** *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.30, n.1, p.054-058, 2008.
- LORITO, M., et al. **Translational research on *Trichoderma*: from 'omics to the field.** *Annual Reviews of Phytopathology*.v.8 (48): p.395-417. 2010.
- LOUZADA, G.A.S. et al. **Antagonist potential of *Trichoderma* spp. from distinct agricultural ecosystems against *Sclerotinia sclerotiorum* and *Fusarium solani*.** *Biota Neotropica*.v9, 2009.
- LIBERATO, J.R.; COSTA, H. **Incidência de antracnose e podridão peduncular em frutos de mamoeiro em Linhares - ES.** *Fitopatol. Bras.*, Brasília, v. 22, p. 276, 1997.
- MARQUES, E. et al. **Antifungal potential of crude extracts of *Trichoderma* spp.** *Biota Neotrop.* 2018, vol.18, n.1.
- MORAES, W.S; ZAMBOLIM, L.; LIMA, J.D. **Quimioterapia de banana „prata anã“ no controle de podridões em pós-colheita.** *Arquivos do Instituto Biológico*, v.75, n.1, p.79-84, 2008.
- PERELLO, J., et al. (2003). **Porphyry-Style Alteration and Mineralization of the Middle Eocene to Early Oligocene Andahuaylas-Yauri Belt, Cuzco Region, Peru.** *Economic Geology*, 98(8), 1575–1605.doi:10.2113/gsecongeo.98.8.1575.
- SERRA, I. M. R. de S.; SILVA, G. S. da. **Caracterização Morfofisiológica de Isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* Agentes de Antracnose em Frutíferas no Maranhão.** *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v. 30, n. 4, p. 475-480. 2004.
- STADNIK, M.J. E BETTIOL, W. (2000) - **Controle biológico de oídeos.** *In: Melo, I.S. Azevedo, J.L. (Ed.) - Controle biológico.* v.3. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, p. 95–112.
- TAVARES, G. M. **Controle químico e hidrotérmico da antracnose em frutos de mamoeiro (*Carica papaya*L.) na pós-colheita.** *Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2004. 55p.*