

ESTIRPES DE *Trichoderma* spp. ASSOCIADAS À RIZOSFERA DO AZEVÉM COM POTENCIAL PARA REDUZIR A SEVERIDADE DA BRUSONE

ALFONSO DANIEL VICTORIA ARELLANO¹; **EMANUELI BIZARRO FURTADO²**;
LUANA GERI MOREIRA³; **JESSICA BLANK VOLZ⁴**;
ANDRÉ DA SILVA SOUZA ALVES⁵; **LEANDRO JOSÉ DALLAGNOL⁶**

¹*Universidade Federal de Pelotas – reakesse_123@hotmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – emanuelifurtado@gmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – luanagmoreiraa@gmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – Jessicabvolz@gmail.com*

⁵*Universidade Federal de Pelotas – andrealvesagro98@gmail.com*

⁶*Universidade Federal de Pelotas – leandro.dallagnol@ufpel.edu.br*

1. INTRODUÇÃO

O azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) é uma das espécies forrageiras mais cultivadas no Brasil, destacando-se pela resistência ao frio, qualidade nutricional e o alto potencial de produção de matéria seca (PEREIRA et al. 2008). No Rio Grande do Sul, o azevém supre as necessidades de alimento para a bovinocultura, devido a sua disponibilidade nos períodos invernais nos quais há escassez de alimento para o gado (FLORES, 2008). Não obstante, a cultura é ameaçada por vários fatores, entre os principais: a falta de adubações periódicas, falhas no estabelecimento e os problemas bióticos, como o ataque de pragas e doenças (DIAS FILHO, 2011). Neste sentido, a brusone, doença causada pelo fungo *Pyricuaria* spp. tem se destacado pelo dano na fase vegetativa, comprometendo a pastagem, e a reprodutiva no azevém, comprometendo a produção de sementes (NUNES; MITTELMANN 2009).

O manejo da doença é muito difícil, pois não há cultivares resistentes e, atualmente no Brasil não há fungicidas registrados para a cultura. Assim, alternativas para reduzir esses impactos da doença são necessárias, bem como que sejam sustentáveis ambientalmente.

O controle biológico, é a chave do manejo integrado de pragas e doenças e tem gerado bastante interesse entre os agricultores pelo uso ecológico e sustentável do manejo de doenças (AKANSHA et al. 2018). O fungo *Trichoderma* spp. têm sido amplamente usado dentre desses programas de manejo. O controle dos patógenos ocorre através de diferentes mecanismos de ação como competição, parasitismo, antibioses e indução de resistência (HARMAN, 2006). *Trichoderma harzianum* por exemplo, tem mostrado efeitos positivos em inoculações foliares com patógenos agressivos como o mofo branco no feijão causado por *Sclerotinia sclerotiorum* (CARVALHO et al. 2015) e quando inoculadas nas sementes contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* em tomate (MWANGI et al. 2011).

O objetivo desse estudo, foi avaliar o efeito de 10 estirpes de *Trichoderma* spp. provenientes da rizosfera do azevém sobre a severidade da brusone em condições de casa de vegetação.

2. METODOLOGIA

As estirpes de *Trichoderma* spp. TR1, TR2, TR4, TR5, TR6, TR6, TR7, TR8, TR9, TR10 e TR11 usadas no presente estudo foram isoladas da rizosfera de azevém. A estirpe PY2 de *Pyricularia* spp. foi isolada a partir de tecido foliar. Todos os isolados são oriundos do município de Capão do Leão, e atualmente encontram-

se armazenadas a -20 °C no herbário do Laboratório de Interação Planta Patógeno (LIPP).

O trabalho foi conduzido na casa de vegetação sob um delinhamento interaumente casualizado consistindo de 11 tratamentos, constituídos pelas 10 estirpes de *Trichoderma* spp. mais a testemunha (sem inoculação) com 4 repetições.

Sementes da variedade BRS Ponteio foram tratadas com *Trichoderma* spp. (de acordo aos tratamentos) com uma suspensão de esporos de 10^7 esporos mL⁻¹. Para tal, as sementes foram imersas na suspensão e sometidas a rotação de 60 rpm a 24 °C durante 1 hora. Posteriormente, foram retiradas da suspensão por filtração com gaze estéril, e incubadas sobre papel mata-borrão (para tirar o excesso de umidade) a 24 °C e fotoperíodo de 12 horas com luz branca fluorescente e ventilação constante.

As sementes foram semeadas em vasos de 1 litro contendo solo argiloso com pH ajustado para 6.5. As sementes foram dispostas em 4 pontos equidistantes no vaso com arranjo de quadrado, em cada ponto foram introduzidas duas sementes. 15 dias após da emergência foram adubadas com adubo (5-20-20) na razão de 250 kg.ha⁻¹. No inicio do perfilhamento foi aplicado o equivalente a 250 kg.ha⁻¹ de ureia comum.

Plantas de azevém com 70 dias foram inoculadas com suspensão de 10^6 esporos mL⁻¹ de *Pyricularia* spp. Após inoculação, as plantas foram mantidas por 48 horas em umidade relativa acima do 80% com ajuda de um umidificador. As plantas ficaram expostas em condições de casa de vegetação (26±4 °C) até a avaliação da severidade.

A severidade foi avaliada 96 horas após da inoculação. As folhas foram coletadas e herborizadas, posteriormente escaneadas e processadas no software Imagej para determinar a severidade. Para obter o dado da repetição em cada um dos tratamentos, foi retirada uma média de 10 folhas coletadas completamente ao acaso. Os dados foram submetidos à análise de variância e quando significativos, foi aplicado o teste de Tukey ($P<0.05$). A análise foi realizada com o pacote estatístico SAS (Statistical Analysis System, Cary, North Carolina), versão 9.3.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados mostram diferença significativas entre os isolados de *Trichoderma* spp. As menores severidades foram observadas nas plantas tratadas com as estirpes TR10, TR4, TR8 e TR1 com valores de 3.3, 3.7, 4.1 e 4.3% respectivamente (Figura1). No entanto, não diferiram estatisticamente dos tratamentos TR9 (4.9%), TR7 (6%) e TR11 (8.2%). Os isolados TR2, TR5, TR6, e TR11 não diferiram estatisticamente da testemunha.

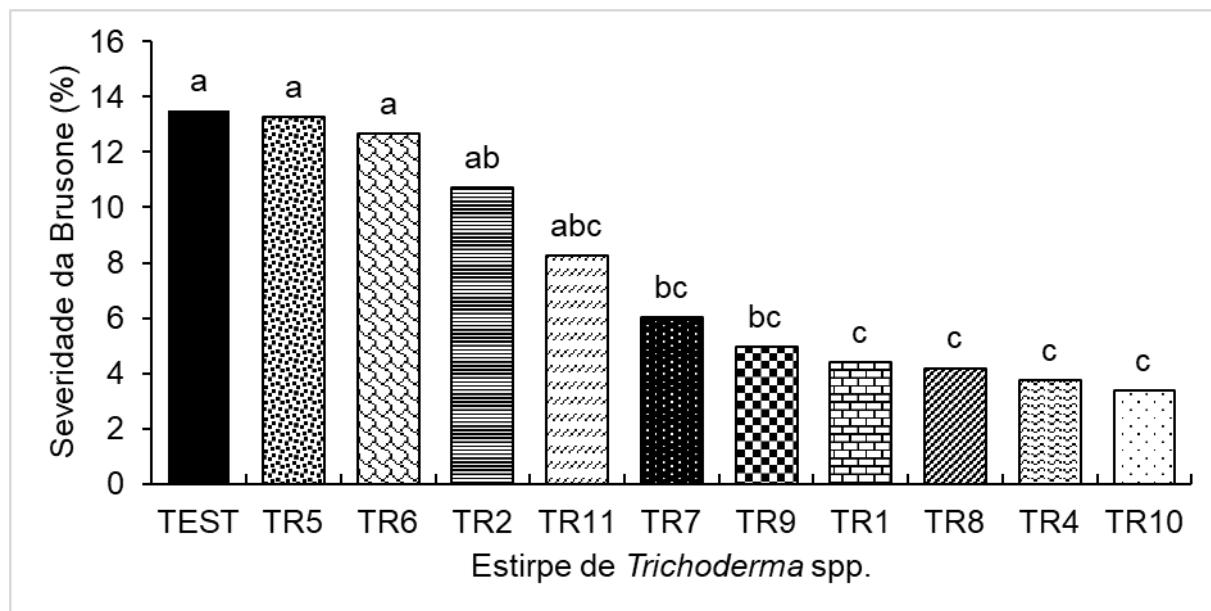


Figura 1. Severidade da brusone, causada por *Pyricularia* spp. em plantas de azevém tratadas com diferentes estirpes de *Trichoderma* spp.

Com base nos resultados, constata-se que a estirpe TR10 obteve o melhor resultado com 75% de redução da severidade, e pelo menos 5 estirpes mais (TR4, TR8, TR1, TR9 e TR7) reduziram mais de um 50% a severidade em relação à testemunha. Essa redução na severidade da doença indica que as estirpes isoladas na rizósfera conseguiram-se aderir as sementes e potencializar as defesas da planta contra o ataque do patógeno. No entanto, embora os dados evidenciam a redução da severidade não pode-se afirmar que seja um fenômeno de indução de resistência, devido a que são necessários estudos de avaliação enzimática e/ou transcritómica que possam explicar melhor os resultados. Entretanto o presente estudo é a primeira evidência de redução de severidade contra *Pyricularia* spp. usando estirpes de *Trichoderma* spp. e também confirma-se que a técnica de inoculação utilizada mostrou-se promissora para os programas de uso de agentes de controle biológico quando inoculadas nas sementes.

4. CONCLUSÃO

As estirpes de *Trichoderma* spp. inoculadas em sementes do azevém (var. BRS ponteio) possuem capacidade para reduzir a severidade da brusone em condições de casa de vegetação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO D. D. C. et al. Biological control of white mold by *Trichoderma harzianum* in common bean under field conditions. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 50, n.12, p. 1220–1224, 2015.

DIAS FILHO, M.B. **Diagnóstico das Pastagens no Brasil**. Embrapa, Amazônia, 2014. Acessado em 13 de setembro 2019. Online. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1070416/1/TC1117CartilhaPastagemV04.pdf>

FLORES, R. A. et al. Produção de forragem de populações de azevém anual no estado do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Porto Alegre, v.37, n.7, p.1168-1175, 2008.

HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, New York, v.96, n.2, p.190-194, 2006.

MWANGI, M. W. et al. Inoculation of tomato seedlings with *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizal fungi and their effect on growth and control of wilt in tomato seedlings. **Brazilian Journal of Microbiology**, Nairobi, Kenya, v. 42, p. 508–513, 2011.

NUNES, C. D. M. N.; MITTELMANN, A. **Doenças do azevém**. p. 40, 2009. Acessado em 13 de setembro de 2019. Online. Disponível em: http://www.cnpgl.embrapa.br/totem/regioes/sul/Doencas_do_azevem.pdf

PEREIRA, A. V. et al. Comportamento agronômico de populações de azevém anual (*Lolium multiflorum* L.), para cultivo invernal na região sudeste, **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 567-572, 2008.

SINGH, A. et al. Review on Plant-*Trichoderma*-Pathogen Interaction, **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, India, v. 7, n. 2, p. 2382–2397, 2018.