

Comunicado 168

Técnico

ISSN 9192-0099
Setembro, 2007
Brasília, DF

CULTIVO DE *Trichoderma* SPP. E *Dicyma pulvinata* EM SUBSTRATOS SÓLIDOS

Marques, G.A.
Menêzes, J.E.
Martins, I.
Santos, R. P.
Silva, J.B.T.
Mello, S.C.M.

Introdução

Trichoderma spp. e *D. pulvinata* são microrganismos antagonistas que vêm sendo utilizados como agentes de controle biológico de fungos fitopatogênicos. Esses, por sua vez, causam redução da taxa de crescimento e desenvolvimento da planta, motivada por danos na parte aérea, caule ou radicular, influenciando na diminuição e qualidade dos produtos (Isaac, 1992).

Dentre os fungos filamentosos, os do gênero *Trichoderma* são reconhecidamente os hiperparasitas mais importantes e mais estudados, pois exibe variabilidade entre as linhagens com relação a atividade de biocontrole, espectro de ação contra hospedeiros, propriedades fisiológicas e bioquímicas, como também, adaptabilidade ecológica e ambiental (Silva, 2000).

Já o hiperparasita *Dicyma pulvinata* (Berk & M.A. Curtis) Arx (syn. *Hansfordia pulvinata*) tem sido apontado como um agente promissor no controle do *M. ulei* (Junqueira *et. al.*, 1989; Delmandi, 2002). Esse fungo é capaz de colonizar lesões estromáticas causadas por *M. ulei*, destruindo tanto a fase ascógena como conidial do patógeno e provocando a redução do desfolhamento das plantas e da taxa de inóculo para reinfecções (Junqueira & Gasparotto, 1991).

A baixa capacidade de crescimento e esporulação em meio de cultura ou substratos artificiais de baixo custo tem representado um dos principais fatores, limitantes para o uso de *Dicyma pulvinata* para controle biológico de fungos estromáticos (Junqueira & Gasparotto, 1991).

Em vista disso, tem-se procurado cultivar esses antagonistas em fontes nutricionais de baixo custo.

OBJETIVO

Avaliar o efeito de cama de frango e da água de coco na produção de esporos de *Trichoderma* spp. e *D. pulvinata* em substratos sólidos.

MATERIAL E MÉTODOS

Para os ensaios, arroz parboilizado e arroz com casca foram suplementados com cama de frango, um resíduo rico especialmente em nitrogênio, procedente de galpão de criação de frangos do Distrito Federal. Os substratos foram acondicionados em frascos erlenmeyer de 125mL, da seguinte forma: 1) 50g de arroz especificado, previamente, umedecido com água destilada (60%), acrescentado-se cama de frango nas concentrações de 0, 5, 10, 15 e 20% e 2) 25g de arroz com casca triturados por 10 segundos, acondicionados em erlenmeyer de 250mL e umedecido com água de coco nas seguintes concentrações: 0, 25,

50, 75 e 100%. No primeiro experimento, para cada substrato + cama de frango foram feitas três repetições e no segundo, para cada concentração, quatro repetições. O experimento foi montado em câmara de fluxo laminar esterilizada (20 minutos com luz ultravioleta) e em cada erlenmeyer foram inoculados dois discos de 9 mm retirados de colônias de *Trichoderma* spp e de *D. pulvinata* cultivadas em meio BDA.

A incubação ocorreu em sala de crescimento à temperatura de 25°C, com fotoperíodo de 12 horas. Após 10 dias de cultivo para *Trichoderma* spp. e 17 dias para *D. pulvinata* (Fig. 1), realizaram-se as avaliações a partir de suspensões de esporos obtidas pela adição de 100 mL de Tween 0,05%, por frasco. De cada uma das suspensões, retirou-se uma alíquota para contagem dos esporos, com auxílio de câmara de Neubauer. A análise dos dados foi feita pela média das contagens de esporos de cada agente de biocontrole.

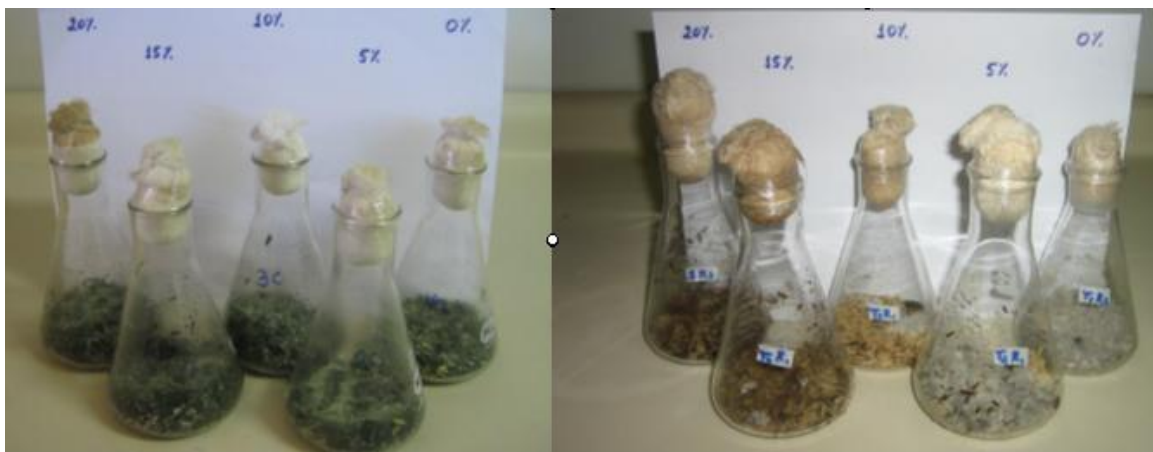


Figura 1 - Produção de esporos *Trichoderma* spp. (esquerda) e *Dicyma pulvinata* (direita) em arroz parboilizado contendo Cama de Frango, nas diferentes concentrações.

RESULTADO E DISCUSSÃO

A esporulação de ambos os micoparasitas foi influenciada pela adição de cama de frango, principalmente para *D. pulvinata* em que todas as concentrações testadas de cama de frango proporcionaram maior número de esporos que a testemunha (Tabela 1). Tanto para *Trichoderma* spp. quanto para *D. pulvinata*, os maiores valores

médios de números de esporos/mL de suspensão foram obtidos nos substratos a base de arroz parboilizado, adicionado de 20% de cama de frango, para os dois agentes de controle biológico (Tabela 1). Estes resultados indicaram que cama de frango poderá ser usada como fonte nutricional para a multiplicação de agentes de biocontrole em larga escala.

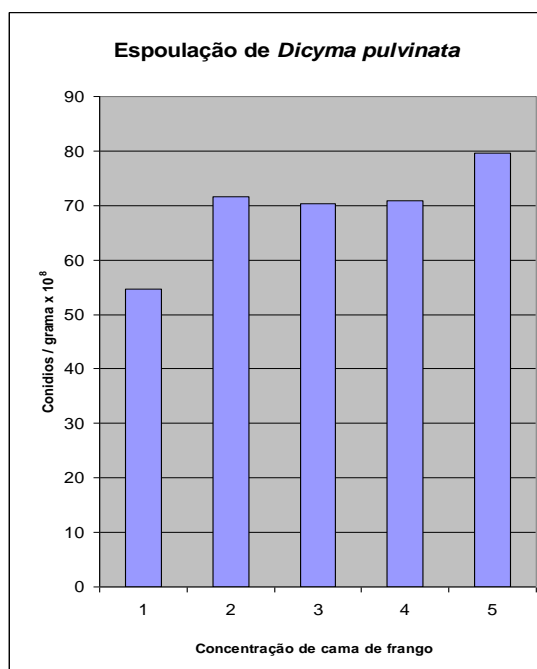
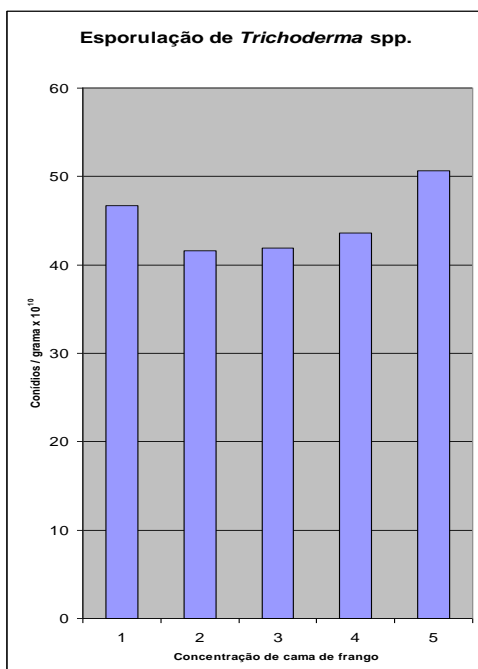


Tabela 1 - Esporulação dos fungos *Trichoderma* spp. (esquerda) e *Dicyma pulvinata* (direita) em arroz parboilizado acrescido de cama de frango.

Segundo Leite (2003) para a produção de conídios em larga escala, tem se utilizado produtos vegetais de baixo custo, especialmente o grão de arroz. A eficácia de arroz parboilizado já tinha sido constatada por Catalão (2004) e Melo (2006) para obtenção de inóculo de *D. pulvinata*.

O substrato arroz com casca acrescida de cama de frango propiciou um baixo crescimento para todos os isolados. Esse

substrato pode ser utilizado, porém deve ser acrescido de outras fontes nutricionais para seu melhor desempenho.

O arroz ainda tem sido um dos substratos mais utilizados para o crescimento e esporulação de fungos agentes de controle biológico. Porém, é imperativa a busca de substratos alternativos que não sejam utilizados em alimentação humana e animal,

mas que sejam tão eficientes como o arroz, e

REFERÊNCIA

Catalão, G.L. 2004. **Cultivo de *Dicyma pulvinata* para o biocontrole de *Microcyclus ulei* em *Hevea* spp.**

Monografia de Graduação. Brasília, DF, Faculdades da Terra de Brasília.

Delmandi, L.C. **Avaliação do potencial de uso do hiperparasita *Dicyma pulvinata* (Berk & Curtis) no controle biológico do mal-das-folhas [*Microcyclus ulei* (P. Henn v.Arxx)] de seringueira [*Hevea brasiliensis* (Willd. Ex A. Juss) Muell. Arg] em São José do Rio Claro – MT.** Tese de Mestrado. Cuiabá, MT, Universidade Federal do Mato Grosso. 2002.

Gasparotto, L., Santos, A.F., Pereira, J.C.R., Ferreira, F.A. **Doenças da seringueira no Brasil.** Embrapa-SPI, Brasília, DF, 1997. 168p.

Isaac, S. **Fungal life-style.** In Fungal-Plant interactions. (eds Chapman & Hall), London. 418p., 1992.

de menor custo.

Junqueira, N.T.V., Gasparotto, L. Controle biológico de fungos estromáticos causadores de doenças foliares em seringueira. In: BETTIOL, W. ed. **Controle Biológico de Plantas.** Embrapa-CNPDA, Jaguariúna, 1991. p.307.331.

Melo, D.F. **Produção, armazenamento, estabilidade e eficiência de linhagens de *Dicyma pulvinata* (Berk & M.A. Cutis) Arx [syn. *Hansfordia pulvinata* (Berk & Curtis)] no biocontrole para o mal-das-folhas da seringueira.** Tese de Mestrado, Brasília, DF, Universidade de Brasília, 130p. 2006.

Silva, P.R.Q. da. **Transformação de *Trichoderma harzianum* com os genes da proteína fluorescente verde e de resistência ao fungicida benomil.** Tese de doutorado, Brasília, DF, Universidade de Brasília, 130p., 2000.

**Comunicado
Técnico, 168**

**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):

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento



**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*
Editoração eletrônica: *Maria da Graça Simões Pires Negrão*