

Brasília, DF
Dezembro 2007

Autores

Menêzes, J.E.
Recursos Genéticos e
Biotecnologia, Brasília-DF, Brasil,

Souza, R.C.
Embrapa Recursos Genéticos e
Biotecnologia, Brasília-DF, Brasil,

Marques, G.A.Souza
Embrapa Recursos Genéticos e
Biotecnologia, Brasília-DF, Brasil,

Silva, J.B.T.
Embrapa Recursos Genéticos e
Biotecnologia, Brasília-DF, Brasil,

Mello, S.C.M.
Embrapa Recursos Genéticos e
Biotecnologia, Brasília-DF, Brasil,

AVALIAÇÃO DE SEMENTES DE MILHETO NO CULTIVO DE *TRICHODERMA* SPP.

Resumo

A produção massal do agente de biocontrole constitui uma das etapas mais importantes no desenvolvimento de biofungicidas. O gênero *Trichoderma* spp. tem sido indicado para fins de controle biológico de patógenos de plantas, sob condições de campo, sendo uma estratégia utilizada por não causar danos ao meio ambiente. Para o crescimento do fungo tem sido utilizado o substrato arroz parboilizado. Tem-se procurado substituir o arroz parboilizado por outro substrato que apresente o mesmo potencial de cultivo para *Trichoderma* spp. e que seja mais barato. Para isto, testaram-se sementes de milheto, adotando-se diferentes tempos de quebra, devido a não uniformidade das sementes. Foram utilizados 30 g de substrato, depositados em Erlenmeyer (250 mL), contendo 18 mL (60% p/v) de água destilada em cada uma das repetições dos tratamentos 1 (arroz parboilizado) e 2 (sementes inteiras de milheto). Os tratamentos 3, 4, 5, 6, 7 e 8 foram triturados por 0, 2, 4, 6, 8 e 10 segundos, respectivamente, em liquidificador marca "Waring commercial", na velocidade baixa. A esses tratamentos foram adicionados 24 mL (80% p/v) de água destilada por repetição, sendo em seguida autoclavados. O inóculo semente foi preparado a partir de placas com o isolado CEN 257, em meio BDA, pertencente à Coleção de Fungos para Controle Biológico de Fitopatógenos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. A incubação ocorreu a 25°C, por 7 dias. Após esse período, fez-se a avaliação do crescimento de *Trichoderma* spp. através de contagens de esporos com câmara de Neubauer. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. De acordo com os resultados, o substrato semente de milheto apresentou maior formação de esporos que o arroz parboilizado. Na umidade de 80%, sem quebra das sementes de milheto, proporcionou maior formação de esporos, entretanto, não diferiu do tratamento 7, com 8 segundos de quebra. Os outros tratamentos foram estatisticamente semelhantes. O milheto é outra alternativa que pode ser utilizado como substrato para cultivo de *Trichoderma*.

INTRODUÇÃO

O controle biológico pode ser definido como sendo o controle de um microrganismo através de outro microrganismo (BETTIOL e GHINI, 1995). Assim sendo, os componentes do controle biológico são o patógeno, o hospedeiro e o antagonista, sob a influência do ambiente, todos interagindo num sistema biológico.

A partir do trabalho pioneiro de Weindling (1932), constatou-se a capacidade de *Trichoderma lignorum* (Tode) Harz parasitar importantes patógenos de solo em culturas. Desde então, vários trabalhos foram desenvolvidos, visando à utilização de espécies do gênero *Trichoderma*, para fins de controle biológico de patógenos de plantas. Homer et al. (1972), realizaram o primeiro experimento de biocontrole, sob condições de campo, usando este antagonista. O *Trichoderma*, habita especialmente solos orgânicos, é eficaz no controle de fitopatógenos de solos, principalmente os que desenvolvem com estruturas de resistência, estas consideradas difíceis de serem atacadas, como esporos, escleródios e microescleródios. Em culturas de feijão e soja, sob condições de campo, tem sido uma estratégia utilizada por não causar danos ao meio ambiente. A produção massal do agente de biocontrole constitui uma das etapas mais importantes no desenvolvimento de biofungicidas (GOMES et al., 2006). Os fungos antagonistas devem ser facilmente cultivados em meios disponíveis e não ser exigentes em seus requerimentos nutricionais, possibilitando que grandes quantidades de inóculo possam ser preparados (WOOD e TVEIT, 1955). Com a finalidade de obter a produção de conídios de fungos em larga escala, tem se utilizado produtos vegetais de baixo custo, especialmente grão de arroz (LEITE et al., 2003). A eficácia do arroz parboilizado já foi constatada, por exemplo, por Borges Neto et al. (2004) para a obtenção de inóculo de *Fusarium graminearum* e *Dicyma pulvinata* (MELO, 2006).

Para o crescimento do *Trichoderma* spp. tem sido utilizado o substrato arroz parboilizado, na umidade de 60% (p/v) (GOMES et al., 2006; MELO, 2006). Tem-se procurado substituir o arroz parboilizado por outro substrato que apresente o mesmo potencial de cultivo do fitopatógeno e que seja mais barato. Testes preliminares com milho, mostrou que a umidade ideal para esse substrato seria de 80%.

O trabalho teve como objetivo testar sementes de milho no cultivo para *Trichoderma* spp.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram testadas sementes de milho, adotando-se diferentes tempos de quebra, devido a não uniformidade das sementes.

Utilizou-se 30 g de substrato, colocados em Erlenmeyer (250 mL), contendo 18 mL (60% p/v) de água destilada em cada uma das repetições dos tratamentos 1 (arroz parboilizado) e 2 (sementes inteiras de milho). Os tratamentos 3, 4, 5, 6, 7 e 8 foram triturados por 0, 2, 4, 6, 8 e 10 segundos, respectivamente, em liquidificador marca "Waring commercial", na velocidade baixa. A esses tratamentos, adicionaram-se 24 mL (80% p/v) de água destilada, por repetição, sendo em seguida autoclavados.

O inóculo semente foi preparado a partir de placas com o isolado CEN 257, em meio BDA, pertencente à Coleção de Fungos para Controle Biológico de Fitopatógenos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. A incubação ocorreu a 25°C, no fotoperíodo de 12 horas, por 7 dias.

Após esse período, os esporos foram extraídos com uma solução aquosa de Tween (0,05%).

Fez-se a avaliação do crescimento de *Trichoderma* spp., através de contagens de esporos com câmara de Neubauer.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados, o substrato semente de milho apresentou maior formação de esporos que o arroz parboilizado. Isso pode ser um indicador da possibilidade de utilizá-lo como substrato para o crescimento do *Trichoderma*.

Na umidade de 80%, sem quebra das sementes de milho, proporcionou maior formação de esporos, entretanto, não diferiu do tratamento 7, com 8 segundos de quebra (Figura 1). Os outros tratamentos foram estatisticamente semelhantes. Verificou-se que não há necessidade de quebra de sementes de milho, visto que o tratamento 3, apresentou melhor resultado. Portanto, os diferentes tamanhos da semente não influenciaram no experimento, sendo desnecessário esse procedimento.

Gomes et al. (2006) encontraram os maiores valores médios de número de esporos/mL de suspensão

com *Trichoderma atroviride* nos substratos a base de arroz e de palha de arroz umedecida com caldo de batata. Já Lucon e Koike (2004).encontraram em

farelo de trigo com trufa e arroz com casca os melhores substratos de crescimento para o *Trichoderma* spp.

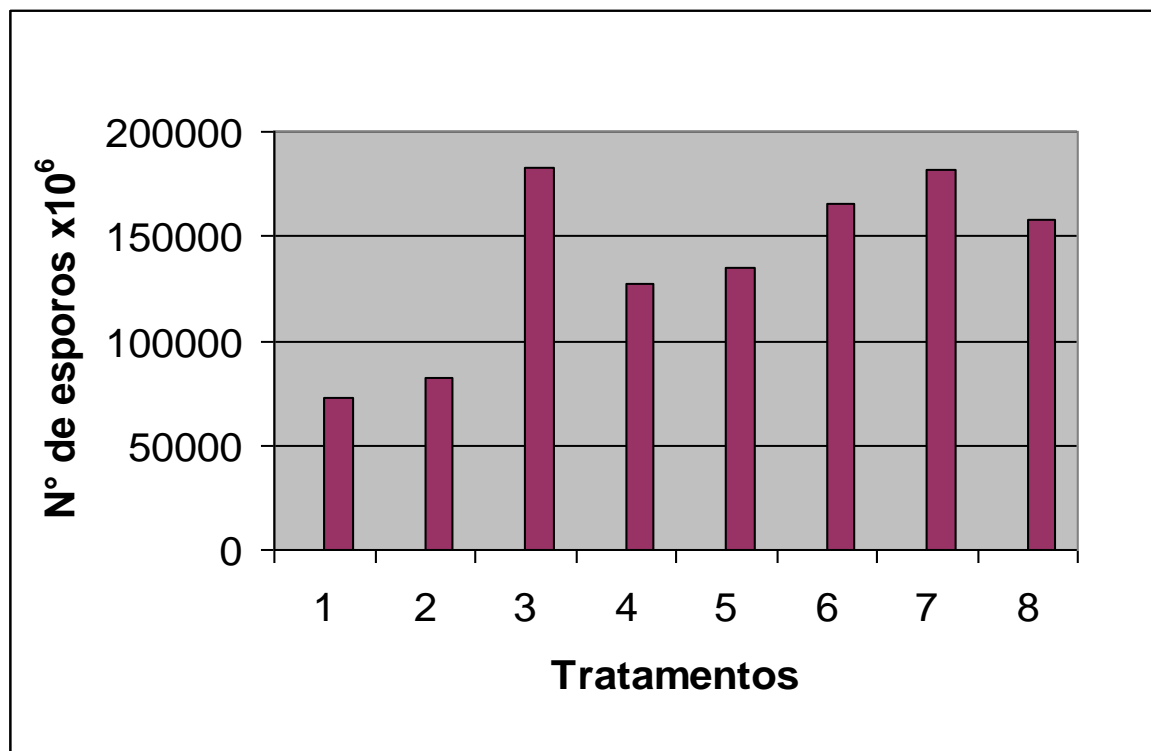


Figura 1. Médias de crescimento de *Trichoderma* spp. em milho nos tratamentos: 1. Arroz parboilizado (60% de umidade), 2. Sementes inteiras de milho (60% de umidade), 3. Sementes inteiras de milho (80% de umidade), 4, 5, 6, 7 e 8 com quebra das sementes aos 2, 4, 6, 8 e 10 segundos, respectivamente, e todos com 80% de umidade).

CONCLUSÃO

O milho é outra alternativa que pode ser utilizado como substrato para cultivo de *Trichoderma*.

REFERÊNCIAS

BETTIOL, W.; GHINI, R. Controle biológico. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p. 717-727.

BORGES NETO, C. R.; GORGATI, C. G.; PITELLI, R. A. Influência do fotoperíodo e da temperatura na intensidade de doença causada por *Fusarium graminearum* em *Egeria densa* e *E. najas*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, p. 252-258, 2004.

GOMES, D. M. P. A.; ÁVILA, Z. R.; PÁDUA, R. R.; ALVARENGA, D. O.; MELLO, S. C. M. Avaliação de

substratos sólidos para produção de esporos de *Trichoderma* spp. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 31, suplemento, p. 225, 2006.

HOMER, W. D.; BELL, D. K.; JAWARSKI, C. A. Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biological control for *Sclerotium rolfsii*. **Phytopathology**, Saint Paul, US, v. 62, p. 442-447, 1972.

LEITE, L. G.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; ALVES, S. B. **Produção de fungos entomopatogênicos**. Ribeirão Preto: OESP, 2003. 92 p.

LUCON, C. M. M. M.; KOIKE, C. M. Efeito de diferentes substratos, temperaturas e pH no crescimento de isolados de *Trichoderma* spp. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, suplemento, p. 179, 2004.

MELO, D. F. **Estudo sobre *Dicyma pulvinata* como agente de controle biológico para o mal-das-folhas da seringueira**. 2006. 112 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Brasília, Brasília, DF.

WEINDLING, R. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. **Phytopathology**, v. 22, p. 837-845, 1932

WOOD, R. K. S.; TVEIT, M. Control of plant diseases by use of antagonistic organisms. **Botanical Review**, Bronx, v. 21, p. 441-492, 1955.

**Circular
Técnica, 56**

**Ministério da
Agricultura,
Pecuária
e
Abastecimento**

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Serviço de Atendimento ao Cidadão Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) – Brasília, DF CEP 70770-900 – Caixa Postal 02372 PABX: (61) 3448-4673 Fax: (61) 3340-3624 <http://www.cenargen.embrapa.br> e.mail:sac@cenargen.embrapa.br

1ª edição
1ª impressão (2007):

**Comitê de
Publicações**

Presidente: Sergio Mauro Folle
Secretário-Executivo: *Maria da Graça Simões Pires Negrão*

Membros: Arthur da Silva Mariante
Maria da Graça S. P. Negrão
Maria de Fátima Batista
Maurício Machain Franco
Regina Maria Dechechi Carneiro
Sueli Correa Marques de Mello
Vera Tavares de Campos Carneiro

Expediente

Supervisor editorial: *Maria da Graça S. P. Negrão*

Normalização Bibliográfica: *Maria Iara Pereira Machado*

Editoreção eletrônica: *Maria da Graça Simões Pires Negrão*

