

Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. antagônicos a *Sclerotium rolfsii*.

Pollyana Picanço BARROS¹; Rosalee Albuquerque COELHO NETTO²; Rogério Eiji HANADA³

¹Bolsista PIBIC INPA/CNPq; ²Orientador INPA/CPCA; ³Colaborador INPA/CPPF

O interesse dos consumidores por produtos cultivados sem o uso de defensivos agrícolas tem crescido e gerado pressões para a adoção de práticas que reduzam impactos ambientais negativos e assegurem a não toxicidade dos alimentos. O controle biológico de doenças de plantas, definido como a redução da densidade de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocada por um patógeno, realizada por um ou mais organismos que não o homem (Cook & Baker, 1983), é um dos métodos de controle aceito pela chamada agricultura limpa que tem apresentado significativa eficiência em condições de campo. Dos agentes de biocontrole conhecidos, *Trichoderma* spp. tem sido um dos mais utilizados. Como biocontrolador ele age produzindo enzimas líticas, e metabólitos com atividades antimicrobiana e por hiperparasitismo (Melo, 1991). Contra *Sclerotium rolfsii* Zhang *et al.*, (2002) verificaram que *Trichoderma* spp. age causando lise de hifa e inibição da germinação dos escleródios. O objetivo desse trabalho foi selecionar isolados de *Trichoderma* spp. para o uso no controle biológico de *S. rolfsii*, contribuindo com alternativas sustentáveis e seguras para o manejo de doenças de plantas no Amazonas. O trabalho foi desenvolvido em casa-de-vegetação e no Laboratório de Fitopatologia da Coordenação de Pesquisa em Ciências Agrônômicas do INPA, em Manaus. Vinte e três isolados de *Trichoderma* spp. foram obtidos a partir de amostras de solo, plantas, madeira ou sementes utilizando meio de cultura seletivo (Dhingra & Sinclair, 1995). O isolado de *Sclerotium rolfsii* foi obtido de planta de pimentão (*Capsicum annum* L.) com sinais de doenças. Para produção de inóculo, os isolados de *Trichoderma* foram cultivados em placas de Petri contendo BDA 1/5 (40g de batata, 4g de dextrose e 15 de ágar para 1 L) e incubados a 25 °C, sob fotoperíodo de 12 horas, durante sete dias. Após esse período foi preparada suspensão de esporos (5×10^7 conídios/mL) que foi vertida em solo autoclavado ou não, na proporção de 1 mL de cada suspensão/100g de solo. Em vasos com capacidade de 300 g de solo, infestados com os isolados de *Trichoderma*, em três repetições, foram enterrados, dez dias após a infestação, saquinhos de nylon contendo 30 escleródios de *S. rolfsii*, produzidos em meio BDA. Os saquinhos foram mantidos enterrados por 10 dias e o solo foi irrigado diariamente. Após esse período, os saquinhos foram desenterrados e, em laboratório, os escleródios foram lavados com água, desinfetados com álcool a 70%, por 30 segundos, lavados com água estéril, secos em papel de filtro e distribuídos, na proporção de 10 escleródios/placa, em BDA acrescido de cloranfenicol. As placas foram incubadas sob fotoperíodo de 12 horas e, dois dias após, foi feita a contagem das colônias desenvolvidas a partir dos escleródios de *S. rolfsii*. Três vasos cujo solo não foi infestado com *Trichoderma* spp., serviram de testemunha. A seleção dos isolados em solo autoclavado e não autoclavado permitiu avaliar a capacidade de colonização dos escleródios e a capacidade competitiva dos isolados. Isolados como o 1589 e 1611 conseguiram colonizar escleródios em solo autoclavado mas não em solo não autoclavado indicando baixa capacidade competitiva com outros microrganismos e baixa atividade antagonista. No solo autoclavado colonizado pelos isolados 1351 e 1478 observou-se 100% de colonização nos escleródios de *S. rolfsii* enquanto que no solo não autoclavado a colonização foi baixa, 23 e 50%, respectivamente, indicando que provavelmente outros isolados de *Trichoderma* presentes no solo não autoclavado atuaram colonizando os escleródios. Quatro isolados, 1589-B, 1334, 1439 e 1622, tiveram colonização maior que 70% em solo autoclavado e acima de 80% em solo não autoclavado indicando boa capacidade de colonização dos escleródios de *S. rolfsii* e capacidade competitiva com outros microrganismos. O método de seleção utilizado foi considerado satisfatório pois não se restringe a seleção ao antagonismo *in vitro*, utilizada por muitos autores (Patrício *et al.*, 2001; Martins-Corder & Melo, 1998) mas seleciona também os isolados pela capacidade competitiva.

Tabela 1 - Percentual médio de colônias fúngicas desenvolvidas a partir de escleródios de *S. rolfsii* em meio BDA, após dez dias de enterrio em solo autoclavado e não autoclavado infestado com diferentes isolados *Trichoderma* spp.

Isolado	Origem do isolado de <i>Trichoderma</i>	Solo Autoclavado*				Solo Não Autoclavado			
		Trich	Scler	Outro	SC	Trich	Scler	Outro	SC
1572-B	Planta de <i>Trimezia fosteriana</i> Steyerm	0	30	20	50	80	16	6	0
1598-A	Solo cultivado com <i>Citros</i> sp.	66	23	10	0	63	13	16	6
1601-C	Solo cultivado com <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill	40	30	30	0	76	23	0	0
1349-A	Solo cultivado com <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal	47	33	17	3	96	0	3	0
1589-B	Contaminante de laboratório	93	0	6	0	100	0	0	0
1598-E	Solo cultivado com <i>Citros</i> sp.	43	10	26	20	100	0	0	0
1334	Madeira	70	13	17	0	86	10	3	0
1340	Madeira	76	16	6	0	0	76	0	23
1342	Trichonat®**	0	40	60	0	0	70	10	20
1351	Solo cultivado com <i>S. sessiliflorum</i>	0	30	0	70	100	0	0	0
1435	Solo (Terra mulata)	43	36	17	3	6	6	3	83
1438	Solo (Terra preta de índio)	23	40	16	20	0	33	17	50
1439	Solo (Terra preta de índio)	76	0	23	0	96	0	3	0
1478	Semente de <i>Carapa guianensis</i> Aubl.	50	0	50	0	100	0	0	0
1589	Contaminante de laboratório	40	20	26	13	0	0	0	100
1611	Planta de <i>Capsicum annuum</i> L.	36	13	16	33	0	20	0	80
1622	Solo cultivado com <i>C. annuum</i>	73	23	0	3	83	16	0	0
T	Sem infestação do solo	60	13	26	0	0	96	3	0

* Trich = *Trichoderma* sp.; Scler = *Sclerotium rolfsii*; Outros = Outros fungos; SC = Sem crescimento fúngico;

** *Trichoderma* sp., Natural Rural, Brasil

Palavras-chave: Controle biológico, Manejo de doenças, Podridão de *Sclerotium*

Bibliografias citadas

Cook, R.J.; Baker, K.F. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota. 539pp.

Dhingra, O.D.; Sinclair, J.B. 1995. Basic Plant Pathology Methods. CRC/Lewis, Boca Raton. 434pp.

Martins-Corder, M.P.; Melo, I.S. 1998. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. a *Verticillium dahliae* Kleb. Sci. Agricola 55(1): 1-7.

Melo, I.S. 1991. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: Bettiol, W. (Org.) Controle biológico de doenças de plantas: Embrapa. Brasília, p. 135-156.

Patrício, F.R.A.; Kimati, H.; Barros, B.C. 2001. Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. antagonísticos a *Pythium aphanidermatum* e *Rhizoctonia solani*. Summa Phytopathologica 27(2): 223-229.

Zhang, S.; Hui, C. 2002. *In vitro* antagonism of *Trichoderma viride* against the soilborne fungal pathogens. Journal of Fujian College of Forestry 22: 219-222.