

SELEÇÃO DE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. PARA O CONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum*, AGENTE CAUSAL DO MOFO-BRANCO DO FEIJOEIRO

MARCELO AUGUSTO BOECHAT MORANDI<sup>1</sup>; ALAN WILLIAM VILELA POMELLA<sup>2</sup>, ELEN RIBEIRO DOS SANTOS<sup>1</sup>; MARIANA FERNANDES<sup>1</sup>; LETÍCIA ÉRICA CAOVILO<sup>1</sup>; ANA OLÍVIA FERNANDES<sup>1</sup>

RESUMO

O mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) é uma das doenças mais destrutiva do feijoeiro nos plantios de outono-inverno, quando os dias são mais curtos e as temperaturas amenas (15-25°C). O controle químico é caro e, como medida isolada, pode ter eficiência baixa. Várias espécies de *Trichoderma* são antagonistas ou parasitas de escleródios do patógeno no solo. Porém, os isolados mais utilizados como agentes de biocontrole são favorecido por temperaturas acima de 25°C. O uso desses agentes em áreas e/ou épocas de temperaturas amenas pode ser pouco eficiente. Objetivou-se selecionar isolados de *Trichoderma* spp. eficientes em inibir a germinação e parasitar escleródios do patógeno em temperaturas amenas. Vinte isolados do antagonista foram avaliados. Escleródios foram enterrados no solo em vasos e foram aplicados os tratamentos: testemunha; isolados de *Trichoderma* spp. (10<sup>7</sup> conídios/mL e volume de calda de 300 L/ha) e Cerconil (dose recomendada). Após cinco dias a 22±2°C, os escleródios foram recuperados e transferidos para discos de cenoura sobre ágar-água. Avaliaram-se o número de escleródios germinados e o número de escleródios parasitados após 10 dias. O ensaio foi conduzido duas vezes em delineamento inteiramente ao acaso com sete repetições. Os isolados ALF111 e ALF409 consistentemente inibiram a germinação e parasitaram mais de 80% dos escleródios. Além destes, os isolados ALF02, ALF57, ALF324 e ALF402 se destacaram. O isolado 172H inibiu a germinação, porém não foi capaz de parasitar os escleródios, o que sugere a ocorrência de outros mecanismos de ação, como antibiose. Concluiu-se que os isolados selecionados são candidatos potenciais para o controle do mofo-branco em cultivos de outono-inverno.

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris* L., mofo-branco, controle biológico

<sup>1</sup> EMBRAPA Meio Ambiente, Rod. SP 340, Km 127, 5 – Caixa Postal 69, 13820-000, Jaguariúna (SP), E-mail: [mmorandi@cnpma.embrapa.br](mailto:mmorandi@cnpma.embrapa.br)

<sup>2</sup> Sementes Farroupilha, Rua Major Gote, 585 - 8º andar Centro; Caixa Postal 90, 38702-054, Patos de Minas (MG), E-mail: [sfarroupilha39@terra.com.br](mailto:sfarroupilha39@terra.com.br)

## ABSTRACT

### SELECTION OF *Trichoderma* spp. ISOLATES TO CONTROL *Sclerotinia sclerotiorum*, CAUSAL AGENT OF BEAN WHITE MOLD

Bean white mold is a destructive disease on autumn-winter crops, when daylight length is short and the temperatures vary from 15 to 25°C. Chemical control is expensive and can be poorly efficient when applied alone. Several *Trichoderma* species are natural antagonists to *S. sclerotiorum* sclerotia in soil. However, in general the development of the isolates applied as biocontrol agents is favoured by temperatures above 25°C. In this case, the use of these isolates on autumn-winter crops can be not efficient. The objective of this work was to select *Trichoderma* spp. isolates able to parasitize the pathogen sclerotia in lower temperatures. Twenty isolates were evaluated. Sclerotia were buried on soil and the following treatments were applied: check; *Trichoderma* spp. isolates (300 L/ha suspension volume at  $10^7$  conidia/mL); and, fungicide (Cerconil, recommended dose). After five days at  $22\pm 2^\circ\text{C}$ , the sclerotia were removed from soil and transferred to carrot slices over water-agar medium. The number of germinated and parasitized sclerotia was accessed after 10 days. The experiment was conducted twice in a completely randomized designed with seven replications. The isolates ALF111 and ALF409 consistently inhibited the germination and parasitized more than 80% of the sclerotia. Beside these, the isolates ALF02, ALF57, ALF324 and ALF402 were efficient too. The isolate 172H inhibited significantly germination, but it was not capable to parasitize the sclerotia, which suggests that other biocontrol mechanisms, such as antibiosis, are involved. It was concluded that the selected isolates are potential biocontrol agents against the bean white mold on autumn-winter crops.

**Key words:** *Phaseolus vulgaris* L., white-mold, biological control

## 1. INTRODUÇÃO

O mofo-branco, causado por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, é uma das doenças mais destrutiva do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), especialmente nos plantios irrigados de outono-inverno, quando os dias são mais curtos e as temperaturas amenas (15-25°C). A doença é mais prejudicial quando há crescimento vegetativo abundante, pouco arejamento e penetração da luz, drenagem do solo insuficiente e rotações de cultura inadequadas (Paula Jr. e Zambolim, 2006).

O controle químico é caro, os riscos de contaminação do ambiente são altos e, como medida isolada, pode ter eficiência baixa. Além das práticas culturais, o uso de agentes de biocontrole (ACB) pode contribuir para a redução do inóculo do patógeno no solo. A presença de microrganismos antagônicos no solo afeta a sobrevivência dos escleródios de *S. sclerotiorum* e reduz paulatinamente o potencial de inóculo. Mais de 30 espécies de fungos e bactérias são relatadas como antagonistas ou parasitas do patógeno (Whipps e Budge, 1990). Entre estes destacam-se várias espécies de

*Trichoderma*. O antagonista se associa aos escleródios, causa sua degradação ou impede-os de germinar. A sobrevivência do patógeno nas áreas irrigadas do cerrado foi reduzida pela presença de isolados de *Trichoderma* sp. associados aos escleródios (Arancibia et al., 2001). Espécies de *Trichoderma* prevalecem em ambientes úmidos e podem ser isoladas de todas as zonas climáticas (Klein e Everleigh, 1998). O desenvolvimento das espécies de *Trichoderma* mais utilizadas como ACB é favorecido por temperaturas acima de 25°C. O uso desses agentes em áreas e/ou épocas de temperaturas amenas pode ser pouco eficiente (Bernardes, 2006). O objetivo deste trabalho foi selecionar isolados de *Trichoderma* spp. eficientes em reduzir a viabilidade de escleródios do patógeno no solo em temperaturas amenas, semelhantes às condições climáticas do cultivo de outono-inverno.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Solo livre de escleródios de *S. sclerotiorum* foi desinfestado em coletor solar e distribuído em vasos de 250 mL. Em cada vaso foram depositados cinco escleródios do patógeno, produzidos assepticamente em meio de cenoura e fubá, e cobertos com 0,5 cm do mesmo solo. Os tratamentos aplicados foram: testemunha (água destilada esterilizada, ADE); 20 isolados de *Trichoderma* spp. ( $10^7$  conídios/mL e volume de calda de 300 L/ha) e Cerconil (dose recomendada).

Os vasos foram cobertos por filme plástico transparente, mantidos a  $22\pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12 h em câmara de crescimento por cinco dias. Após o período, os escleródios foram recuperados, limpos com pincel e ADE e depositados sobre discos de cenoura previamente desinfestados (álcool 70% por 3 min., hipoclorito de sódio 1% por 3 min., lavados em ADE + cloranfenicol e secos ao ar em câmara de fluxo laminar) em placas de petri contendo ágar-água. As placas contendo cinco discos de cenoura e cinco escleródios cada (= uma repetição) foram mantidas nas mesmas condições descritas.

A avaliação foi feita pela observação do crescimento fúngico sobre os escleródios e os discos de cenoura, com o auxílio de microscópio estereoscópico, a cada dois dias, até o 10º dia. Foram anotados o número de escleródios germinados e o número de escleródios parasitados (com crescimento do antagonista em sua superfície). Os escleródios não germinados após as cinco avaliações foram transferidos para BDA e incubados nas mesmas condições por cinco dias. A avaliação, neste caso, se deu pela presença de colônias dos antagonistas crescendo sobre e/ou ao redor dos escleródios. Foram calculadas as porcentagens de inibição de germinação e de parasitismo de escleródios e a área abaixo da curva de germinação de escleródios (AACG). Os tratamentos foram comparados pelo teste pLSD ( $p=0,05$ ). O ensaio foi repetido em delineamento inteiramente ao acaso, com sete repetições cada.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O gênero *Trichoderma* apresenta grande variabilidade genética, sendo possível encontrar isolados com características morfológicas e fisiológicas bastante distintas (Klein e Everleigh, 1998). Esta variabilidade permite selecionar isolados com características específicas para uma condição desejada. Neste trabalho, apesar do número relativamente pequeno de isolados de *Trichoderma* spp. avaliados (20 isolados), houve diferença significativa entre eles em relação à capacidade de inibir a germinação e parasitar escleródios de *S. sclerotiorum* em condições de temperatura amena (Figura 1).

Os isolados ALF111 e ALF409 foram consistentemente superiores à testemunha e ao tratamento com fungicida (Cerconil) em todas os critérios de avaliação. Os isolados inibiram a germinação e parasitaram mais de 80% dos escleródios. Além destes, os isolados ALF02, ALF57, ALF324, ALF402 e 172H se destacaram e foram significativamente superiores à testemunha em pelo menos dois critérios de avaliação. O isolado 172H inibiu a germinação, porém não foi capaz de parasitar os escleródios, o que sugere a atuação de outros mecanismos de ação, como a antibiose.

### 4. CONCLUSÕES

Os isolados de *Trichoderma* spp. avaliados diferiram quanto à capacidade de inibir a germinação e parasitar escleródios de *S. sclerotiorum* em temperatura amenas ( $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ ). Os isolados ALF 111 e ALF 409 foram consistentemente eficientes em parasitar os escleródios do patógeno e são candidatos potenciais para o controle do mofo-branco do feijoeiro em cultivos de outono-inverno.

### REFERÊNCIAS

- ARANCIBIA, R.C.; NASSER, L.C.B.; GOMES, A.C.; NAPOLEÃO, R. Density, viability and frequency of fungi associated to sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* in irrigated areas of the cerrado (savanna) region of Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 338-339, 2001.
- BERNARDES, A. **Intensidade do mofo-branco do feijoeiro em função da densidade de plantio e da aplicação de *Trichoderma* spp.** 2006. 40 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitopatologia, Viçosa, MG.
- KLEIN, D.; EVERLEIGH, D. E. Ecology of *Trichoderma*. In: KUBICEK, C. P.; HARMAN, G. E. (Ed.). ***Trichoderma & Gliocladium: enzymes, biological control and commercial applications.*** London: Taylor & Francis, 1998. v. 1, p. 57-74.
- PAULA JÚNIOR, T. J.; ZAMBOLIM, L. Doenças. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão.** Viçosa: Editora UFV, 2006. p. 359-414.
- WHIPPS, J. M.; BUDGE, S. P. Screening for sclerotia mycoparasites of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Mycological Research**, Cambridge, Inglaterra, v. 94, p. 607-612, 1990.