

AVALIAÇÃO, *In Vitro*, DO ANTAGONISMO DE *Bacillus* spp e *Trichoderma* spp. À *Cylindrocladium spathulatum*, AGENTE CAUSAL DA PINTA-PRETA DA ERVA-MATE.

Albino Grigoletti Júnior¹
Nei Sebastião Braga Gomes²
Celso Garcia Auer³
Álvaro Figueredo dos Santos¹

A erva-mate, como qualquer espécie vegetal, está sujeita a doenças que podem provocar prejuízos ou até mesmo inviabilizar seu cultivo. Dentre as doenças que incidem sobre esta cultura, destaca-se a pinta-preta, causada pelo fungo *Cylindrocladium spathulatum*. As práticas de controle, atualmente em uso, são, muitas vezes, inadequadas e baseiam-se principalmente no uso de fungicidas. A necessidade de reduzir o uso de agrotóxicos tem incentivado a utilização de outros métodos de controle menos agressivos ao ambiente e à saúde humana. O controle biológico, por meio de fungos e bactérias antagonistas, tem sido utilizado com êxito, em outras culturas, em substituição ao controle químico. Com o objetivo de fornecer alternativas eficientes, viáveis e de pequeno impacto ambiental, foram avaliados antagonistas nativos e exóticos para o controle deste patógeno. Com os resultados obtidos, espera-se reduzir o número de aplicações ou até suprimir o uso de fungicidas no cultivo da erva-mate.

Inicialmente foram testados 16 antagonistas, sendo 3 obtidos na Embrapa Monitoramento Ambiental, 7 na Embrapa Uva e Vinho e 6 na Embrapa Florestas, os quais estão listados na Tabela 1.

^{1.} Eng.-Agrônomo, Doutor, CREA nºs 2711/D e 16911/D, respectivamente, Pesquisadores da *Embrapa Florestas*.

^{2.} Eng. Florestal, CREA nº 9573/D, mestrando em Engenharia Florestal pela UFPR.

^{3.} Eng. Florestal, Doutor, CREA nº 136829/D, Pesquisador da *Embrapa Florestas*.

Tabela 1. Relação de antagonistas utilizados no controle de *C. spathulatum*, 1999

ANTAGONISTA	NATIVO	EXÓTICO	TOTAL
<i>Bacillus</i> spp.	B-1*	AP-3**	
	B-2*	AP-49**	
	B-3*	AP-51**	
	B-4*		
	B-5*		8
<i>Trichoderma</i> spp.	T-2*	TSS-3***	
		TSS-9***	
		T-12***	
		TSS-13***	
		T-15***	
		T-15E***	
		T-19***	8
TOTAL	6	10	16

* Isolado obtido na Embrapa Florestas

** Isolado obtido através da Embrapa Monitoramento Ambiental

*** Isolado obtido através da Embrapa Uva e Vinho.

Utilizou-se neste trabalho, o isolado de *Cylindrocladium spathulatum*, da coleção da Embrapa Florestas.

Ensaio 1. Efeito dos metabólitos no crescimento de *C. spathulatum*

O potencial de antagonismo dos isolados de *Bacillus* spp., foi avaliado por meio do efeito inibidor de seus metabólitos sobre o patógeno. A produção de metabólitos foi feita em meio batata dextrose (200 gr de batata + 20 gr de dextrose, para 1000 ml de água). Cada isolado do antagonista foi incubado neste meio, sem agitação, durante 15 dias, a uma temperatura de 26° C no escuro. Após esse período, adicionou-se, às culturas líquidas, 15 gramas de ágar/litro e após, estas foram autoclavadas por 20 minutos, a 120° C e vertidas em placas de Petri (Bettiol, 1988).

Discos de 5,0 mm de diâmetro, da cultura do patógeno, foram colocados no centro de cada placa e incubados a uma temperatura de 22° C ,com luz alternada (12/12 horas). A testemunha consistiu na incubação de *C. spathulatum*, em meio BDA na ausência de metabólitos, para obter-se o padrão normal de crescimento do patógeno. As avaliações foram realizadas aos 6, 8 e 21 dias, medindo-se o diâmetro da colônia em milímetros (Tabela 2).

Observou-se que todos os isolados de *Bacillus* spp reduziram o crescimento das colônias de *C. spathulatum* e que a ação dos metabólitos é persistente, pois seus efeitos permaneceram até o 21° dia (Tabela 2).

Tabela 2 Diâmetro das colônias de *C. spathulatum* (mm) em meios contendo metabólitos de *Bacillus* spp., após 6, 8 e 21 dias de incubação.

Antagonista	Diâmetro das colônias (mm)	Diâmetro das colônias (mm)	Diâmetro das colônias (mm)
	6 dias de incubação	8 dias de incubação	21 dias de incubação
Testemunha	31,00 a*	41,50-a	88,25-a
AP - 3	10,50 b	11,25-b	26,00-b
AP - 49	10,00 b	12,25-b	22,00-b
AP- 51	9,50 b	11,25-b	22,50-b
B -5	9,50 b	11,75-b	27,25-b
B- 1	9,00 b	10,25-b	21,75-b

*Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 1% de significância, comparadas pelo teste Tukey.

Ensaio 2. Efeito de metabólitos na germinação de conídios de *C. spathulatum*

Foi realizado um teste para verificar o efeito dos metabólitos, incorporados ao meio de cultura, sobre a germinação dos conídios de *C. spathulatum*. Os isolados B-1, B-5, AP-3, AP-49 e AP-51, inibiram totalmente a germinação dos conídios do patógeno, onde, na testemunha, sem o metabólito, germinaram cerca de 86% dos conídios, após 120 minutos de incubação, a uma temperatura de 23° C.

Ensaio 3. Pareamento das culturas de *Trichoderma* spp

Os isolados de *Trichoderma* spp. foram testados pelo método do pareamento de culturas. O pareamento foi realizado em placas de Petri contendo meio BDA nas quais, foram colocados discos do patógeno e do antagonista e incubadas a 23° C, durante 4 dias. De acordo com o crescimento em placa, o antagonismo foi enquadrado numa escala com classes de 1 a 5, proposta por Bell et al. (1982) onde:

- Classe 1 : o antagonista cobriu a totalidade da superfície da placa;
- Classe 2 : o antagonista cobriu, ao menos, 2/3 da superfície da placa;
- Classe 3 : o antagonista cobriu, ao menos, 50% da superfície da placa;
- Classe 4 : o patógeno cobriu, ao menos, 2/3 da superfície da placa, e
- Classe 5 : o patógeno cobriu a totalidade da superfície, anulando o antagonista.

Os testes realizados mostraram que todos os isolados de *Trichoderma* spp., após o período de incubação, se enquadraram na classe 1, portanto, com elevado potencial de antagonismo.

Estes testes preliminares, além de indicarem a potencialidade dos antagonistas no controle do patógeno, também permitiram testar e ajustar as metodologias que serão utilizadas posteriormente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELL D. K., WELLS H. D. , MARKHAM C. R. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*. vol. 72, nº 4 : 379-82. 1982

BETTIOL, W. Seleção de microrganismos antagônicos a *Pyricularia oryzae* Cav. para o controle da brusone do arroz (*Oryza sativa* L.) Piracicaba: ESALQ-USP, 1988. 40p. Tese Doutorado.