

**EFEITO ANTAGÔNICO DE *Trichoderma* spp. SOBRE O CRESCIMENTO
DE *Sclerotium coffeicola* "IN VITRO".**

MARCOS JOSÉ SALGADO VITAL

Biólogo. Pesquisador do CNPq.

MARIA MENEZES

Prof. Adjunto do Depto. de Agronomia da UFRPE.

SEVERINA TORRES DE BARROS

Prof. Adjunto do Depto. de Micologia da Univ. Fed.
de Pernambuco (UFRPE).

O fungo *Sclerotium coffeicola*, patógeno de plantas frutíferas, florestais e agrícolas, causando os mais variados sintomas, na dependência da cultura envolvida, foi estudado em cultivo pareado com três espécies do gênero *Trichoderma*: *T. harzianum*, *T. viride* e *T. koningii*. Das espécies estudadas, *T. harzianum* e *T. viride* inibiram o crescimento e reprodução de esclerócios de *S. coffeicola*, destacando-se *T. harzianum* por sua maior eficiência no biocontrole do fitopatógeno.

INTRODUÇÃO

O fungo *Sclerotium coffeicola* bull. é um sério patógeno de plantas frutíferas, florestais e agrícolas, causando os mais variados sintomas, dependendo da espécie envolvida, podendo causar o desfolhamento e morte da planta afetada. Além das folhas o fitopatógeno pode atacar flores e botões florais, frutos e ramos, variando o grau de ataque com a suscetibilidade do hospedeiro, entretanto nada se sabe com relação ao controle desse organismo, a despeito de sua ocorrência em uma gama de hospedeiros relativamente ampla. O objetivo deste trabalho foi verificar a possibilidade do controle biológico de *S. coffeicola*, através do emprego de *Trichoderma* spp.

MATERIAL E MÉTODO

O crescimento micelial de *S. coffeicola*, *T. viride*, *T. koningii* e *T. harzianum*, foi determinado pela medição diária do diâmetro da colônia, em intervalos de 24 horas, computadas a partir da inoculação do meio até a colonização de toda a superfície da placa, o cálculo da taxa de crescimento foi feito de acordo com Lilly e Barnett (1951).

A observação do efeito de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento e produção de esclerócios de *S. coffeicola*, em meio BDA, foi feita utilizando-se o método de plaqueamento em culturas pareadas. A avaliação foi feita através de medições de crescimento das colônias dos fungos, iniciada a partir de 24 horas da última inoculação, com delineamento inteiramente casualizado.

RESULTADOS

As taxas de crescimento micelial de diferentes fungos, são apresentadas na Tabela 1.

TABELA 1 - Taxa de crescimento diário para *Trichoderma* spp. e *Sclerotium coffeicola* cultivados em BDA, em condições naturais de luminosidades

F u n g o	Crescimento diário ¹ (mm)
<i>Sclerotium coffeicola</i> (esclerócio)	26,00
<i>T. harzianum</i>	25,00
<i>T. viride</i>	24,50
<i>T. koningii</i>	22,50
<i>S. coffeicola</i> (disco de ágar)	19,67

¹ Médias de três repetições

Pela Tabela 1 observou-se que *S. coffeicola* cresceu mais rápido (26,00 mm/dia), quando inoculado através de esclerócios, em relação ao resultado obtido com disco de ágar (19,67 mm/dia). Por sua vez, *T. harzianum* apresentou uma taxa de crescimento diário superior a *T. viride* e *T. koningii*. Estas espécies mostraram taxas de crescimento diário inferior a de *S. coffeicola*, quando este foi inoculado através de esclerócio, e superior, quando este foi inoculado através do disco de ágar.

Na combinação de *T. viride* e *T. harzianum* vs. *S. coffeicola*, antes do encon-

tro micelial, as colônias de *S. coffeicola* cessaram seu crescimento e os micélios de *T. viride* e *T. harzianum* avançaram para as colônias de *S. coffeicola*, formando um halo de aproximadamente 3 mm de largura, demonstrando a sua capacidade antagônica. Do encontro resultou a produção de uma substância que alterou a coloração de *T. harzianum*, tornando o verso da colônia alaranjada. Com relação à *T. viride*, após a formação do halo houve superposição da colônia do fitopatógeno por este antagonista.

Na cultura pareada de *T. koningii* vs. *S. coffeicola*, após o encontro das colônias, ambas pararam de crescer, sendo formado um delicado halo, com menos de 1 mm de largura, tendo a colônia de *T. koningii* alterado a coloração do meio, do seu lado do pareamento, tornando-o amarelado. Posteriormente, o micélio de *S. coffeicola* tornou-se irregular, formou rizomorfias e se sobrepôs à colônia do *T. koningii*, tornando-a mais escura e brilhante. O aparecimento de pontos brancos e brilhantes, sobre o micélio de *S. coffeicola*, caracterizou o início da produção de esclerócios.

Estes resultados são ilustrados pelas Figuras 1, 2 e 3.

Após 16 dias de incubação, nas culturas pareadas de *T. viride* e *T. harzianum* vs. *S. coffeicola*, observou-se um avanço micelial diário das espécies de *Trichoderma*. Os esclerócios produzidos apresentavam uma camada gelatinosa, brilhante e transparente, mais espessa que as gotículas normalmente produzidas. Constatou-se lise do micélio em algumas áreas da colônia de *S. coffeicola*, principalmente nas parasitadas por *T. harzianum*, que continuou sintetizando a substância alaranjada, agora mais escura.

Na combinação de *T. koningii* vs. *S. coffeicola*, observou-se um avanço diário dos cordões rizomórficos sobre a colônia de *T. koningii*, tornando-a verde-escura e brilhante, e produzindo esclerócios sobre a mesma, os quais possuem em sua superfície pontuações brancas. Ocorreu também lise do micélio de *T. koningii*, em alguns pontos.

Após 30 dias na combinação de *T. viride* e *T. harzianum* vs. *S. coffeicola*, as colônias daqueles cobriram irregularmente as do fitopatógeno, parasitando, inclusive os esclerócios, os quais haviam perdido a camada gelatinosa; *T. harzianum* provocou uma lise total do micélio de *S. coffeicola*, enquanto que *T. viride*, provocou uma lise menos acentuada.

Na cultura pareada de *T. koningii* vs. *S. coffeicola*, este ocupa irregularmente, através dos cordões rizomórficos, toda a superfície da colônia, produzindo esclerócios regularmente, inclusive sobre o disco de ágar, inóculo inicial de *T. koningii*, e sobre ele próprio.

Quando parasitados por *T. viride* e *T. harzianum*, os esclerócios de *S. coffeicola* sofreram uma redução de aproximadamente 50% na sua produção, sem ser alterado o seu tamanho, tiveram apresentando ainda a coloração e esverdeada, a princípio, e, posteriormente, marrom-escuro. A consistência antes, dura e compacta, tornou-se mole e oca. Por sua vez, quando plaqueados, em BDA, não germinaram, o mesmo não ocorrendo com os esclerócios produzidos no pareamento *T. koningii* vs. *S. coffeicola*, que germinaram, embora, às vezes infectadas.

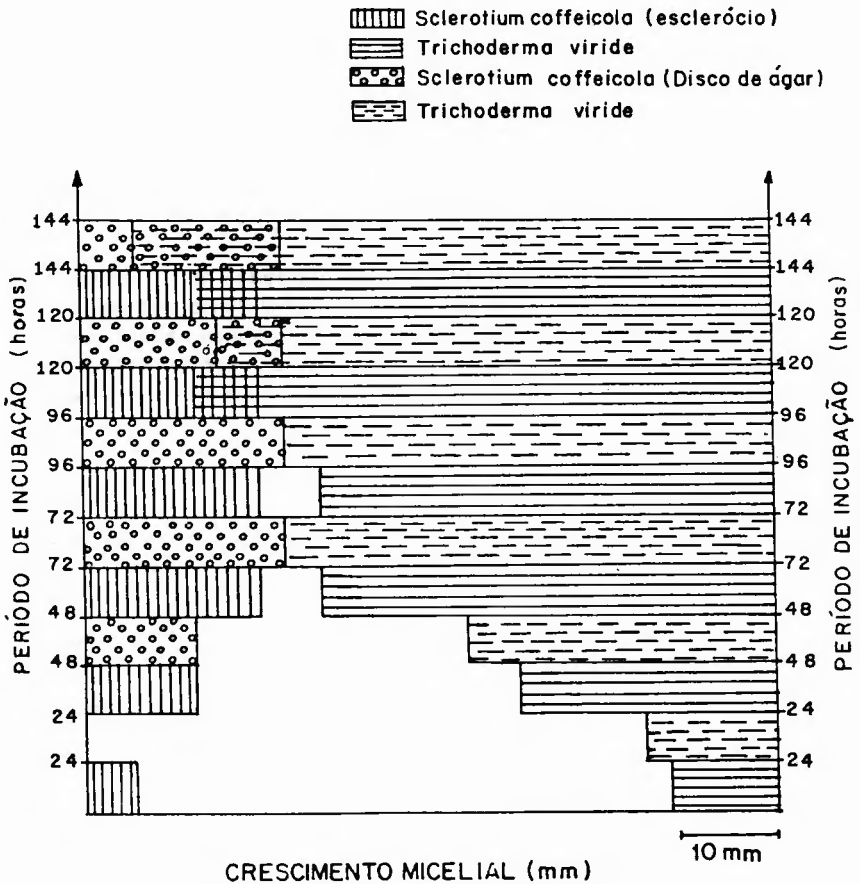


FIGURA 1 - Antagonismo entre *S. coffeicola* e *T. viride* em cultura pareada
 A - Representação Gráfica

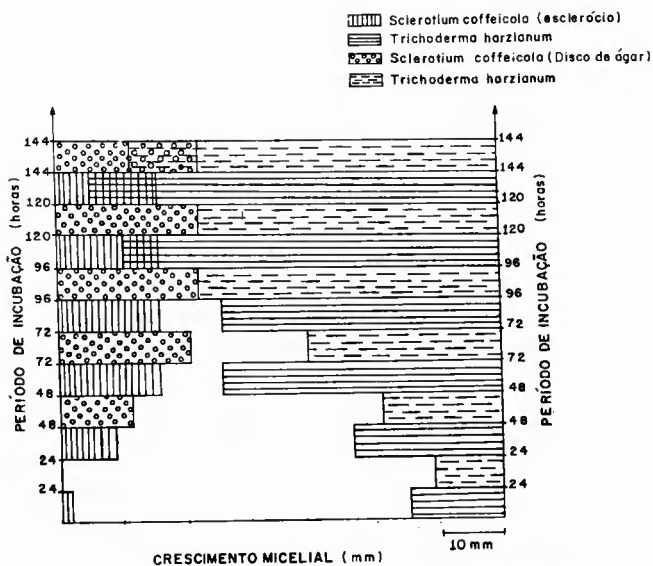


FIGURA 2 - Antagonismo entre *S. coffeicola* e *T. harzianum* em cultura pareada
A - Representação Gráfica

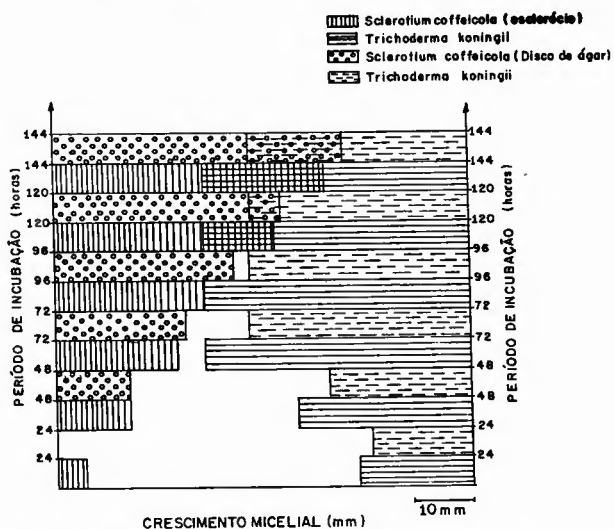


FIGURA 3 - Antagonismo entre *S. coffeicola* e *T. koningii* em cultura pareada
A - Representação Gráfica

DISCUSSÃO

A velocidade de crescimento micelial do *S. coffeicola* inoculado através de esclerócio, foi superior a do inoculado através do disco de ágar, estando estes resultados em consonância com os obtidos por Saccas (1957). Já no estudo da velocidade de crescimento de *Trichoderma* spp., observou-se que *T. hazianum* apresentou a melhor taxa de crescimento entre eles, seguido por *T. viride* e *T. koningii*, nesta ordem. Elad, Chet e Katan (1980) e Wang (1989), obtiveram resultados semelhantes ao do crescimento micelial do *T. harzianum*, entretanto, estes autores revelaram uma ordem inversa na classificação da velocidade de crescimento das outras duas espécies. Este fato pode ser explicado pela utilização de isolados diferentes do mesmo fungo, e também do ambiente, onde o trabalho foi desenvolvido.

Com relação ao potencial antagônico de *Trichoderma* spp. a *S. coffeicola*, foi observado uma vantagem daquelas espécies sobre o fitopatógeno, no processo de competição por nutrição e espaço, devido ao crescimento mais rápido de *Trichoderma* spp., quando pareados. Provavelmente, além do crescimento mais rápido tenha ocorrido a liberação, por *Trichoderma* spp., de metabólitos no meio de cultura, causando a inibição do crescimento de *S. coffeicola*. É fato conhecido que *Trichoderma* spp. tem capacidade de produzir antibióticos, principalmente trichodermin, viridin, egliotoxin, além de enzimas e outros produtos tóxicos.

É importante ressaltar que *T. harzianum* mostrou melhor ação antagônica a *S. coffeicola*, provocando lise total do micélio e parasitismo dos esclerócios, que se tornaram destruídos internamente (ocos), escuros e facilmente desintegráveis não germinando quando plaqueados em BDA. Isto sugere que a ação parasitária se manifestou através da decomposição do material celular do interior do esclerócio.

Levando-se em consideração os trabalhos de alguns pesquisadores, entre eles, Figueiredo e Medeiros (1978), Elad, Chet e Katan (1980), Hennis et al. (1983) e Wang (1989), no que se refere ao parasitismo de *T. harzianum* a *S. rolfsii*, observam-se semelhanças nos resultados.

A ação antagônica verificada entre *T. viride* e *S. coffeicola*, revelou-se menos acentuada em comparação a *T. harzianum*, havendo lise apenas parcial do micélio, porém o parasitismo dos esclerócios foi idêntico. Segundo Dennis e Webster (1971), *T. viride* é capaz de produzir o antibiótico trichodermin, inibidor do crescimento, e conforme Wu (1982), este fungo tem a capacidade de penetrar e parasitar as hifas de *Sclerotinia sclerotium*. Wang (1989) constatou a lise do micélio de *S. rolfsii*, após 22 dias de incubação.

Embora *T. koningii* tenha sido destacado por Wang (1989) como o antagonista mais promissor contra *S. rolfsii*, este efeito foi inverso em relação à *S. coffeicola*, que produziu cordões rizomórficos, superpondo com vigor a colônia do *T. koningii*, que teve alterada a coloração do seu micélio e mostrou a ocorrência de lise parcial. Considerando-se Punja (1985), a formação de cordões rizomórficos também pode ser induzida no parreamento com *T. harzianum*, embora a significância deste fenômeno seja desconhecida. Durante o experimento foi observada uma pigmentação do meio, o qual se tornou amarelado. Choudhury e Oliveira (1985) verificaram, através de estudos, em culturas pareadas, empregando 49 isolados de *Trichoderma* spp. vs. *S. rolfsii*, que os isolados que alteraram a coloração do meio para amarelada, não apresentavam qualquer efeito antagônico ao fitopatógeno.

A diferença de ação entre um antagonista e fitopatógenos, de mesmo gênero ou mesma espécie, é explicada, de acordo com Wells e Bell (1986) e Bell (1982), pelo fato de haver variação no potencial antagônico de espécie para espécie e de isolado para isolado, dentro da mesma espécie.

CONCLUSÕES

A taxa de crescimento de *S. coffeicola* foi superior a de *Trichoderma* spp., quando cultivado isoladamente e inferior quando em culturas pareadas.

As espécies, *T. harzianum* e *T. viride* exerceram efeito antagônico contra *S. coffeicola*, destacando *T. harzianum*, por sua maior ação.

ABSTRACT

The fungus *Sclerotium coffeicola*, pathogen of fruit, forest and agricultural crops, causing a variety of symptoms, depending on the crop involved, was studied in dual culture with species of *Trichoderma*, *T. harzianum*, *T. viride* and *T. koningii*. Among the species studied, *T. harzianum* and *T. viride* inhibited growth and reproduction of sclerotia of *S. coffeicola*, detaching *T. harzianum* with its greatest efficiency in the biocontrol of the phytopathogen.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six plant pathogens. *Phytopathology*, St. Paul, v. 72, n. 4, p. 379-382, Apr. 1982.
- 2 CHOUDHURY, M. M.; OLIVEIRA, J. S. Ação antagônica dos isolados de *Trichoderma* spp. *Sclerotium rolfsii* "in vitro". *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 2, n. 10, p. 298, 1985.

- 3 DENNIS, G.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. III. Hyphal interaction. *Transactions of the British Mycological Society*, London, v. 57, n. 3, p. 363-369, 1971.
- 4 ELAD, Y.; CHET, I.; KATAN, J. *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, St. Paul, v. 70, n. 1, p. 119-121, Jan. 1980.
- 5 FIGUEIREDO, J. M.; MEDEIROS, A. G. Parasitismo de *Trichoderma* sp. sobre esclerócios de *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 2, n. 3, p. 116, 1978.
- 6 HENNIS, Y.; ADAMS, P. B.; LEWIS, J. A. et al. Penetration of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, St. Paul, v. 73, n. 7, p. 1043-1046, July, 1983.
- 7 LILLY, V. G.; BARNETT, H. L. *Physiology of the fungi*. New York: McGraw-Hill, 1951. p. 65-86: Essential metallic elements.
- 8 PUNJA, Z. K. The biology, ecology, and control of *Sclerotium rolfsii*. *Annual Review Phytopathology*, Palo Alto, n. 23, p. 97-127, 1985.
- 9 SACCAS, A. M. La maladie des taches zonées de *Coffea excelsa* en Oubangui-Chari, due à *Sclerotium coffeicola* Stah. *Revue de Mycologie*, Paris, v. 22, p. 65-84, 1957.
- 10 WANG, S. L. Caracterização cultural, morfológica e patogênica de *Sclerotium rolfsii* Sacc. e seu biocontrole por *Trichoderma* spp "in vitro" e "in vivo". Recife, 1989. 139 p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) - Universidade Federal Rural de pernambuco, 1989.
- 11 WELLS, H. D.; BELL, D. K. Variable antagonist reaction "in vitro" of *Trichoderma harzianum* against several pathogens. *Phytopathology*, St. Paul, v. 76, p. 518-521, 1986.
- 12 WU, W. S. Seed treatment by applying *Trichoderma* spp. to increase the emergence of soybeans. *Seed Science and Technology*, Wageningen, v. 10, p. 577-563, 1982.

Recebido parra publicação em 15 de julho de 1992