

IDENTIFICAÇÃO DE *Trichoderma* INCORPORADOS NA COLEÇÃO DE CULTURAS DE MICRORGANISMOS DE INTERESSE AGROSSILVICULTURAL – INPA

Jamile Cristina Figueiredo Barros de MORAES¹

Maria aparecida de JESUS²

¹Bolsista IC INPA - PIBIC/CNPq;

²Orientadora COTI/INPA

INTRODUÇÃO

Trichoderma (Hypocreales) pertence a família Moniliaceae é caracterizado pela presença de corpos em frutificação de coloração brilhante, geralmente com estruturas produtoras de esporos na forma de peritécios ou ascomas, suas colônias são de crescimento rápido, variando suas cores em, verde, amarelo e branco.

Trichoderma é de ampla distribuição em diferentes substratos. O gênero *Trichoderma* possui espécies de fungos que são economicamente importantes principalmente pela sua capacidade de produzir enzimas, antibióticos e atuação no controle biológico (Lopes 2012). A coleção de Microrganismos de Interesse Agrossilvicultural do INPA abriga 200 linhagens de *Trichoderma*, as quais estão mantidas entre 25° e 27°C nos métodos, repicagem contínua, óleo mineral e sílica gel. O objetivo do projeto proposto é reativar o maior numero de culturas puras, identificá-las e conhecer as especies de *Trichoderma* constantes na coleção.

MATERIAL E MÉTODOS

Um levantamento das linhagens de *Trichoderma* registradas na Coleção de Culturas de Microrganismos de Interesse Agrossilvicultural do INPA foi realizado. Com a obtenção da colônia pura, foram retirados inoculos, os quais foram usados para a preservação da linhagem em óleo mineral, sílica gel e baixa temperatura. As culturas foram agrupadas de acordo com o nível de risco de perda, aquelas mantidas no método de repicagem e com maior risco de perda, foram repicadas em meio de cultivo de Batata Dextrose-ágar (BDA) e as placas de Petri foram mantidas em estufa com temperatura de 25 °C a 27 °C por 07 dias, até o seu crescimento micelial atingir toda a superfície da placa de Petri. Também, a partir desta mesma colônia foi obtida outra cultura, que foi usada no estudo taxonômico.

Os dados de ambas as característica foram comparados com as espécies descritas por (Rifai 19969), e outras referências específicas do gênero, como também se usou os sites como, Todas as linhagens viáveis e identificadas foram preservadas em 3 replicas nos seguintes métodos de armazenamento, baixa temperatura, sílica gel e óleo mineral, em caixas específicas para os mesmos e mantidas à temperatura ambiente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 200 culturas de *Trichoderma* esta registrado na Coleção de Culturas de Microrganismo de Interesse Agrossilvicultural do INPA. Destas 105 culturas de *Trichoderma* ta identificadas e distribuidas em *Trichoderma* aureoviride (15), *T. hamatum* (2), *T. harzianum* (17), *T. inhamatum* (15), *T. koningii* (19), *T. longibrachiatum* (10), *T. piluliferum* (13), *T. pseudokonigi* (7) *T. viride* (1) e *virens* (6) e (95) em *Trichoderma* spp. Com relação ao aspecto de preservação 68 culturas, estão mantidas nos métodos (sílica gel, óleo mineral e baixa temperatura).

As linhagens de *Trichoderma* foram isoladas de diversas espécies florestais de importância econômica da região amazônica, resíduos madeireiros, produtos florestais, dentre outros substratos lignocelulolíticos de estudos de

durabilidade natural de madeira, tecnologia da madeira e biotecnologia conforme os dados de registro de cada isolado. A maioria dos isolados é proveniente de árvores, madeiras e outros substrato. Algumas espécies possuem potencial biotecnológico, agroindustrial tais como: *T. harzianum* e *T. aureoviride* que bastante comum, podendo ser encontrado no solo, pois atua no desenvolvimento das plantas podendo estar relacionada à sua capacidade de associação simbiótica às raízes das plantas, juntamente com sua ação decompositora, disponibilizando nutrientes prontamente absorvíveis para as plantas, e, ainda, atua como agente de controle biológico, inibindo a ação de fitopatógenos, que podem interferir de forma direta no desenvolvimento normal da planta (Altamore *et al.* 1999). Apresenta uma importante função ecológica, pois participa na mineralização dos restos de folhas, caules e raízes que já estão mortos, ajudando a manter o equilíbrio do ambiente (Gams e Bisset 1998).

Das 200 culturas, somente 105 foram identificadas em nível de espécies citados na (Tabela 1) com destaque para *T. aureoviride* (15), *T. inhamatum* (15), *T. harziaunum* (17), *T. koningii* (19) com maior número de linhagens.

Tabela 1. Relação das linhagens de *Trichoderma* do acervo reativadas e identificadas.

Taxón	Nº de Linhagens
<i>Trichoderma aureoviride</i> Rifai	15
<i>Trichoderma hamatum</i> Bain	2
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	17
<i>Trichoderma inhamatum</i> Gams	15
<i>Trichoderma koningii</i> Oud	19
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> Rifai	10
<i>Trichoderma piluliferum</i> Webster e Rifai	13
<i>Trichoderma pseudokonigi</i> Rifai	7
<i>Trichoderma viride</i> Pers	1
<i>Trichoderma virens</i> Samuels	6
<i>Trichoderma</i> spp.	95
Total	200

T. aureoviride (Figura 1) possui colônia de crescimento lento, de aparência flocosa, com reverso transparente coloração varia verde (Rifai 1969). As microcaracterísticas são distinguidas os seus conidióforos ramificados que medem entre 35-80 x 3,5-7,0µm possuem de 02 a 05 fialides. Suas fialides são subverticiladas e septadas também são bem menores e tem forma de garrafa, mas vendo por dentro elas te formas assimétricas. Os esporos perfeitamente levemente obovóides e elipsóides e, truncados que variam em 4-4 x 4-4 µm. Seus conídios são, elipsóides, hialinos, medindo de 4-6µm, os clamidósporos são globoso, hialinos intercalares medindo 6-10 µm de diâmetro dados similares aos de (Rifai 1990). Suas hifas também são septadas.

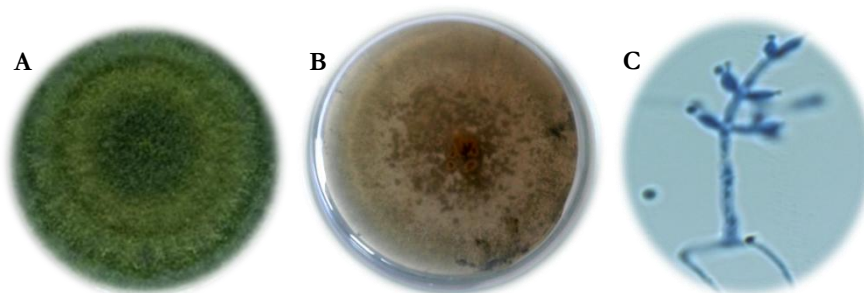


Figura 1. (A) Cultura de *T. aureviride* placa de Petri, vista de frente (A), reverso (B) e Estruturas de reprodução (Conidióforos) (C).

T. harzianum (Figura 2) possui colônias de crescimento rápido que se forma na superfície de uma camada macia e esbranquiçada. O micélio se desenvolve na superfície é subgloboso, pequenas formas ovóides, o reverso da colônia é incolor. Seu micélio possui hifas septadas e hialinas. Clamidósporo é globoso, hialino e intercalares podendo medir de 8-12 μm diâmetro. Os conidióforos são regulares, a maioria cresce de foram distintas como anelares formando tufo, medindo de 40-70 de diâmetro. As fialides são globosas poucos ovóides, de cor verde, podendo chegar de 8-14 μm . De modo que suas características microscópicas não são muito variáveis.

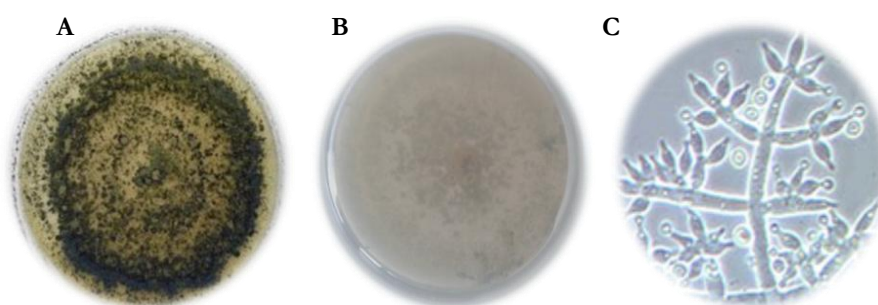


Figura 2. (A) Cultura de *T. harzianum* placa de Petri, vista de frente (A), reverso (B) e Estruturas de reprodução (Conidióforos) (C).

As colônias *T. koningii* (Figura 3) crescem rapidamente na temperatura ambiente, inicialmente estão em superfície macia fazendo com que a hifa que se espalhe. O micélio é hialino e altamente, ramificado e septadas. O Clamidósporo e tipicamente formada em cima da hifa, são globoso elipsóides, chegando a medir de 12 μm diâmetro. Os conídios são hialinos 4-4 x 4-4 cilíndricos de cor verde possuindo exsudados. As fiálides medem 12-15 μm de diâmetro, o conidióforo mede de 80-90 μm de diâmetro.

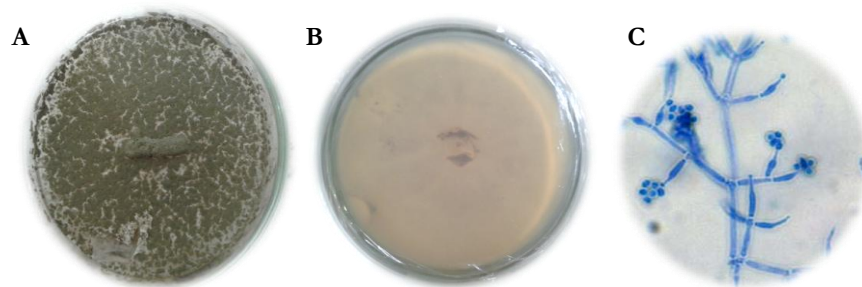


Figura 3. (A) Cultura de *T. koningii* placa de Petri, vista de frente (A), reverso (B) e Estruturas de reprodução (Conidióforos) (C).

Algumas espécies identificadas possuem potencial biotecnológico, agroindustrial tais como: *T. Harzianum* e *T. Aureoviride* que são fungos bastante comuns, podendo ser encontrados no solo, pois atua no desenvolvimento das plantas podendo estar relacionada à sua capacidade de associação simbiótica às raízes das plantas, juntamente com sua ação decompositora, disponibilizando nutrientes prontamente absorvíveis para as plantas, e, ainda, habilidade como agente de controle biológico, inibindo a ação de fitopatógenos, que podem interferir de forma direta no desenvolvimento normal da planta. (Altamore *et al.* 1999). Apresenta uma importante função ecológica, pois participa na mineralização dos restos de folhas, caules e raízes que já estão mortos, ajudando a manter o equilíbrio do ambiente (Gans e Bisset 1998).

CONCLUSÃO

Na coleção estão depositadas 200 culturas de *Trichoderma*, sendo que *T. aureoviride*, *T. harzianum* e *T. koningii* estão com o maior numero de linhagens.

O presente estudo contribuiu para o conhecimento das diversidades de *Trichoderma* para região amazônica.

Recomendam-se futuros estudos biotecnológicos a fim de conhecer as potencialidades das espécies de *Trichoderma* armazenadas na coleção.

REFERÊNCIAS

- Altomare, C.; W.A. Norvell, T. Bjbrkman; G.E. Harman. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plantgrowth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Applied Environ. Microbiol.*, 65: 2926-2933.
- Bisset, J A 1984 revision of the genus *trichoderma* sp. Sect. Longibrachiatum sect. Canadian Journal of Botany ,Morden, 69 (1): 924-931.
- Bissett, J. 1992[1969]: A revision of the genus *Trichoderma*. Section Pachybasium. *Canadian Journal of Botany*, 69(11): 2373-2417.
- Costa, A.S. 1993. *Pré-tratamento biológico de cavacos industriais de eucalipto para produção de celulose Kraft*. Dissertação de Mestrado em Ciência Florestal. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 115p.
- Coelho, N.S. Jesus, M.A.; Cortez, A.C. 2007. *Recuperação do acervo de culturas de fungos Lignocelulolíticos*. XV Jornada de Iniciação Científica do PIBIC/CNPq/FAPEAM/INPA. 359-360pp.
- Esposito, E.; Silva, M. 1998. Systematics and environmental application of the genus *Trichoderma*. *Critical Reviews In Microbiology*, 24(2): 89-98.
- Lopes. C. 2012. *Caracterização Molecular, Filogenética e enzimática de isolados de Trichoderma spp.* 28p. Dissertação. Universidade Federal de Goiás UFG, Instituto de Ciências Biológicas Programa de Pós-Graduação em Biologia.
- Hawksworth, P.W.; Kirk, P.M.; Sutton, B.C.; Pegler, D.N. 1995. *Dictionary of the fungi*. 8 ed. CAB International, Surrey, UK. 616 p Hawksworth, P.W.; Kirk, P.M.; Sutton, B.C.; Pegler, D.N. 1995. *Dictionary of the fungi*. 8 ed. CAB International, Surrey, UK. 616 p.
- Gressel, J.B.; Hatmann. K.M.1968 Morphogenesis in trichoderma. Action spectrum of photoinduced sporulation. *Planta*, 79: 271-274.
- Samuels. G.J. 1996. *Trichoderma* a review of biology and sistematics of the genus. *Mycological Research*, 100(8): 923-935.
- Samson, R.A. 1974. *Trichoderma* and some allied *Hyphomycetes*. *Studies in Mycology*, 6: 1-119.
- Silva, I.F.; Pizzarani-Kleiner, A.A. 1999. Caracterização genética por RAPD de combinantes em *Trichoderma pseudokonnigi*. *Summa Phytophatologica*, 25: 233-239.