



Efeito inibitório de isolados nativos de *Trichoderma* de Laranjeiras do Sul - PR sobre *Sclerotinia Sclerotiorum*

"Inhibitory effect of Native Trichoderma Isolates from Laranjeiras do Sul - PR on Sclerotinia sclerotiorum."

FORNAZARI, Maevi¹; MUNDSTOCK, Lourdes²; FRANZENER, Gilmar³

¹ Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS, fornazarimaevi267@gmail.com; ² Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS, lurdes.mundstock59@gmail.com; ³ Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS, gilmar.franzener@uffs.edu.br

RESUMO EXPANDIDO.

Eixo Temático: Manejo de Agroecossistemas

Resumo: O mofo branco representa uma das principais doenças que acometem plantas cultivadas. O agente causal é o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*. Uma das formas de controle é com o fungo *Trichoderma*. O objetivo do trabalho foi verificar a presença e avaliar o efeito inibitório de isolados de *Trichoderma* nativos de Laranjeiras do Sul/PR sobre o fungo *S. Sclerotiorum*. Foram realizados testes *in vitro* para avaliar a taxa de crescimento dos isolados, pareamento direto com contagem de escleródios, e de avaliação de compostos voláteis sobre *S. sclerotiorum*. Foram obtidos três isolados de *Trichoderma*, sendo que todos apresentaram taxa de crescimento superior a 0,2 cm/h no diâmetro da colônia. Os isolados promoveram efeito direto sobre *S. sclerotiorum*, com inibição total de escleródios pelo isolado T2, e redução drástica com T1 e T3, além de inibição a partir de compostos voláteis. Os resultados demonstram a ocorrência natural de *Trichoderma* com efeito no controle de *S. sclerotiorum*.

Palavras-chave: controle biológico, manejo ecológico, mofo branco, proteção de plantas, biodiversidade.

Introdução

A Agroecologia é um sistema de produção de alimentos limpos, saudáveis, construído de forma participativa, e que respeita todas as formas de vida. A Agroecologia busca reinventar o modelo de produção, através de estratégias sustentáveis que promovam um desenvolvimento rural voltado para a qualidade de vida das atuais e futuras gerações (CAPORAL et al., 2009). Sabe-se que o controle e a prevenção de doenças que acometem as culturas é um grande desafio para a maioria dos produtores, o que faz com que estes recorram aos agrotóxicos, produtos químicos que podem causar diversos danos ao meio ambiente, ao solo, a água, a fauna, e também a saúde humana. Neste contexto, há necessidade da busca por estratégias que visem o controle das doenças em plantas, e que ao mesmo tempo, estejam em harmonia com a natureza.

Uma das possibilidades que vêm se destacando e que promove a sustentabilidade ambiental através da minimização dos impactos negativos gerados por agrotóxicos



é o uso ou otimização de agentes de controle biológico, preferencialmente adaptados às condições ambientais da região. Nesse contexto, se torna importante conhecer sobre a ocorrência natural de potenciais agentes de controle biológico bem como sua eficiência sobre agentes fitopatogênicos. Entre os agentes de controle biológico de doenças de plantas tem se destacado o *Trichoderma* (SILVA et al., 2021), que é um fungo que pode atuar sobre alguns fitopatógenos de importância agrícola, principalmente habitantes do solo (RAJESH et al., 2016,lj3).

Assim, esse trabalho tem por objetivo contribuir na construção do conhecimento agroecológico, buscando verificar a presença natural de *Trichoderma* em área de mata no município de Laranjeiras do Sul-PR bem como avaliar o potencial efeito de isolados no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, agente causal do mofo branco.

Metodologia

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS, campus Laranjeiras do Sul - PR. Os isolados de *Trichoderma* foram obtidos de área de mata nativa localizada no *campus* da UFFS, em Laranjeiras do Sul - PR.

Para verificar a presença e posterior isolamento de *Trichoderma*, primeiramente foi utilizado o método de arroz cozido, indicado para captura dos microrganismos eficientes (EM). Para realizar o procedimento foram seguidas as recomendações contidas no Caderno dos Microrganismos Eficientes (EM), organizado por Bonfim et al. (2011). Para tanto, foram cozidos 700 g de arroz, sem adição de sal e óleo. Em seguida realizou-se a distribuição do material em bandejas de plástico e a identificação das mesmas. Foram distribuídas quatro bandejas de arroz na área de mata nativa situada no *campus* da UFFS. A serrapilheira existente no local foi utilizada para cobrir as bandejas.

Após 15 dias o material foi levado ao laboratório. Além de outros fungos, verificou-se a presença do *Trichoderma* em todas as bandejas, com característico crescimento de coloração verde. Para isolamento esses foram cultivados em placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), em câmara BOD (Biological Oxygen Demand), em escuro a 25°C. A partir das características de crescimento e das colônias foram obtidos três isolados, que foram denominados T1, T2 e T3. A identificação foi realizada a partir de características morfológicas das estruturas vegetativas e reprodutivas dos isolados. O fungo fitopatogênico *Sclerotinia sclerotiorum* foi isolado a partir de material sintomático da alface, obtido do município de Laranjeiras do Sul-PR.

Em um primeiro bioensaio foi realizada avaliação da taxa de crescimento dos isolados. Para tanto, um disco de micélio foi adicionado no centro de placas de Petri de 9 cm de diâmetro, seguida de incubação a 25°C em escuro. Após 24 e 48 horas de incubação foi realizada a medição do diâmetro das colônias. A taxa de crescimento foi determinada pela equação $T = (C48-C24) / (T48-T24)$, onde T é a taxa de crescimento por hora, C é o diâmetro da colônia e T o tempo de avaliação.



Em outro bioensaio foi realizado o pareamento direto, onde foi adicionado um disco de micélio de *S. sclerotiorum* a 0,5 cm da borda da placa de Petri e na outra extremidade da placa foi colocado um disco do isolado de *Trichoderma*. Após 10 dias foi realizada avaliação com escala de Bell et al. (1982). Também foi realizada a contagem dos escleródios formados por *S. sclerotiorum*.

Para avaliar o efeito de compostos voláteis dos isolados de *Trichoderma* sobre *S. sclerotiorum*, foi utilizada placa de Petri com meio BDA vertido no fundo e na tampa da placa. No fungo foi adicionado um disco de micélio de 0,7 cm do isolado de *Trichoderma*, e na tampa um disco de micélio de *S. sclerotiorum*. Após 24h e 48h foi realizada a medição do diâmetro médio das colônias do fitopatógeno através de duas medidas perpendiculares.

Todos experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os resultados obtidos foram submetidos a teste de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade com auxílio do programa Sisvar.

Resultados e Discussão

Considerando a taxa de crescimento micelial, todos os isolados de *Trichoderma* apresentaram crescimento superior a 0,2 cm por hora no diâmetro da colônia, não havendo diferença na taxa de crescimento entre os isolados (Figura 1). No entanto, os isolados T1 e T3 apresentaram crescimento significativamente ($p < 0,05$) maior que o fitopatógeno *S. sclerotiorum*. Os resultados demonstram desenvolvimento vigoroso dos isolados obtidos nesse trabalho. A taxa de crescimento pode variar significativamente entre os isolados (SILVA et al., 2015), mas é uma característica muito importante para eficiência no controle biológico.

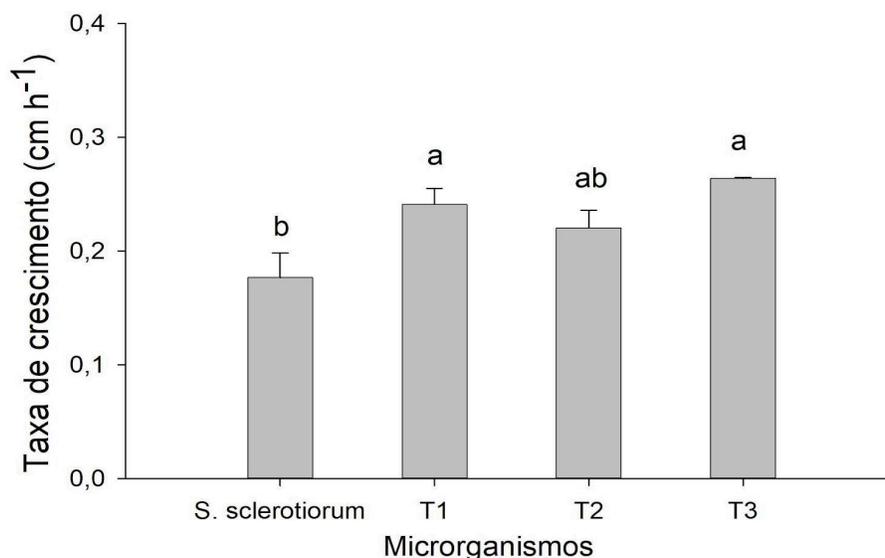


Figura 1. Taxa de crescimento (cm/h) de isolados de *Trichoderma* (T) e *Sclerotinia sclerotiorum* em meio de cultura BDA. Barras seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



No bioensaio de pareamento direto, onde os isolados de *Trichoderma* foram confrontados com o agente causal do mofo branco, observou-se ação inibitória direta sobre o fitopatógeno (Tabela 1).

Tabela 1. Pareamento direto de isolados de *Trichoderma* e *Sclerotinia sclerotiorum* em meio de cultura BDA

Tratamentos	Nota pareamento*	Escleródios formados
Testemunha	5,0 a	35,0 a
TH1	2,0 b	3,4 b
TH2	3,2 b	0,0 b
TH3	2,0 b	1,2 b
CV%	11,35	35,99

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). *Conforme escala de Bell et al. (1982).

Resultados mais expressivos foram observados na inibição da formação de escleródios pelos três isolados, com destaque para o isolado T2 com inibição total (Tabela 1). Os escleródios são importantes estruturas de resistência formados por *S. sclerotiorum*, assim esses resultados promovidos pelo *Trichoderma* são também muito importantes para redução do inóculo do patógeno.

No bioensaio para avaliação de efeito de compostos voláteis emitidos pelos isolados de *Trichoderma* sobre *Sclerotinia sclerotiorum* observou-se inibição do fitopatógeno pelos três isolados (Tabela 2). A inibição ocorreu tanto após 24 horas de incubação, como também em 48 horas, atingindo 51,5% de inibição pelo isolado T3, em relação à testemunha (sem *Trichoderma*).

Tabela 2. Crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* em meio de cultura BDA em presença de compostos voláteis de isolados de *Trichoderma*

Tratamentos	Crescimento micelial (cm)	
	24 horas	48 horas
Testemunha	0,20 a	6,15 a
T1	0,61 b	3,69 b
T2	0,54 b	4,14 b
T3	0,14 b	2,98 b
CV%	4,48	9,44

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Esses resultados indicam que os isolados obtidos podem atuar sobre o fitopatógeno por diferentes mecanismos, envolvendo tanto ação direta como indireta. Embora a eficiência no controle biológico pode variar conforme o isolado, a atuação por diferentes mecanismos é muito importante em uma estratégia para controle de doenças em plantas (RAJESH et al., 2016).



Conclusões

Os isolados de *Trichoderma* apresentaram vigoroso crescimento *in vitro* e significativa ação inibitória sobre *Sclerotinia sclerotiorum*.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS pelo apoio através do Edital 89/GR/UFFS/2022 (PES-2022-0456).

Referências bibliográficas

BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, v. 72, n. 4, p. 379-382, 1982.

BONFIM, F. P. G.; HONÓRIO, I. C. G.; REIS, I. L.; PEREIRA, A. J.; SOUZA, D. B. **Caderno dos microrganismos eficientes (EM)**: instruções práticas sobre uso ecológico e social do EM. Universidade Federal de Viçosa: Departamento de Fitotecnia, 2011, 32p.

CAPORAL, F. R.; PAULUS, G.; CASTOBEBER, J. A.. **Agroecologia: uma ciência do campo da complexidade**. Brasília, 2009. 111p.

RAJESH, R. W.; RAHUL, M. S.; AMBALAL, N. S. *Trichoderma*: A significant fungus for agriculture and environment. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 22, p. 1952–1965, 2016

SILVA, F. A.; VIEIRA, V. O.; SILVA, R. C.; PINHEIRO, D. G.; SOARES, M. A. Introduction of *Trichoderma* spp. biocontrol strains against *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary change soil microbial community composition in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivation. **Biological Control**, v. 163, n. March, 2021.

SILVA, G. B. P. ; HECKLER, L. I.; SANTOS, R. F. DOS; DURIGON, M. R.; BLUME, E. Identificação de utilização de *Trichoderma* spp. armazenados e nativos no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 4, p. 33–42, 2015.