

Controle biológico de Fusariose em mudas de *Pinus taeda* e *Pinus elliottii* com produto comercial a base de *Trichoderma sp.*

Biological control of Fusariosis in seedlings of Pinus taeda and Pinus elliottii with commercial product based on Trichoderma sp.

João Arthur Tikler Sousa
Universidade Federal do Paraná (UFPR)
E-mail: joao_jats@hotmail.com
OrCID: <https://orcid.org/0000-0002-8301-7603>

Gabriela Scheinpflug Brito
Universidade Federal do Paraná (UFPR)
E-mail: gabisb@gmail.com
OrCID: <https://orcid.org/0000-0002-3666-8825>

Suelen Santos Rego
Universidade Federal do Paraná (UFPR)
E-mail: suelen_srego@yahoo.com.br
OrCID: <https://orcid.org/0000-0002-9724-1980>

Resumo: O objetivo deste trabalho foi testar a eficiência do uso de produto biológico comercial à base de *Trichoderma* no controle preventivo do fungo *Fusarium sp.* em mudas de *Pinus taeda* e *Pinus elliottii*. Foram utilizados dois isolados de *Fusarium sp.*, inoculados nas mudas pela imersão das raízes em suspensão de esporos. As mudas inoculadas foram plantadas em tubetes com substrato comercial misturado com uma suspensão do produto biológico e mantidas em casa de vegetação. Após 56 dias foram avaliados a severidade da doença, a altura, o diâmetro do colo, o comprimento da parte aérea, a massa seca da raiz e a massa seca da parte aérea. Os resultados demonstraram que a incorporação de produto comercial à base de *Trichoderma harzianum* ao substrato das mudas de *P. taeda* e *P. elliottii* inoculadas com dois isolados de *Fusarium sp.* diminuiu a severidade da doença e proporcionou o melhor desenvolvimento das mudas.

Palavras-chave: Controle alternativo. Viveiros. Tombamento.

Abstract: The objective of this work was to test the efficiency of the use of a commercial product based on *Trichoderma* in the control of the fungus *Fusarium sp.* in *Pinus taeda* and *Pinus elliottii* seedlings. Two *Fusarium sp.* isolates were used, which were inoculated in the seedlings by immersing the roots in spore suspension. The inoculated seedlings were placed in tubes with commercial

substrate mixed with the biological powder and kept in a greenhouse. After 56 days, the severity of the disease was evaluated and the height, neck diameter, shoot length, root dry matter and aerial part dry matter were quantified. The results demonstrated that the incorporation of a commercial product based on *Trichoderma harzianum* into the substrate of the seedlings of *P. taeda* and *P. elliottii* inoculated with two isolates of *Fusarium* sp. decreased the severity of the disease and improved the quality of the seedlings.

Keywords: Alternative control. Nurseries. Damping off.

Data de recebimento: 04/11/2021

Data de aprovação: 20/01/2022

DOI: <https://doi.org/10.30612/agrarian.v14i53.15358>

1 Introdução

O gênero *Pinus* (família Pinaceae) ocorre naturalmente no hemisfério norte e possui mais de 100 espécies, dentre as quais, *Pinus taeda* L. e *P. elliottii* Engelm. são as mais cultivadas no Sul do Brasil devido às suas características de resistência a geadas e grandes rendimentos em madeira (Shimizu, 2008). No ano de 2019 a área ocupada por plantas deste gênero no Brasil foi de 1,64 milhões de hectares, sendo que 87% dos plantios de pinus encontram-se nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Indústria Brasileira de Árvores [IBÁ], 2020).

No entanto, as mudas produzidas nos viveiros florestais são bastante atacadas por patógenos devido ao ambiente quente e úmido, condições propícias para o desenvolvimento de fungos, como o *Fusarium* spp. Este fungo é comumente encontrado em viveiros de produção de mudas de *Pinus taeda* e *P. elliottii*, causando sintomas de tombamento pré e pós-emergente e apodrecimento de raízes, e a seca como consequência da planta não conseguir absorver água e nutrientes, podendo leva-la à morte (Auer, Grigoletti Junior e Santos, 2001).

A ocorrência deste patógeno em viveiros de pinus costuma ser controlada com fungicidas, em aplicações quinzenais. Apesar de sua importância, este método de controle pode acarretar altos custos e, quando mal aplicado e manejado, oferece riscos à saúde e ao meio ambiente, motivos pelos quais existe pressão para redução do uso, além de exigências de órgãos certificadores no setor florestal. Outro fator importante é que seu mau uso pode colaborar para o surgimento de resistência em patógenos, dificultando ainda mais o controle das doenças. Assim há a necessidade de métodos de controle alternativos e/ou complementares, para diminuição de custos e riscos, além da manutenção de um ambiente mais equilibrado.

Dentre as alternativas ao uso de defensivos químicos, o controle biológico se destaca como um dos mais estudados atualmente devido aos aspectos positivos como eficácia, baixo custo e pouca interferência nas relações ecológicas, quando bem compreendido e bem aplicado.

Um dos microrganismos mais utilizados como agente de controle biológico é o fungo *Trichoderma* spp. Este organismo apresenta várias características que o tornam

um bom agente de controle, como a ampla distribuição geográfica, antagonismo a uma vasta gama de fitopatógenos, grande capacidade de reprodução, resistência a intempéries e habilidade de se desenvolver em vários tipos de substratos e ambientes (Meyer, Mazaro e Silva, 2019).

No entanto, apesar de tantas características promissoras e muitas espécies já terem sido estudadas, o aumento das pesquisas, tanto em campo quanto em laboratório, está proporcionando a descoberta de novos antagonistas dentro do gênero, e auxiliam na ampliação de sua aplicação (Medeiros, Silva e Pascholati, 2018).

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do produto comercial Trichodel® no controle de *Fusarium* sp. em mudas de *P. taeda* e *P. elliottii*.

2 Materiais e Métodos

Local de realização dos experimentos

Os experimentos foram realizados nos laboratórios e no viveiro do Departamento de Engenharia Florestal da ULT - União Latino-americana de Tecnologia, campus de Jaguaíva - PR, nos meses de fevereiro e março.

As mudas de *P. taeda* e *P. elliottii* utilizadas no experimento foram provenientes de um viveiro comercial localizado no município de Arapoti, Paraná, com idade de 60 dias e com altura média de 30 cm.

Isolados de *Fusarium* sp. e preparo de suspensão de esporos

Foram utilizados dois isolados de *Fusarium* sp. (FS01 e FS02) obtidos de sementes de *P. taeda*. Estes foram inicialmente multiplicados em placas de Petri, contendo o meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) e incubados em B.O.D. à 25° C, com fotoperíodo de 16 horas de luz, durante 15 dias. Para obtenção da suspensão de esporos foram pipetados 20 mL de água destilada esterilizada em cada placa de Petri contendo a cultura do fungo, para a realização da raspagem do micélio. A suspensão foi filtrada em gaze esterilizada e, a partir da contagem em câmara de Neubauer, foram realizadas diluições para obter uma concentração de 10⁶ esporos/mL.

Inoculação das mudas de *P. taeda* e de *P. elliottii* com *Fusarium* sp.

A limpeza das mudas foi realizada por meio de lavagem em água corrente, retirando-se todo o resíduo de substrato das raízes. Em seguida, as raízes foram cortadas nas regiões apicais, para abertura de lesões, e mergulhadas nas suspensões de esporos por um período de 30 minutos. Foram inoculadas 120 mudas de cada espécie com o isolado FS01 e 120 mudas de cada espécie com o isolado FS02, totalizando 240 mudas.

Incorporação do produto biológico aos substratos

O produto biológico utilizado neste experimento tem com o nome comercial Trichodel® (Via FlorAgro), formulado a partir da espécie *Trichoderma harzianum*, na concentração 35% de esporos. A incorporação do produto biológico ao substrato foi realizada sete dias antes do transplântio das mudas para os tubetes, utilizando-se 100 mL do produto comercial diluído em 20 litros de água destilada e autoclavada. Para umedecer 30 kg de substrato comercial à base de casca de pinus foram utilizados sete litros da suspensão, a qual foi irrigada.

Incubação

Após a limpeza e inoculação as mudas foram transplantadas para tubetes plásticos de 290 cm³, previamente higienizados com solução de hipoclorito de sódio 2,5%, contendo substrato comercial à base de casca de pinus. Metade dos tubetes foram preenchidos com o substrato contendo o produto comercial Trichodel® incorporado e a outra metade somente com o substrato comercial, sem a adição do produto biológico.

Cada uma das espécies foi submetida a quatro tratamentos, totalizando oito tratamentos, conforme Tabela 1:

Tabela 1. Tratamentos usados nas mudas de *Pinus taeda* e *Pinus elliottii* inoculadas com 2 isolados de *Fusarium* sp. com e sem inoculação com Trichodel®

Espécie	Isolados		Trichodel®		Tratamentos
	FS01	FS02	Com	Sem	
<i>P. taeda</i>	X		X		T1
<i>P. taeda</i>	X			X	T2
<i>P. taeda</i>		X	X		T3
<i>P. taeda</i>		X		X	T4
<i>P. elliottii</i>	X		X		T5
<i>P. elliottii</i>	X			X	T6
<i>P. elliottii</i>		X	X		T7
<i>P. elliottii</i>		X		X	T8

Após o transplântio as mudas foram mantidas em viveiro, em condições ambientes, sob insolação direta e irrigadas diariamente por um período de 56 dias.

Avaliações

As avaliações foram realizadas aos 56 dias após as inoculações, contabilizando a incidência por meio da contagem de plantas com sintomas e a severidade da doença, pela escala de notas proposta por Silva, Santos, Auer e Tessmann (2017), em que: 0 – planta sem sintomas, 1 – planta com acículas descoloridas, 2 – planta com curvatura apical e 3 – planta morta. Foram mensurados também o comprimento da raiz principal (CR), o comprimento da parte aérea (CPA), o diâmetro do colo (DC), a

massa seca da raiz (MST) e a massa seca da parte aérea (MPA).

Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos para cada espécie e três repetições, sendo cada parcela formada por 10 mudas. Cada combinação espécies de pínus e isolado de *Fusarium* sp. foi analisada individualmente. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas por meio do software estatístico ASSISTAT, versão 7.7 beta.

3 Resultados

Incidência e severidade da fusariose em pínus

Após os 56 dias as mudas apresentaram sintomas de fusariose, resultando em incidência acima de 70% para o isolado FS01 e de 55% para o isolado FS02. Os sintomas observados foram: mudança na coloração das acículas de verde para verde-amarelada, seca e perda das acículas, curvatura apical e morte de mudas. Em algumas mudas também se observou a necrose do sistema radicular.

Para *Pinus taeda*, as mudas também apresentaram incidência da fusariose maior que 85% em todos os tratamentos. Já para a severidade houve diferença entre os tratamentos com e sem o uso de Trichodel® apenas para o isolado FS01, sendo a menor média apresentada pelo tratamento com incorporação do produto (Tabela 2).

Tabela 2. Severidade média e incidência da doença em mudas de *P. taeda* inoculadas com *Fusarium* submetidas com e sem controle biológico à base de *Trichoderma*.

Isolados de <i>Fusarium</i> *	Trichodel®	Severidade** (média)	CV%	Incidência %
FS01	Sem	2,0 a	28,31	100%
	Com	1,4 b		95%
FS02	Sem	1,4 a	53,67	90%
	Com	1,2 a		85%

*Cada isolado de *Fusarium* foi avaliado separadamente.

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$), ns – não significativo.

**Escala de notas: 0 – planta sem sintomas, 1 – planta com acículas descoloridas, 2 – planta curvatura apical e 3 – planta morta (SILVA et al., 2017).

A espécie *P. elliottii* apresentou incidência de fusariose acima de 55% nos tra-

tamentos, enquanto que, para severidade houve diferença estatística entre os tratamentos apenas para o isolado FS02, em que as mudas do tratamento com controle biológico obtiveram a menor severidade. No entanto, os sintomas de curvatura apical e mortalidade foram observados somente nas mudas que não foram submetidas ao tratamento com o Trichodel® (Tabela 3).

Tabela 3. Severidade e incidência da fusariose em mudas de *Pinus elliottii* inoculadas com *Fusarium* sp com e sem controle biológico à base de *Trichoderma harzianum*.

Isolados de <i>Fusarium</i> *	Trichodel®	Severidade** (média)	CV%	Incidência %
FS01	Sem	1,2 ns	73,05	75%
	Com	0,8 ns		70%
FS02	Sem	1,4 a	89,55	85%
	Com	0,6 b		55%

*Cada isolado de *Fusarium* foi avaliado separadamente. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$), ns – não significativo.

**Escala de notas onde: 0 – planta sem sintomas, 1 – planta com acículas descoloridas, 2 – planta curvatura apical e 3 – planta morta (SILVA et al., 2017).

Avaliação da qualidade das mudas

As mudas de *Pinus taeda* inoculadas com os dois isolados apresentaram diferenças nos tratamentos com e sem Trichodel® nas variáveis: comprimento de raiz (CR), diâmetro de colo (DC) e matéria seca da parte aérea (MSPA), sendo os valores maiores verificados nas mudas com controle biológico. Já para as médias de matéria seca da raiz (MSR) e comprimento da parte aérea (CPA) não houve diferença estatística (Tabela 4).

Tabela 4. Comprimento da raiz (CR), comprimento da parte aérea (CPA), diâmetro do colo (DC), matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria seca da raiz (MSR) de mudas de *Pinus taeda* inoculadas *Fusarium* com e sem controle biológico à base de *Trichoderma*.

Isolados de <i>Fusarium</i> *	Trichodel®	CR (cm)	CPA (cm)	DC (mm)	MSPA (g)	MSR (g)
FS01	Com	12,6 a	35,4 a	5,4 a	2,3 a	1,1 a
	Sem	8,7 b	33,7 a	3,9 b	1,9 b	1,1 a
	CV%	32,1	7,9	24,9	28,8	41,0
FS02	Com	12,9 a	36,5 a	6,2 a	2,8 a	0,9 a
	Sem	8,7 b	33,7 a	3,7 b	2,0 b	0,9 a
	CV%	29,9	13,4	23,7	19,5	28,5

*Cada isolado de *Fusarium* foi avaliado separadamente.

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

Para as mudas de *Pinus elliottii* inoculadas com o patógeno FS01 não houve diferença estatística entre as médias de diâmetro de colo (DC) e matéria seca da parte aérea (MSPA), enquanto para as mudas inoculadas com o isolado FS02 apenas a massa seca da parte aérea (MSPA) não apresentou diferença estatística. Nas demais variáveis, para ambos os isolados, os tratamentos com o uso de Trichodel® apresentaram médias de valores maiores em comparação aos tratamentos sem o produto (Tabela 5).

Tabela 5. Comprimento da raiz (CR), comprimento da parte aérea (CPA), diâmetro do colo (DC), matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria seca da raiz (MSR) das mudas de *Pinus elliottii* inoculadas *Fusarium* submetidas ao controle biológico à base de *Trichoderma* e não submetidas ao controle biológico.

Isolados de <i>Fusarium</i> *	Trichodel®	CR (cm)	CPA (cm)	DC (mm)	MSPA (g)	MSR (g)
FS01	Com	12,6 a	33,7 a	3,9 a	2,4 a	1,0 a
	Sem	8,5 b	32,0 b	3,8 a	2,3 a	0,7 b
	CV%	28,8	6,8	21,5	21,6	25,1
FS02	Com	10,1 a	33,8 a	6,3 a	2,9 a	1,3 a
	Sem	9,7 a	32,2 b	3,6 b	2,7 a	1,2 a
	CV%	30,4	6,3	16,5	17,3	19,2

*Cada isolado de *Fusarium* foi avaliado separadamente.

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

4 Discussão

Severidade da doença

Grigoletti Junior e Auer (2006) inocularam *Fusarium* spp. em mudas de *P. taeda* e observaram sintomas semelhantes aos encontrados no presente trabalho: na parte aérea ocorreu redução do crescimento da muda, descoloração das acículas para um tom verde-amarelado, seguida de murcha. No sistema radicular ocorreu redução no desenvolvimento e necrose das raízes atacadas, o que corrobora com os resultados obtidos nesse trabalho.

O uso do Trichodel® nesse trabalho reduziu a severidade do isolado FS01 em *P. taeda*, e do FS02 em *P. elliottii*, e os sintomas de curvatura apical e mortalidade, não foram observados em mudas que foram submetidas ao tratamento com o *Trichoderma harzianum*. Quanto à taxa de incidência, os valores com o uso do produto foram inferiores, mas os valores foram próximos dos tratamentos sem o uso do Trichodel®. Para o isolado FS02 em *P. taeda* o uso do produto não foi eficiente.

Maciel, Walker, Muniz e Araújo (2014) verificaram efeito inibidor do crescimento de colônias de *Fusarium sambicinum* (patogênico a *P. elliottii* var. *elliottii*) na presença de *Trichoderma* spp. *in vitro*, assim como Silva et al. (2019) verificaram o efeito

antagônico de *Trichoderma* sp. sobre o crescimento de isolados de *Fusarium subglutinans* em placas de Petri. Ainda, Silva, Santos, Auer e Tessmann (2019) relatam a utilização de *Trichoderma* sp. como antagonista de diversos fungos, como *Fusarium* sp., *Phytophthora* sp. e *Rhizoctonia* sp., em diversas culturas florestais. Estes efeitos de antagonismo podem explicar a menor severidade da doença encontrada nas mudas com o tratamento biológico, uma vez que o *Trichoderma* reduziu o crescimento micelial de espécies de *Fusarium*, processo pelo qual o fungo coloniza os tecidos das plantas. Neste mesmo trabalho, os autores verificaram que as plântulas oriundas de sementes expostas ao *F. subglutinans* e tratadas com *Trichoderma* apresentaram melhor emergência e crescimento inicial do que as não tratadas, efeito que também pode ser considerado como menor severidade da doença, além de apresentar menor incidência de podridão radicular.

Qualidade das mudas

Hohmann, Jones, Hill e Stewart (2011) observaram que o uso de *Trichoderma hamatum* na peliculização de sementes de *Pinus radiata* aumentou a altura das plântulas e massa seca radicular. Para o *Trichoderma harzianum* utilizado nesse trabalho, não foram observadas diferenças nesses aspectos para o *P. taeda*, mas para o *P. elliotii* seu uso promoveu maior desenvolvimento da parte aérea e maior massa seca radicular (1,0 g), para o isolado FS01, quando comparado ao não uso do produto (0,7 g). Chávez, Pereira e Machuca (2014) verificaram a estimulação de crescimento em altura e diâmetro do colo e maior peso de massa aérea e peso seco de raiz em mudas de *Pinus radiata* com a inoculação de *Trichoderma harzianum* em substrato misturado com grãos de trigo, resultados semelhantes aos encontrados no presente trabalho, onde o *P. taeda* apresentou maior desenvolvimento de diâmetro do colo e maior peso de massa aérea para os dois isolados de *Fusarium* nos tratamentos com Trichodel®, e o *P. elliotii*, quando exposto ao isolado FS02, apresentou maior diâmetro do colo quando comparado ao tratamento sem o uso do produto. Azevedo, Novaes, Azevedo, Silva, Sobrinho e Novaes (2017) também verificaram o incremento do crescimento das variáveis analisadas, demonstrando o potencial de biofertilizante como uma alternativa viável na produção de espécies florestais.

Alguns estudos podem ser realizados para a verificação de substratos que melhor promovam a inoculação, crescimento e desenvolvimento do *Trichoderma harzianum* com a finalidade de potencializar sua ação tanto de antagonista, como de promotor de crescimento.

5 Conclusão

O produto Trichodel® mostrou ser capaz de ajudar no controle dos isolados de *Fusarium* sp., diminuindo a severidade da doença das mudas analisadas e promovendo o crescimento e desenvolvimento de mudas de *P. taeda* e *P. elliotii*.

6 Referências

Auer, C. G., Grigoletti Junior, A., & Santos, A. F. dos (2001). Doenças em pinus: identificação e controle. *Circular Técnica 48*. Embrapa Florestas- Colombo.

Azevedo, G. B. de, Novaes, Q. S. de, Azevedo, G. T. D. O. S., Silva, H. F., Sobrinho, G. G. R., & Novaes, A. B. de. (2017). Efeito de *Trichoderma* spp. no crescimento de mudas clonais de *Eucalyptus camaldulensis*. *Scientia Forestalis/Forest Sciences Piracicaba, SP*. 45 (114), 343-352. <http://dx.doi.org/10.18671/scifor.v45n114.10>

Chávez, D., Pereira, G., & Machuca, A. (2014). Estimulación del crecimiento en plántulas de *Pinus radiata* utilizando hongos ectomicorrízicos y saprobios como biofertilizantes. *Bosque (Valdivia)*, 35(1), 57-63. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002014000100006>

Grigoletti Junior, A., & Auer, C. G. (2006). Fusariose em mudas de *Pinus taeda*. *Comunicado Técnico 166*. Embrapa Florestas- Colombo.

Hohmann, P., Jones, E., Hill, R., & Stewart, A. (2011). Understanding *Trichoderma* in the root system of *Pinus radiata*: associations between rhizosphere colonization and growth promotion for commercially grown seedlings. *Fungal Biology*, 115 (8): 759-67. <https://dx.doi.org/10.1016/j.funbio.2011.05.010>

IBÁ, Indústria Brasileira de Árvores. (2020). *Relatório anual 2020*. Ano base 2019. 66p. Brasília.

Maciel, C.G., Walker, C., Muniz, M. F. B., & Araújo, M. M. (2014). Antagonismo de *Trichoderma* spp. e *Bacillus subtilis* (UFV3918) a *Fusarium sambucinum* em *P. elliotii* var. *elliotii* Engelm. *Revista Árvore*, Viçosa, MG. 38(3), 505-512. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622014000300013>

Medeiros, F. H. V. de, Silva, J. C. P. da, & Pascholati, S. F. (2019) Controle Biológico de doenças de plantas. In: Amorim, L. Rezende, J. A. M, Bergamin Filho, A.; Manual de Fitopatologia. 1 (5). Ceres. Ouro Fino, MG. P. 261-274.

Meyer, M. C., Mazaró, S. M., & Silva, J. C. da (ed.). *Trichoderma: uso na agricultura*. Embrapa Arroz e Feijão; Embrapa Soja. Brasília, DF: Embrapa, 2019. 536 p. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/208230/1/livro-trichoderma-online-06.01.20.pdf>>. Acesso em 14 de março de 2021.

Santos, A. F. dos, Kleina, H. T., Fuzitani, E. J., & Duarte, H. da S. S. (2019). Uso do *Trichoderma* em culturas florestais. In: Meyer, M. C.; Mazaró, S. M.; Silva, J. C. da. *Trichoderma: uso na agricultura*. Brasília, DF: Embrapa, p. 521-536.

Shimizu, J.Y. *Pínus na silvicultura brasileira*. Embrapa Florestas. Colombo, PR. p. 223, 2008.

Silva, T. W. R. da, Santos, A. F. dos, Auer, C. G., & Tessmann, D. J. (2017). Métodos de detecção, transmissão e patogenicidade de *Fusarium* spp. em sementes de *Pinus taeda*. *Ciência Florestal*, Santa Maria, RS. 27(1), 73-84

Silva, T. W. R., Santos, A. F. dos, Auer, C. G., & Tessmann, D. J. (2019). Pine Seeds treatment with *Trichoderma* for *Fusarium* control. *Floresta e Ambiente*, 26(2), e20170875. Epub May 30, 2019. <https://doi.org/10.1590/2179-8087.087517>