EFEITO ANTAGÔNICO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS NO CRESCIMENTO MICELIAL DO *Colletotrichum lindemuthianum*

Joseane Serber (PROVIC/UEPG), Maristella Dalla Pria (Orientador), Polyana Elvira Tobias Pinto Christmann (Co-orientador). E-mail: mdallapria@uepg.br

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade

5.01.00.00-9 (Ciências Agrárias) e 5.01.02.01-0 (Fitopatologia)

Palavras-chave: *Trichoderma viride*, *Trichoderma tomentosum*, controle biológico.

Resumo

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos antagônicos de duas espécies de fungos do gênero *Trichoderma* sobre o crescimento micelial do fungo fitopatogênico *Colletotrichum lindemuthianum*. Os experimentos *in vitro* foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) e consistiram na análise do efeito antagônico dos fungos endofíticos (*Trichoderma viride* e *Trichoderma tomentosum*) sobre o crescimento micelial do patógeno em cultivo pareado, bem como na análise da suscetibilidade do patógeno aos compostos voláteis e não-voláteis produzidos pelos fungos endofíticos. O delineamento utilizado foi inteiramente aleatorizado com 3 tratamentos (*T. viride*, *T. tomentosum* e testemunha) e 10 repetições para cada teste, onde cada placa de Petri contendo as colônias foi considerada uma repetição. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias, quando significativas, comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O uso de fungos do gênero *Trichoderma* são alternativas viáveis para o controle de *C. lindemuthianum*. Destaca-se a produção de compostos não voláteis pelo fungo *T. tomentosum* com 80,94% de inibição média.

Introdução

A cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é afetada por diversas doenças, dentre as quais se destaca a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum*. Embora o controle químico seja o principal método utilizado para o controle dessa doença (DALLA PRIA; SILVA, 2010), atualmente busca-se a aplicação de métodos alternativos, como por exemplo o controle biológico.

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos de fungos endofíticos do gênero *Trichoderma* sobre o crescimento micelial do fungo fitopatogênico *Colletotrichum lindemuthianum in vitro*.

Materiais e Métodos

Os experimentos foram realizados no laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente aleatorizado com 3 tratamentos (*Trichoderma* viride, *Trichoderma tomentosum* e testemunha) e 10 repetições para cada teste.

Para o estudo do efeito antagônico utilizou-se a técnica de cultivo pareado em placas de Petri (DENNIS; WEBSTER, 1971), na qual discos de 5 mm de diâmetro de

colônias dos fungos endofíticos e do patógeno foram colocados em lados opostos, equidistantes, em placas contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA). Placas contendo somente o patógeno serviram de testemunha.

Para a avaliação da produção de compostos metabólicos não voláteis foi utilizado o método do papel celofane. Colocou-se um disco de colônia do antagonista no centro de uma placa com BDA sobreposto por papel celofane lavado e esterilizado (GIBBS, 1967 citado por MARIANO, 1993) e, sete dias depois, retirou-se o papel e colocou-se um disco de colônia do patógeno na placa. A testemunha consistiu no cultivo do patógeno após a retirada do celofane, sem a prévia sobreposição do antagonista no papel celofane.

Para a avaliação da produção de metabólitos voláteis, foi colocado um disco de colônia do patógeno e um disco do antagonista em placas separadas contendo BDA, sendo posteriormente sobrepostas e envolvidas por filme plástico. A testemunha constituiu em placas contendo o patógeno sobrepostas por placas contendo somente meio BDA.

As placas com as colônias dos três testes foram mantidas em câmara tipo BOD (Biochemical Oxygen Demand) a 25ºC ± 1. As medições dos raios em dois eixos opostos diametralmente foram realizadas diariamente, durante sete dias. Ao fim de cada experimento foi realizado o cálculo proposto por Campanile et al. (2007) para determinação do percentual de inibição do crescimento micelial (PICM).

$$\text{PICM} = \frac{T - C}{T} \times 100$$

Onde T = crescimento da testemunha e C = crescimento do patógeno que recebeu o tratamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias quando significativas comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com auxílio do software SASM-Agri (CANTERI et al., 2001).

Resultados e Discussão

Para o teste de efeito antagônico dos fungos endofíticos sobre o fungo patogênico verificou-se que houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 1). O fungo *T. tomentosum* proporcionou maior porcentagem de inibição do crescimento micelial do fungo patogênico, diferindo-se de *T. viride* e ambos diferiram da testemunha, quando avaliados diariamente. Em média, os fungos endofíticos diferiram apenas da testemunha. A maior porcentagem de inibição ocorreu no terceiro dia de avaliação, reduzindo posteriormente, o que pode ser explicado pelo fato de que os fungos do gênero *Trichoderma* apresentam índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) superior ao IVCM do *C. lindemuthianum*. Desse modo, os fungos endofíticos cresceram rapidamente, ocupando a maior parte da placa e reduzindo a disponibilidade de nutrientes para seu crescimento do patógeno.

Para o teste de compostos voláteis secretados pelos fungos do gênero *Trichoderma* sobre *C. lindemuthianum*, verificou-se que houve diferença significativa entre os tratamentos apenas no terceiro dia de avaliação (Tabela 2). O fungo *T. tomentosum* apresentou maior porcentagem de inibição micelial do patógeno. Não ocorreram diferenças significativas nos demais dias e na média final. Entretanto, a maior porcentagem de inibição micelial para ambos os fungos endofíticos foi observada no segundo dia de avaliação. Os resultados mostraram que ocorreu a

produção de compostos voláteis, os quais inibem o crescimento micelial do fungo *C. lindemuthianum* devido à sua alta sensibilidade aos compostos.

Tabela 1. Inibição (%) do crescimento micelial (PICM) de *Colletotrichum lindemuthianum* quanto ao antagonismo dos fungos *Trichoderma viride* e *Trichoderma tomentosum*. Ponta Grossa – PR, 2018.

Tratamentos	Dias de Avaliação						
	2º	3º	4º	5º	6º	7º	Média
Trichoderma tomentosum	73,5 a*	80,0 a	78,7 a	75,6 a	67,4 a	61,9 a	72,9 a
Trichoderma viride	65,9 b	83,3 a	71,4 b	63,4 b	58,3 b	54,9 b	66,1 a
Testemunha	0,00 c	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 b
C.V. (%)	13,7	16,6	10,7	8,5	8,8	10,5	15,4

*Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância; C.V: coeficiente de variação.

Tabela 2. Inibição (%) do crescimento micelial (PICM) de *Colletotrichum lindemuthianum* quanto à secreção de compostos voláteis pelos fungos *Trichoderma viride* e *Trichoderma tomentosum*. Ponta Grossa – PR, 2018.

Tratamentos	Dias de Avaliação						
	2º	3º	4º	5º	6º	7º	Média
Trichoderma tomentosum	78,6 a*	70,1 a	54,2 a	47,9 a	40,7 a	39,7 a	55,2 a
Trichoderma viride	72,4 a	65,1 b	52,6 a	47,4 a	39,9 a	39,0 a	52,4 a
Testemunha	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
C.V. (%)	19,0	28,9	29,6	32,0	32,6	33,4	33,6

*Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância; C.V: coeficiente de variação.

Observou-se que alta porcentagem de inibição do crescimento micelial do patógeno quanto à secreção de compostos não-voláteis pelas espécies de *Trichoderma* (Tabela 3). A maior porcentagem de inibição ocorreu no segundo dia de avaliação e, em média, os fungos endofíticos não se diferenciaram estatisticamente.

Tabela 3. Inibição (%) do crescimento micelial (PICM) de *Colletotrichum lindemuthianum* quanto à secreção de compostos não voláteis pelos fungos *Trichoderma viride* e *Trichoderma tomentosum*. Ponta Grossa – PR, 2018.

Tratamentos	Dias de avaliação						
	2º	3º	4º	5º	6º	7º	MÉDIA
Trichoderma tomentosum	89,7 a*	89,6 a	87,2 a	79,1 a	72,3 a	67,7 a	80,9 a
Trichoderma viride	84,5 a	81,4 b	81,3 b	74,3 b	69,5 b	65,3 b	76,1 a
Testemunha	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 b
C.V. (%)	16,2	8,8	4,2	3,3	3,0	3,5	13,4

*Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância; C.V: coeficiente de variação.

Conclusões

O uso de fungos do gênero *Trichoderma* são alternativas viáveis para o controle de *Colletrotrichum lindemuthianum* em condições *in vitro*. Destaca-se a produção de compostos não voláteis pelo fungo *T. tomentosum* com 80,94% de inibição média.

Agradecimentos

À professora orientadora e à co-orientadora, por todo o auxílio durante o desenvolvimento do trabalho.

Referências

CAMPANILE, G.; RUSCELLI, A.; LUISI, N. Antagonistic activity of endophytic fungi towards *Diplodia corticola* assessed by *in vitro* and in planta tests. **European Journal Plant Pathology**, v. 117, p. 237-246, 2007.

CANTERI, M.G. et al. SASM-Agri - Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v. 1, n. 2, p. 18-24, 2001.

DALLA PRIA, M.; SILVA, O. C. **Antracnose**. In: DALLA PRIA, M.; SILVA, O. C. Cultura do feijão. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2010. p. 49-56.

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* III. Hyphal interactions. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 57, p. 59-363. 1971.

MARIANO, R. L. R. Métodos de seleção *in vitro* para o controle microbiológico de patógenos de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 1, p. 369-409, 1993.