

**VARIABILIDADE ENTRE ISOLADOS DE
Trichoderma spp. QUANTO À
CAPACIDADE DE INIBIR O
CRESCIMENTO DE *Cylindrocladium* sp.
EM CULTIVO PAREADO**

ISSN 0102 0110
Dezembro, 2007

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 186

VARIABILIDADE ENTRE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. QUANTO À CAPACIDADE DE INIBIR O CRESCIMENTO DE *Cylindrocladium* sp. EM CULTIVO PAREADO

Popov dos Santos
Carvalho Filho M.R.
Martins I.
Mello S.C.M.

*Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Brasília, DF
2007*

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Serviço de Atendimento ao Cidadão
Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) –
Brasília, DF CEP 70770-900 – Caixa Postal 02372 PABX: (61) 448-4600 Fax: (61) 340-3624
<http://www.cenagen.embrapa.br>
e.mail:sac@cenagen.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: *Sergio Mauro Folle*

Secretário-Executivo: *Maria da Graça Simões Pires Negrão*

Membros: *Arthur da Silva Mariante*

Maria de Fátima Batista

Maurício Machain Franco

Regina Maria Dechechi Carneiro

Sueli Correa Marques de Mello

Vera Tavares de Campos Carneiro

Supervisor editorial: *Maria da Graça S. P. Negrão*

Normalização Bibliográfica: *Maria Iara Pereira Machado*

Editoração eletrônica: *Daniele Alves Loiola*

1ª edição

1ª impressão (2007):

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

V 299 Variabilidade entre isolados de *Trichoderma* spp. quanto à capacidade de inibir o crescimento de *Cylindrocladium* sp. em cultivo pareado / Popov dos Santos ... [et al.]. -- Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 10 p. -- (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1676 - 1340; 186).

1. *Trichoderma* spp. - isolados - rizosfera de goiabeira. 2. *Trichoderma* spp. - inibir crescimento in vitro - *Cylindrocladium*. 3. *Cylindrocladium* - controle biológico - eucalipto. 4. *Cylindrocladium* - controle biológico - goiabeira. I. Santos, Popov dos. II. Série.

632.96 - CDD 21.

VARIABILIDADE ENTRE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. QUANTO À CAPACIDADE DE INIBIR O CRESCIMENTO DE *Cylindrocladium* sp. EM CULTIVO PAREADO

Popov dos Santos¹

Carvalho Filho M.R.²

Martins I.³

Mello S.C.M.⁴

Introdução

O gênero *Trichoderma* possui distribuição bastante ampla, ocorrendo no mundo inteiro, em quase todos os tipos de solos e outros habitats naturais, especialmente naqueles que contém ou consistem de matéria orgânica. Por tratar-se de um micoparasita necrotrófico, apresenta grande eficácia no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos (MELO, 1998; MELLO et al., 2007).

Cylindrocladium spp. têm-se mostrado, em viveiros florestais do Sul do país, como os principais patógenos relacionados com a podridão de raízes e tombamento de plântulas em espécies de eucalipto. O prejuízo causado por esses patógenos depende da intensidade do ataque, a qual está associada às condições do ambiente (SANTOS et al., 2001; FORTES et al., 2007).

Para o controle das doenças causadas por *Cylindrocladium* spp., vêm sendo usadas técnicas de manejo cultural e aplicação de fungicidas (FERREIRA, 1985). Todavia, o uso de microrganismos antagônicos incorporados ao substrato destinado à produção de mudas pode se constituir importante alternativa de controle da doença, pois resultaria em menores custos de produção, redução do uso de fungicidas sintéticos e dos efeitos negativos destes produtos ao homem e ao meio ambiente (GRIGOLETTI JÚNIOR et al., 2000; ALFENAS, 1986).

O objetivo deste trabalho foi avaliar 17 isolados de *Trichoderma* spp. Pers. obtidos da rizosfera de goiabeira, procedentes de Petrolina (PE), quanto à capacidade de inibir o crescimento de *Cylindrocladium* sp. Morgan. *in vitro*, visando à seleção de isolados para controle desse patógeno em eucalipto e goiabeira.

MATERIAL E MÉTODOS

¹ Agronomia, graduando., Universidade de Brasília - UnB

² Biólogo, mestrando, Universidade de Brasília - UnB

³ Bióloga, Ms.C., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Para o ensaio, foram utilizadas as linhagens CEN 500, CEN 501, CEN 502, CEN 503, CEN 504, CEN 505, CEN 506, CEN 507, CEN 508, CEN 509, CEN 510, CEN 511, CEN 512, CEN 513, CEN 514, CEN 518, CEN 519 de *Trichoderma* spp., pertencentes ao Banco da Coleção de Fungos Patogênicos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Os isolados foram testados pelo método de cultivo pareado, utilizando o meio de Batata-Dextrose-Ágar (BDA). O experimento foi montado em câmara de fluxo laminar esterilizada (20 minutos com luz ultravioleta). Placas de Petri contendo 20 mL do meio receberam dois discos de micélio/ágar (5mm), opostamente entre si e distantes 1 cm da lateral da placa, sendo um do patógeno e outro do agente de biocontrole. Como testemunhas, utilizaram-se placas inoculadas unicamente com o patógeno. As culturas foram incubadas em câmaras climatizadas a 25°C com fotoperíodo de 12 horas, por 19 dias.

As avaliações foram feitas com base na determinação do diâmetro das colônias, calculando-se os valores médios da porcentagem de inibição, em relação à testemunha. Também se compararam os isolados com respeito à capacidade antagonista, avaliada com base no critério de Bell et al. (1982), em que é utilizada uma escala de notas variando de 1 a 5. O valor 1 é atribuído quando o antagonista invade completamente o fitopatógeno e coloniza todo o substrato; 2, quando o antagonista invade pelo menos 2/3 da superfície do meio; 3, quando metade da superfície do meio é colonizada pelo antagonista e a outra metade pelo patógeno; 4, o patógeno coloniza no mínimo 2/3 da superfície do meio, que parece se opor ao antagonista; e, finalmente, o valor 5, quando o patógeno invade completamente o antagonista e ocupa toda a superfície do meio. As notas obtidas (1, 2, 3, 4 e 5) foram expressas em termos de porcentagem de colonização (100%, 75%, 50%, 25%, 0%, respectivamente).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Maiores valores médios da porcentagem de inibição do crescimento de *Cylindrocladium* sp. (em torno de 100%) foram obtidos com os isolados CEN 500, 505 e 508 (Figura 1). As Figuras de 2 a 4 ilustram a interação patógeno e antagonista *in vitro*. Entretanto, todos os isolados foram classificados como altamente antagônicos, pela escala utilizada. Os três melhores isolados foram selecionados para experimentos em casa de vegetação e campo, já em andamento. Esses isolados terão grandes possibilidades de controlar a doença em plantas de eucaliptos, caso sejam capazes de inibir a germinação de esporos na superfície foliar. Tal ação antagonista é fortemente dependente da sobrevivência dos isolados na filosfera e de sua capacidade de produzir antibióticos em condições naturais. Testes dos isolados como promotores de crescimento e indutores de resistência estão também sendo iniciados, através de aplicações no solo. Deste modo, será também avaliada sua capacidade de estabelecimento e persistência na rizosfera.

CONCLUSÃO

- 1- Todos os isolados de *Trichoderma* classificam-se como altamente antagonistas pela escala com base nos critérios de avaliação utilizados.
- 2- Os isolados CEN 500, 505 e 508 de *Trichoderma* apresentam elevado potencial antagônico contra o *Cylindrocladium* sp., por isso estão sendo testados em experimentos em casa de vegetação e campo.

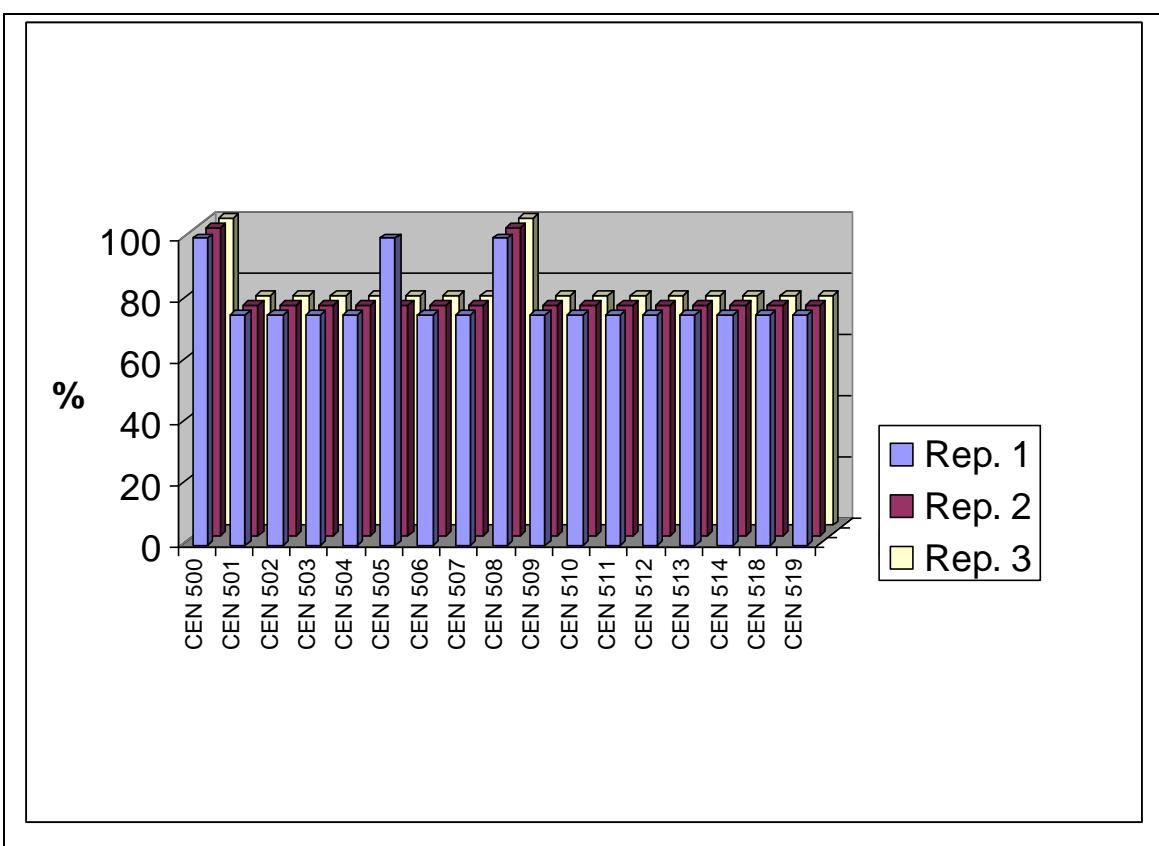


Figura 1 Porcentagem de inibição dos isolados com base na Escala utilizada.

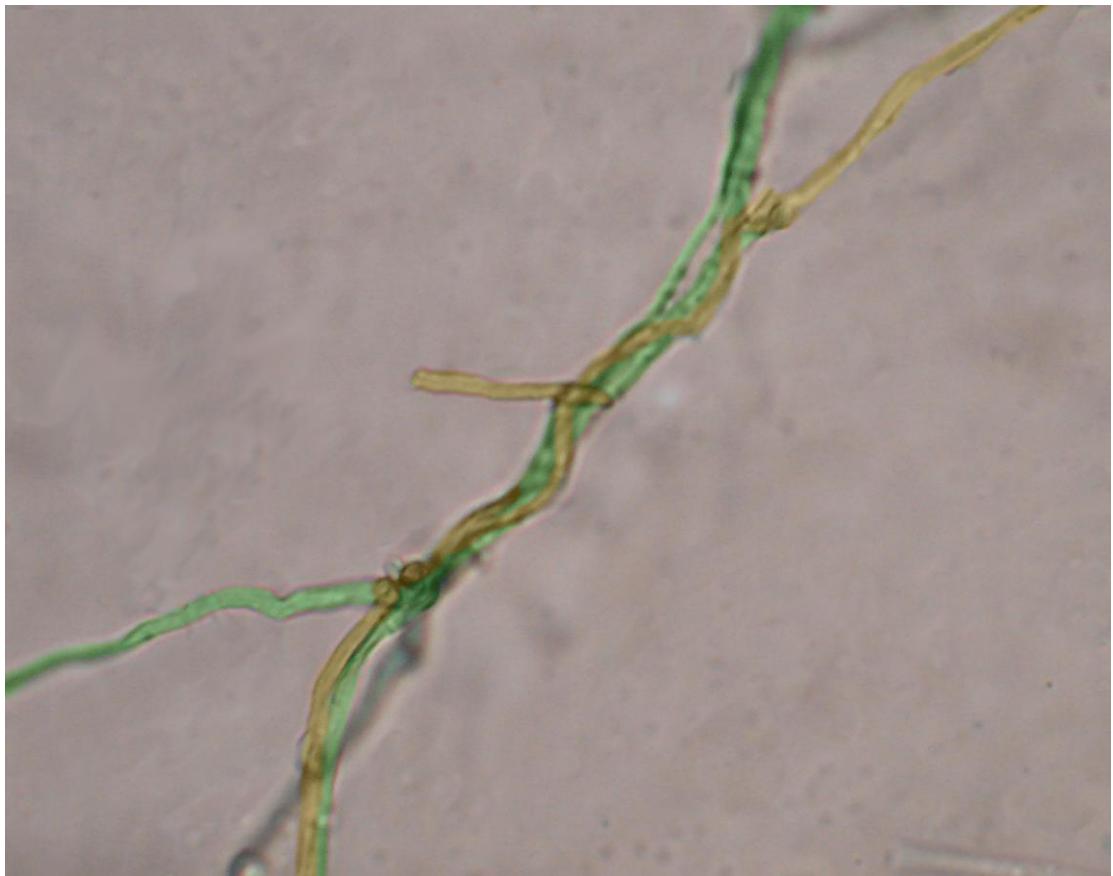


Figura 2 Interação de hifas com claro enrolamento de hifa do patógeno e formação de “pegs” indicativos de penetração.

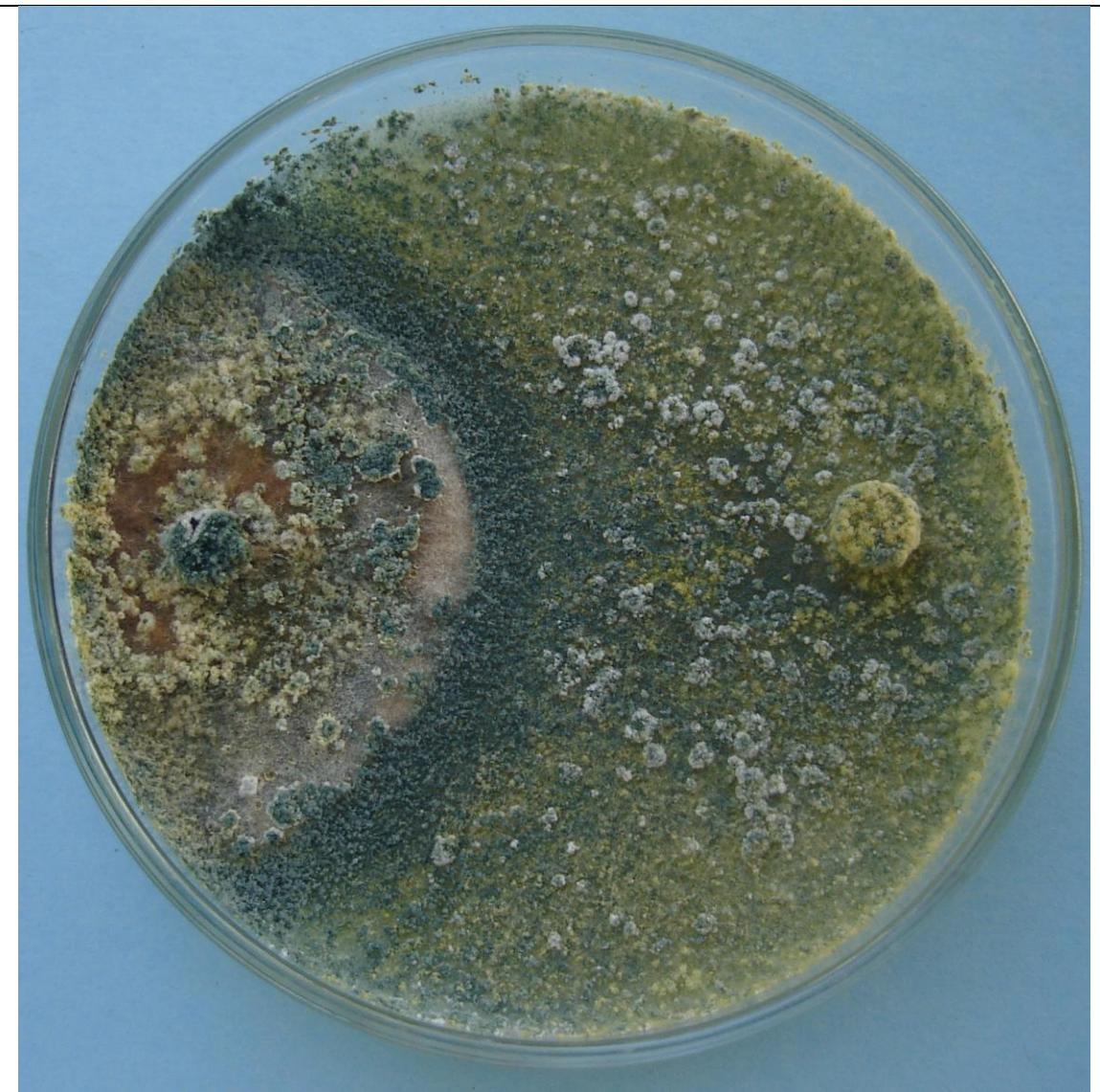


Figura 3 Cultivo Pareado, com *Cylindrocladium* inoculado à esquerda e *Trichoderma* à direita, notando-se a sobreposição do antagonista.

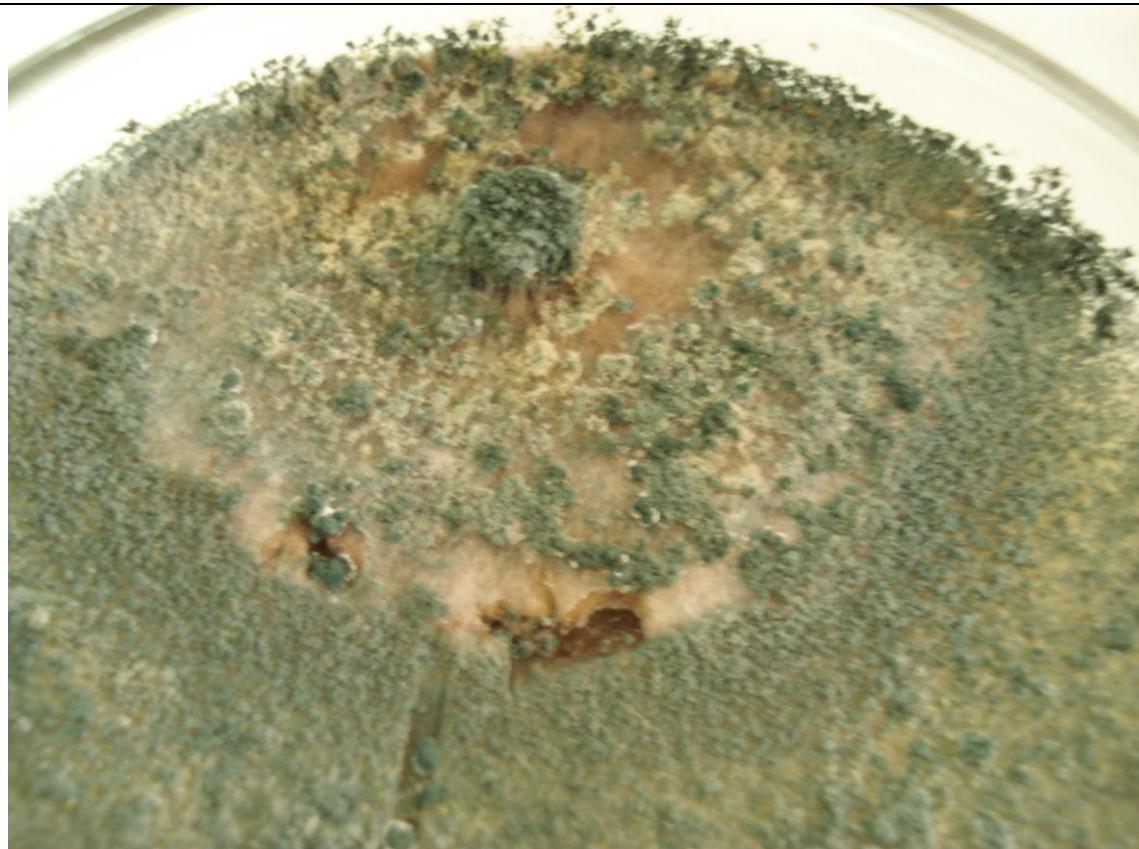


Figura 4 Esporulação do *Trichoderma* sobre o *Cylindrocladium*.

Referências

- ALFENAS, A. C. Fungos do gênero *Cylindrocladium* como patógenos florestais, no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 11, p. 275-277, 1986.
- BELL, D. K.; WELLS. H. D.; MARKHAM, C. R. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, Saint Paul, US, v. 72, n. 4, p. 379-382, 1982.
- FERREIRA, F. A. **Principais doenças do eucalipto no estado de Minas Gerais**. Viçosa, MG: EPAMIG, 1985. 12 p. (Boletim técnico, 23).
- FORTES, F. O.; SILVA, A. C. F.; ALMANÇA, M. A. K.; TEDESCO, S. B. Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. por *trichoderma* spp. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 31, n. 2, p. 221-228, 2007.
- GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; SANTOS, A. F. dos.; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, Curitiba, v. 30, p. 155-165, 2000.
- MELO, I. S. Agentes microbianos no controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Controle Biológico**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA, 1998. v. 1, p. 17-67.

MELLO, S. C. M.; ÁVILA, Z. R.; BRAUNA, L. M.; PÁDUA, R. R. Cepas de *Trichoderma* para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc. **Fitosanidad**, v. 11, p. 3-9, 2007.

SANTOS, A. F. dos; AUER, C. G.; GRIGOLETTI JUNIOR, A. **Doenças do eucalipto no sul do Brasil:** identificação e controle. Colombo: Embrapa Florestas, 2001. 20 p. (Embrapa Florestas. Circular técnica, 45).

SEGURA, C. B. Manchas foliares por el hongo *Cylindrocladium scoparium* , Morg. en *Eucalyptus* spp. en Turrialba, Costa Rica. **Turrialba: Revista Interamericana de Ciencias Agricolas**, San Jose, CR, v. 20, p. 365-366, 1970.

SOUZA, M. G. **Etiologia e controle do tombamento de mudas de eucalipto, causado por *Botrytis cinerea*, no estádio de fechamento de canteiros.** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1991. 53 p.