

## AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES NO PARASITISMO DE APOTÉCIOS DE *Sclerotinia sclerotiorum*

**GERALDINE**, Alaerson Maia<sup>1</sup>; **BRANDÃO**, Renata Silva<sup>2</sup>; **LOBO JUNIOR**, Murillo<sup>3,4</sup>

Palavras-chave: *Trichoderma* spp., controle biológico, *Sclerotinia sclerotiorum*.

### 1. INTRODUÇÃO

O biocontrole pode ser obtido através de práticas que favoreçam os antagonistas nativos ou por meio da introdução no solo de microrganismos selecionados e multiplicados em substrato. O seu sucesso depende das propriedades antagonistas e dos seus mecanismos de ação (BETTIOL, 1991). Os mecanismos das interações entre microrganismos patogênicos e antagonistas com a planta podem ser divididos em antibiose, competição, parasitismo, predação e indução de defesa do hospedeiro (MELO & AZEVEDO, 1998).

O parasitismo é uma relação antagônica onde um organismo (parasita) vive sobre ou dentro de outro organismo vivo (hospedeiro), obtendo seu alimento deste último. Esta é uma relação muito comum entre os fungos. Algumas espécies de *Trichoderma* spp. são micoparasitas eficazes no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos, principalmente daqueles com estruturas de resistência, consideradas difíceis de serem atacadas por outros microrganismos, como é o caso de *Sclerotinia sclerotiorum* e espécies de *Sclerotium*. (DALLA PRIA & REMUSKA, 2007).

*Sclerotinia sclerotiorum* é um fungo habitante do solo que causa a doença conhecida como mofo branco. Os esclerócios são estruturas de resistência deste fungo que, em condições favoráveis, podem germinar dando origem a apotécios (cogumelo em forma de taça) que, por sua vez, potencializa a disseminação da doença.

Para se promover o controle biológico de *S. sclerotiorum*, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de isolados de *Trichoderma* spp., em diferentes concentrações de conídios, no parasitismo de apotécios.

<sup>1</sup> Bolsista de iniciação científica. Embrapa Arroz e Feijão. (EAEA/UFG) [alaerson@agro.grad.ufg.br](mailto:alaerson@agro.grad.ufg.br)

<sup>2</sup> Embrapa Arroz e Feijão, Rodovia GO-462 km 12, S. Antônio de Goiás, GO. E-mail: [brandaobio@hotmail.com](mailto:brandaobio@hotmail.com)

<sup>3</sup> Embrapa Arroz e Feijão, Rodovia GO-462 km 12, S. Antônio de Goiás, GO. E-mail: [murillo@cnpaf.embrapa.br](mailto:murillo@cnpaf.embrapa.br)

<sup>4</sup> Revisado por Murillo Lobo Junior

## 2. METODOLOGIA

### 2.1 – Produção do inóculo (antagonista)

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Arroz e Feijão, localizada no município de Santo Antônio de Goiás (GO). Foram avaliadas as cepas 451/1, 34/1, 4/10, 303/2, 08/05, 12/9 e 455/1 de *Trichoderma* spp. Utilizou-se como referência para avaliação destes isolados uma cepa de uso comercial, isolada do fungicida biológico Ecotrich. Para a produção dos inóculos foram retirados discos de micélio (5 mm) de colônias com 7 dias de cultivo em meio BDA. Em seguida, estes foram transferidos para 15g de arroz parbolizado autoclavado previamente umedecido com água destilada (25 ml). Para a produção de conídios os frascos foram mantidos em câmara de crescimento a 25°C e fotoperíodo de 12 horas, durante cinco dias (Auler *et al.*, 2009).

### 2.2 – Preparação e aplicação

Em seguida, foram obtidas suspensões de conídios com três níveis de concentração, sendo eles  $2 \times 10^8$ ,  $2 \times 10^7$  e  $2 \times 10^6$  Ufc/ml, para todos os tratamentos. As suspensões foram aplicadas com auxílio de um atomizador ligado a uma bomba de vácuo, sobre escleródios dispostos em caixas gerbox (11 x 11 x 3,5cm). Cada caixa gerbox continha 250g solo não autoclavado, sobre as quais adicionou-se 25 escleródios, previamente desinfestados com álcool a 70 % e hipoclorito de sódio 1%.

As suspensões foram aplicadas em dosagens de acordo com recomendações já existentes no mercado (1 L/ha da suspensão de conídios diluído em 80 L de água). O experimento foi delineado com parcelas (isolados) subdivididas em três concentrações de conídios, com três repetições para cada isolado nas respectivas concentrações que, juntamente com as testemunhas (presença somente de *Sclerotinia sclerotiorum*), totalizaram 75 parcelas.

As caixas gerbox, após receberem os tratamentos, foram dispostas em ambiente controlado com temperatura a 25°C e fotoperíodo de 24 horas. O solo foi umedecido com 90 ml de água destilada, e mantido saturado durante todo o período visando o favorecimento da germinação carpogênica dos escleródios.

Após 50 dias, foram coletados 30 apotécios mortos por tratamento. Foram plaqueados 10 apotécios por placa de Petri (9,0 cm) contendo meio TSM, sendo cada placa uma repetição. As placas foram incubadas durante 72 horas a 25°C (+/-

2°C) e fotoperíodo de 12 horas. Os resultados foram obtidos através da contagem de apotécios parasitados por *Trichoderma* spp.

### 2.3 – Análise Estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância, com médias separadas pelo teste de Tukey e de Scott-Knott. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio dos softwares SAS e SASM-Agri.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste experimento, verificou-se que todos os isolados de *Trichoderma* spp. promoveram parasitismo de apotécios. Ocorreram diferenças significativas entre os isolados e entre as concentrações de conídios (Tabela 1), com interação entre ambos ( $p < 0,0001$ ). Os oito isolados de *Trichoderma* spp., mesmo na concentração de  $2 \times 10^6$ , aumentaram o parasitismo do patógeno, em comparação à testemunha. Assim pôde-se demonstrar a causa das mortes dos apotécios desde experimento.

**Tabela 1** – Parasitismo de isolados de *Trichoderma* spp. aplicados com diferentes concentrações de conídios, sobre apotécios de *Sclerotinia sclerotiorum*. Santo Antônio de Goiás, 2009.

Tratamento	Concentração de conídios de <i>Trichoderma</i> spp.		
	$2 \times 10^6$	$2 \times 10^7$	$2 \times 10^8$
451/1	80 a B	93 a A	96 a A
34/1	46 b B	80 a A	90 a A
303/2	70 a A	56 b A	83 a A
4/10	53 b A	90 a A	83 a A
8/5	36 c B	36 b B	76 a A
12/9	23 c B	40 b AB	73 a A
Ecotrich	6,6 c B	20 c B	66 a A
455/1	30 c A	46 b A	63 a A
Testemunha	20 c	20 c	20 b
CV (%)	21,1	22,6	21,2

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e pela mesma letra maiúscula na linha não diferem significativamente entre si, respectivamente pelos testes de Scott-Knott (1%) e de Tukey a 5% de probabilidade.

Para os isolados 451/1, 34/1, 8/5, 12/9, e Ecotrich, o aumento da concentração de conídios foi fator importante para a obtenção de melhores resultados. Por outro lado, os isolados 455/1, 303/2 e 4/10 não apresentaram ganho no parasitismo de apotécios, com o aumento da sua concentração de conídios. Considerando-se a média geral em todas as concentrações, o isolado de melhor desempenho foi o 451/1, com maior proporção de apotécios parasitados em todas as concentrações. Na concentração de  $2 \times 10^8$  conídios/ml este isolado parasitou 96% dos apotécios avaliados. Em concentração 100 vezes menor ( $2 \times 10^6$ ), o parasitismo pelo mesmo isolado atingiu 80% dos apotécios, equivalente ou melhor do que vários outros isolados sob concentração de  $2 \times 10^8$ .

Na concentração de  $2 \times 10^6$ , quatro dos isolados não diferiram da testemunha. Na aplicação de  $2 \times 10^7$  conídios, apenas o tratamento com Ecotrich teve desempenho semelhante à testemunha. Os melhores isolados nesta concentração foram 451/1, 34/1 e 4/10, sendo que os demais apresentaram desempenho intermediário. Ao se aumentar a concentração de conídios  $2 \times 10^8$ , todos os tratamentos foram superiores à testemunha, sem diferenças entre si.

Esses resultados indicaram a necessidade de selecionar antagonistas considerando-se seu desempenho sob diferentes concentrações de conídios. O aumento desta concentração de  $2 \times 10^6$  para  $2 \times 10^8$  demonstrou a possibilidade de se aumentar a eficiência do biocontrole, como fator responsável pelo maior parasitismo de apotécios, com aumentos que variaram de 15,6 % a 68,5%. Desta forma, os isolados podem ser ranqueados em função da concentração de esporos, que deve ser empregada para se ajustar a máxima eficiência para o controle biológico de doenças.

Diversos autores como MARTINS-CORDER & MELO (1998), AULER et AL (2009) e REMUSKA & DALLA PRIA (2007) também verificaram parasitismo de patógenos com *Trichodema* spp., mostrando ampla potencialidade deste fungo como agente de biocontrole de doenças. No presente trabalho, considera-se igualmente importante ao controle biológico se aplicar uma concentração massal de esporos, caso contrário, os resultados podem ficar aquém do esperado. Além disso, os isolados que tiveram taxas de parasitismo proporcionais à concentração de conídios podem ainda não ter atingido sua máxima eficiência. Ou seja, é possível que proporcionem maior parasitismo em concentrações acima de  $10^8$ .

## 5. CONCLUSÕES

Houve diferença entre os isolados de *Trichoderma* spp. quanto à eficiência do parasitismo de apotécios de *S. Sclerotiorum*. O parasitismo foi influenciado pela concentração da suspensão de conídios. Sob a concentração de  $2 \times 10^8$ , todos os isolados aumentaram o parasitismo de apotécios, em comparação à testemunha.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AULER, A.C.V.; CARVALHO, D.D.C., MELLO, S.C.M. Isolados antagônicos a *Sclerotium rolfii* e seu potencial de uso como agente de biocontrole nas culturas de feijão e soja. **Ciência Rural**, 2009. No prelo.

BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. 226 p.

MARTINS-CORDER, M.P.; MELO, I.S. de. Antagonismo in vitro de *Trichoderma* spp. a *Verticillium dahliae* KLEB. **Scientia Agricola**., Piracicaba, v. 55, n. 1, 1998.

MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Controle biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998. 262p.

REMUSKA, A.C.; DALLA PRIA, M. Efeito de *Bacillus thuringiensis* e *Trichoderma* sp. no crescimento de fungos fitopatogênicos. **Publicatio UEPG**. v. 13, p. 31-36, 2007.