

## Biológicos no controle de patógenos da cultura da soja

### Biologicals in the control of soybean crop diseases

Danieli Cuchi<sup>1</sup>, Sérgio Miguel Mazaro<sup>2</sup>.

#### RESUMO

O Brasil é líder na produção da soja, uma oleaginosa de alto valor agregado socioeconomicamente, onde seus números têm alavancado cada vez mais. Entretanto, as doenças ainda prejudicam esse cenário e acarretam na necessidade do uso de defensivos agrícolas de forma elevada, fator desfavorável ao meio ambiente e à saúde humana. No entanto, nos últimos anos, vem crescendo o uso de bioinsumo, entre eles os agentes biológicos de controle de doenças. O gênero *Trichoderma* é um dos mais utilizados, com ação para o controle de diversos fungos patogênicos. O presente trabalho buscou avaliar o potencial do *Trichoderma asperellum* no controle, in vitro de fungos que causam doenças na cultura da soja, sendo *Corynespora cassiicola*, *Colletotrichum truncatum*, *Phomopsis sp.*, *Fusarium virguliforme* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Em placas de petri realizou-se o confronto dos microrganismos, onde ao centro da placa, colocou-se os patógenos, e em volta, formando um halo o *T. asperellum*. As placas foram mantidas em câmara de crescimento do tipo B.O.D. por 7 dias a 26°C. Como forma de avaliação, se o microrganismo patogênico não ultrapassou esse círculo, definiu-se que houve ação de biocontrole, caso tenha ultrapassado não houve ação de biocontrole. O estudo demonstrou o potencial de *Trichoderma asperellum* no controle in vitro de *Corynespora cassiicola*, *Colletotrichum truncatum*, *Phomopsis sp.*, *Fusarium virguliforme* e *Sclerotinia sclerotiorum*, fitopatógenos de interesse agrícola que acometem a cultura da soja.

**PALAVRAS-CHAVE:** biocontrole; patógenos; sustentabilidade.

#### ABSTRACT

Brazil is a leader in the production of soybeans, an oilseed with high socio-economic added value, where its numbers have increasingly increased. However, diseases still harm this scenario and result in the need to use pesticides extensively, a factor that is unfavorable to the environment and human health. However, in recent years, the use of bioinputs has been growing, including biological disease control agents. The *Trichoderma* genus is one of the most used, with action to control several pathogenic fungi. The present work sought to evaluate the potential of *Trichoderma asperellum* in the in vitro control of fungi that cause diseases in soybean crops, including *Corynespora cassiicola*, *Colletotrichum truncatum*, *Phomopsis sp.*, *Fusarium virguliforme* and *Sclerotinia sclerotiorum*. The microorganisms were compared in petri dishes, where the pathogens were placed in the center of the dish, and *T. asperellum* was placed around them, forming a halo. The plates were kept in a B.O.D. growth chamber. for 7 days at 26°C. As a form of assessment, if the pathogenic microorganism did not exceed this circle, it was defined that there was a biocontrol action, if it did, there was no biocontrol action. The study demonstrated the potential of *Trichoderma asperellum* in the in vitro control of *Corynespora cassiicola*, *Colletotrichum truncatum*, *Phomopsis sp.*, *Fusarium virguliforme* and *Sclerotinia sclerotiorum*, phytopathogens of agricultural interest that affect soybean crops.

**KEYWORDS:** biocontrol; pathogens; sustainability.

## INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max*), é a oleaginosa mais importante economicamente no mundo, devido suas propriedades alimentares, seja como fonte proteica ou óleo vegetal (LIU et al., 2020).

<sup>1</sup> Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: cuchi@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 4264468603638916.

<sup>2</sup> Docente no Curso de Agronomia/COAGRO/CNPq. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: sergio@utfpr.edu.br. ID Lattes: 4271660992059925.

Relativo ao cenário econômico, podemos observar que a produção desta *commodity* é de grande destaque no mundo, com altos níveis de produtividade no Brasil. Conhecido por ser o líder mundial no setor de agronegócio, detém recordes de produção, onde estima-se que sejam produzidos 153,6 milhões de toneladas do grão, além disso, a previsão para a safra de 2022/2023 está estimada em 3527 kg/ha (CONAB, 2023).

Entretanto, mesmo com valores animadores, a cultura possui perdas de produtividade devido a danos por pragas e doenças. E dentre um dos maiores problemas, encontra-se às doenças fúngicas de solo, com destaque para *Fusarium spp.*, *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani* (MEDEIROS *et al.*, 2022).

Para o manejo fitossanitário existe uma dependência de insumos, com destaque para os agroquímicos sintéticos. Com isso, o país torna-se um expressivo consumidor de tais produtos, o que por sua vez, confere a um desafio no que diz respeito a produtividade e sustentabilidade (OLIVEIRA *et al.*, 2021).

O desenvolvimento sustentável e a redução da aplicação de defensivos agrícolas é um dos assuntos mais recentes nesses últimos anos, onde visa-se a utilização de agentes de biocontrole, ou seja, o uso de inimigos naturais para o manejo de doenças e pragas de forma racional e sadia, colaborando para uma melhor qualidade dos produtos agrícolas. No entanto, ainda existem desafios, como a viabilidade dos organismos vivos de controle (LIU *et al.*, 2021).

Microrganismos do gênero *Trichoderma spp.*, são os mais utilizados na agricultura para o manejo de doenças causadas por fungos de solo, com ação direta aos patógenos, e ainda pela sua habilidade de produção de metabólitos secundários como terpenóides, policetídeos, peptídeos e alcalóides (GUO *et al.*, 2022). Onde os terpenóides possuem um grande potencial não só nas áreas agroindustriais, mas também na indústria alimentícia e farmacológica (ABBAS *et al.*, 2017). Além disso, o fungo possui grande atividade antifúngica devido sua alta competitividade e presença de citotoxicidade (VINALE *et al.*, 2013).

Entre as espécies de *Trichoderma*, temos o *T. asperellum* o qual apresenta diferentes ações como atividades de proteção contra danos por estresse oxidativo, bem como ação direta ao gênero *Fusarium spp.* (DORIS *et al.*, 2023).

Nesse sentido, neste trabalho, buscou-se avaliar *in vitro*, a ação do fungo *T. asperellum*, no controle dos patógenos *Corynespora cassiicola*, *Colletotrichum truncatum*, e *Phomopsis sp.*, *Fusarium virguliforme* e *Sclerotinia sclerotiorum*. A fim de que possamos compreender o potencial de biocontrole, bem como incentivar novas linhas de pesquisa na área biotecnológica para agricultura.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico II, na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), em Dois Vizinhos, Paraná, Brasil.

Para o isolamento dos patógenos, foi utilizado isolados do laboratório que a pesquisa foi desenvolvida, e quanto ao fungo *Trichoderma asperellum*, dado que os produtores da região provém da utilização do biológico em suas áreas de plantio, o mesmo foi isolado a partir do produto comercial Trico-Turbo®.

Inicialmente isolou-se o *T. asperellum* em meio caldo nutriente (Nutrient Broth), uma vez que o produto utilizado possui apenas o fungo em sua composição microbiológica. Assim, 100µL do produto biológico foi adicionado juntamente a 10 mL do meio de cultura líquido, em tubos de ensaio de 20 mL e dispostos em uma incubadora do tipo B.O.D. por 7 dias a 26°C, para que o fungo pudessem se desenvolver de forma adequada para o teste de viabilidade. Em seguida, isolou-se em placas de petri contendo meio batata ágar dextrose (BDA), e determinou-se sua morfologia, avaliando cor e forma em microscópio óptico (MASCARIN, *et al.* 2019).

Os patógenos foram repicados em placas de petri, com auxílio de uma alça de platina, em meio BDA e mantidas em câmara de crescimento do tipo B.O.D. por 7 dias a 26°C (EMBRAPA, 2013).

Para avaliar sua morfologia foram isolados todos os microrganismos, o agente de biocontrole o fungo *Trichoderma asperellum* (Figura 1). E os fungos patogênicos, *Corynespora cassiicola* (Figura 2 A), *Colletotrichum truncatum* (Figura 2 B), e *Phomopsis sp.* (Figura 2 C), *Fusarium virguliforme* (Figura 2 D) e *Sclerotinia sclerotiorum* (Figura 2 E). No qual, são apresentados abaixo, onde é visível a coloração característica, esverdeada com tons em amarelo do *T. asperellum*. Ademais, o *C. cassiicola* expressou a coloração branca, bem como o *C. truncatum*, *F. virguliforme* e *S. sclerotiorum* também exibiram coloração branca devido estar nas fases iniciais do seu desenvolvimento e o *Phomopsis sp.* manifestou coloração com tons de nude. Entretanto, é de fácil entendimento a diferença de cada microrganismo na dispersão sobre a placa de petri, a forma com que cada um espalhou-se pelo espaço disposto.

Figura 1 – Agente de biocontrole, *Trichoderma asperellum*.



Fonte: Autoria própria (2022).

Figura 2 – Microrganismos patogênicos isolados



Fonte: Autoria própria (2022).

Em placas de petri realizou-se o confronto dos microrganismos, onde ao centro da placa, colocou-se os patógenos, cada um em uma placa, e em volta, formando um halo, com auxílio da parte superior de um erley, carimbou-se o *T. asperellum*. As placas foram mantidas em câmara de crescimento do tipo B.O.D. por 7 dias a 26°C. Como forma de avaliação, se o microrganismo patogênico não ultrapassou esse círculo, ao final de 7 dias de avaliação do crescimento, definiu-se que houve ação de biocontrole, caso tenha ultrapassado não houve ação de biocontrole.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando o confronto entre *T. asperellum* e *C. cassiicola* (Figura 3 A), vê-se a dominância por parte do microrganismo benéfico, bem como, contra *Phomopsis sp.* (Figura 3 B) e *F. virguliforme* (Figura 3 C). No entanto, quando verifica-se o confronto contra *S. sclerotiorum* (Figura 3 D) e *C. truncatum* (Figura 3 E), ocorreu controle, mas menos evidente quanto aos demais.

Figura 3 – Confronto entre *Trichoderma asperellum* e os patógenos



Fonte: Autoria própria (2022).

Os resultados deste trabalho corroboram com estudos de atividades antagônicas de *Trichoderma spp.*, demonstrando alta competitividade por recursos e produção de metabólitos antifúngicos (NUJTHET *et al.*, 2023).

Ainda, pesquisas mostram que além de agente de controle biológico direto e indireto, o *Trichoderma spp.*, pode atuar como bioestimulante e biofertilizante, tornando-se cada vez mais uma peça biotecnológica que contribui para a agricultura eco-sustentável (WOO *et al.*, 2023).

## CONCLUSÃO

O estudo demonstrou o potencial de *Trichoderma asperellum* no controle *in vitro* de *Corynespora cassiicola*, *Colletotrichum truncatum*, *Phomopsis sp.*, *Fusarium virguliforme* e *Sclerotinia sclerotiorum*, fitopatógenos de interesse agrícola que acometem a cultura da soja.

## Agradecimentos

Agradeço acima de tudo a Deus, pela vida e as oportunidades que foram geradas ao longo de minha trajetória até o presente momento. A minha família, em especial ao meus pais Roberto Rivelino Cuchi e Josefa Cristina Cuchi, aos meus avós Anor Cuchi e Leandrina Cuchi. Ao meu orientador Prof.º Doutor Sérgio Miguel Mazaro, sou grata pela

confiança depositada no meu esforço, pela experiência agregada ao longo do tempo e todos os conhecimentos que foram adquiridos. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

### Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.

### REFERÊNCIAS

ABBAS, Farhat.; KE, Yanguo; YU, Rangcai; YUE, Yuechong; AMANULLAH, Sikandar; JAHANGIR, Muhammad Muzammil; FAN, Yaning. Volatile terpenoids: multiple functions, biosynthesis, modulation and manipulation by genetic engineering. *Planta* 246, 803–816 (2017).

<https://doi.org/10.1007/s00425-017-2749-x>

CONAB. **COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO**. Produção de grãos está estimada em 312,5 milhões de toneladas na safra 2022/23. 2023. Disponível em:

<https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/4971-producao-de-graos-esta-estimada-em-312-5-milhoes-de-toneladas-na-safra-2022-23>. Acesso em: 07 set. 2023.

DORIS, A. Pradhan; BAGAGONI, Prathyusha; MAKANDAR, Ragiba. Assessing rhizosphere *Trichoderma asperellum* strains for root colonizing and antagonistic competencies against *Fusarium wilt* through molecular and biochemical responses in castor. *Biological Control*. v. 184, set, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105280>

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Agroindústria de Alimentos Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. ISSN 1516-8247 Dez., 2013

GUO, Rui; LI, Gang; ZHANG, Zhao; PENG, Xiaoping. Structures and Biological Activities of Secondary Metabolites from *Trichoderma harzianum*. *Mar. Drugs* 2022, 20(11), 701; <https://doi.org/10.3390/md20110701>

LIU, Shulin; ZHANG, Min; FENG, Feng; TIAN, Zhixi. Toward a “Green Revolution” for Soybean. **Mol. Plant**. 13, 688-697, 2020.

LIU, Chenxu; ZHOU, Hui; ZHOU, Jie. The Applications of Nanotechnology in Crop Production. *Molecules* 2021, 26, 7070. <https://doi.org/10.3390/molecules26237070>

MASCARIN, Gabriel, Moura; MATSUMURA, Aida, Teresinha Santos; WEILER, Celson, Alexandre; KOBORI, Nilce, Naomi; SILVA, Márcia, Eloísa *et al*. Produção industrial de *Trichoderma*. Capítulo 8. *Trichoderma: Uso na agricultura*. 2019.

MEDEIROS, Flávio Henrique Vasconcelos; BAVIA, Guilherme Passerini; SEIXAS, Claudinei Dinali Santos. Manejo de doenças fúngicas radiculares da soja. Bioinsumos na cultura da soja. 1 ed. Londrina Paraná: Embrapa soja, 2022. cap. 17, p. 297 – 313.

NUJHET, Yarida; JANTASORN, Arom; DETHOUP. Biological efficacy of marine-derived *Trichoderma* in controlling chili anthracnose and black spot disease in Chinese kale. **Eur J Plant Pathol** (2023) 166:369–383 <https://doi.org/10.1007/s10658-023-02668-1>

OLIVEIRA, Camila Martins; ALMEIDA, Nayane Oliveira; CÔRTEZ, Marcio Vinícius Carvalho Barros; JÚNIOR, Murillo Lobo. Biological control of *Pratylenchus brachyurus* with isolates of *Trichoderma* spp. on soybean. *Biological Control*, v. 152, 10442, 2021.

VINALE, Francisco; NIGRO, Marco; SIVASITHAMPARAM, Krishnapillai; FLEMATTI, Gavin; GHISALBERTI, Emilio L.; RUOCCO, Michelina; VARLESE, Rosária; MARRA, Roberta; LANZUISE, Stefania; EID, Ahmed; et al. Harzianic acid: A novel siderophore from *Trichoderma harzianum*. *FEMS Microbiol. Lett.* 2013, 347, 123 – 129.

WOO, Sheridan L; Hermosa, Rosa; Lorito, Matteo; MONTE, Henrique. *Trichoderma* : um microrganismo multifuncional e benéfico para as plantas para a agricultura eco-sustentável. *Nat Rev Microbiol* 21,312–326 (2023). <https://doi-org.ez48.periodicos.capes.gov.br/10.1038/s41579-022-00819-5>