

# CONTROLE BIOLÓGICO DE *Sclerotinia sclerotiorum* POR *Coniothyrium minitans*: ENSAIOS PRELIMINARES

CARLOS E. O. DA SILVA<sup>1</sup>; MARCELO A. B. MORANDI<sup>2</sup>

Nº 0902003

## Resumo

O mofo-branco ou podridão de esclerotinia, causada por *Sclerotinia sclerotiorum*, é uma doença de grande importância agrônômica, devido ao fato de ser de difícil controle e provocar grandes perdas à cultura atacada. O feijão sofre consideráveis estragos por ser altamente susceptível à doença. Em condições de safra outono-inverno e de alta umidade proporcionada por irrigação, o patógeno se espalha com extrema facilidade. O patógeno produz estruturas de resistência, denominados escleródios, que podem durar muitos anos no solo. Uma das alternativas propostas para o manejo da doença é o controle biológico, pela utilização de parasitas de escleródios e apotécios. Entre estes, o fungo *Coniothyrium minitans* é amplamente estudados em países do hemisfério norte. O presente trabalho teve como objetivo verificar preliminarmente a capacidade de isolados de *C. minitans* como agente de biocontrole de *S. sclerotiorum* em biotestes em laboratório. Nas condições dos testes, verificou-se que os isolados avaliados promoveram apenas ligeira redução na viabilidade dos escleródios e apotécios e foram altamente sensíveis ao principal fungicida utilizado no controle da doença. Novos testes deverão ser realizados para verificar o potencial de *C. minitans* contra o patógeno.

*Palavras – chave: Mofo-branco, Coniothyrium minitans, controle biológico.*

## Abstract

The white-mold (*Sclerotinia sclerotiorum*) is a disease of great agronomic importance, since it causes severe losses in several crops. The common bean suffers considerable losses to be highly susceptible to the disease, chiefly in irrigated winter crops when the temperature is lower. One of the alternatives proposed to manage the disease is the use of antagonists that reduce the viability of the resistance structures (sclerotia) of the pathogen. Among these antagonists, *Coniothyrium minitans* is one of the most studied around world. The objective of the present work was to conduct a preliminary selection of isolates of *C. minitans* against *S. sclerotiorum* in controlled conditions. The isolates

<sup>1</sup> Bolsista CNPq; Graduação em Ciências Biológicas, UNIPINHAL, Espírito Santo do Pinhal –SP.

<sup>2</sup> Orientador: Pesquisador, Embrapa Meio Ambiente, Lab. De Quarentena "Costa Lima", Jaguariúna – SP. e-mail: paraphuso@hotmail.com

evaluated affected only marginally the viability of the sclerotia and all isolates were inhibited by the fungicide fluazinan, normally used to control the disease. New studies will be conducted in order to evaluate the potential of the isolates of *C. minitans* against the pathogen.

*Keywords* – White-mold, *Coniothyrium minitans*, Biological Control.

## Introdução

O mofo-branco é uma das doenças mais severas da cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) ao redor do mundo, principalmente no cultivo efetuado sob temperaturas amenas e alta umidade relativa do solo. No Brasil. O período de principal ocorrência da doença abrange os meses de outono e inverno, onde as temperaturas são mais amenas. Plantios caracterizados por pouco arejamento e penetração de luz, torna a doença ainda mais prejudicial.

*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, agente causador do mofo-branco no feijoeiro, produz corpos de resistências, denominado escleródios. Tais escleródios apresentam dois tipos de germinação, a miceliogênica, produzindo hifas e a carpogênica, produzindo apotécios (fase sexual). No caso do crescimento carpogênico, o escleródio necessita de um tempo de adaptação no solo, e que quando germinado, cada apotécio pode liberar mais de dois milhões de ascósporos (PAULA JÚNIOR *et al.*, 2006).

O mofo-branco é uma doença de difícil controle, sendo favorecida em temperaturas amenas (15°C – 25°C), sendo estas temperaturas encontradas nos estados do centro-sul do país, abrangendo os meses de outono e de inverno.

O uso de fungicidas é indicado para o controle deste fitopatógeno, porém, apresentam uma eficácia duvidosa, pois não conseguem controlar a doença em condições de alta infestação (VIEIRA *et al.*, 2001)

Uma alternativa para o manejo da doença é a redução do potencial de inóculo na área pela ação de antagonistas que parasitam escleródios e apotécios. Entre estes destaca-se o fungo *Coniothyrium minitans*, considerado um habitante natural do solo, não exigente nutricionalmente, e que se desenvolvendo bem em meio de cultura. *C. minitans* é um excelente parasita de escleródios. As condições ambientais exercem grande influência no parasitismo ativo de *C. minitans*. A temperatura considerada ótima para a germinação dos esporos e destruição dos escleródios é de 20°C, com umidade relativa maior do que 95%. Temperatura menor que 7°C não é favorável para o crescimento de *C. minitans* e reduz a germinação dos esporos e a infecção de escleródios (PARTRIDGE *et al.*, 2006).

*C. minitans* é o antagonista que apresenta resultados mais promissores no controle do mofo-branco. Em experimentos realizados em países de temperatura mais amena, tem sido obtido controle eficiente (GERLAGH *et al.*, 1999), com redução da incidência da doença em feijoeiro, diminuição do número de escleródios no solo e aumento da produtividade. Esse antagonista é capaz de manter o potencial de inóculo de *S. sclerotiorum* no solo em níveis baixos, como decorrência de sua reprodução natural e da infecção de escleródios. Aplicações preventivas de *C. minitans* antes da ocorrência da doença podem constituir estratégia alternativa à aplicação preventiva de fungicidas, especialmente em culturas com alta densidade de plantas. Aplicações de suspensões de *C. minitans* sobre os restos de cultura contaminados com *S. sclerotiorum* podem reduzir a disseminação da doença; se em seguida esses restos forem incorporados ao solo, o antagonista pode contribuir para a destruição dos escleródios.

O presente trabalho teve como objetivo verificar preliminarmente a capacidade de sete isolados de *C. minitans* como agente de biocontrole de *S. sclerotiorum* em biotestes em laboratório.

#### **Material e Métodos**

Foram utilizados sete isolados de *C. minitans* (Cmi 01, Cmi 02, Cmi 05, Cmi 09, Cmi 12, Cmi 15 e Cmi 16) pertencentes à coleção de culturas da Embrapa Meio Ambiente.

Para avaliar a capacidade hiperparasítica dos isolados de *C. minitans* (Cmi 12, Cmi 15 e Cmi 16) sobre escleródios de *S. sclerotiorum* em solo, foram utilizados copos descartáveis contendo 180 mL de solo desinfestado em solarizador. Em cada copo foram adicionados cinco escleródios do patógeno e a seguir tratados com suspensão de esporos dos isolados do antagonista na concentração de  $10^7$  conídios por mL e volume equivalente de calda de 300L por hectare, ou com o fungicida fluazinan, na dose recomendada pelo fabricante. A testemunha foi tratada apenas com água destilada esterilizada. Cada tratamento teve sete repetições. Após aplicação dos tratamentos, os copos foram mantidos em câmara BOD a 20°C com fotoperíodo de 12 horas, por sete dias. Passado este tempo, os escleródios foram retirados dos copos com solo, lavados em água destilada esterilizada, e colocados em placas de Petri, contendo uma folha de feijão sobre meio água-ágar + cloranfenicol (antibiótico). As folhas de feijão foram previamente desinfestadas por três minutos em álcool 70%; três minutos em hipoclorito de sódio a 1% e lavadas em água + cloranfenicol por aproximadamente dez minutos. Os escleródios foram colocados sobre a folha de feijão, totalizando cinco escleródios por placa. Após esse procedimento, as placas

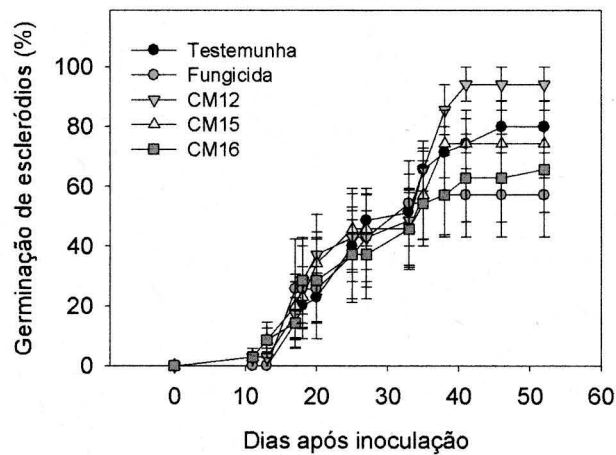
foram mantidas nas mesmas condições descritas anteriormente. As avaliações foram feitas observando a quantidade de escleródios germinados e também o crescimento de *C. minitans* sobre os escleródios até 52 dias após a inoculação (DAI).

Para avaliar a influência dos isolados de *C. minitans* na produção de apotécios de *S. sclerotiorum*, foram utilizados caixas do tipo Gerbox, contendo 250mL de solo desinfestado em solarizador. Em cada caixa, foram adicionados 12 escleródios do patógeno e tratados com suspensão de esporos dos isolados do antagonista (Cmi 01, Cmi 02, Cmi 05, Cmi 09, Cmi 12, Cmi 15 e Cmi 16) ou com fungicida, nas mesmas proporções do ensaio anterior. Após os tratamentos, as caixas foram mantidas em câmara BOD a 18°C por até 84 dias. Cada tratamento teve quatro repetições. As avaliações foram feitas pela contagem de apotécios surgidos no decorrer deste tempo.

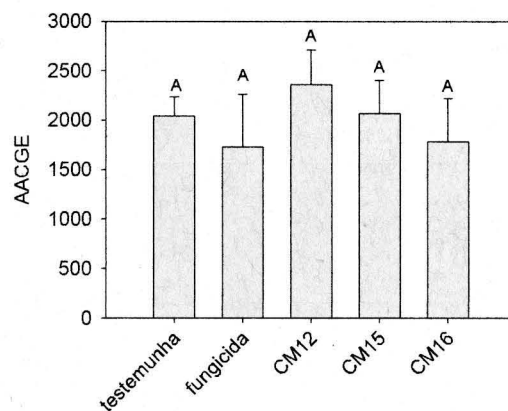
Avaliou-se, também, a compatibilidade dos isolados de *C. minitans* (Cmi 15, Cmi 12, Cmi 16 e Cmi 05) com o fungicida fluazinan. Para este ensaio, foi utilizado placas de Petri, contendo meio BDA adicionado com fungicida na dose recomendada; dose 25% maior do que a recomendada e dose 25% menor do que a recomendada. Após adicionado o produto no meio BDA, este foi vertido em placas de Petri. Após sua solidificação, foi colocado um disco de micélio contendo *C. minitans* no centro da placa. Feito isso, as placas foram mantidas a 20°C. As avaliações se deram pela medição do crescimento micelial do fungo, até que as testemunhas apresentassem crescimento em toda a placa.

## **Resultados e Discussão**

A curva de germinação de escleródios de *S. sclerotiorum* tratados (via solo) com isolados de *C. minitans* ou fungicida seguiu o mesmo padrão da testemunha (Figura 1). Verificou-se ligeira redução da velocidade de germinação nos tratamentos com o fungicida e com o isolado CM16. Entretanto, não foi observada diferença estatística entre os tratamentos, quando comparadas áreas abaixo da curva de germinação (AACGE) (Figura 2).

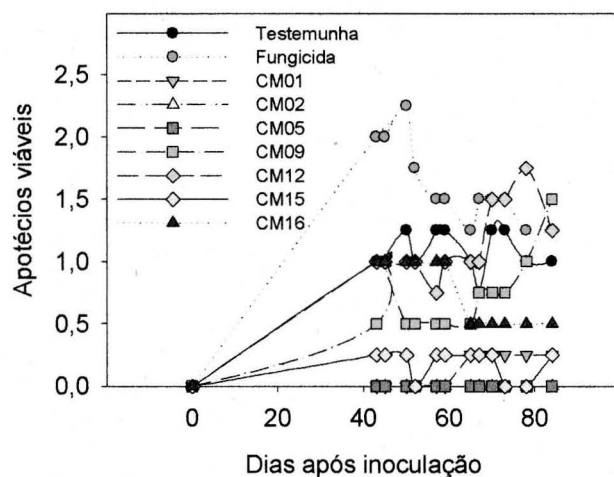


**Figura 1.** Curva de germinação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* sobre folhas de feijão. Os escleródios foram tratados no solo com diferentes isolados de *Coniothyrium minitans* ou com o fungicida fluazinan e aos sete dias transferidos para as folhas.



**Figura 2.** Área Abaixo da Curva de Germinação de Escleródios (AACGE) de *Sclerotinia sclerotiorum* sobre folhas de feijão. Os escleródios foram tratados no solo com diferentes isolados de *Coniothyrium minitans* ou com o fungicida fluazinan e aos sete dias transferidos para as folhas. Barras seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

Quando se avaliou a influência dos isolados de *C. minitans* na produção de apotécios de *S. sclerotiorum* no solo, verificou-se que os isolados Cmi 02 e Cmi 05, seguidos dos isolados Cmi 01 e Cmi 15 inibiram parcialmente a emissão de apotécios do partógeno, entretanto não diferiram da testemunha (Tukey a 5%) (Figura 3).



**Figura 3.** Emissão de apotécios de *Sclerotinia sclerotiorum* a partir de escleródios tratados no solo com diferentes isolados de *Coniothyrium minitans* ou com o fungicida fluazinan.

### Conclusão

Nas condições dos testes, verificou-se que os isolados avaliados promoveram apenas ligeira redução na viabilidade dos escleródios e apotécios e foram altamente sensíveis ao principal fungicida utilizado no controle da doença. Novos testes deverão ser realizados para verificar o potencial de *C. minitans* contra o patógeno

### Referências bibliográficas

GERLAGH, M.; VAN DE GEIJN, H.M.; FOKKEMA, N.J.; VEREIJKEN, P.F.G. Longterm biosanitation by application of *Coniothyrium minitans* on *Sclerotinia sclerotiorum* infected crops. *Phytopathology* 89:141-147, 1999.

PARTRIDGE, D.E., SUTTON, T.B., JORDAN, D.L. Effect of Environmental Factors and Pesticides on Mycoparasitism of *Sclerotinia minor* by *Coniothyrium minitans*. *Plant Disease*, 90:1407-1412, 2006.

PAULA JÚNIOR, T. J.; VIEIRA, R. F.; LOBO JÚNIOR, M.; MORANDI, M. A. B. ; CARNEIRO, J. E. S.; ZAMBOLIM, L. **Manejo Integrado do Mofo-Branco do Feijoeiro** - Guia Técnico. 1. ed. Viçosa: EPAMIG, 2006. 48 p.

VIEIRA, R. F.; JÚNIOR, T. J. P.; PERES, P. A.; MACHADO, J. C. Fungicidas aplicados via água de irrigação no controle do mofo-branco no feijoeiro e incidência do patógeno na semente. *Fitopatologia Brasileira*, 26: 770-773, 2001.