

QUANTIFICAÇÃO DA POPULAÇÃO DE ESCLERÓDIOS DE *SCLEROTIUM ROLFSII* NO SOLO E SELEÇÃO DE *TRICHODERMA* SP. PARA CONTROLE DA PODRIDÃO-DE-*SCLEROTIUM* EM PIMENTÃO

Andréia Aline Bastos FERREIRA¹; Rogério Eiji HANADA²; Rosalee Albuquerque COELHO NETTO³

¹Bolsista PIBIC/ INPA; ²Co-orientador CPPF/ INPA; ³Orientador CPCA/ INPA

1. Introdução

No solo há imensa diversidade de microrganismos e, entre eles, muitos fungos fitopatogênicos que causam danos à produção agrícola. Um importante fitopatógeno habitante do solo, é o fungo *Sclerotium rolfsii* Sacc., que apresenta extensa gama de hospedeiros. Na Amazônia, a podridão-de-*Sclerotium*, causada por *S. rolfsii* é comum em cultivos de solanáceas como o pimentão (*Capsicum annum* L.) (Lourd, 1993). Estudos sobre controle biológico tem demonstrado a inibição do crescimento e produção de escleródios de *S. rolfsii* por espécies de *Trichoderma* (Adandonon *et al.*, 2006; Mathivanan *et al.*, 2000; Mishra *et al.*, 2000). Os escleródios de *S. rolfsii* são produzidos em grande número na base do caule das plantas doentes e servem de fonte primária de inóculo para iniciação da doença no campo (Punja *et al.*, 1985). O padrão de distribuição de plantas com sintoma de podridão-de-*Sclerotium* no campo e a distribuição de escleródios de *S. rolfsii* no solo é geralmente agrupada. Uma estratégia para minimizar perdas decorrentes dessa doença é evitar plantar em campos com altos níveis de inóculo. Esses locais podem ser identificados pela quantificação do inóculo antes do plantio. No entanto, a relação entre a incidência de doença e o limiar de inóculo aceitável para plantio ainda precisa ser estabelecido (Punja, 1986). Em experimentos de campo visando o manejo da doença causada por esse patógeno, o potencial de inóculo inicial precisa ser quantificado antes do plantio. Diversas técnicas de quantificação já foram relatadas como peneiramento úmido, flotação e umedecimento do solo com metanol (Rodriguez-Kábana *et al.*, 1973; Punja *et al.*, 1985). O método com metanol tem uma recuperação de escleródios viáveis que pode ser baixa, em torno de 60 % para escleródios produzidos em laboratório e 30 % para escleródios produzidos em solo (Punja, *et al.*, 1985), no entanto, é um método fácil de ser executado e de baixo custo. Rodriguez-Kábana *et al.* (1980) relatou uma recuperação de 75 % dos escleródios do solo utilizando essa técnica.

Este trabalho teve como objetivo avaliar técnicas de quantificação da população de escleródios de *S. rolfsii* em amostras de solo e selecionar um isolado de *Trichoderma* sp. para ser utilizado como agente de biocontrole em experimento de campo.

2. Material e métodos

O trabalho foi desenvolvido na casa-de-vegetação e no Laboratório de Fitopatologia da Coordenação de Pesquisas em Ciências Agrônômicas (CPCA-INPA) em Manaus. Para quantificação da população de escleródios no solo foram testadas as metodologias descritas por Rodriguez-Kábana *et al.* (1980) e por Tomasino e Conway (1987). Amostra de solo coletada na Estação Experimental Alej van der Pahlen, em Manaus foi seca ao ar e passada em peneira de 2 mm. Porções de 500 g de solo foram separadas e a cada uma foram adicionados 0, 5, 10, 20, 40 e 80 escleródios de *S. rolfsii*. O solo foi misturado com os escleródios e cinco amostras de 50 g, de cada tratamento, foram transferidas para placas de Petri com 150 mm de diâmetro. O solo em cada placa foi umedecido com 12,5 mL de metanol 1 % e após 24 e 48 h os escleródios germinados foram contados. No segundo método, porções de 500 g de solo, misturadas com as mesmas quantidades de escleródios do método anterior foram passadas em peneira de 0,7 mm. O solo peneirado foi misturado com igual volume de composto vegetal e carvão moído (1:1/v:v). Porções de 50 g dessa mistura foram transferidas para placas de Petri de 14 cm de diâmetro e umedecidas com 10 mL de metanol 1 %. Após 48 h os escleródios germinados foram contados. O experimento foi repetido mais duas vezes utilizando apenas o primeiro método de quantificação. Para seleção do isolado de *Trichoderma* a ser utilizado em campo, um isolado (1334) pré-selecionado entre 19, obtidos no Amazonas (Barros *et al.*, 2007) e um isolado comercial (SF 55) (Quality® - Laboratório de Biocontrole Farroupilha Ltda, Patos de Minas, MG) foram comparados. Para essa avaliação, oitenta mudas de pimentão cultivar Yolo Wonder foram transplantadas para copos plásticos perfurados com capacidade de 500 mL, contendo 375 g de solo autoclavado. Cada unidade experimental foi constituída de quatro copos com uma muda e o experimento teve cinco repetições em um delineamento inteiramente casualizado. Suspensões de conídios (5×10^7 conídios/ mL) dos isolados de *Trichoderma* cultivados em BDA 1/5 (40g de batata- 4g de dextrose- 15g de ágar). foram vertidas sobre o solo infestado com os grãos de trigo colonizados com *Sclerotium rolfsii* na proporção de 13 g de trigo infestado/ kg de solo. Os tratamentos testados foram: 1) Isolado 1334 em solo infestado com *S. rolfsii*; 2) isolado SF 55 em solo infestado com *S. rolfsii*; 3) apenas *S.*

rolfsii no solo sem o controlador biológico; 4) plantas de pimentão em solo não infestado com *S. rolfsii* e não tratadas com *Trichoderma*. A incidência da podridão-de-*Sclerotium* foi avaliada semanalmente.

3. Resultados e discussão

A eficiência das metodologias avaliadas para quantificar a população de escleródios de *S. rolfsii* no solo foi mais baixa do que os 75 % obtidos por Rodriguez-Kábana *et al.* (1980). Obteve-se 30% de eficiência de recuperação nos tratamentos com maiores quantidades de esclerócios no método descrito por Rodriguez-Kábana *et al.* (1980) (Tabela 1). Esse método teve melhor eficiência que o método descrito por Tomasino & Conway (1987) e foi mais simples de ser executado. Qual Tabela 1 – Eficiência da recuperação de escleródios de *Sclerotium rolfsii* em solo utilizando as metodologias descritas por Rodriguez-Kábana *et al.* 1980 e por Tomasino & Conway, 1987.

Quant. de esclerócios ¹	Método					
	Rodriguez-Kábana <i>et al.</i> 1980			Tomasino & Conway, 1987 ⁵		
	Esperado ²	Obtido ³	Efic. (%) ⁴	Esperado	Obtido	Efic(%)
0	0	0	-	0	0	-
5	0,5	0,2	40	0,25	0	0
10	1	0	0	0,5	0	0
20	2	0,4	10	1	0,2	20
40	4	0,4	10	2	0	0
80	8	2,4	30	4	0,4	10

¹Quantidade de esclerócios adicionados a 500 g de solo

²Quantidade a ser recuperada por alíquota de 50 g de solo

³Número médio de escleródios quantificados após 48 de incubação (5 repetições)

⁴Percentual médio de escleródios quantificados (5 repetições) após 48 h de incubação

⁵ Foi acrescentado ao solo a mistura de 500 g de carvão e composto vegetal em substituição ao composto escuro utilizado pelos autores.

Em casa-de-vegetação a diferença na eficiência entre os isolados 1334 e SF 55 de *Trichoderma* foi bastante evidente (Figura 1). A mortalidade das plantas inoculadas com *S. rolfsii* e tratadas com o isolado 1334 foi de apenas 25 % e nas plantas tratadas com o isolado SF 55, a mortalidade foi de 100 %. Nas plantas inoculadas com *S. rolfsii* e não tratadas com *Trichoderma* a mortalidade foi de 90% e todas as plantas testemunhas sobreviveram. Considerando que a pressão de inóculo a que as plantas foram submetidas foi provavelmente muito mais alta do que a pressão a que elas serão submetidas no campo, o isolado 1334 (*Trichoderma harzianum*) tem grande chance de se manter eficiente no controle da podridão-de-esclerócio. Esse isolado foi selecionado para ser utilizado no experimento de campo.

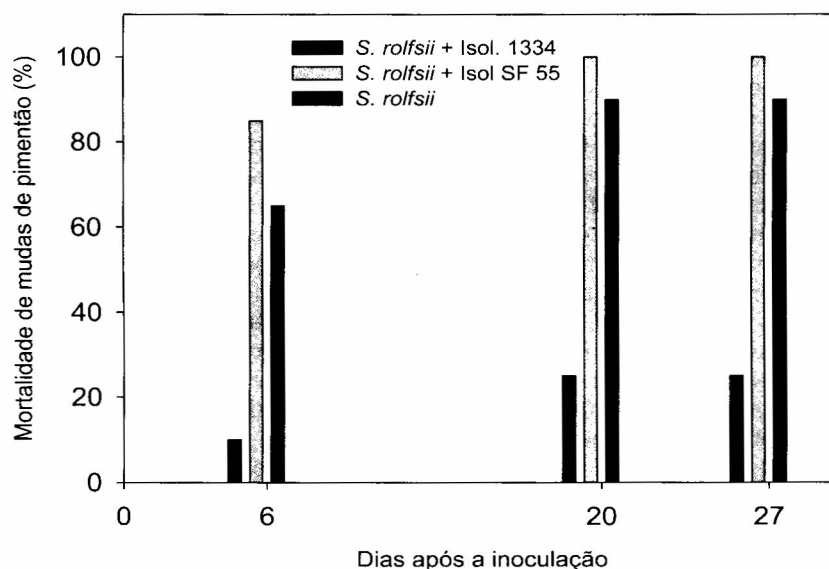


Figura 1. Percentual de plantas de pimentão mortas com sintomas de podridão-de-*Sclerotium* tratadas ou não com os isolados 1334 e SF 55 de *Trichoderma* spp. Os valores do tratamento Testemunha são iguais a zero.

4. Conclusão

A metodologia de Rodriguez-Kábana *et al.* (1980) foi mais eficiente na quantificação da população de escleródios de *Sclerotium rolfsii* em solo.

O isolado de *Trichoderma* sp. 1334 foi eficiente na redução da ocorrência de podridão-de-*Sclerotium* em plantas de pimentão.

5. Referências

Adandonon, A.; Aveling, T.A.S.; Labuschagne, N.; Tamo, M. 2006. Biocontrol agents in combination with *Moringa oleifera* extract for integrated control of *Sclerotium*-caused cowpea damping-off and stem rot. *European Journal of Plant Pathology*, 115 (4): 409-418.

Barros, P.P.; Coelho Netto, R.A.; Hanada, R.E. 2007. Seleção dos isolados de *Trichoderma* spp. antagônicos a *Sclerotium rolfsii*. In: XVI Jornada de Iniciação Científica PIBIC CNPq/FAPEAM/INPA, Anais. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Manaus, Amazonas. p.95.

Lourd, M. 1993. Os principais patógenos das plantas cultivadas na Ilha do Careiro. *Amazoniana* 12(3/4): 565-576.

Mathivanan, N.; Srinivasan, K.; Chelliah, S. 2000. Biological control of soil-borne diseases of cotton, eggplant, okra and sunflower by *Trichoderma viride*. *Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 107 (3): 253-244.

Mishra, R.C.; Singh, R.; Singh, H.B.; Dikshit, A. 2000. *In situ* efficacy of *Trichoderma harzianum* as mycoparasite on *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Tropical Agriculture*, 77 (3): 205-206.

Punja, Z.K., Smith, V.L.; Campbell, C.L.; Jenkins, S.F. 1985. Sampling and extraction procedures to estimate numbers, spatial patterns, and temporal distribution of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* in soil. *Plant Disease*, 69: 469-474.

Punja, Z.K. 1986. Progression of root rot on processing carrots due to *Sclerotium rolfsii* and the relationship of disease incidence to inoculum density. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 8: 297-304.

Rodriguez-Kábana, R.; Backman, P.A.; Wiggins, E.A. 1973. Determination of sclerotial populations of *Sclerotium rolfsii* in soil by a rapid flotation-sieving technique. *Phytopathology* 64: 610-615.

Rodriguez-Kábana, R.; Beute, M. K.; Backman, P.A. 1980. A method for estimating numbers of viable sclerotia of *Sclerotium rolfsii* in soil. *Phytopathology* 70: 917-919.

Tomasino, S.F.; Conway, K.E.; 1987. Spacial pattern, inoculum density-disease incidence relationship, and populacion dynamics of *Sclerotium rolfsii* on apple rootstock. *Plant Disease* 71: 719-724.