

Artigo

Influência da Temperatura e Radiação Ultravioleta no Desenvolvimento de Isolados de *Trichoderma* spp.

Laís Lacerda Brasil de Oliveira¹ , João Gutemberg Leite Moraes¹,
Christiana de Fátima Bruce da Silva², Alan Bernard Oliveira de Sousa³,
Natália Moura de Vasconcelos Beleza², Silvio Gentil Jacinto Júnior¹

¹Mestrado em Climatologia e Aplicações nos Países da CPLP, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

²Laboratório de Patologia Pós-Colheita, Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, Brasil.

³Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

Recebido em: 30 de Abril de 2019 - Aceito em: 27 de Junho de 2019

Resumo

As mudanças climáticas são uma ameaça para o setor agrícola. O objetivo do estudo foi avaliar a influência da temperatura e radiação ultravioleta (UV) no desenvolvimento *in vitro* de isolados de *Trichoderma* spp. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Patologia Pós-Colheita, da Embrapa Agroindústria Tropical (Fortaleza - CE). Avaliou-se a influência da temperatura de incubação (30, 35 e 40 °C) no crescimento micelial, bem como na esporulação (conídios. mL⁻¹) e na germinação (%) dos conídios dos isolados de *Trichoderma* spp. (*T. asperellum* - SF 04, Quality WG®; *T. harzianum* - IBLF 006, Ecotrich WP®; e *T. harzianum* ESALQ - 1306, Trichodermil 1306). Para a avaliação da influência da UV, as placas de Petri contendo os isolados fúngicos foram expostas à luz em diferentes intervalos de tempo (0, 2, 4, 6 e 8 minutos) e obteve-se a germinação relativa. O isolado mais sensível à temperatura foi *T. asperellum* (SF 04), no qual, a temperatura de 35 °C apresentou menor área de crescimento micelial e menor germinação relativa (38,4%). O isolado *T. harzianum* (ESALQ 1306) apresentou a menor porcentagem de conídios germinados a 30 °C (63%), porém, teve o maior número a 35 °C (100%). A radiação UV diminuiu a germinação dos conídios e os isolados que apresentaram maior germinação relativa ao final do período de exposição foi *T. asperellum* (SF 04) e *T. harzianum* (ESALQ 1306). Estes resultados podem demonstrar uma maior capacidade de adaptação do isolado *T. harzianum* (ESALQ 1306) às condições extremas de temperatura.

Palavras-chave: mudanças climáticas, sistema de produção, promoção de crescimento, controle biológico, adaptação.

Influence of Temperature and UV radiation in the development of strains of *Trichoderma* spp.

Abstract

Climate change is a threat to the agricultural sector. The objective of this study was to evaluate the influence of temperature and ultraviolet radiation (UV) on the *in vitro* development of *Trichoderma* spp. The experiments were conducted at the Postharvest Pathology Laboratory, at Embrapa Agroindústria Tropical (Fortaleza - CE). It was evaluated the influence of the incubation temperature (30, 35 and 40 °C) on mycelial growth, as well as sporulation (conidia.mL⁻¹) and germination (%) of the conidia of the *Trichoderma* spp. (*T. asperellum* - SF 04, Quality WG®; *T. harzianum* - IBLF 006, Ecotrich WP®; and *T. harzianum* ESALQ - 1306, Trichodermil 1306). To evaluate the influence of UV, the Petri dishes of the fungal strains were exposed to light at different time intervals (0, 2, 4, 6 and 8 minutes) and obtained relative germination. The most temperature sensitive strain was *T. asperellum* (SF 04), in which the temperature of 35 °C showed a lower area of mycelial growth and lower relative germination (38.4%). The *T. harzianum* strain (ESALQ 1306) presented the lowest percentage of conidia germinated at 30 °C (63%), but had the highest number at 35 °C (100%). The UV radiation decreased the germination of the conidia and the strains that had the highest germination relative to the end of the exposure period were *T. asperellum* (SF 04) and *T. harzianum* (ESALQ 1306). These results may demonstrate a higher adaptability of the *T. harzianum* strain (ESALQ 1306) to extreme temperature conditions.

Keywords: climate change, production system, growth promotion, biological control, adaptation.

1. Introdução

O aumento nas concentrações de dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄), monóxido de carbono (CO), óxido nitroso (N₂O), óxido de nitrogênio (NO₂) e ozônio (O₃), gases relacionados ao efeito estufa, estão contribuindo para o fenômeno das mudanças climáticas (Ghini *et al.*, 2008). Este efeito tem recebido grande destaque da mídia e são objeto de estudo de considerável número de pesquisadores. Tem-se constatado que, não há previsão da redução da concentração de nenhum desses gases em curto prazo, antevendo dessa forma que os habitantes do planeta Terra sofrerão as consequências dessas mudanças por muitos anos (IPCC, 2013).

O Nordeste do Brasil (NEB) tem considerável vulnerabilidade às mudanças climáticas e está sujeito a alterações na distribuição de eventos extremos, veranicos, distribuição espacial de chuvas, etc., com diversos sistemas contribuindo para a variabilidade climática e possivelmente a alterações climáticas naturais e antrópicas (Kayano e Andreoli, 2009; PBMC, 2012). O estado do Ceará (CE) situa-se no NEB e apresenta clima predominantemente semi-árido. As precipitações são variáveis e no litoral de Fortaleza pode chegar a mais de 1.400/ano (Coutinho *et al.*, 2017). As projeções do PBMC (Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas) para o NEB são de decréscimo entre 10% e 20% da precipitação e aumento de 0,5 a 1 °C da temperatura do ar durante as próximas três décadas (até 2040), com aumento gradual de temperatura de 1,5 a 2,5 °C e diminuição entre 25% e 35% nos padrões de chuva no período de 2041-2070. Essas mudanças podem desencadear o processo de desertificação da caatinga e severas consequências (PBMC, 2012).

As alterações climáticas tem influência também, diretamente na produção agrícola modificando a fisiologia, o crescimento e o rendimento das culturas (Ainsworth *et al.*, 2002; Percy *et al.*, 2003). Além disso, podem influenciar nas relações entre patógeno/planta, ocasionando maiores problemas nas intensidades das doenças (Mcelrone *et al.*, 2010). Em decorrência dessas mudanças, será necessário, rever os tratos culturais realizados nos cultivos, que poderão perder a eficiência e tornar a agricultura ainda mais dependente de defensivos para suprir as adversidades, resultando em maior custo na produção e, conseqüentemente, em toda a cadeia consumidora (Hannukkala *et al.*, 2007).

Uma das técnicas que pode ser afetada diretamente pelas mudanças climáticas é o uso de agentes de controle biológico (antagonistas) e de promotores de crescimento de plantas. Uma vez alterado o ambiente, os reflexos serão sentidos nas populações de patógenos, nos hospedeiros, bem como nos antagonistas e nos promotores de crescimento. Estas alterações podem provocar perdas de função ou de adaptabilidade destes microrganismos benéficos (Lucon, 2008). Dentre os agentes de controle biológico e

promotores de crescimento de plantas, destacam-se os fungos do gênero *Trichoderma*, que pertencem à família Hypocreaceae (Index fugorum, 2018). *Trichoderma* é um fungo saprófita, comum nos solos. Suas estruturas vegetativas são chamadas de micélios e as estruturas reprodutivas são denominadas de conídios. Este fungo apresenta uma importante função ecológica, pois participa na mineralização dos restos de folhas, caules e raízes mortas, ajudando a manter o equilíbrio do ambiente (Gams e Bisset, 1998).

Os mecanismos de ação das espécies de *Trichoderma* são variados, destacando-se a antibiose, competição, micoparasitismo, promoção de crescimento e a indução de resistência à doenças. Além disso, diferentes espécies de *Trichoderma* produzem enzimas que podem ter aplicações industriais, como polissacaridasas, proteases e lipases. Na natureza, tais enzimas estão envolvidas na degradação da parede celular dos fitopatógenos (Lucon, 2008). Adicionalmente, esses fungos têm grande facilidade em colonizar os diversos substratos, inclusive raízes de plantas (Machado *et al.*, 2012).

Apesar de ser um gênero encontrado em vários ambientes, alguns fatores climáticos podem ser limitantes ao fungo. Por exemplo, a temperatura ótima de crescimento da maioria dos isolados de *Trichoderma* está em torno de 25 a 30 °C (Bomfim *et al.*, 2010). Além da temperatura, a radiação ultravioleta (UV) é outro fator limitante no seu crescimento, podendo ser letal, caso estejam diretamente expostos. Dessa forma é importante escolher o melhor agente biológico que se adapte às condições abióticas (temperatura e radiação UV) as quais são expostos, para que assim tenham melhor eficiência no biocontrole (Braga *et al.*, 2001).

Cabe salientar que, um aspecto fundamental na exploração econômica da diversidade microbiana para desenvolvimento de biodefensivos reside na descoberta de isolados com maior atividade ou mais adaptadas às condições ambientais onde esses produtos serão utilizados. Os experimentos *in vitro*, por exemplo, permitem identificar os isolados promissores no antagonismo a patógenos, bem como na promoção do crescimento de plantas (Valadares-Ingles *et al.*, 2018). Adicionalmente, vale destacar também que, o uso de diferentes isolados de *Trichoderma* tem levado a aumentos significativos na porcentagem e precocidade de germinação, aumento no crescimento e produtividade de várias culturas agrícolas. Como exemplo, podem-se citar cultivos de milho (*Zea mays*), feijão (*Phaseolus vulgaris*), ervilha (*Pisum sativum*), entre outros (Resende *et al.*, 2004; Hoyos-Carvajal *et al.*, 2009).

Tendo em vista as mudanças climáticas e seus efeitos sobre a radiação UV e temperatura, é importante avaliar a influência desses fatores abióticos, *in vitro*, no desenvolvimento de isolados de *Trichoderma*, como forma de auxiliar nas metodologias propostas para testes em condições controladas. Portanto, o objetivo deste trabalho

é avaliar *in vitro* a influência da temperatura e radiação UV no desenvolvimento de três isolados de *Trichoderma* spp.

2. Materiais e Métodos

2.1. Obtenção e multiplicação do inóculo dos isolados de *Trichoderma*

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Patologia Pós-Colheita, localizado na Embrapa Agroindústria Tropical (Fortaleza, CE). Os isolados fúngicos para todos os ensaios foram selecionados de acordo com outros trabalhos conduzidos em diferentes regiões do país, que utilizam produtos comerciais à base do ingrediente ativo de *Trichoderma* (Lima *et al.*, 2016; França *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2017). Dessa forma, para a obtenção dos isolados foram utilizados 3 produtos comerciais: *T. asperellum* - SF 04 (Quality WG®; Laboratório de BioControle Farroupilha S.A, Patos de Minas, MG, Brasil), *T. harzianum* - IBLF 006 (Ecotrich WP®; Ballagro Agro Tecnologia Ltda., Atibaia, SP, Brasil) e *T. harzianum* ESALQ - 1306 (Trichodermil 1306®; Koppert do Brasil Sistemas Biológicos Ltda).

Para a obtenção do inóculo inicial, os produtos foram hidratados em solução salina 0,85%, por cinco minutos e 1 mL de cada suspensão foram depositados individualmente no centro de placas de Petri, contendo meio de cultura BDA (batata dextrose ágar). Após o procedimento, as placas foram incubadas na temperatura de 28 °C e fotoperíodo de 12 h claro/12 h escuro.

2.2. Influência de diferentes temperaturas no crescimento micelial de isolados de *Trichoderma*

Para este ensaio, foram inoculadas placas com meio BDA contendo um disco de micélio de 6 mm, com 7 dias de crescimento de cada isolado de *Trichoderma* (*T. asperellum* - SF 04; *T. harzianum* - IBLF 006 e *T. harzianum* - ESALQ 1306), disposto no centro da placa. As placas foram submetidas às temperaturas de 30, 35 e 40 °C em incubadoras do tipo BOD. Foram incubadas 20 placas de Petri de cada isolado distribuídos igualmente nas 4 prateleiras, totalizando 60 placas em cada BOD, nas respectivas temperaturas.

O crescimento micelial foi mensurado diariamente, com auxílio de paquímetro e foi obtido o diâmetro médio de crescimento micelial, em dois eixos ortogonais (média das duas medidas diametralmente opostas), até que nas placas incubadas na temperatura de 30 °C (temperatura ideal de crescimento), o crescimento micelial de uma das colônias do fungo atingisse a borda da placa. A partir daí calculou-se a área de crescimento micelial, em mm².

Posteriormente, obteve-se a Área Abaixo da Curva de Crescimento Micelial, expressa em cm², adaptado de Campbell e Madden (1990):

$$AACM = \sum_i^{n-1} \frac{(y_i + y_{i+1})}{2} (t_{i+1} - t_i) \quad (1)$$

em que $y_i + y_{i+1}$ são os valores de crescimento da colônia observados em duas avaliações consecutivas; t_i o intervalo entre as avaliações e n a duração do período de avaliação.

2.3. Influência de diferentes temperaturas na capacidade de esporulação de isolados de *Trichoderma*

Para obter os dados de esporulação, foram selecionadas 4 placas representativas de cada isolado, nas condições de melhor crescimento nas temperaturas de 30 e 35 °C, com 8 dias de crescimento em meio BDA. Foram obtidas suspensões de conídios de maneira asséptica, a partir da lavagem das placas com 20 mL de solução salina estéril, a 0,85%. A filtração foi realizada com auxílio de gaze e, a suspensão foi depositada em béqueres estéreis. Então, procedeu-se a contagem dos conídios de *Trichoderma*, com auxílio de Câmara de Neubauer, no microscópio de luz (40x) e a concentração foi expressa em conídios/mL.

2.4. Influência de diferentes temperaturas na germinação dos conídios de isolados de *Trichoderma*

O teste de germinação foi realizado assepticamente obtendo-se uma suspensão de conídios, a partir da lavagem de cada placa com 20 mL de solução salina estéril, a 0,85 g/L e filtragem com gaze. A contagem foi conduzida em microscópio de luz (40x), com auxílio da Câmara de Neubauer. Para tal foi necessário ajustar a concentração dos conídios, para 1×10^5 conídio mL⁻¹, através de diluições seriadas.

Após a obtenção da suspensão de conídios e diluição, foram dispostos 100 µL no centro de cada uma das placas de Petri, contendo meio Ágar-Água 2%, espalhando-se com alça de Drigalski até secagem. Então, procedeu-se a incubação das placas nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C, em BOD por 24 h, com fotoperíodo de 12 h claro/12 h escuro. Após decorrido esse tempo, cortou-se um fragmento de aproximadamente 1 x 1 cm do meio de cultura, com auxílio de bisturi estéril para dispensar na lâmina e adicionou-se uma gota de corante Azul de Aman, que contém lactofenol, capaz de paralisar a germinação.

As lâminas foram avaliadas no microscópio de luz (40x), em quadruplicata e a cada 100 conídios contabilizados, aleatoriamente, foi registrado o número daqueles que haviam germinado, ou seja, aqueles em que o tubo germinativo era igual ou maior do que a largura do conídio. Os dados foram expressos em germinação relativa (%).

2.5. Influência de diferentes intervalos de exposição à radiação UV na germinação dos conídios de isolados de *Trichoderma*

Na avaliação do efeito da luz ultravioleta na germinação de conídios dos isolados de *Trichoderma*, foram

realizados testes de exposição das placas de Petri, contendo o crescimento dos isolados. Primeiramente, obteve-se uma suspensão de conídios a partir da lavagem das placas com 20 mL de solução salina estéril, a 0,85 g/L e filtragem com gaze. Após ajuste da concentração para 1×10^5 conídios mL^{-1} , através de diluições seriadas, foram dispostos 100 μL no centro de cada uma das placas (duplicata) contendo meio Ágar-Água 2%, espalhando-se com alça de Drigalski até secagem.

As placas de Petri foram expostas abertas à luz UV de 217 V com comprimento de onda entre 230 e 270 nm do fluxo laminar Pachane[®], modelo PA 310 ECO, nos intervalos de 0, 2, 4, 6 e 8 minutos. Os testes preliminares demonstraram que no tempo de 10 minutos, não houve germinação dos conídios. Ao final de cada intervalo, as placas eram envoltas em papel alumínio e mantidas na câmara de fluxo laminar durante toda a exposição.

Então, procedeu-se a incubação das placas na temperatura de 30 °C, em BOD por 24 h, com fotoperíodo de 12 h claro/12 h escuro. Após decorrido esse tempo, cortou-se um fragmento de aproximadamente 1 x 1 cm do meio de cultura, com auxílio de bisturi estéril. O fragmento foi dispensado em lâmina e adicionou-se uma gota de corante Azul de Aman, para paralisar a germinação. As lâminas foram analisadas no microscópio de luz (40x), em quadruplicata e a cada 100 conídios contabilizados, aleatoriamente, foi registrado o número daqueles que haviam germinado. Os dados foram expressos em germinação relativa (%).

2.6. Análise estatística

Para o ensaio de crescimento micelial, o delineamento experimental foi em blocos casualizados. Cada bloco correspondeu a uma prateleira da BOD, onde ficavam acondicionados 5 placas de cada um dos três isolados estudados. Dessa forma, foram utilizadas 20 placas para cada isolado, em cada BOD, nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C. Os dados de crescimento micelial, esporulação e germinação obtidos foram submetidos à análise de

variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico Sisvar[®].

Para o teste de germinação na luz UV foram calculados os desvios padrão.

3. Resultados e Discussão

3.1. Influência de diferentes temperaturas no crescimento micelial de isolados de *Trichoderma*

No que se refere ao crescimento micelial na temperatura de 30 °C (Fig. 1a), não houve diferença significativa no crescimento micelial entre os isolados, durante os dias de avaliação. Porém, na temperatura de 35 °C a 72 h de incubação (Fig. 1b) houve incrementos no crescimento de *T. harzianum* (ESALQ 1306) em relação aos demais, apresentando uma área de crescimento médio de 1329,48 mm^2 . Enquanto que, *T. asperellum* (SF 04) apresentou-se mais sensível ao aumento de temperatura, com uma área de crescimento médio de 714,52 mm^2 . Resultados semelhantes foram constatados em vários estudos. Por exemplo, Koike e Lucon (2003) observaram que nas temperaturas de 30 °C, o fungo *Trichoderma* teve pleno crescimento micelial, alcançando as bordas da placa de Petri, após 72 horas de incubação. Estes resultados também foram observados por Mukherjee e Raghu (1997), onde foi demonstrado que o *Trichoderma* não foi muito eficaz na supressão de *Sclerotium rolfii* a temperaturas acima de 30 °C, apresentando crescimento reduzido

Após 72 h de incubação, os isolados que foram submetidos a temperatura de 30 °C, apresentaram crescimento micelial ótimo e atingiram a borda da placa, ou seja, apresentaram uma área de crescimento micelial média de 6978,13 mm^2 . Enquanto, nas temperaturas de 35 e 40 °C, os isolados de *Trichoderma* apresentaram seu desenvolvimento afetado pelo aumento de temperatura. Bomfim *et al.* (2010) observaram que o crescimento ótimo das colônias de isolados de *Trichoderma* ocorreu na

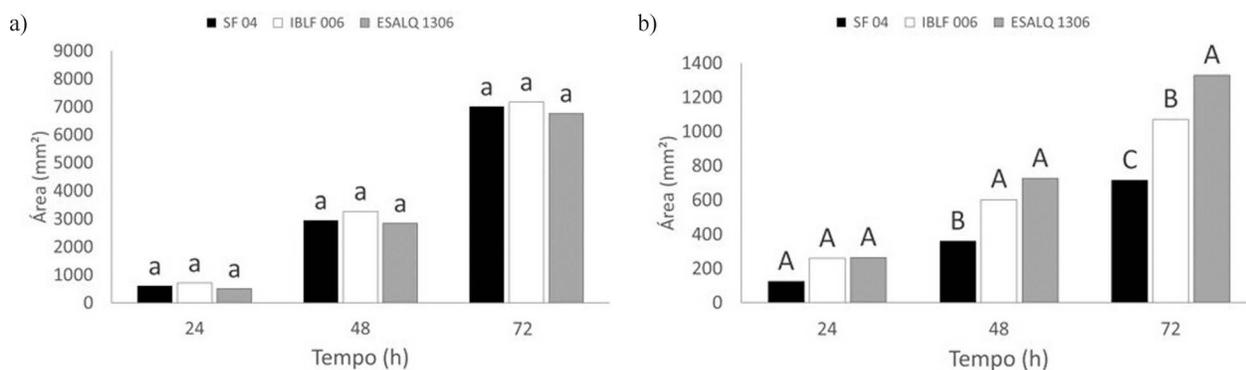


Figura 1 - Área do Crescimento micelial (mm^2) dos isolados de *Trichoderma*, na temperatura de 30 °C (a) e 35 °C (b), em função do tempo (horas). Isolados: SF04 (*T. asperellum*), IBLF006 (*T. harzianum*) e ESALQ1306 (*T. harzianum*). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

temperatura de 30 °C e, que após 48 h o crescimento radial atingiu a borda da placa. Nos experimentos desses autores, foi possível observar que nas temperaturas de 25 e 30 °C não houve diferenças significativas no crescimento dos isolados.

O isolado *T. harzianum* (IBLF 006) demonstrou uma área de crescimento micelial de 7168,60 mm², que é um valor intermediário em comparação com os outros dois isolados estudados. Além disso, observou-se variações sutis no crescimento dos isolados na temperatura de 30 °C e variações bruscas em relação ao aumento de temperatura. Na temperatura de 35 °C todos os parâmetros avaliados apresentaram menores resultados do que a 30 °C.

Quanto a área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM), que considera o crescimento da colônia em cm² em relação ao dia anterior, na temperatura de 30 °C observou-se uma média de crescimento de 71,06 cm², bem superior a média constatada na temperatura de 35 °C, que foi de 12,97 cm². Entretanto, é possível observar que todos os valores foram bastante semelhantes, dentro de cada temperatura, sem diferença significativa (Fig. 2).

Estas diferenças de crescimento nas diferentes temperaturas, podem ocorrer devido as características de crescimento das espécies de *Trichoderma*, que possuem crescimento rápido, geralmente em poucas horas ocupando toda a superfície da placa de Petri (Carabi-Adell, 2003). Em outro estudo, Jackisch-Matsuura e Menezes (1999) observaram taxas de crescimento micelial semelhantes entre os isolados de *T. viride* e *T. harzianum*, quando os mesmos foram antagonistas a *Pythium aphanidermatum*.

No referido estudo, não houve nenhum crescimento micelial dos isolados, na temperatura de 40 °C (Fig. 3). Isso pode estar relacionado, por exemplo, a outros fatores que podem interferir no crescimento/desenvolvimento do fungo. Por exemplo, em condições de campo, com presença de umidade, o fungo tem pleno desenvolvimento nas temperaturas que chegam até a ultrapassar os 40 °C, no

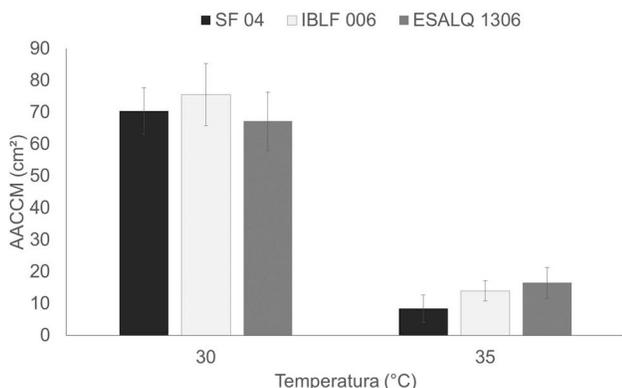


Figura 2 - Área Abaixo da Curva do Crescimento Micelial (AACCM) (cm²) dos isolados de *Trichoderma*. Isolados: SF04 (*T. asperellum*), IBLF006 (*T. harzianum*) e ESALQ1306 (*T. harzianum*).

Nordeste brasileiro (Alves e Campos, 2003). Em outro trabalho, Guimaraes *et al.* (2016) também constataram em estudos *in vitro* a ausência de crescimento de isolados de *Trichoderma*, diferentes dos utilizados neste estudo, na temperatura de 40 °C. Para Dennis e Webster (1971) os isolados de uma mesma espécie, embora sejam morfológicamente semelhantes, podem diferir fisiologicamente e atuarem de maneira diferente quanto ao antagonismo, dependendo, portanto, mais das características fisiológicas do isolado que da espécie propriamente dita. Além da possível variabilidade genética inerente a cada isolado, existem também fatores externos como equilíbrio nutricional e influência de temperatura que afetam o desenvolvimento.

No referido estudo, as diferenças de temperatura proporcionaram as variações observadas na AACCM dos isolados de *Trichoderma* spp.

3.2. Influência de diferentes temperaturas na capacidade de esporulação dos conídios de isolados de *Trichoderma*

No preparo das suspensões de conídios, ao final de 8 dias, foi possível observar que a esporulação dos isolados incubados na temperatura de 30 °C apresentou uma média de $2,27 \times 10^7$ conídios.mL⁻¹ e o isolado *T. asperellum* (SF 04) apresentou valores significativamente menores ($1,84 \times 10^7$ conídios.mL⁻¹) (Fig. 4a). Na temperatura de 35 °C a

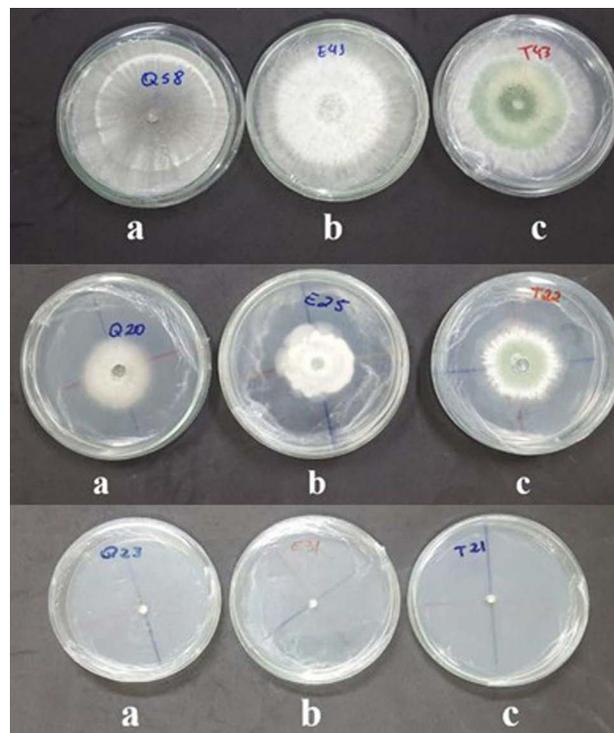


Figura 3 - Placas dos isolados de *Trichoderma*, com 72 h de incubação nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C, respectivamente. Isolados: (a) SF04 (*T. asperellum*), (b) IBLF006 (*T. harzianum*) e (c) ESALQ1306 (*T. harzianum*). Fotos: Laís Brasil.

esporulação foi de $3,6 \times 10^5$ conídios.mL⁻¹ em média e o isolado *T. asperellum* (SF 04) apresentou valores significativamente maiores ($5,2 \times 10^5$ conídios.mL⁻¹) (Fig. 4b).

Vale ressaltar que, como não houve crescimento micelial a 40 °C, também não houve esporulação de nenhum dos isolados testados. Koike e Lucon (2003) observaram valores de $2,3 \times 10^6$ conídios.mL⁻¹ de esporulação de *Trichoderma*, quando cultivado em meio de cultura, contendo como componente o trigo, na temperatura de 27 °C. Estes valores são semelhantes, aos constatados no referido estudo, utilizando como meio de cultura o BDA (batata dextrose ágar).

3.3. Influência de diferentes temperaturas na germinação dos conídios de isolados de *Trichoderma*

O teste de germinação demonstrou que o isolado *T. harzianum* (ESALQ 1306) apresentou a maior porcentagem de conídios germinados na temperatura de 35 °C. Na temperatura de 30 °C foi constatado os menores valores de conídios germinados (Fig. 5). Estes resultados podem demonstrar uma maior capacidade de adaptação do isolado *T. harzianum* - ESALQ 1306 às condições extremas de temperatura, visto que em campos de produção as temperaturas do solo, onde o microrganismo se estabelece podem ultrapassar 30 °C (Patrício, 2007).

Na temperatura de 40 °C não houve germinação dos conídios de nenhum dos isolados testados, pois não houve crescimento micelial e posterior formação dos conídios para a realização do teste.

3.4. Influência de diferentes intervalos de exposição à luz UV na germinação dos conídios de isolados de *Trichoderma*.

A luz UV afetou negativamente a germinação dos conídios de *Trichoderma* spp. (Fig. 6). Nos primeiros dois minutos de exposição, o isolado *T. asperellum* (SF 04) apresentou a menor germinação relativa (56%) em relação aos demais isolados. Ao final dos oito minutos de exposi-

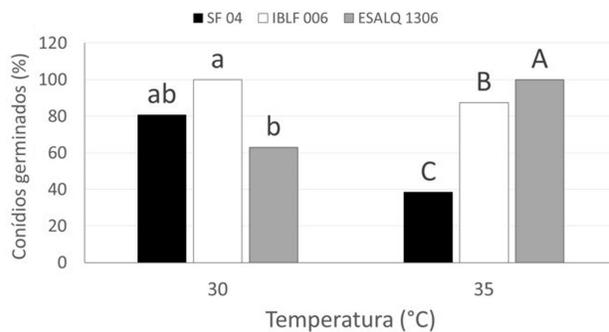


Figura 5 - Influência da temperatura na germinação dos conídios de isolados de *Trichoderma*. Isolados: SF04 (*T. asperellum*), IBLF006 (*T. harzianum*) e ESALQ1306 (*T. harzianum*). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As comparações foram feitas dentro das mesmas temperaturas, por isso diferem em letras maiúsculas e minúsculas.

ção, *T. harzianum* (IBLF 006) teve uma queda brusca na germinação (2%) e foi o isolado mais sensível a luz UV.

Os efeitos deletérios da radiação UV-B sobre fungos antagonistas foram também observados em *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium lecanii* e *Clonostachys rosea* (Braga et al., 2001; Braga et al., 2002; Costa et al., 2012). Os resultados desses trabalhos assemelham-se ao do presente estudo.

Os resultados obtidos no estudo demonstram também a sensibilidade de isolados de *Trichoderma* ao UV-B e sugerem a necessidade de formulações com protetores anti-UV-B ou a recomendação de aplicação em períodos ou condições adequadas. Conforme Demirci et al. (2011), muitos fatores devem ser analisados para escolha de um isolado visando sua aplicação a campo. Nesse aspecto, os testes de desenvolvimento *in vitro* são importantes para se obter uma avaliação prévia dos isolados e saber quais fatores interferem negativamente no seu crescimento.

4. Conclusões

A temperatura de 35 °C não apresentou influência no crescimento micelial, esporulação e germinação dos

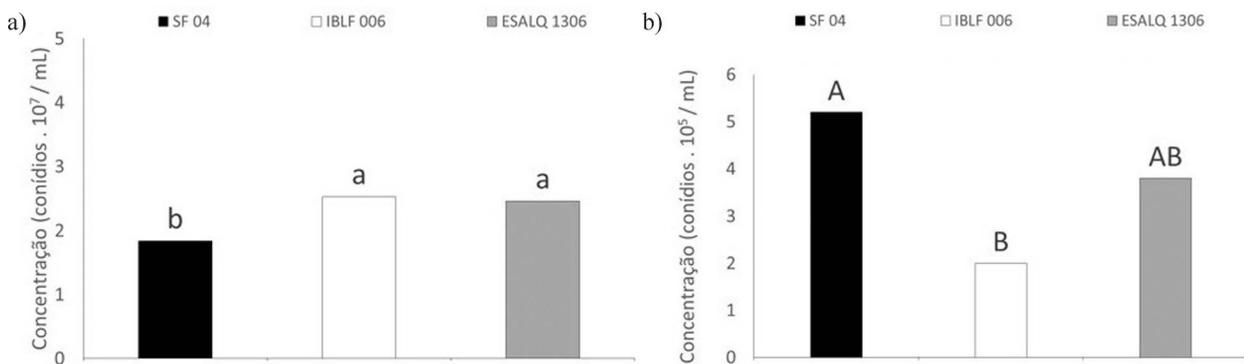


Figura 4 - Esporulação dos isolados de *Trichoderma* nas temperaturas de 30 °C (a) e 35 °C (b). Isolados: SF04 (*T. asperellum*), IBLF006 (*T. harzianum*) e ESALQ1306 (*T. harzianum*). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

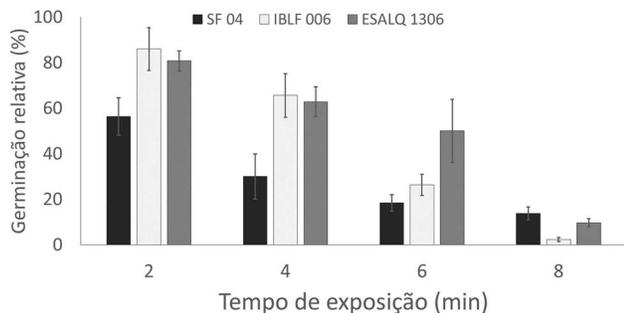


Figura 6 - Influência da radiação UV na germinação dos conídios de isolados de *Trichoderma*. Isolados: SF04 (*T. asperellum*), IBLF006 (*T. harzianum*) e ESALQ1306 (*T. harzianum*).

conídios de *T. harzianum* (ESALQ 1306). Os demais isolados demonstraram-se sensíveis aos incrementos de temperatura. A temperatura de 40 °C influenciou negativamente o desenvolvimento de todos os isolados.

A radiação UV diminuiu a germinação dos conídios e os isolados que apresentaram maior germinação relativa ao final do período de exposição foi *T. asperellum* (SF 04) e *T. harzianum* (ESALQ 1306). Estes resultados podem demonstrar uma maior capacidade de adaptação do isolado *T. harzianum* (ESALQ 1306) às condições extremas de temperatura.

Referências

- AINSWORTH, E.A.; DAVEY, P.A.; BERNACCHI, C.J.; DERMODY, O.C.; HEATON, E.A.; MOORE, D.J.; MORGAN, P.B.; NAIDU, S.L.; YOO, H.S.; ZHU, R.X.G.; CURTIS, P. S.; LONG, S. P. A meta-analysis of elevated [CO₂] effects on soybean (*Glycine max*) physiology, growth and yield. **Global Change Biology**, v. 8, n. 8, p. 695-709, 2002.
- ALVES, F.R.; CAMPOS, V.P. Efeitos da temperatura sobre a atividade de fungos no controle biológico de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* raça 3. **Ciência e agrotecnologia**, v. 27, n. 1, p. 91-97, 2003.
- BRAGA, G.U.L.; FLINT, S.D.; MESSIAS, C.L.; ANDERSON, A.J.; ROBERTS, D.W. Effect of UV-B on conidia and germings of the entomopathogenic hyphomycete *Metarhizium anisopliae*. **Mycological Research**, v. 105, n. 4, p. 874-882, 2001.
- BRAGA, G.U.; RANGEL, D.E.; FLINT, S.D.; MILLER, C.D.; ANDERSON, A.J.; ROBERTS, D.W. Damage and recovery from UV-B exposure in conidia of the entomopathogens *Verticillium lecani* and *Aphanocladium album*. **Mycologia**, v. 94, n. 6, p. 912-920, 2002.
- BOMFIM, M.P.; SÃO JOSÉ, A.R.; REBOUÇAS, T.N.H.; ALMEIDA, S.S.; SOUZA, I.V.B.; DIAS, N.O. Avaliação antagônica *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 1, p. 61-67, 2010.
- CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley & Sons, 1990. 532 p.
- CARABI-ADELL. Uma técnica simples para observação microscópica de *Trichoderma* spp. (*Hypocreales*) em cultura de lâminas. In: Reunião Anual do Instituto Biológico, 15. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 70 Suplemento, p. 35-37, 2003.
- COSTA, L.B.; RANGEL, D.E.N.; MORANDI, M.A.B.; BETTIOL, W. Impact of UV-B radiation on *Clonostachys rosea* germination and growth. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, p. 2497-2504, 2012.
- COUTINHO, M.D.L.; COSTA, M.S.; GOMES, A.C.S.; MORAIS, M.D.C.; JACINTO, L.V.; LIMA, K.C.; SAKAMOTO, M. S. Estudo de Caso: Evento Extremo no Estado do Ceará entre os dias 03 e 04 de Janeiro de 2015. **Revista Brasileira de Climatologia**, v. 20, n. 13, p. 182-198, 2017.
- DEMIRCI, E.; DANE, E.; EKEN, C. *In vitro* antagonistic activity of fungi isolated from sclerotia on potato tubers against *Rhizoctonia solani*. **Turkish Journal of Biology**, v. 35, p. 457-462, 2011.
- DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. Production of non volatile metabolites. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 57, p. 25-39, 1971.
- FRANÇA, D.V.C.; KUPPER, K.C.; MAGRI, M.M.R.; GOMES, T.M.; ROSSI, F. *Trichoderma* spp. isolates with potential of phosphate solubilization and growth promotion in cherry tomato1. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 47, n. 4, p. 360-368, 2017.
- GAMS, W.; BISSET, J.I.T.G. Morphology and identification of *Trichoderma*. In: KUBICEK, C.P.; HARMAN, G.E.; ONDIK, K.L. **Trichoderma and Gliocladium: Basic Biology, Taxonomy, and Genetics**, p. 3-4, 1998.
- GHINI, R.; HAMADA, E.; BETTIOL, W. Climate change and plant diseases. **Scientia Agricola**, Piracicaba, n. 65, p. 98-107, 2008.
- GUIMARÃES, G.R.; FERREIRA, D.S.F.; GALVÃO, C.S.; MELLO, S.C.M.; CARVALHO, D.D.C. Ação de metabólitos voláteis e não voláteis de *Trichoderma harzianum* sobre o crescimento de *Cladosporium herbarum*. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, Recife, v. 21, n. 1, p. 7-11, 2016.
- HANNUKALA, A.O.; KAUKORANTA, T.; LEHTINEN, A.; RAHKONEN, A. Late-blight epidemics on potato in Finland, 1933-2002: increased and earlier occurrence of epidemics associated with climate change and lack of rotation. **Plant Pathology**, Londres, v. 56, n. 1, p. 167-176, 2007.
- HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. **Biological Control**, Texas, v. 51, p. 409-416, 2009.
- INDEX FUNGORUM. **Classificação filogenética de fungos**. Disponível em: <http://www.indexfungorum.org/names/NameRecord.asp?RecordID=538994>. Acesso em: 18 set 2018.
- INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC). 2013. Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change In: STOCKER, T.F.; QUIN, D.; PLATTNER G.K.; TIGOR, M.; ALLEN, S.K.; BOSCHUNG, J.; NAUELS, A.; XIA Y.; BEX V.; MIDGLEY, P.M. (Eds.). **Fifth Assessment Report: Climate Change**. New York, USA: Cambridge University Press, 2013. 1535 p.

- JACKISCH-MATSUURA, A., MENEZES, M. Efeito de *Trichoderma* spp. no controle de *Pythium aphanidermatum* em fumo (*Nicotiana tabacum*). **Summa Phytopathologica**, v. 25, n. 2, p.161-164, 1999.
- KAYANO, M.T.; ANDREOLI, R.V. **Tempo e clima no Brasil**. CAVALCANTI, I.F.A., FERREIRA, N.J., SILVA, M.G.A. J., DIAS, M.A.F.S. (org.), Cap. 14. São Paulo: **Oficina de Textos**, 2009.
- KOIKE, C.M.; LUCON, C.M.M. Efeito de diferentes fatores na esporulação e crescimento de isolados de *Trichoderma* spp. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 70, suplemento 3, p. 96-99, 2003.
- LIMA, M.L.P.; VAZ, M.C.A.; SILVA, A.S.; SOUZA, K.A.; TUÑÓN, G.I.L. *In vitro* confrontation of *Trichoderma* spp. isolates with phytopathogenic and non-phytopathogenic fungi. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 3, n. 2, p. 1-8, 2016.
- LUCON, M.M.C. *Trichoderma* no controle de doenças de plantas causadas por patógenos de solo. **Comunicado Técnico do Instituto Biológico**, n. 77, 2008.
- MACHADO, D.F.M.; PARZIANELLO, F.R.; SILVA, A.C.F.; ANTONIOLLI, Z.I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.
- MCELDRONE, A.J.; HAMILTON, J.G.; KRAFENICK, A.J.; ALDEA, M.; KNEPP, R.G.; DELUCIA, E.H. Combined effects of elevated CO₂ and natural climatic variation on leaf spot diseases of redbud and sweetgum trees. **Environmental Pollution**, v. 158, n. 1, p. 108-114, 2010.
- MUKHERJEE, P.K.; RAGHU, K. Effect of temperature on antagonistic and biocontrol potencial of *Trichoderma* sp. on *Sclerotium rolfsii*. **Mycopathologia**, v. 139, p. 151-155, 1997.
- PATRÍCIO, F.R.A., KIMATI, H., TESSARIOLI NETO, J., PENTENATTI, A.; BARROS, B.C. Efeito da solarização, associada à aplicação de *Trichoderma* spp. ou fungicidas, sobre o controle de *Pythium aphanidermatum* e de *Rhizoctonia solani* AG-4. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 2, p. 142-146, 2007.
- PBMC. **Sumário Executivo do Volume 1 - Base Científica das Mudanças Climáticas. Contribuição do Grupo de Trabalho 1 para o 1º Relatório de Avaliação Nacional do Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas**. Volume Especial para a Rio+20. Rio de Janeiro, Brasil, 34 p, 2012.
- PERCY, K.E.; AWMACK, C.S.; LINDROTH, R.L.; KUBISKE M.E.; KOPPER B.J.; ISEBRANDS J.G.; PREGITZER K. S.; HENDREY G.R.; DICKSON R.E.; ZAK D.R.; OKSANEN E.; SOBER J.; HARRINGTON R.; KARNOSKY D. F. Altered performance of forest pests under atmospheres enriched by CO₂ and O₃. **Nature**, v. 421, n. 6919, p. 190-191, 2003.
- RESENDE, M.L.; OLIVEIRA, J.A.; GUIMARÃES, R.M.; PINHO, R.G.V.; VIEIRA, A. R. Inoculações de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 4, p. 793-798, 2004.
- SILVA, F. F.; CASTRO, E. M.; MOREIRA, S. I.; FERREIRA, T. C.; LIMA, A.E.; ALVES, E. Emergência e análise ultra-estrutural de plântulas de soja inoculadas com *Sclerotinia sclerotiorum* sob efeito da aplicação de *Trichoderma harzianum*. **Summa Phytopathologica**, v. 43, n. 1, p. 41-45, 2017.
- VALADARES-INGLIS, M.C.; MARTINS, I.; DA SILVA, J.P.; MELLO, S.C.M.; **Seleção *in vitro* de linhagens de *Trichoderma* para controle da podridão-branca do alho e da cebola**. Brasília: Embrapa, 2018. 334 p.