

## Isolamentos de *Trichoderma* em solos de cultivos de morangueiro nos sistemas orgânico e convencional

João Batista Tavares da Silva<sup>1</sup>  
Miguel Michereff Filho<sup>2</sup>  
Francisco Vilela Resende<sup>3</sup>  
Carolina O. Isaias<sup>4</sup>  
Irene Martins<sup>5</sup>  
José Eustáquio Menezes<sup>6</sup>  
Sueli Corrêa Marques de Mello<sup>7</sup>  
Ronaldo Setti de Liz<sup>8</sup>

### Introdução

O morangueiro é cultivado em vários estados brasileiros, como Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo e Minas Gerais, além do Distrito Federal, com predominância do cultivo em pequenas propriedades rurais (EMBRAPA, 2005). Um dos principais problemas desta cultura é a incidência de doenças, que podem aparecer em várias fases do ciclo de vida da planta e atacar desde a muda recém-plantada até os frutos na fase final de produção (EMBRAPA, 2005). A antracnose, a murcha de verticílio, a mancha angular e o enfezamento do morangueiro são exemplos de doenças que acometem o morangueiro (MAAS, 1998; TANAKA et al., 2000; CARVALHO et al., 2005). Para controlar essas patologias, empregam-se práticas agrícolas que acarretam grande impacto ambiental. O morangueiro é uma das culturas que mais recebem carga de agrotóxicos,

o que resulta em frutos com boa aparência, mas com níveis de resíduos acima do tolerado (MADALI et al., 2007). Essa prática também pode ocasionar perda de diversidade e/ou funções da comunidade microbiana (GARBEVA et al., 2004).

Apesar da vasta literatura internacional, no Brasil existem informações esparsas sobre levantamentos sistemáticos e avaliações dos efeitos de fatores ambientais em fungos antagonistas nos solos agrícolas e, em sua maioria, os estudos concentram-se em agroecossistemas manejados sob modelos de agricultura convencional (MELO, 1991). Informações sobre a influência dos sistemas de produção orgânicos na dinâmica das populações edáficas desses agentes de biocontrole são essenciais para subsidiar o desenvolvimento de novas tecnologias que busquem a preservação e o incremento destes micro-organismos nos agroecossistemas, visando ao aumento da eficiência do controle biológico

<sup>1</sup> Biólogo, DSc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília – DF. Email: jtavares@cenargen.embrapa.br

<sup>2</sup> Eng. Agrônomo, DSc., Embrapa Hortaliças, Gama – DF. E-mail: miguel@cnph.embrapa.br

<sup>3</sup> Eng. Agrônomo, DSc., Pesquisador, Embrapa Hortaliças, Gama – DF. E-mail: fresende@cnph.embrapa.br

<sup>4</sup> Estudante de Biologia, Centro Universitário de Brasília, Brasília – DF.

<sup>5</sup> Bióloga, MSc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília – DF. E-mail: irene@cenargen.embrapa.br

<sup>6</sup> Eng. Agrônomo, MSc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília – DF. E-mail: menezes@cenargen.embrapa.br

<sup>7</sup> Eng. Agrônoma, DSc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília – DF. E-mail: smello@cenargen.embrapa.br

<sup>8</sup> Eng. Agrônomo, MSc., Embrapa Hortaliças, Gama – DF. E-mail: setti@cnph.embrapa.br

(BARBOSA, 1998). Adicionalmente, nos sistemas orgânicos há grande possibilidade da descoberta de isolados destes agentes microbianos com atributos (persistência e atividade) superiores aos obtidos em sistemas convencionais, o que pode ampliar as perspectivas para o desenvolvimento de produtos mais promissores a serem utilizados em substituição aos fungicidas químicos.

Os micro-organismos de solo apresentam uma grande diversidade, que envolve grupos taxonomicamente distintos, sendo eles importantes na decomposição da matéria orgânica, reciclagem de nutrientes e agregação do solo. Nessa diversidade, os fungos do gênero *Trichoderma* estão entre os mais importantes, em virtude de sua ocorrência nos diversos tipos de solo, ambientes e nichos – como rizosfera, matéria orgânica em decomposição e interior de plantas (endofíticos). Esses fungos, em função de seu potencial como agente de biocontrole, vêm sendo utilizados como alternativa no controle de fitopatógenos de diversas culturas (MELO, 1991). Nesse sentido, procurou-se avaliar a influência do sistema de produção de morangueiro e do tipo de cobertura do solo sobre populações de fungos do gênero *Trichoderma*.

## Material e Métodos

O estudo foi realizado na Embrapa Hortaliças (CNPQ), Gama – DF, no período de maio a novembro de 2008. Os levantamentos foram efetuados em cultivos de morangueiro cv. Oso grande, nos sistemas de produção orgânica e convencional. O solo predominante em ambas as áreas foi classificado como Latossolo Distroférico (EMBRAPA, 1999).

O levantamento no sistema de produção orgânica de morango foi efetuado na Área de Pesquisa e Produção Orgânica de Hortaliças (APPOH), em um experimento sobre tipos de cobertura do solo conduzido por Silva et al. (2009), sendo constituído por 16 parcelas, cada uma com 4,25 m<sup>2</sup> e 28 plantas de morangueiro, utilizando-se espaçamento de 0,30 x 0,30 m. Os tratamentos avaliados foram: cobertura viva de amendoim forrageiro (*Arachis pintoi*) entre as linhas de plantio; cobertura viva de grama esmeralda (*Zoysia japonica*) entre as linhas de plantio; e cobertura morta constituída por palha seca de capim-elefante “Napier” (*Pennisetum purpureum*) (Figura 1).

Para o plantio das mudas no sistema orgânico, foram feitos sulcos nas coberturas vivas e mortas, sendo adubados com termofosfato e composto anaeróbico de farelos. O composto de farelos utilizado apresentou os seguintes teores totais de nutrientes: Ca = 89,46 g kg<sup>-1</sup>; Mg = 16,54 g kg<sup>-1</sup>; N = 21,98 g kg<sup>-1</sup>; K = 10,38 g kg<sup>-1</sup>; P = 20,43 g kg<sup>-1</sup>; S = 3,02 mg kg<sup>-1</sup>; Zn = 249,50 mg kg<sup>-1</sup>; Cu = 256 mg kg<sup>-1</sup>; Fe = 4750,0 mg kg<sup>-1</sup>; e B = 25,14 mg kg<sup>-1</sup>. O composto de farelos foi preparado com cama de matrizes de aviário, calcário dolomítico, torta de mamona, farelo de trigo, farinha de ossos, cinzas ou munha de carvão, com solução à base de água, leite, EM (micro-organismos eficazes) e açúcar cristal (SOUZA, 2003). Adicionalmente, foram aplicados 400 kg/ha de N, na forma de “bokashi” (equivalente a 20 t/ha do fertilizante), sendo 40% no plantio e 60% distribuídos em quatro coberturas, aos 30, 60, 90 e 120 dias após o transplante. Nestes períodos, também foram efetuadas adubações em cobertura com cinzas para fornecimento de potássio, na dose de 50 kg/ha de K<sub>2</sub>O por aplicação, equivalente a 500 kg/ha<sup>-1</sup> de cinzas de madeira.

O levantamento no sistema de produção convencional foi realizado em canteiros de morangueiro medindo 15,0 x 1,5 m, com espaçamento de 0,30 x 0,30 m e “mulching” de plástico preto, pertencente à Vitrine Tecnológica do CNPH. Neste sistema, utilizou-se adubação química e adotaram-se práticas agrônômicas recomendadas para a região (LOPES et al., 2005).

Para cada sistema de produção de morangueiro e tipo de cobertura do solo (totalizando quatro diferentes situações), foram coletadas quatro amostras compostas de solo (4 subamostras/ponto de coleta), de aproximadamente 500 g, nos primeiros 5 cm de profundidade, em quatro pontos selecionados aleatoriamente na área. Estas amostras foram retiradas em três estádios de desenvolvimento da cultura: no início do cultivo (30 dias após o transplante – DAT), na fase de frutificação (60 DAT) e no final da safra (210 DAT).

Após a coleta, as amostras de solos foram armazenadas em geladeira (10°C). Para o isolamento do fungo, utilizou-se a diluição seriada, seguida de plaqueamento. Foram adicionados 10 g de cada amostra composta em Erlenmeyer contendo 90 mL de água destilada e esterilizada, e as suspensões foram mantidas sob agitação (200 rpm) durante 40



Fotos: Carolina Isaías

**Figura 1.** Sistemas de cultivo de morangueiro e tipos de cobertura do solo envolvidos no estudo. A – Sistema convencional, com “mulching” preto; B – Sistema orgânico, com cobertura do solo com palha de capim-elefante “Napier”; C – Sistema orgânico, tendo cobertura do solo com grama esmeralda; e D – Sistema orgânico, com cobertura do solo com amendoim forrageiro. Gama – DF, CNPH.

minutos. Após as diluições, 0,1 mL das suspensões  $10^2$  e  $10^3$  g de solo/mL de água foi distribuído e espalhado em placas de Petri com meio de Martin (MARTIN, 1950), cuja composição em g/L foi:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,0;  $\text{MgSO}_4\text{H}_2\text{O}$  0,5; cloranfenicol 0,25; PCNB 0,20; rosa de Bengala 0,033; peptona 5; dextrose 10 e ágar 15. As placas foram mantidas em câmara incubadora tipo B.O.D., a  $25^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas, durante sete dias. Após este período, as colônias características de *Trichoderma* spp. foram examinadas em microscópio óptico para a verificação da presença de estruturas que identificam o gênero. As colônias identificadas como pertencentes ao gênero *Trichoderma* foram selecionadas, transferidas para tubos contendo meio de cultura sólido BDA (batata/dextrose/agar) e armazenadas a  $10^\circ\text{C}$ .

Os dados, expressos como unidades formadoras de colônia (UFC) por grama de solo seco, foram

transformados em raiz ( $x+1/2$ ) e submetidos à análise de variância (Anova), com arranjo em parcelas subdivididas no tempo, enquanto as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5%).

## Resultados e Discussão

O fungo *Trichoderma* spp. foi detectado em todos os sistemas de produção e tipos de cobertura do solo (Tabela 1). A maioria das colônias deste antagonista (Figura 2) foi recuperada em plaqueamento com diluição de 100 vezes, observando-se variações nos níveis populacionais entre 1,0 e  $18 \times 10^2$  UFC/g de solo seco.

Não houve diferença nas populações de *Trichoderma* entre os sistemas orgânico e convencional de produção (Tabela 1). No geral, as amostras de solo que apresentaram maior número de UFC

de *Trichoderma* spp. foram as oriundas de cultivos orgânicos com cobertura (viva) de grama esmeralda, com cobertura (morta) de palha de capim-elefante “Napier” e de cultivo convencional com “mulching” de plástico preto, as quais não diferiram estatisticamente entre si. Por outro lado, o cultivo orgânico com cobertura (viva) de amendoim forrageiro apresentou as menores populações deste antagonista (Tabela 1).

Os resultados também mostraram uma interação entre o tipo de cobertura do solo e o estágio de desenvolvimento da planta. Constatou-se essa relação no cultivo orgânico com cobertura (morta) de palha de capim-elefante “Napier”, em que os maiores picos populacionais de *Trichoderma* ocorreram na fase de frutificação do morangueiro, enquanto houve um forte declínio no final da safra, quando o solo encontrava-se com maior exposição em razão da reduzida e irregular distribuição de palha em sua superfície. Nos demais tipos de cobertura (inclusive com “mulching” de plástico

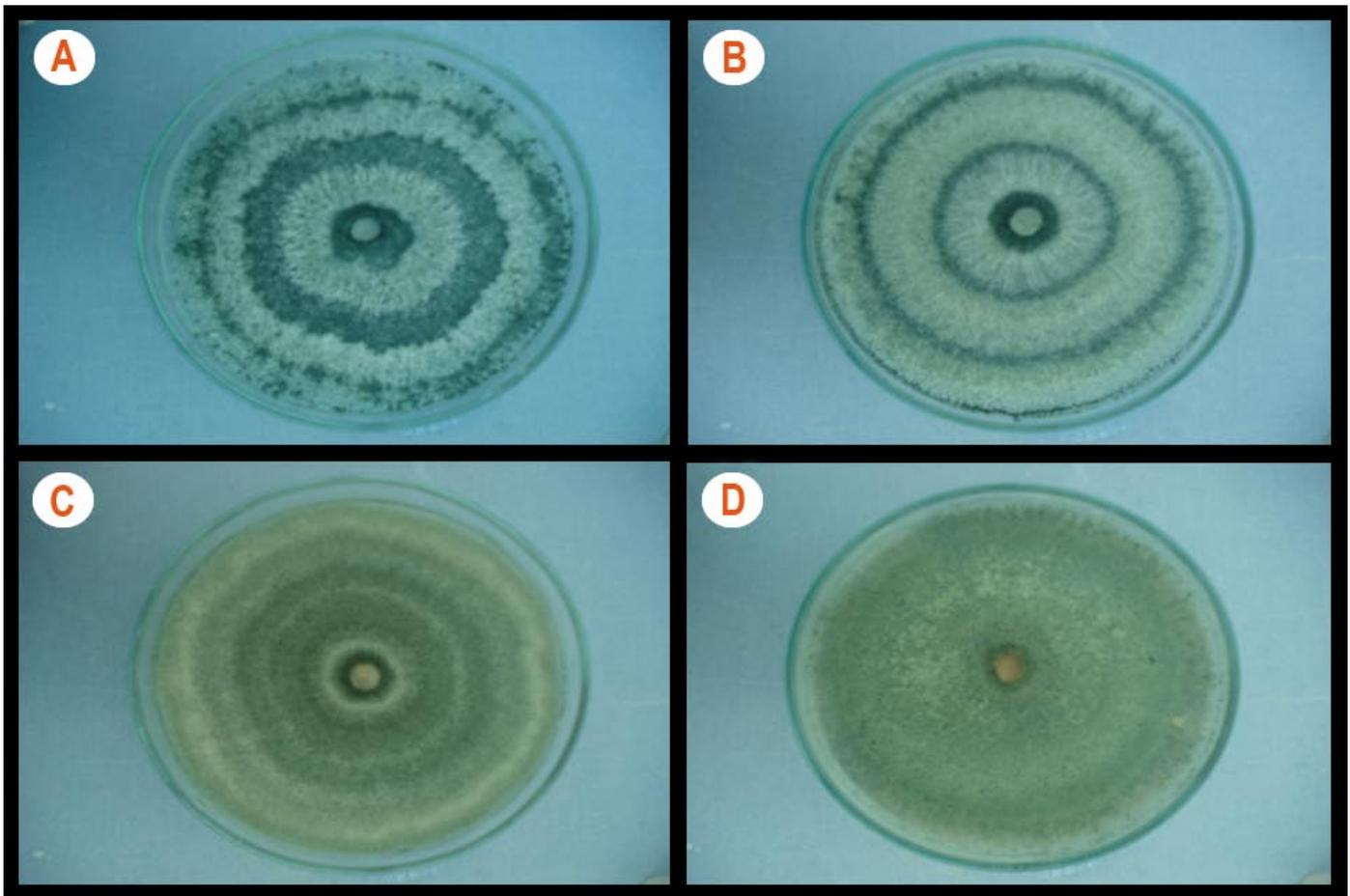
preto no sistema convencional), não houve diferença estatística no número de UFC entre as épocas de coleta. Assim, práticas que permitiram a cobertura do solo por maior tempo foram as mais favoráveis à persistência e à atividade de *Trichoderma* no solo e na rizosfera.

Novos estudos serão realizados para avaliar se a maior persistência e o nível populacional do fungo antagonista em diferentes coberturas do solo poderão conferir maior proteção ao morangueiro contra fitopatógenos habitantes do solo, principalmente na fase de estabelecimento da cultura no campo, quando doenças radiculares podem reduzir drasticamente o estande de plantas (MAAS, 1998; TANAKA et al., 2000; CARVALHO et al., 2005). Estas informações serão importantes para o desenvolvimento de práticas que promovam maior preservação e incremento de *Trichoderma* spp. e, conseqüentemente, maior eficiência do controle biológico natural de fitopatógenos nos agroecossistemas de morangueiro.

**Tabela 1.** Unidades formadoras de colônia (UFC) por grama de solo seco de amostras coletadas em cultivos de morangueiro nos sistemas de produção convencional e orgânico. Gama – DF, CNPH.

Cultivo e cobertura do solo	UFC/g de solo ( $\times 10^2$ ) <sup>1</sup>		
	Início do cultivo	Frutificação	Final da safra
Morango convencional – Cobertura “mulching”	5,0 $\pm$ 2,9 ab A	11,0 $\pm$ 2,5 a A	8,3 $\pm$ 3,5 a A
Morango orgânico – Cobertura palha capim-elefante “Napier”	8,3 $\pm$ 2,2 ab AB	14,0 $\pm$ 2,8 a A	3,3 $\pm$ 2,4 a B
Morango orgânico – Cobertura grama esmeralda	13,3 $\pm$ 2,4 a A	15,0 $\pm$ 3,7 a A	7,5 $\pm$ 2,1 a A
Morango orgânico – Cobertura amendoim forrageiro	1,7 $\pm$ 0,1 b A	4,2 $\pm$ 2,1 b A	0,0 $\pm$ 0,0 b A
<b>CV (%)</b>	<b>43,8</b>	<b>55,4</b>	<b>65,6</b>

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (5%). Dados transformados em  $\sqrt{(x + 1/2)}$  para as análises estatísticas.



**Figura 2.** Isolados de *Trichoderma* provenientes de amostras de solo. A – Cultivo convencional; B – Cobertura de amendoim; C – Cobertura de grama esmeralda; e D – Cobertura de palha de capim-elefante “Napier”.

## Referências Bibliográficas

BARBOSA, P. **Conservation biological control**. San Diego: Academic Press, 1998. 396p.

CARVALHO, S. P.; DUARTE FILHO, J.; FADINI, M. A.; MELLO, M. S.; CANTILLANO, R. F.; ALVARENGA, J. O.; VENZON, M.; CARVALHO, A. A. A.; CARVALHO, A. M.; OLIVEIRA, H. G. O.; ZAMBOLIM, L.; ASSIS, M.; SOUZA, J. C.; NOGUEIRA, N. D.; OLIVEIRA, F. M.; AMARAL, E. H.; ALTOÉ, I. M. F. F.; PALLINI, A.; GUIMARÃES, J. C.; VEIGA JÚNIOR, W. G.; COSTA, H. **Boletim do morango: cultivo convencional, segurança alimentar, cultivo orgânico**. Belo Horizonte: Ceasa Minas, 2005. 160p.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa Produção de Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1999. 412 p.

EMBRAPA CLIMA TEMPERADO. **Sistema de Produção**, 5. Versão Eletrônica. 2005. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/SistemaProducaoMorango/index>>.

GARBEVA, P.; VAN VEEN, J. A.; VAN ELSAS, J. D. Microbial diversity in soil: selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, Calif., v. 42, p. 243-270. 2004.

HENZ, G. P.; REIS, A.; SILVA, K. C. do C. e; PEREIRA, S. de F. **Incidência de doenças de pós-colheita em frutos de morango produzidos no Distrito Federal em 2008**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2008. 16 p. (Embrapa Hortaliças. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 45).

LOPES, H. R. D.; SILVA, B. C.; NASCIMENTO, E. F.; RAMOS, L. X.; PEREIRA, M.; CARNEIRO, R. G. **A cultura do morangueiro no Distrito Federal**. Brasília-DF: EMATER, 76p, 2005.

MAAS, J. L. (Ed.) **Compendium of strawberry diseases**. 2.ed. St. Paul: American Phytopathological Society, 1998. 98p.

MADAIL, J. C. M.; ANTUNES, L. E. C.; REISSER JUNIOR, C.; NEUTZLING, D. M.; SILVA, B. A. da. **Economia da produção na morango: estudo de caso de transição para produção integrada**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. 24 p. (Embrapa Clima Temperado. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 53).

MARTIN, J. P. Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plater method for estimating soil fungi. **Soil Science**, Baltimore, Md., US, v. 69, p.215-232, 1950.

MELO, I. S. de. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Brasília, DF: Embrapa-CNPMA, 1991. 388p.

SILVA, A. J. C.; LIMA, J. L.; SILVA, A. E. R.; SILVA, P. S.; BRAGA, D. O.; VILELA RESENDE, F. V.; SOUZA, R. B. Avaliação de doses de composto de farelos anaeróbico para produção de morango orgânico sobre coberturas vivas de amendoim forrageiro e grama esmeralda. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, 2009.

SOUZA, J. L. de; RESENDE, P. **Manual de horticultura orgânica**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2003. 564p.

TANAKA, M. A. S.; BETTI, J. A.; PASSOS, F. A. **Manejo integrado de pragas e doenças do morangueiro**. São Paulo: Secretaria de Agricultura e Abastecimento, 2000. v. 5, 61p. (Manual Técnico, Série Especial).

#### Comunicado Técnico 188

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:  
**Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**  
 Endereço: Parque Estação Biológica (PqEB) - Avenida W5 Norte; Caixa Postal 02372 - Brasília, DF - Brasil;  
 CEP: 70770-900  
 Fone: (61) 3448-4700  
 Fax: (61) 3340-3624  
 E-mail: sac@cenargen.embrapa.br  
 1ª edição  
 Publicação *on line* (2009)



#### Comitê Local de Publicações

**Presidente:** *Lúcio Brunale*.  
**Secretária-Executiva:** *Ligia Sardinha Fortes*.  
**Membros:** *José Roberto de Alencar Moreira, Diva Maria de Alencar Dusi, Regina Maria Dechechi G. Carneiro, Samuel Rezende Paiva e Jonny Everson Scherwinski Pereira*.  
**Membros suplentes:** *João Batista Tavares da Silva e Margot Alves Nunes Dode*.  
**Expediente** **Normalização bibliográfica:** *Ana Flávia do Nascimento Dias*.  
**Revisão de texto:** *José Cesamildo Cruz Magalhães*.  
**Editoração eletrônica:** *Cíntia Pereira da Silva*.