

SELEÇÃO DE *Trichoderma* spp. VISANDO AO CONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum*, *in vitro*

SELECTION OF *Trichoderma* spp. SEEKING THE CONTROL OF *Sclerotinia sclerotiorum*, *in vitro*

Luciana Zago Ethur¹ Cláudia Zago Cembranel² Antonio Carlos Ferreira da Silva³

- NOTA -

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo selecionar isolados de *Trichoderma* spp. com potencial de antagonismo sobre o fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum*, *in vitro*. Foram utilizados doze isolados de *Trichoderma* spp. e três isolados de *S. sclerotiorum* nas técnicas "papel celofane - modificada" e "confrontação direta". Com o desenvolvimento das técnicas *in vitro*, foram selecionados os isolados TSM1, J10 e II de *Trichoderma* spp. com melhor atividade antagonista, sobre os isolados de *S. sclerotiorum*.

Palavras-chave: fitopatógeno, *Trichoderma* spp., antagonismo, mofo branco.

SUMMARY

The objective of this work was to select isolates of *Trichoderma* spp. with potential of antagonism against *Sclerotinia sclerotiorum*, *in vitro*. Twelve isolates of *Trichoderma* spp. and three isolates of *S. sclerotiorum* were used in the techniques "cling film - modified" and "direct confrontation". Based on the technique *in vitro* the isolates TSM1, J10 and II of *Trichoderma* spp. were selected with better antagonistic activity, on the isolates of *S. sclerotiorum*.

Key words: plant pathogens, *Trichoderma* spp., antagonistic, white mold.

Sclerotinia sclerotiorum é um fungo habitante de solo que causa a doença conhecida como mofo branco e cujos sintomas se caracterizam

pela podridão úmida coberta por um micélio branco algodonoso na superfície do solo e/ou tecido hospedeiro produzindo eventualmente estruturas de resistência denominadas escleródios (CARDOSO, 1990).

Trichoderma spp. é um promissor agente de biocontrole. Segundo MELO (1998) *Trichoderma* spp. é um fungo natural do solo encontrado especialmente em solos orgânicos, que pode viver saprofiticamente ou parasitando outros fungos. O presente trabalho visou selecionar isolados de *Trichoderma* spp. com potencial de antagonismo sobre o fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum*, *in vitro*.

Foram utilizados doze isolados de *Trichoderma* spp. (2B1, 2B2, 2B6 e 2B22 de São Paulo - SP; C1, II, J8, J9, J10, TSM1 e TSM2 de Santa Maria - RS; TW5 do CNPSO/EMBRAPA) e três isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* (S1 – tomateiro, S2 – alface e S3 – fumo de Santa Maria - RS).

A técnica do papel celofane realizada por HOMECHIN (1986) REIS *et al.* (1995) e DURMAN *et al.* (1999) foi modificada quanto à inoculação do patógeno, alterando-se o local e o número de discos do patógeno. Ao invés de se colocar um disco de micélio do patógeno no centro

¹ Biólogo, Especialista em Biologia – Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

² Especializando - Curso de Especialização em Biologia, UFSM.

³ Engenheiro Agrônomo, Professor, Doutor do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, UFSM, 97105-900, Santa Maria-RS. E-mail: acfsilva@ccne.ufsm.br. Autor para correspondência.

da placa, foram colocados dois discos em bordas opostas. Cada tratamento teve quatro repetições. A inibição do crescimento micelial do patógeno foi medida (cm) de acordo com o espaço existente entre as duas colônias de *S. sclerotiorum*.

Neste experimento verificou-se a liberação de metabólitos (não-voláteis) pelos isolados de *Trichoderma* spp, devido a coloração (escura) diferenciada existente no meio de cultura e os diferentes graus de inibição quanto ao crescimento micelial de *S. sclerotiorum* comparados com o controle (Tabela 1). A produção de metabólitos por *Trichoderma* foi evidenciada em trabalhos de BELL *et al.* (1982), REIS *et al.* (1995), APARECIDO & FIGUEIREDO (1999) e DURMAN *et al.* (1999).

Os isolados de *Trichoderma* spp. que apresentaram maior antagonismo por antibiose ao *S. sclerotiorum* isolado de tomateiro, alface e fumo, foram: TSM1 (94% de inibição), J10 (93%) e I1 (86%). Segundo MELO (1998) muitas espécies de *Trichoderma* já estudadas possuem a capacidade de produzir metabólitos tóxicos, tais como antibióticos e enzimas líticas capazes de inibir propágulos de fungos fitopatogênicos.

Na técnica da confrontação direta foram utilizados os isolados I1, J10 e TSM1 de *Trichoderma* spp (selecionados na técnica anterior)

e os três isolados de *S. sclerotiorum*. Cada tratamento teve quatro repetições e o delineamento experimental foi em blocos casualizados.

As avaliações foram baseadas no critério de BELL *et al.* (1982), no qual se utilizou uma escala de notas variando de 1 a 5, na qual em 1 – *Trichoderma* cresce e toma toda placa e 5 – O patógeno cresce e toma toda placa.

Os três isolados de *Trichoderma* cresceram sobre o patógeno, sendo que não ocorreram diferenças significativas nas médias das notas entre os isolados TSM1 e I1 (ambos cresceram e tomaram menos de dois terços da placa), mas foram constatadas diferenças quando comparados ao isolado J10 (cresceu e tomou mais de dois terços da placa). O confronto direto entre o patógeno e o antagonista evidenciou que os três isolados de *Trichoderma* se utilizam de outras formas de antagonismo além da antibiose. De acordo com MELO (1998) a ação de *Trichoderma* se dá através da associação ou não dos mecanismos de parasitismo, antibiose e competição.

Ocorreu o aparecimento de uma halo (coloração escura) ao longo da linha de contato entre as colônias do antagonista e do patógeno sendo que este fato também foi observado por BELL *et al.* (1982) e DURMAN *et al.* (1999). Os escleródios formados foram colonizados pelos isolados de *Trichoderma* spp. pois estes se tornaram "moles", perdendo sua consistência característica. MELO (1991) comenta que o fungo *Trichoderma* tem sido encontrado parasitando escleródios, e que estes são estruturas resistentes ao parasitismo.

Tabela 1 - Antagonismo, *in vitro*, de isolados de *Trichoderma* spp. aos isolados de *S. sclerotiorum* - tomateiro (S1), alface (S2) e fumo (S3). Santa Maria – RS, 1999.

ISOLADO	Distância (cm) entre as bordas de duas colônias de isolados de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ¹		
	S1	S2	S3
I1	5,92a*	4,91a	4,59a
J10	5,82a	5,79a	5,14a
TSM1	5,74a	5,99a	5,24a
2B22	3,41 b	1,17 cd	2,18 b
TSM2	2,80 bc	1,16 cd	4,52a
J8	2,68 bcd	0,78 cd	0,00 c
2B6	2,60 bcd	0,12 d	0,00 c
J9	2,41 bcd	1,11 cd	0,88 bc
TW5	2,11 bcd	1,54 c	0,31 c
2B1	2,03 bcd	0,91 cd	0,19 c
C1	1,17 cde	4,05ab	0,75 bc
2B2	1,05 de	2,16 bc	0,19 c
CONTROLE	0,00 e	0,00 d	0,00 c

¹ As colônias desenvolveram-se a partir de dois discos de inóculo, colocados em direção oposta, nas bordas das placas com meio BDA.

* Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si (Teste de Tukey - 5%).
CV= 11,979%

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APARECIDO, C.C., FIGUEIREDO, M.B. Antagonismo de *Trichoderma viride* a diferentes fungos fitopatogênicos. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 22, 1999, Jaboticabal, SP. *Anais...* Jaboticabal : Grupo Paulista de Fitopatologia, 1999.
- 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.
- CARDOSO, J.E. **Doenças do feijoeiro causadas por patógenos de solo.** Goiânia : EMBRAPA-CNPAP, 1990. 30p. (EMBRAPA-CNPAP. Documentos, 30).
- CARRASCO, A. Nuevos hospedantes de *Sclerotinia sclerotiorum*, agente causal del moho blanco. *Rev. Fitopatología Venezolana*, v.10, n.1, p.17-18, 1997.

- DURMAN, S., MENENDEZ, A., GODEAS, A. Evaluación de *Trichoderma* spp. como antagonista de *Rhizoctonia solani in vitro* y como biocontrolador del damping-off de plantas de tomate en invernadero. **Revista Argentina de Microbiología**, v.31, p.13-18, 1999.
- HOMECHIN, M.. Produção e liberação de substâncias inibidoras do crescimento de patógenos, por *Trichoderma harzianum*, em meio de BDA. In: REUNIÃO SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS. 1, 1986, Piracicaba, SP. **Anais...** Piracicaba : Fundação Cargill, 1986.
- MELO, I.S. de. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL,W. (org.) **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna : EMBRAPA-CNPDA, 1991. Cap. 9. 388p. (EMBRAPA-CNPDA. Documentos,15). Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I.S., AZEVEDO, J.L. **Controle biológico**. Jaguariúna : EMBRAPA, 1998. V.1. Cap.1. 262p.
- REIS, A., OLIVEIRA, S.M.A. de, MENEZES, M. *et al.* Potencial de isolados de *Trichoderma* para biocontrole da murcha de *Fusarium* do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.21, n.1, p.16-20, 1995.