

ETHUR et al. Viabilidade de formulação em pó de *Trichoderma virens* em diferentes embalagens e temperaturas

VIABILIDADE DE FORMULAÇÃO EM PÓ DE *Trichoderma virens* EM DIFERENTES EMBALAGENS E TEMPERATURAS

VIABILITY OF POWDER FORMULATION OF Trichoderma virens IN DIFFERENT PACKINGS AND TEMPERATURES

Luciana Zago Ethur^{1*}, Cícero Nicolini² & Elena Blume³

- NOTA TÉCNICA -

¹ Bióloga, Prof. Adjunto do Centro de Ciências Agrárias de Itaqui/UNIPAMPA. Rua Euclides Aranha, 1288. Itaqui – RS. CEP: 97650-000. e-mail: luethur@yahoo.com.br. *Autor para correspondência.

² Eng. Agr., Mestrando no Pós-Graduação em Fitopatologia da UFRPE. Recife – PE. e-mail: ciceronicolini@yahoo.com.br.

³ Eng. Agr., Prof. Adjunto da UFSM. Santa Maria – RS. e-mail: eblume@smail.ufsm.br.

(Recebido para Publicação em 16/05/2007, Aprovado em 05/11/2007)

R. Bras. Agrociência, Pelotas, v.14, n.2, p.391-394, abr-jun, 2008

RESUMO

Trichoderma spp. é um dos agentes de controle biológico mais estudados na atualidade e é utilizado em diversas formulações que, no entanto, carecem de pesquisas a respeito de viabilidade e vida de prateleira do produto. O objetivo deste trabalho foi verificar a viabilidade de formulações em pó, contendo arroz e *Trichoderma virens*, em diferentes embalagens e temperaturas. Para a formulação do pó foi utilizado arroz e oito isolados de *T. virens* retirados de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. O formulado foi colocado em placas de Petri de plástico e de vidro, em geladeira (4°C) e temperatura ambiente. A avaliação da viabilidade dos isolados ocorreu mensalmente, durante 24 meses, analisando-se o desenvolvimento dos isolados em meio BDA. No 17º mês os isolados que se mantiveram viáveis foram utilizados em teste de confronto direto contra *S. sclerotiorum*. As formulações permaneceram viáveis em temperatura controlada (4°C), durante os 24 meses, tanto em placas de Petri de plástico quanto nas de vidro, mas em temperatura ambiente o término da viabilidade iniciou no 16º mês. No teste de confronto direto todos os isolados de *T. virens* (100%) foram efetivos contra o patógeno. Conclui-se que a temperatura é vital para a maior viabilidade do formulado em pó, com arroz e *T. virens*, o que não ocorre com o tipo de embalagem.

Palavras-chave: biocontrole, *Sclerotinia sclerotiorum*, vida de prateleira.

ABSTRACT

Trichoderma spp. is one of the biological control agents more studied at the present time and it is used in several formulations that, however, need research about viability and shelf life of the product. The objective of this work was to verify the viability of powder formulations that contain rice and *Trichoderma virens*, in different packings and temperatures. Rice and eight isolates of *T. virens* separated of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* were used to the formulation of the powder. Formulated was put in plates of Petri of plastic and glass, in refrigerator (4°C) and in environmental temperature. The evaluation of the viability of the isolates happened monthly, for 24 months, being analyzed the development of the isolates in BDA. In the 17th month the isolates that stayed viable were used in test of direct confrontation against *S. sclerotiorum*. The formulations stayed viable in controlled temperature (4°C), during the 24 months, so much in plates of Petri of plastic as in the one of glass, but in environment temperature the end of the viability began in the 16th month. In the test of direct confrontation, all the isolated of *T. virens* (100%) were effective against the pathogen. It was concluded that the temperature is vital for the largest viability of the formulated powder with rice and *T. virens* it does not happen with the packing type.

Key words: biocontrol, *Sclerotinia sclerotiorum*, shelf life.

Trichoderma spp. é um dos fungos mais estudados na atualidade como agente de controle biológico para uma gama de fitopatógenos. É um fungo saprófita que atua na produção de enzimas extracelulares e antibióticos, o que eleva sua capacidade hiperparasita, competitiva e eficiência no biocontrole (MELO & COSTA, 2005).

No mercado internacional são encontrados vários produtos formulados a base de *Trichoderma* spp. (MELO, 1996; LARANJEIRA, 2001). As formulações utilizadas em pesquisas são na forma de pó, contendo arroz (REIS, 1995; COSTA & BASTOS, 2001; ETHUR, 2005), sabugo de milho triturado mais aveia ou farelo de trigo (PERES & MELO, 1992); granulado em *pellets* (MAFIA et al., 2003; MELO & COSTA, 2005); ou em óleo emulsionável (LOBO et al., 2005).

Um fator limitante para a comercialização das formulações deste fungo é a vida de prateleira (MELO, 1996) que é determinada pela composição, processamento, qualidade inicial, embalagem, temperatura e umidade relativa de transporte e armazenamento (DETHMERS, 1979). Na forma granulada em *pellets*, sob temperatura de 8°C, *Trichoderma harzianum* permaneceu viável após dois anos de estocagem (MELO & COSTA, 2005), mas na forma de pó não são encontrados relatos. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi verificar a viabilidade de formulações em pó, contendo arroz e *Trichoderma virens*, em diferentes embalagens e temperatura.

Os oito isolados de *T. virens* utilizados no experimento foram retirados de escleródios de *S. sclerotiorum* e usados em testes *in vitro* e *in vivo* contra o mesmo patógeno, no cultivo do pepineiro (ETHUR et al., 2005). Na formulação do pó dos isolados de *T. virens*, discos de BDA (batata-dextrose-ágar) contendo micélio e esporos foram colocados em frascos erlenmeyers contendo 50 g de arroz umedecidos com 75 mL de água destilada, previamente autoclavados por 40 min. Após a colonização do arroz, ocorreu a secagem em estufa (35°C) e posteriormente foi triturado em liquidificador até ser transformado em pó e passado por uma peneira de 40 meshes. Encontraram-se 10⁸ UFC de *T. virens* para cada grama de pó.

Foram pesadas quatro porções de 3 g de pó de cada um dos oito isolados de *T. virens* e colocados em quatro placas

de Petri (1 porção/placa), sendo duas placas de plástico e duas de vidro, totalizando 32 placas de vidro e 32 de plástico. Deste total, 16 placas de Petri de vidro (duas placas por isolado) e 16 placas de plástico foram armazenadas na geladeira (temperatura de 4°C), e as demais, permaneceram à temperatura ambiente com variações de ± 13 a 27°C, em prateleira.

Uma porção de 0,02 g de pó foi retirada de cada placa de Petri, de vidro e plástico, acondicionadas na geladeira e à temperatura ambiente, e foram colocadas em meio de cultura BDA, com 4 repetições. As placas de Petri foram incubadas em câmara climatizada a 22°C durante 7 dias, quando ocorreu a avaliação das características macroscópicas, tais como, coloração do micélio e do meio de cultura e desenvolvimento micelial.

O pó (formulação) foi avaliado durante 24 meses, sendo que no 18º mês foi realizado um teste de confronto direto, porque se constatou que no 17º mês alguns isolados não germinaram.

Para o teste de confronto direto, os isolados de *T. virens* e de *S. sclerotiorum* foram repicados para placas de Petri contendo meio BDA. Um disco de meio BDA, de 12 mm

de diâmetro, contendo micélio de *S. sclerotiorum*, foi transferido para placas de Petri, que continham meio BDA, a 1 cm da borda. O material foi incubado durante 48 horas, a 22°C, com fotoperíodo de 12 h claro/12 h escuro. Posteriormente um disco de BDA, de 12 mm de diâmetro com micélio e esporos dos isolados de *T. virens*, foi transferido para as placas em posição oposta ao disco de micélio do patógeno. As placas foram mantidas durante oito dias a 22 °C, com fotoperíodo de 12 h claro/12 h escuro. A avaliação foi realizada sete dias após a transferência do antagonista, baseada no critério de BELL et al. (1982), que adota uma escala de notas variando de 1 a 5: 1- antagonista cresce por toda a placa de Petri; 2- antagonista cresce sobre 2/3 da placa; 3- antagonista e o patógeno crescem até a metade da placa, nenhum organismo domina o outro; 4- patógeno cresce sobre 2/3 da placa; 5- patógeno cresce por toda a placa.

Os oito isolados de *T. virens* mantidos na geladeira (4°C), em temperatura controlada, permaneceram viáveis por mais tempo do que aqueles mantidos em temperatura ambiente (Tabela 1), demonstrando que a temperatura de estocagem é importante no tempo de vida de prateleira.

Tabela 1 – Viabilidade de formulados em pó de *T. virens*, em embalagem de vidro e plástico, em temperaturas controlada e ambiente, no período de 24 meses.

Ambiente/temperatura e embalagem	Viabilidade das formulações em pó dos oito isolados de <i>T. virens</i> (%)							
	2001	2002	2003					
	Nov a Dez	Jan a Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun a Out
**Geladeira - vidro	100*	100	100	100	100	100	100	100
Geladeira – plástico	100	100	100	100	100	100	100	100
***Ambiente – vidro	100	100	100	50	0	0	0	0
Ambiente - plástico	100	100	100	100	75	25	0	0

*Referente aos oito isolados de *T. virens*. ** Placas de Petri mantidas na geladeira a 4°C. *** Placas de Petri mantidas em temperatura ambiente.

Quanto as diferentes embalagens (vidro e plástico) observou-se que em temperatura controlada esse fator não interferiu, pois nas duas condições os pós permaneceram viáveis, por no mínimo 18 meses. Em temperatura ambiente, a embalagem de vidro apresentou viabilidade menor, de 3 meses, com relação a de plástico (Tabela 1).

O fator diferentes isolados de *T. virens* não interferiu no resultado final da viabilidade dos formulados, pois nenhum

isolado apresentou maior viabilidade nas diferentes embalagens ou temperaturas.

Quanto às análises macroscópicas, não foram observadas quaisquer alterações no desenvolvimento e na coloração do micélio ou meio de cultura. Entretanto LUCON et al. (2004) observaram modificações na coloração micelial de 20% dos isolados de *Trichoderma* spp. que foram mantidos durante 2 anos pelo método de Castelli, ou seja,

ETHUR et al. Viabilidade de formulação em pó de *Trichoderma virens* em diferentes embalagens e temperaturas

em água destilada e esterilizada (câmara fria $\pm 4^{\circ}\text{C}$), em constante repicagens para avaliação.

No teste de confronto direto todos os isolados apresentaram o mesmo comportamento, obtendo nota igual a 1, ou seja, desenvolveram-se sobre toda a placa de Petri e conseqüentemente sobre o patógeno. Os resultados encontrados no teste de confronto direto confirmam os apresentados anteriormente pelos mesmos isolados de *T. virens* e patógeno (ETHUR et al., 2005).

Conclui-se que a temperatura é vital para a maior viabilidade do formulado em pó, com arroz e *T. virens*, o que não ocorre com o tipo de embalagem de plástico ou vidro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BELL, D.K.; WELLS, H.D., MARKHAM, C.R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, v. 72, n. 4, p. 379-382, 1982.
- COSTA, J.C.B.; BASTOS, C.N. Controle biológico da vassoura-de-bruxa do cacauzeiro. In: VII Reunião de Controle Biológico de Fitopatógenos. **Anais...** 26 a 27 de novembro, 2001, Bento Gonçalves-RS. (Palestra).
- DETHMERS, A. E. Utilizing sensory evaluation to determine product shelf life. **Food Technology**, v. 33, n. 9, p. 40-42, 1979.
- ETHUR, L.Z.; BLUME, E.; MUNIZ, M. Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* em pepineiro cultivado em estufa. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n.2, p. 127-133, 2005.
- LARANJEIRA, D. Situação atual do controle biológico de *Fusarium* spp. In: VII Reunião de Controle Biológico de Fitopatógenos. **Anais...** 26 a 27 de novembro, 2001, Bento Gonçalves-RS. (Palestra).
- LOBO, J.R.M.; PIMENTA, G.; BALLAROTTI, A. Controle de *Rhizoctonia solani* e *Fusarium solani* em campo com *Trichoderma harzianum*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, suplemento, p. 91, 2005.
- LUCON, C.M.M.; KOIKE, C.M.; ICHIKAWA, A.A.I. Efeito de diferentes métodos de preservação na manutenção de isolados de *Trichoderma* spp. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, suplemento, p. 180, 2004.
- MAFIA, R.G.; ALFENAS, A.C.; MAFFIA, L.A. et al. Encapsulamento de *Trichoderma inhamatum* para o controle biológico de *Rhizoctonia solani* na propagação clonal de *Eucalyptus*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 101-105, 2003.
- MELO, I.S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 4, p. 261-295, 1996.
- MELO, I.S.; COSTA, F.G. **Desenvolvimento de uma formulação granulada a base de *Trichoderma harzianum* para controle de fitopatógenos**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2005. (Comunicado Técnico, 31).
- PERES, E.; MELO, I.S. Produção de esporos de *Trichoderma harzianum* em substratos naturais. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 3., 1992, Águas de Lindóia – SP, **Anais...** Águas de Lindóia - SP, 1992. p. 164.
- REIS, A.; OLIVEIRA, S.M.A.; MENEZES, M. et al. Potencial de isolados de *Trichoderma* para biocontrole da murcha de *Fusarium* do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 21, p. 16-20, 1995.