

# REVISTA DE CIÊNCIAS**AGRÁRIAS** *Amazonian Journal*

of Agricultural and Environmental Sciences

www.ajaes.ufra.edu.br



http://dx.doi.org/10.4322/rca.nc1035

Ricardo Feliciano dos Santos<sup>1\*</sup> Elena Blume<sup>2</sup> Leise Inês Heckler<sup>2</sup> Juceli Müller<sup>2</sup> Gerarda Beatriz Pinto da Silva<sup>3</sup> Marlove Fátima Brião Muniz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo – USP, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – ESALQ, Departamento de Fitopatologia, Avenida Pádua Dias, 11, 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil <sup>2</sup>Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Departamento de Defesa Fitossanitária, Avenida Roraima, 1000, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil

<sup>3</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Departamento de Fitotecnia, Avenida Bento Gonçalves, 7712, 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil

#### Autor Correspondente:

\*E-mail ricardofelicianodossantos@gmail.com

## PALAVRAS-CHAVE

Controle biológico Controle físico Mofo branco

### **KEYWORDS**

Biological control Physical control White mold NOTA CIENTÍFICA

Solarização do solo associada à aplicação de *Trichoderma* spp. no controle de *Sclerotinia* sclerotiorum

Soil solarization associated with application of Trichoderma spp. in control of Sclerotinia sclerotiorum

RESUMO: O efeito da solarização do solo associada à aplicação de *Trichoderma* spp. foi estudado em parcelas, em campo aberto, para verificar a eficiência na redução da viabilidade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. Escleródios do patógeno foram colocados em bolsas de nylon e enterrados a 5 cm de profundidade, em parcelas solarizadas e não solarizadas, com e sem *Trichoderma* spp., por períodos de 0, 12, 24, 36 e 48 dias. Ao zero dia (tratamento controle), 100% dos escleródios estavam viáveis. Em parcelas apenas solarizadas, a germinação foi de 60 e 35%, aos 12 e 48 dias, respectivamente. No desdobramento solarização *vs. Trichoderma* spp., escleródios depositados em parcelas solarizadas com aplicação de *Trichoderma* spp. tiveram germinação de 38%, enquanto parcelas sem solarização e ausência da aplicação de *Trichoderma* spp. apresentaram germinação de 79%. A solarização associada à *Trichoderma* spp. foi eficiente na redução da viabilidade de *S. sclerotiorum*.

ABSTRACT: The effect of soil solarization associated with the application of Trichoderma spp. was studied in open field plots to verify the effectiveness in reducing the viability of sclerotia of Sclerotinia sclerotiorum. Sclerotia of the pathogen were placed in nylon bags and buried at 5 cm depth in solarized and non-solarized plots, with and without Trichoderma spp., for periods of 0, 12, 24, 36 and 48 days. At day zero (control), 100% of sclerotia were viable. In just solarized plots, germination was 60 and 35% after 12 and 48 days, respectively. In the unfolding solarization vs Trichoderma spp., sclerotia deposited in solarized plots with application of Trichoderma spp. presented 38% germination, while plots without solarization and lack of application of Trichoderma spp. showed germination of 79%. Solarization associated with Trichoderma spp. was effective in reducing the viability of S. sclerotiorum.

Recebido: 13/03/2013 Aceito: 25/04/2014

# 1 Introdução

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary é um fungo de ampla ocorrência em todo o mundo, tendo como hospedeiras mais de 400 espécies de plantas (Bolton et al., 2006). Patógeno habitante de solo, que causa a doença conhecida como mofo branco, e cujos sintomas se caracterizam pela podridão úmida coberta por micélio branco, de aspecto algodonoso, na superfície do solo e/ou no tecido do hospedeiro, produzindo, eventualmente, estruturas de resistência denominadas de escleródios. Essas estruturas asseguram a presença do patógeno nos solos por vários anos, dificultando o controle por meio da rotação de culturas. Para a grande maioria das culturas, não há disponibilidade de cultivares resistentes, e o controle químico nem sempre apresenta eficiência.

O patógeno causa perdas significativas na produtividade em várias culturas. Na Colômbia, as perdas em alface flutuam entre 20 e 70% (Gil et al., 2009). Cerca de 80% de plantas de salsinha, 80% de coentro e 70% de cenoura, inoculadas com *S. sclerotiorum*, morreram até dez dias após inoculação (Reis; Nascimento, 2011). A incidência do mofo branco é favorecida pela alta densidade de plantio, períodos prolongados de precipitação, elevada umidade do ar e temperaturas amenas.

Os fungos do gênero *Trichoderma* são de grande importância econômica para a agricultura, uma vez que são capazes de atuar como agentes de controle de patógenos de várias espécies de plantas cultivadas, além de ser promotores de crescimento e indutores de resistência de plantas a doenças. Diversas espécies de *Trichoderma* têm sido relatadas com agentes potencias de biocontrole de fungos de solo fitopatogênicos, incluindo *S. sclerotiorum* (Figueirêdo et al., 2010), sendo *Trichoderma harzianum* a espécie mais estudada.

A solarização do solo é um método físico usado para erradicar patógenos de solo, artrópodes, nematóides e sementes de plantas daninhas. Esse método apresenta vantagens, como baixo custo, facilidade de instalação e uso de energia renovável, além de ser eficaz no controle de micro-organismos. O método consiste na cobertura do solo úmido com filme de polietileno transparente durante os meses mais quentes do ano, com o objetivo de elevar a temperatura das camadas superficiais do solo em níveis de inativação de grande número de patógenos. Este solo deve estar previamente umedecido para ocorrer a transferência de calor para os micro-organismos, inativando ou inibindo o crescimento de fitopatógenos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da combinação da solarização e da aplicação de *Trichoderma* spp. na viabilidade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*.

## 2 Material e Métodos

Este trabalho foi realizado na área experimental do Setor de Fitopatologia do Departamento de Defesa Fitossanitária (DFS) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Rio Grande do Sul, Brasil, durante o período de 20 de fevereiro a 9 de abril de 2009. As coordenadas geográficas da área experimental são: latitude: 29°43'S; longitude: 53°42'W, e altitude: 95 m.

O isolado de *S. sclerotiorum* foi obtido de plantas de pepineiro (*Cucumis sativus* L.), provenientes de estufa plástica do DFS. As hastes das plantas apresentavam grande número de escleródios do patógeno. Os escleródios foram então

removidos das plantas e, em seguida, realizou-se assepsia (banho em álcool 70%, solução de hipoclorito a 0,5% e três banhos em água destilada e esterilizada, sendo cada banho por um minuto). Escleródios foram colocados em Placas de Petri, contendo 20 mL de meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) acrescido de 0,03 g L<sup>-1</sup> de sulfato de estreptomicina, e incubados a 20 °C (±2°C) e fotoperíodo de 12 h durante 15 dias, para multiplicação dos escleródios e posterior instalação do experimento.

O experimento em parcelas em campo aberto foi conduzido em delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições, em esquema trifatorial, no qual foram avaliados os seguintes aspectos: solarização do solo (com e sem solarização), uso de Trichoderma spp. (com e sem Trichoderma spp.) e diferentes tempos de avaliação [zero dia (tratamento controle), 12, 24, 36 e 48 dias)]. As parcelas de 1,5 m<sup>2</sup> foram umedecidas até a capacidade de campo, antes da instalação do ensaio. Nas parcelas em que foi testado Trichoderma spp., foram aplicados 200 mL de suspensão conidial/parcela, produto comercial Trichodel® (Trichoderma harzianum, Trichoderma viride/atroviride, Trichoderma viride), diluído na proporção de 3 mL L-1 de água do produto comercial, totalizando 3×106 esporos mL⁻¹ de suspensão. Já nas parcelas em que não foi utilizado o agente de biocontrole, foram aplicados somente 200 mL de água destilada e esterilizada. Posteriormente, foram colocados, no centro de cada parcela, 20 escleródios em bolsa de nylon (5 × 5 cm), sendo enterrada a uma profundidade de 5 cm. As parcelas que receberam a solarização foram recobertas com um filme de polietileno transparente de 100 um de espessura, cujas bordas foram enterradas para que não ocorresse perda de calor, enquanto que, nas demais parcelas, o solo não foi recoberto.

A cada período de avaliação – 0, 12, 24, 36 e 48 dias – os escleródios foram retirados das parcelas, levados ao laboratório e submetidos à assepsia (conforme descrito anteriormente). Em seguida, os escleródios foram transferidos para Placas de Petri contendo meio de cultura BDA acrescido de 0,03 g L<sup>-1</sup> de sulfato de estreptomicina e incubados a 20 °C (±2°C) e fotoperíodo de 12 h por 15 dias. Verificou-se, então, a presença do micélio característico do patógeno, critério este utilizado para indicar a viabilidade dos escleródios.

Para a análise estatística, os dados foram checados quanto ao atendimento dos pressupostos matemáticos e submetidos à transformação  $\sqrt{(x+1)}$ . Os dados qualitativos foram submetidos ao teste de Tukey a 5% de probabilidade, enquanto que, os quantitativos, ao teste de regressão polinomial, sendo escolhido o modelo com base no coeficiente de determinação (R²). Para as análises, utilizou-se o *software* SISVAR 5.3 (Sistema de Análise de Variância Para Dados Balanceados) (Ferreira, 2010).

# 3 Resultados e Discussão

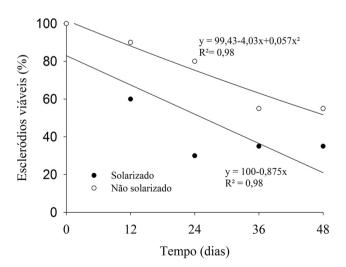
A análise da variância revelou efeito não significativo para a interação tripla e, então, os dados foram desdobrados em esquema bifatorial. Para blocos, não houve efeito significativo. Para solarização vs. dias de avaliação, a interação foi significativa (Figura 1). Escleródios ao zero dia estavam 100% viáveis; aos 12 dias, 60% dos escleródios, em parcelas

v. 57, n. 3, jul./set. 2014

solarizadas, germinaram, enquanto que, nas parcelas não solarizadas, esse valor foi de 90%. Em parcelas solarizadas, a germinação dos escleródios foi de 30, 35 e 35%, aos 24, 36 e 48 dias, respectivamente. A redução da viabilidade de escleródios após a solarização do solo na presença de cobertura morta (milho, milheto, feijão, niger e quinoa) também é relatada em trabalho de Ferraz et al. (2003). A redução na germinação está principalmente associada à temperatura alcançada no perfil do solo. O maior aquecimento do solo na superfície, devido aos ciclos diários de aquecimento e resfriamento, afeta os patógenos de solo (Devay; Katan, 1991), o que pode ter ocorrido também nas parcelas não solarizadas, nas quais houve redução de 45 pontos percentuais na viabilidade dos escleródios.

Em casa de vegetação, a solarização em coletor solar de substrato pré-infestado com Phytophthora parasitica, para produção de mudas de porta-enxerto de citros, promoveu um aumento no peso de parte aérea, no peso de raiz e na altura de plantas, quando comparado com o tratamento testemunha, com substrato inoculado e não solarizado (May-de Mio et al., 2002). Estudo no ano de 2003, em campos de trigo, no Arizona, com teliósporos de Tilletia indica, verificou que, aos 28 dias de solarização, os teliósporos não germinaram mais a 5 cm de profundidade no perfil do solo (Peterson et al., 2008). O número de dias com temperaturas acima de 60 °C, durante no mínimo 90 minutos, no solo solarizado, é elevado, principalmente nas profundidades de 2 e 5 cm, ocorrendo esporadicamente temperaturas superiores a 55 °C na profundidade de 10 cm em solo no interior de estufa plástica, em Santa Maria-RS, Brasil (Veiga et al., 1998).

O arranjo bifatorial *Trichoderma* spp. vs. dias de avaliação foi significativo. A maior amplitude de valores de germinação de escleródios foi observada aos 12 dias em parcelas em que foi aplicado *Trichoderma* spp.; as parcelas que receberam o agente de biocontrole tiveram valores de 40% de germinação de escleródios de *S. sclerotiorum* e, na sua ausência, foi de 90% (Figura 2). Após 36 dias, os valores de germinação – tanto em parcelas em que foi aplicado *Trichoderma* spp. como nas que



**Figura 1.** Efeito da solarização sobre a viabilidade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* (p < 0.05).

não se aplicou – estabilizaram. Hoyos-Carvajal et al. (2008) sugerem que a capacidade de micoparasitismo de espécies de *Trichoderma* varia de acordo com o patógeno. Micoparasitas necrotróficos, como *Trichoderma* spp., têm sido considerados eficazes no controle de fitopatógenos, principalmente aqueles formadores de estruturas de resistência.

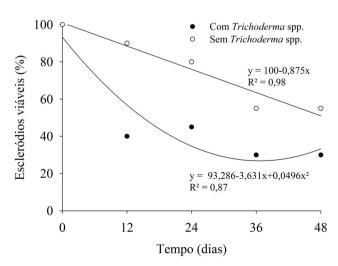
Em todos os períodos, as parcelas que não foram solarizadas obtiveram médias menores de controle de S. sclerotiorum. A solarização associada ao ingrediente ativo procimidona e Trichoderma koningiopsis reduziu a incidência de mofo branco em alface (Gil et al., 2009). Neste trabalho, houve interação significativa entre a aplicação de *Trichoderma* spp. vs. solarização (Tabela 1). A aplicação do antagonista em parcelas não solarizadas reduziu em 27% a germinação dos escleródios, demonstrando uma forma de controle da doença em solos cultivados em que é inviável a implantação desse tipo de controle físico, devido à grande extensão de área. Entretanto, a aplicação de Trichoderma spp. - tanto em parcela solarizada quanto não solarizada – não apresentou diferença significativa. Em parcelas em que não houve aplicação de Trichoderma spp., a solarização reduziu em 30% a viabilidade das estruturas de resistência de S. sclerotiorum.

Dados obtidos em ensaios de solarização em que é utilizado solo infestado ou contendo propágulos de patógenos dispostos em bolsas de nylon e enterrados em diversas profundidades necessitam ser analisados com cautela (Katan, 1996). Porém, esses dados podem fornecer informações importantes em relação ao período do ano ideal para o controle, ao tempo

**Tabela 1.** Efeito da aplicação de *Trichoderma* spp. associada à solarização do solo.

Trichoderma spp.	Solarizado	Não solarizado
Com	38* aA	52 bA
Sem	49 aB	79 aA
CV (%)	46,79	

<sup>\*</sup>Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente, segundo o teste de Tukey (p < 0.05).



**Figura 2.** Efeito de *Trichoderma* spp. sobre a viabilidade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* (p < 0.05).

324 Revista de Ciências Agrárias

necessário para o controle do patógeno e à sensibilidade do patógeno à temperatura.

Coniothyrium minitans e Trichoderma spp. são considerados os agentes de biocontrole mais importantes no controle biológico de *S. sclerotiorum* (Adams; Ayers, 1979). *Trichoderma* spp. mostrou-se eficiente no controle *in vitro* de *S. sclerotiorum*: de um total de 230 isolados de *Trichoderma* spp. de diferentes agroecossistemas, 111 inibiram o crescimento micelial do patógeno (Louzada et al., 2009).

Em todas as parcelas, houve a presença de micro-organismos sobre os escleródios (dados não apresentados), os quais podem estar associados ao controle biológico, como os gêneros fúngicos Aspergillus, Fusarium, Penicillium e Trichoderma, além de bactérias. A solarização aumenta a população de micro-organismos termotolerantes, como Aspergillus spp., Fusarium spp., Penicillium spp., Trichoderma spp., Bacillus spp. e Pseudomonas fluorescens (Katan; Devay, 1991).

## 4 Conclusões

A solarização em parcelas, em campo aberto, associada ao uso de *Trichoderma* spp. é eficiente para reduzir a viabilidade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, o que comprova a associação eficiente do controle físico com o controle biológico.

## Referências

ADAMS, P. B.; AYERS, W. A. Ecology of *Sclerotinia* species. *Phytopathology*, v. 69, p. 896-898, 1979.

BOLTON, M. D.; THOMMA, B. P. H. J.; NELSON, B. D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. *Molecular Plant Pathology*, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2006. Disponível em: <ttp://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1364-3703.2005.00316.x/abstract>.

DEVAY, J. E.; KATAN, J. Mechanisms of pathogen control in solarized soils. In: KATAN, J.; DEVAY, J. E. *Soil solarization*. Florida: CRC Press, 1991. p. 87-101. (Cap. 7).

FERRAZ, L. C.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L.; NASSER, L. C. Viabilidade de *Sclerotinia sclerotiorum* após a solarização do solo na presença de cobertura morta. *Fitopatologia Brasileira*, v. 28, n. 1, p. 17-26, 2003. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582003000100003

FERREIRA, D. F. Sisvar versão 5.3 (Build 75). Lavras: UFLA, 2010.

FIGUEIRÊDO, G. S.; FIGUEIRÊDO, L. C. D.; CAVALCANTI, F. C. N.; SANTOS, A. C. D.; COSTA, A. F. D.; OLIVEIRA, N. T. D. Biological and chemical control of *Sclerotinia sclerotiorum* using *Trichoderma* spp. and *Ulocladium atrum* and pathogenicity to bean plants. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 53, n. 1, p. 1-9, 2010. http://dx.doi.org/10.1590/S1516-891320100001000010001000010

GIL, R.; SMITH, A.; CHAVES, B.; WYCKHUYS, K.; FORERO, C.; JIMÉNEZ, J. Combined efficacy assessment of soil solarization and bio-fungicides for management of *Sclerotinia* spp. in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Agronomía Colombiana*, v. 27, n. 2, p. 193-201, 2009.

HOYOS-CARVAJAL, L.; CHAPARRO, P.; ABRAMSKY, M.; CHET, I.; ORDUZ, S. Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani y Sclerotium rolfsii* bajo condiciones *in vitro* y de invernadero. *Agronomia Colombiana*, v. 26, n. 6, p. 451-458. 2008.

KATAN, J. Soil solarization: integrated control aspects. In: HALL, R. (Ed.). *Principles and practices of managing soilborne plant pathogens*. St. Paul: APS Press, 1996. p. 213-236.

KATAN, J.; DEVAY, J. E. Soil solarization: historical perspectives, principles and uses. In: KATAN, J.; DEVAY, J. E. *Soil solarization*. (Eds.). Boca Raton: CRC Press, 1991. p. 23-37.

LOUZADA, G. A. S.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; LOBO JÚNIOR, M.; MARTINS, I.; BRAÚNA, L. M. Antagonist potential of *Trichoderma* spp. from distinct agricultural ecosystems against *Sclerotinia sclerotiorum* and *Fusarium solani*. *Biota Neotropica*, v. 9, n. 3, p. 145-149, 2009. http://dx.doi.org/10.1590/S1676-06032009000300014

MAY-DE MIO, L. L.; GHINI, R.; KIMATI, H. Solarização para controle de *Phytophthora parasitica* em mudas de citros. *Fitopatologia Brasileira*, v. 27, n. 3, p. 254-258, 2002. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582002000300003

PETERSON, G. L.; KOSTA, K. L.; GLENN, D. L. Utilization of soil solarization for eliminating viable *Tilletia indica* teliospores from Arizona wheat fields. *Plant disease*, v. 92, n. 12, p. 1604-1610, 2008. http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-92-12-1604

REIS, A.; NASCIMENTO, W. M. New apiaceous hosts of *Sclerotinia sclerotiorum* in the Cerrado region of Brazil. *Horticultura Brasileira*, v. 29, n. 1, p. 122-124, 2011. http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362011000100021

VEIGA, V. V.; SCHNEIDER, F. M.; HELDWEIN, A. B.; BURIOL, G. A. Efeito da solarização no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e na modificação da temperatura do solo em estufa plástica. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, v. 6, n. 2, p. 151-156, 1998.

Contribuição dos autores: Ricardo Feliciano dos Santos: realizou os experimentos e a escrita científica; Elena Blume: contribuiu com a escrita científica e com a revisão ortográfica e gramatical do trabalho; Leise Inês Heckler: contribuiu na execução do experimento; Juceli Müller: contribuiu na execução do experimento; Gerarda Beatriz Pinto da Silva contribuiu na análise estatística; Marlove Fátima Brião Muniz: contribuiu com a redação científica.

**Agradecimentos:** À Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil, pelo apoio e pela disponibilização da infraestrutura.

Fonte de financiamento: Não houve fonte de financiamento.

Conflito de interesse: Os autores declaram não haver conflito de interesse.

v. 57, n. 3, jul./set. 2014