

AVALIAÇÃO DO ANTAGONISMO DO FUNGO *TRICHODERMA HARZIANUM* IN VITRO E IN VIVO A, *FUSARIUM SOLANI* NO FEIJOEIRO COMUM (*PHASEOLUS VULGARIS*).¹

VARGAS, Douglas Augusto de Souza²

RESUMO

O feijão comum *Phaseolus vulgaris* representa a leguminosa de grãos mais importante para o consumo humano no Brasil. Mas o uso indiscriminado de agrotóxicos acarreta um grande prejuízo à saúde das pessoas e do meio ambiente. O uso de novos métodos de combate a doenças fúngicas se faz necessário para o equilíbrio da cadeia produtiva. O trabalho objetivou-se em avaliar o potencial do antagonismo de isolados de *Trichoderma harzianum* contra *Fusarium solani* *in vitro* e *in vivo*, quanto à sua capacidade de competir e inibir o crescimento do patógeno em placas de petri, controlando e reduzindo a pressão do inóculo no campo, utilizando este microrganismo como biocontroladores de doenças fúngicas como uma boa alternativa. Para isso foram utilizados os métodos de confronto direto, e de metabólitos voláteis. Sendo assim o uso de *Trichoderma harzianum* propicia à planta de feijão uma redução da severidade da doença radicular afetada na planta, servindo então como um agente biocontrolador de doenças radiculares e promotor de crescimento de plantas.

Palavras-chave: Antagonismo . controle biológico . podridão radicular . *Phaseolus vulgaris* .

ABSTRACT

The common bean *Phaseolus vulgaris* represents the most important grain legume for human consumption in Brazil. But the indiscriminate use of pesticides causes great harm to people's health and the environment. The use of new methods to combat fungal diseases is necessary to balance the production chain. The objective of this work was to evaluate the potential of isolated *Trichoderma harzianum* against *Fusarium solani* *in vitro* and *in vivo*, regarding their ability to compete and inhibit the growth of the pathogen in petri dishes, controlling and reducing the inoculum pressure in the field, using this microorganism as biocontrollers, of fungal diseases as a good alternative. For this, the methods of direct confrontation and volatile metabolites were used. Thus, the use of *Trichoderma harzianum* conducive to the bean plant a

¹ Trabalho de Conclusão de Curso orientado pelo(a) professor(a) Renata Silva Brandão, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Agrônoma no segundo semestre de 2022, na Faculdade de Inhumas FacMais.

² Acadêmico(a) do 10º Período do Curso de Engenharia Agrônoma da FacMais. E-mail: douglasvargas@aluno.facmais.edu.br.

reduction in the severity of root rot affected in the plant, then serving as a biocontrol agent of root rot and a plant growth promoter.

Key Words: Antagonism . biological control . root rot . *Phaseolus vulgaris* .

1. INTRODUÇÃO

Os grãos de feijões (*Phaseolus spp.*), e em particular o feijão comum *Phaseolus vulgaris*, representam a leguminosa de grãos mais importante para o consumo humano contínuo no Brasil. Este grão possui alta fonte de proteína vegetal altamente valiosa em micronutrientes (BROUGHTON, 2003; Vaz Patto, 2015), possibilitam benefícios à saúde relacionados ao seu consumo regular (MESSINA, 2014; BITOCCHI, 2016), e contribuem para melhorias sustentáveis no meio ambiente, quando são cultivados em rotação de culturas ou com intercalação, devido à sua fixação biológica de nitrogênio (RUBIALES E MIKIC, 2015; BITOCCHI, 2016), portanto, o feijão tem um papel fundamental na diversificação e intensificação sustentável da agricultura, especialmente com os novos e urgentes desafios, de acordo com as mudanças climáticas.

Conforme os dados da Companhia Nacional de Abastecimento-CONAB (outubro/18), a produção nacional de feijão (*Phaseolus spp.*) total somas das duas safras 2017/18, foi de 3,12 milhões de toneladas, gerando na produção 283 mil toneladas de feijão na mesa dos brasileiros. Conseqüentemente, são encontrados diversos problemas de doenças que transcorrem no feijoeiro, restringindo o seu desenvolvimento e trazendo prejuízos de grande importância econômica, conforme a linhagem do patógeno em questão das condições climáticas de cada região e de controle.

Já o fungo *Fusarium solani* é disseminado dentro e entre lavouras através do movimento de solo, resíduos infectados de tecidos do hospedeiro, água de drenagem ou irrigação, sementes contaminadas, homem e equipamentos agrícolas. O fungo sobrevive no solo na forma de clamidósporos (estruturas de resistência) e em restos culturais, infectando plantas nativas ou em estágio de dormência, no caso do *F. solani*, essa sobrevivência pode ser através de micélio e escleródios (PAPAVIZAS & DAVEY, 1962). Sendo ecologicamente diversificados, formando Micorrhizum e agindo como patógenos de diversas espécies de plantas (OGOSHI, 1987).

O fungo *Trichoderma harzianum* corresponde a fase anamórfica do gênero Hypocreales que pertence ao filo Ascomycota (AGRIOS, 1997). As espécies de *T. harzianum* geralmente são encontradas como componentes da microbiota em quase todos os tipos de solos, especialmente os orgânicos, incluindo a camada de húmus das florestas, solos agrícolas e pomares podem viver saprofiticamente ou parasitando outros fungos (ROIGER, 1991). O *Trichoderma harzianum* atua como micoparasita necrotrófico eficaz no controle de muitos fungos fitopatogênicos, principalmente os que têm estruturas de resistência que dificultam o ataque por outros microrganismos (MELO, 1998).

O agente de controle biológico consiste na utilização de organismos que atuam como biocontroladores, para o combate de doenças fúngicas, o fungo do gênero *T. harzianum* são oportunistas, simbioses de plantas, fortes competidores no ambiente do solo, constituem fontes de enzimas degradadoras de parede de outros fungos, são, também, importantes produtores de antibióticos e parasitas de fungos fitopatogênicos (KUMAR et al., 2012), controlando e reduzindo a pressão do inóculo da doença no campo.

Diferente do controle químico que tem efeito sobre as doenças em plantas, mas que acarreta inúmeros problemas para o meio ambiente, o controle biológico promove a redução do inóculo da doença no campo e, conseqüentemente, sua incidência, o controle biológico com *T. harzianum* em feijoeiro deve ser utilizado de forma preventiva e pode ser realizado no tratamento de sementes ou com pulverização em área total quando a cultura estiver com três a quatro trifólios.

Desta maneira, o presente estudo teve como propósito selecionar isolados de *Trichoderma harzianum* quanto à sua capacidade de produzir metabólitos voláteis, para competir e inibir o crescimento de *Fusarium solani in vitro* para posteriormente, serem empregados em testes de casa de vegetação. Para isso foi proposto um programa experimental que engloba a análise das espécies, conduzidas pelo delineamento inteiramente ao acaso (DIC) e os resultados serão submetidos à análise de variância, com médias separadas pelo teste de Duncan (5%).

2. METODOLOGIA

O Experimento foi conduzido na Faculdade de Inhumas – FacMais. Os isolados de *Trichoderma harzianum* e do patógeno *Fusarium solani* foram fornecidos pela Embrapa Arroz e Feijão, que pertencem à Coleção de Fungos para Controle Biológico de Fitopatógenos da Embrapa, Santo Antônio de Goiás-GO para a condução do experimento. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com 5 repetições. Os dados foram submetidos separadamente à análise de variância. Quando se observou diferença significativa pelo F-teste (5%), foi realizado o teste Duncan (5%) para a separação de médias.

2.1 Antagonismo em cultura pareada

Para o teste de confronto dos isolados de *Trichoderma harzianum* com os isolados de *Fusarium solani*, estes foram submetidos ao método da confrontação direta (ETHUR et al., 2005). Discos de ágar contendo micélio dos fungos (5 mm de diâmetro) foram retirados de colônias com setes dias de cultivo e depositados, simultaneamente, em extremidades opostas das placas de Petri, contendo meio BDA (Agar Batata Dextrose) solidificado, as placas foram incubadas a 25°C e fotoperíodo de 12 horas. A avaliação foi realizada assim que a testemunha desenvolveu até a borda da placa, com o auxílio de um paquímetro o diâmetro das colônias foram medidas.

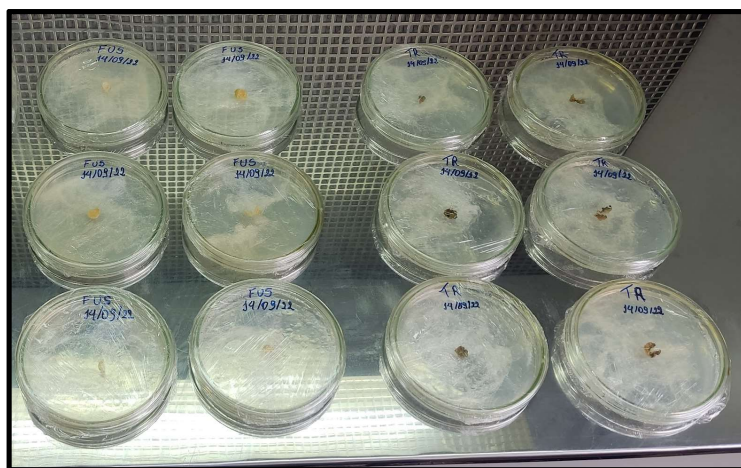


Figura 1: Inoculação em placas de petri com *T. Harzianum* e *F. solani*.



Figura 2: Teste de confronto entre *T. Harzianum* e *F. solani* em placas de petri.

2.2 Metabólitos voláteis

O teste metabólitos voláteis foi realizado com base no método de (BHARAT et al.1980), onde as tampas ou fundos das placas de Petri com o mesmo tamanho (diâmetro) foram dispostas umas sobre as outras, após ter vertido meio BDA em cada uma delas. No centro da placa, foi semeado o antagonista na inferior e na superior o patógeno, ambos na forma de discos de agar (1 cm) contendo micélio e conídios. Para testemunha o patógeno inoculado na placa sem o antagonista. Lateralmente, as tampas foram vedadas com membrana plástica e em seguida, incubadas a 25°C com fotoperíodo de 12 horas.

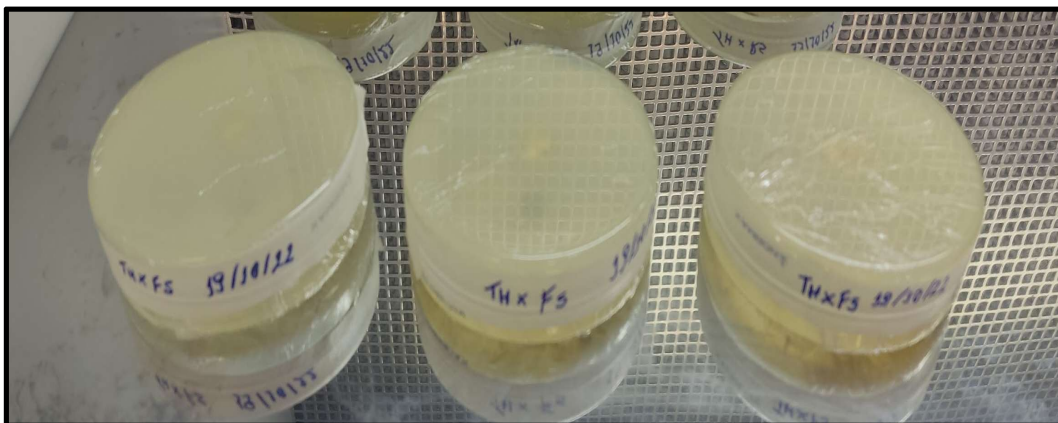


Figura 1: Teste de metabólitos voláteis entre *T. Harzianum* e *F. solani*.



Figura 2: Teste de metabólitos voláteis entre *T. Harzianum* e *F. solani*.

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção de metabólitos voláteis, do isolado de *Trichoderma harzianum* exibiu ação antifúngica, pois inibiu em 80% o crescimento do patógeno, sendo estatisticamente significativo (Tabela. 1).

Segundo (SILVA, 2011), os resultados obtidos corroboram com o seu trabalho realizado, pois indicam um grande potencial de controle de *F. solani* utilizando-se espécies de *T. harzianum*. Os resultados obtidos no presente trabalho estão de acordo com os observados por (Ethur et al., 2001), onde os autores verificaram que os isolados de *T. harzianum* cresceram sobre o patógeno sendo eficaz no seu controle.

Tabela 1. Efeito inibidor de metabólitos voláteis de *T. harzianum* sobre o crescimento de *F. solani*.

Tratamentos	Metabólitos voláteis
Sem <i>T. harzianum</i> apenas <i>F. solani</i>	100 B
<i>T.harzianum</i>	100 B
<i>Fusarium solani</i> + <i>T. harzianum</i>	20 A

Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

O *Trichoderma harzianum* inibiu o crescimento micelial do fungo *Fusarium solani*, em confronto direto, apresentando 1,4 cm de diâmetro, com 84% de inibição do patógeno em relação à testemunha (Tabela. 2).

Estes resultados estão de acordo com o que foi constatado por (LISBOA et al., 2007), que obteve, trabalhando com isolados de *T. harzianum*, inibição in vitro de 42,31% a até 74,41% do micélio de *Botrytis cinerea*.

O confronto antagonista vs. fitopatógeno in vivo, contribui com expectativas futuras para agricultura, de maneira a ressaltar a tomada de decisão a possíveis usos de biocontroladores contra diversas doenças (OTADOH et al., 2011), e possíveis promotores de crescimento das plantas (JOSHI et al., 2010). (Rinu et al., 2013), verificaram em um estudo que a estirpe do *T. gamsii* foram eficazes em campo, de modo que as plantas leguminosas e cereais não apresentaram sintomas de doenças, sendo testado contra inúmeros patógenos, dentre, *Alternaria alternata*, *Cladosporium oxysporum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium pallidoroseum*, *Fusarium solani*, *Pythium afertile*, e *Phomopsis archeri*.

Tabela 2. Médias do crescimento micelial de *Trichoderma harzianum*, em ensaio de confrontação direta.

Tratamentos	Crescimento micelial (cm)
Sem <i>T. harzianum</i> apenas <i>F. solani</i>	9 B
<i>T.harzianum</i>	9 B
<i>Fusarium solani</i> + <i>T. harzianum</i>	7,6 A

Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

CONCLUSÃO

O isolado de *Trichoderma harzianum* foi efetivo na redução do crescimento micelial de *Fusarium solani* no teste de metabólitos voláteis.

O *T. harzianum* em confronto com *Fusarium solani* apresentou alto potencial antagônico.

O isolado de *Trichoderma harzianum* pode ser utilizado como um agente biocontrolador de doenças radiculares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, Patologia Vegetal da G.N. 4 ed. **Academia Press**: San Diego, 635 p. (1997).

Ageitec - Agência Embrapa de Informação Tecnológica. **ÁRVORE DO CONHECIMENTO**: feijão. Doenças Fúngicas do Solo. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2004. Disponível em: <<https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/feijao/arvore/CONT000gwwk5em102wx7ha0g934vg016m2r7.html>>, acessado em 18 abril de 2022.

BONETT, L. P.; CORRÊA, M. S. G.; POZZA-JÚNIOR, M. C.; ROSA, T. B.; SILVA, L. I. **Antagonismo in vitro de trichoderma spp. contra agente causal da antracnose em feijoeiro comum**. SaBios. Rev. Saúde e Biol., v. 8, n. 1, p. 27 – 35, 2013

BHARAT, R.; SINGH, V.N.; SINGH, D.B. ***Trichoderma viride* as a mycoparasite of *Aspergillus* spp.**. Planta e Solo, v.57, p.131-135, 1980.

BROUGHTON, W. J., HERNÁNDEZ, G., BLAIR, M., BEEBE, S., GEPTS, P., E VANDERLEYDEN, J. (2003). **Feijões (*Phaseolus* spp.): modelos de leguminosas alimentares**. Solo vegetal 252, 55-128. doi: 10.1023/A:1024146710611.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Conjuntura agropecuária do feijão**. 2015. Disponível em < <http://www.conab.gov.br/>>. Acesso em 18 abril de 2022.

ETHUR, L. Z.; BLUME, E.; MUNIZ, M.; SILVA, A. C. F.; STEFANELO, D. R.; ROCHA, E. K. **Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* em pepineiro cultivado em estufa**. Fitopatologia Brasileira, v. 30, n. 2, p. 127-133, 2005.

ETHUR, L. Z.; CEMBRANEL, C. Z.; SILVA, DA A. C. F. **Seleção de trichoderma spp. visando ao controle de sclerotinia sclerotiorum, in vitro.** Ciência Rural, v. 31, n.5, p. 885 – 887, 2001.

JOSHI, B. B.; BHATT, R. P.; BAHUKHANDI, B. **Antagonistic and plant growth activity of Trichoderma isolates of Western Himalayas.** Journal of Environmental Biology, v. 31(6), p. 921-928, 2010.

KUMAR, K.; AMARESAN, N.; BHAGAT, S.; MADHURI, K.; SRIVASTAVA, R.C. **Isolamento e caracterização de Trichoderma spp. para atividade antagônica contra podridão radicular e patógenos foliares.** Indian Journal of Microbiology, v.52, n.2, p.137-144, 2012.

LISBOA, B.B.; BOCHESE, C.C.; VARGAS, L.K.; SILVEIRA, J.R.P.; RADIN, B.; OLIVEIRA, A.M.R. **Eficiência de Trichoderma harzianum e Gliocladium viride na redução da incidência de Botrytis cinerea em tomateiro cultivado sob ambiente protegido.** Ciência Rural, v. 37, n.5, p. 1255-1260, 2007.

MELO, I.S., **Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos.** In: MELO, I.S. de .; AZEVEDO, J. L. de. Controle Biológico. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998.

MESSINA, V. (2014). **Benefícios nutricionais e sanitários do feijão seco.** Am. J. Clin. Nutr. 100, 437S-442S. doi: 10.3945/ajcn.113.071472.

OGOSHI, A. 1987.**Ecologia e parciais de anastomose e grupos intraespecíficos de Rhizoctonia solani Kuhn.** Fitopatologia de Revisão Anual, 25: 125-143.

OTADOH, J. A.; OKOTH, S. A.; OCHANDA, J.; KAHINDI, J. P. **Assessment of Trichoderma isolates for virulence efficacy on Fusarium oxysporum F. sp. Phaseoli.** Tropical and Subtropical Agroecosystems, v. 13, p. 99-107, 2011

PAPAVIZAS, G.C. & C.B. DAVEY. 1962. **Isolamento e patogenicidade de Rhizoctonia saprofiticamente existente no solo.** Fitopatologia, 52: 834-840.

RINU, K.; SATI, P.; PANDEY, A. **Trichoderma gamsii (NFCI 2177): A newly isolated endophytic, psychrotolerant, plant growth promoting, and antagonistic fungal strain.** Journal of Basic Microbiology, v. 0, p. 1-10, 2013.

RUBIALES, D., MIKIC, A. **Introduction: legumes in sustainable agriculture.** Critical Reviews in Plant Sciences, v. 34, p. 2–3, 2015.

ROIGER, T.C.; JEFFERS S.N.; CALDWELL, R.W. **Ocorrência de espécies trichoderma em pomar de maçã e solo florestal.** Biologia do Solo e Bioquímica, Grã-Bretanha, v. 43, n. 4, p. 353-359, 1991.

SILVA, A. N. **Efeito de Produtos Químicos e de Trichoderma Spp. no Controle de Fusarium Solani do Maracujazeiro.** 2011. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Área de concentração em Fitotecnia) – Universidade Estadual do Sul da Bahia de Vitória da Conquista – BA.