

Seleção de *Trichoderma* spp. visando o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*, in vitro.

Renata Silva BRANDÃO¹, Cirano José ULHOA¹ e Murillo Lobo JUNIOR².

¹Laboratório de Enzimologia, ICB, UFG, Goiânia-GO

²Embrapa Arroz e Feijão

brandaobio@hotmail.com

Palavras-Chave: Controle biológico; Doenças Fúngicas; Fitopatógenos.

INTRODUÇÃO

O fungo *Trichoderma* sp. Corresponde a fase anamórfica do gênero *Hypocrea* sp. que pertence ao filo Ascomycota (Agrios, 1997). As espécies de *Trichoderma* geralmente são encontradas como componentes da microbiota em quase todos os tipos de solos, especialmente os orgânicos, incluindo a cama de húmus das florestas, solos agrícolas e pomares podem viver saprofiticamente ou parasitando outros fungos (Roiger et al., 1991). Utilizados como agente de controle biológico de doenças, devido a facilidade em sobreviver no solo, e por parasitar outros fungos ou viver saprofiticamente, atua como micoparasita necrotrófico eficaz no controle de muitos fungos fitopatogênicos, principalmente os que têm estruturas de resistência que dificultam o ataque por outros microrganismos (Melo 1998).

A tradicional classificação e identificação de espécies no gênero *Fusarium* é baseada em características morfológicas como: morfologia da colônia de cultura monospórica de isolados em meios de cultura específicos, pigmentação e taxa de crescimento (Trhane 1990). Esta espécie provoca o tombamento de plantas em pré e pós emergência bem como a podridão radicular no feijoeiro e em outras culturas como a soja.

Foi constatado que esse patógeno sobrevive cerca de 30 anos em solos cultivados com espécies não hospedeiras. O fungo pode ser disseminado no vento, água, implementos agrícolas, através de partículas do solo e restos de culturas infestados e sementes contaminadas fazem a disseminação do patógeno a longa

distância (Bianchini *et al* 1997).

O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* é causador de diversas doenças em diferentes culturas, como podridão mole, mofo branco, tombamento pré-emergente e pós-emergente de plantas. Estima-se que cerca de 300 espécies vegetais são suscetíveis a *S. sclerotiorum*, a exemplo do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) e da soja (*Glycine max*), ambas de grande importância econômica.

O fungo possui, ainda, ampla gama de hospedeiros, apresentando estruturas de resistência para preservação da espécie. Essas estruturas são os escleródios, os quais podem persistir em várias camadas do solo.

Desta forma, o presente estudo teve como objetivo selecionar isolados de *Trichoderma* spp. quanto à sua capacidade de produzir metabólitos voláteis, competir e inibir o crescimento de *Fusarium solani* e *S. sclerotiorum* "in vitro", para posteriormente, serem empregados em testes de casa de vegetação e de campo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para o experimento foram utilizados vinte isolados do gênero *Trichoderma* e isolados de *F. solani* e *S. sclerotiorum* que pertencem a Coleção de Fungos para Controle Biológico de Fitopatógenos da Embrapa Arroz e Feijão. Os testes de metabólitos voláteis e pareamento foram realizados na Universidade Federal de Goiás no laboratório de enzimologia.

A verificação do antagonismo dos isolados de *Trichoderma* contra os patógenos foi realizada utilizando-se a metodologia de cultura pareada descrita por (Dennis & Webster 1971). Os testes de metabólitos voláteis foi baseado no método de Bharat et al. (1980). Como testemunhas, utilizaram-se placas inoculadas unicamente com o patógeno. O delineamento foi inteiramente ao acaso, com três repetições, onde as placas foram distribuídas em câmara de incubação a 25°C, no escuro, a leitura do material foi feita após as testemunhas terem crescido em toda placa. As avaliações consistiram nas medições do diâmetro das colônias do patógeno com régua milimétrica para o teste de metabólitos voláteis e agrupamento dos isolados em classes, de acordo com escala descrita por Bell et al. (1982) para o teste de confronto. Os dados foram submetidos à análise de variância e de comparação de médias pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,01$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos resultados obtidos no cultivo pareado os isolados 29/11 e 346/02 proporcionou a maior redução do crescimento de colônia do patógeno *S. sclerotiorum* e os isolados 492/02, 330/02, 301/01, 11/02 e 05/05 para o patógeno *F. solani*, para os quais foram atribuídos nota 1, nas médias de todos os resultados seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,01$) (tabela 1).

O antagonismo *in vitro* é utilizado apenas para seleção de candidatos a agentes de biocontrole (BELL et al., 1982), pois, nem todos aqueles que apresentam efeitos inibitórios *in vitro* conseguem exercer o mecanismo de antagonismo *in vivo*. Reis et al. (1995) selecionaram três isolados de *Trichoderma* classificados como muito eficientes, no pareamento, *in vitro* contra *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli de feijoeiro sendo que apenas um foi eficiente no controle do patógeno, em tratamentos de sementes.

Quanto a produção de metabólitos voláteis, os isolados que apresentaram os melhores resultados para inibir o crescimento de *S.sclerotiorum* foram: 11/06, 484/01, 87/01, 11/09 e 11/11 e para *F. solani* foram: 483/01, 303/02, 494/01, 364/01, 5T/02, 397/01 e 468/02 (Tabela1). De fato, a capacidade para produzir metabólitos tóxicos com efeito fungicida ou fungistático pode variar entre isolados da mesma espécie (Martins-Corder & Melo, 1998).

Vale ressaltar que os metabólitos encontrados sob condições controladas podem se distinguir funcional e quantitativamente daqueles presentes em campo, devido a diversos fatores: variação das condições abióticas, como temperatura e umidade; condições nutricionais; e, adsorção das moléculas por partículas do solo. Além disso, a ação antagonista pode resultar do efeito sinergista resultante de dois ou mais mecanismos agindo simultaneamente. Assim, faz-se necessário avaliar os isolados em casa de vegetação e campo para verificar a efetividade do controle verificado *in vitro*.

Tabela 1: Classificação de *Trichoderma spp.* de acordo com teste de metabólitos voláteis e pareamento.

Tratamentos	Metabólitos Voláteis		Pareamento	
	<i>S. sclerotiorum</i>	<i>F. Solani</i>	<i>S. sclerotiorum</i>	<i>F. Solani</i>
02/01	7 b	6,2 b	1,6 b	4 a
05/05	9,3 a	6,1 b	2 b	1 e
11/02	7,5 b	6,1 b	3,3 a	1 e
11/06	5,9 c	5,8 b	2 b	4 a
11/09	4,5 c	6 b	1,3 c	2 d
11/11	4,4 c	6,1 b	1,3 c	2,3 c
15/05	7,1 b	5,8 b	1,6 b	2,3 c
29/11	6,8 b	6,6 a	1 c	2,3 c
301/01	9,3 a	7 a	2 b	1 e
303/02	7,9 b	3,4 c	1,6 b	2 d
330/02	7,5 b	5,5 b	2 b	1 e
346/02	7,4 b	6,8 a	1 c	2,3 c
364/01	7,9 b	3,3 c	2 b	2,6 b
397/01	7,36 b	3 d	3 a	3 b
468/02	7,5 b	2,6 d	2 b	1,6 d
483/01	7,8 b	3,7 c	2 b	1,6 d
484/01	5,3 c	6,8 a	3 a	4 a
492/02	7,5 b	7,2 a	2 b	1 e
494/01	7,8 b	3,3 c	2 b	3 b
5T/02	8 b	3 d	3 a	3,6 a
87/01	5,1 c	6,1 b	1,6 b	3 b
Coef. de Variação (%)	12,94567874	6,962432542	21,53323013	15,22427094

* Valores seguidos pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente, segundo o teste de Scott-Knott ($P \leq 0,01$).

CONCLUSÕES

Nenhum dos isolados apresentaram resultados eficientes para ambos os testes e patógenos ao mesmo tempo.

Os isolados de *Trichoderma spp.* são produtores de antibióticos voláteis, que inibem o desenvolvimento colonial de *S. sclerotiorum* e *F. solani*.

Diante dos resultados obtidos no presente estudo, evidenciou-se a necessidade de testar esses isolados de *Trichoderma spp.* em condições de casa de vegetação e de campo, para comprovar seu potencial como agentes de biocontrole.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G.N. Plant Pathology. 4 ed. Academia Press: san Diego, 635 p. 1997.

BELL, D.K; WELLS, H.D; MARKHAM, C.R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, v. 72, p. 379-382, 1982.

BIANCHINI A, A. C. MARINGONI & S. M. T. P. G. CARNEIRO. Doenças do feijoeiro. p. 376-399. In H. Kimati, L. Amorim, A. Bergamin Filho, L. E. A. Camargo & J. A. M. Rezende. (Ed.). Manual da Fitopatologia 2. Agronômica Ceres. São Paulo, SP. 774 p.1997.

DENNIS C, WEBSTER J (1971) Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*, III Hyphal interactions. **Transactions British Mycological Society** 57:363-369, 1971

DUBEY SC, SURESH M, SINGH. Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* for integrated management of chickpea wilt. *Biological Control* 40:118-127.2007.

MARTINS-CORDER MP, Melo IS. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. a *Verticillium dahliae* Kleb. **Scientia Agricola** 55:1-7. 1998.

MELO, I.S., Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I.S. de .; AZEVEDO, J. L. **Controle Biológico. Jaguariúna**: EMBRAPA, 1998.

MOHAMED, H.A.L.A. & HAGGAG, W.M. Biocontrol potential of salinity tolerant mutants of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum*. **Braz. J. Microbiol.** 37(2):181-191.2006.

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**, v.21, p.16-20, 1995.

ROIGER, T. C.; JEFFERS S. N.; CALDWELL, R.W. Occurrence of *Trichoderma* species in apple orchard and woodland soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Britain, v. 43, n4, p. 353-359, 1991.

THRANE U. Grouping *Fusarium* section *Discolor* isolates by statistical analysis of quantitative high performance liquid chromatographic data on secondary metabolite production. **Journal Microbiologic Methods**. 12: P.23-39. 1990.