

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

RUBENS DA SILVA NETO

**INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Sclerotium cepivorum*, POR
DIFERENTES FUNGICIDAS E *Trichoderma* spp.**

**Uberlândia – MG
Julho 2007**

RUBENS DA SILVA NETO

**INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Sclerotium cepivorum*, POR
DIFERENTES FUNGICIDAS E *Trichoderma* spp.**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao curso de Agronomia, da
Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Engenheiro
Agrônomo.

Orientador: Fernando César Juliatti

**Uberlândia – MG
Julho 2007**

RUBENS DA SILVA NETO

**INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Sclerotium cepivorum*, EM
DIFERENTES FUNGICIDAS E *Trichoderma* spp.**

Trabalho conclusão de curso
apresentado ao curso de Agronomia,
da Universidade Federal de
Uberlândia, para obtenção do grau de
Engenheiro Agrônomo.

Aprovado pela Banca Examinadora em 04 de julho de 2007

Prof. Dr.Fernando César Juliatti
(Orientador)

Eng. Agrônomo Riccely Ávila Garcia
(Membro da Banca)

M.Sc. Juliana Araújo Santos Martins
(Membro da Banca)

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos aos meus pais Sebastião e Nivalda, que são os principais responsáveis pelas minhas conquistas, aos meus familiares e amigos que sempre apoiaram as minhas decisões e torcem por mim, e agradeço principalmente a Deus que tornou tudo isso possível.

Ao professor Fernando César Juliatti pela oportunidade dada a mim de ter conduzido este trabalho e pelo aprendizado adquirido. Ao mestrando Riccely Ávila Garcia e todo o pessoal do Laboratório de Micologia e Proteção de Plantas por fornecer todo o apoio estrutural, técnico e moral. Agradeço também aos meus amigos da 34ª turma de agronomia, em especial Estevão, Daniel, João Vitor por estarem sempre prontos para colaborar.

RESUMO

Sclerotium cepivorum é um fungo de solo e seu controle com o uso de fungicidas é difícil de ser realizado. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de diferentes tratamentos na inibição do crescimento micelial do patógeno. Foram utilizados discos de micélio, com 0,6 cm de diâmetro, que foram transferidos para placas de Petri contendo BDA + a concentração dos tratamentos. Os tratamentos utilizados foram: Procimidone (50 e 100 ppm), Metalaxyl-M (50 e 100 ppm), Fluazinan (50 e 100 ppm), Quintozene (50 e 100ppm), Tebuconazole (50 e 100 ppm), Tiofanato Metílico (50 e 100 ppm), Iprodione (50 e 100 ppm), Pencycuron (80 e 160 ppm), *Trichoderma* spp (50, 80, 100 e 160 ppm) e Testemunha. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com 21 tratamentos e 5 repetições. As avaliações foram realizadas 48 horas após a incubação com medições diárias (cm) até o 5º dia. Realizou-se a análise de variância e aplicou-se o teste de Scott-Knott à 5% para comparação entre médias. Os tratamentos que apresentaram maior eficácia foram: Fluazinan a 50 e 100 ppm, Iprodione a 50 e 100 ppm, Procimidone a 50 e 100 ppm, Tebuconazole a 50 e 100 ppm, que inibiram o crescimento micelial do patógeno.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	7
2 REVISÃO DE LITERATURA	8
2.1 Biologia de <i>Sclerotium cepivorum</i>	8
2.2 Controle da Podridão Branca.....	9
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.1 Preparação das placas	10
3.2 Locação das placas e avaliações.....	11
3.3 Produtos utilizados e Delineamento experimental	11
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
5 CONCLUSÕES	16
REFERÊNCIAS	17

1 INTRODUÇÃO

A podridão-branca do alho, causada por *Sclerotium cepivorum*, é de ocorrência generalizada nos Estados de São Paulo, Rio Grande do Sul e Minas Gerais. Neste último, principalmente, em alguns municípios da Região Sul, tem ocorrido perdas de até 100% da cultura, face as altas infestações do solo por escleródios. Em muitos casos tem levado ao abandono das áreas de plantio (KIMATI, 1980; JACCOUD et al., 1985). O principal propágulo do fungo são os escleródios que podem permanecer no solo por 20 ou mais anos, mesmo na ausência de plantas hospedeiras (COLEY-SMITH et al., 1990). A população de escleródios necessários para provocar elevada incidência de podridão-branca é normalmente pequena. No Brasil, trabalhando em áreas com populações de 0,01 a 3,1 escleródios por grama de solo seco, verificaram que a proporção cumulativa de incidência da doença aproximou-se de 1,0 no final do ciclo da cultura (RESENDE; ZAMBOLIM 1987). Dentre os vários fatores que contribuem para a baixa produtividade da cultura do alho no Brasil estão às doenças fúngicas, das quais a podridão-branca é a que causa maiores danos, trazendo severos prejuízos aos agricultores (KIMATI, 1980).

Os escleródios de *Sclerotium cepivorum* germinam no solo somente na presença de exsudados radiculares de *Allium* spp. Na ausência destas plantas hospedeiras, os escleródios permanecem dormentes no solo pelo menos quatro anos, sem perder a viabilidade (COLEY-SMITH, 1959). Coley-Smith (1983), vêm mantendo em Hull, Reino Unido, estudos de sobrevivência do fungo por vários anos consecutivos. Dados de recuperação mostraram ter havido pouco acréscimo na população dos escleródios, 15 anos após serem incorporados ao solo. Decorrido esse tempo, ainda se recuperou cerca de 90% dos escleródios e praticamente todos estavam viáveis.

O presente trabalho objetivou avaliar a eficiência de diferentes tratamentos na inibição do crescimento micelial de *Sclerotium cepivorum*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Biologia de *Sclerotium cepivorum*

Sclerotium cepivorum agente causal da podridão-branca do alho (*Allium sativum* L.), não sobrevive no solo na forma de micélio saprofítico. O inóculo primário do fungo é constituído por escleródios de 0,3 a 0,6 mm de diâmetro, formados a partir de micélio, em bulbos infectados (SCOTT, 1956; COLEY-SMITH, 1990).

Os escleródios, estruturas de resistência de *Sclerotium cepivorum*, agente etiológico da podridão-branca do alho, podem permanecer viáveis no solo por muitos anos, mesmo na ausência de plantas hospedeiras. Coley-Smith e colaboradores. (1990) relataram a sobrevivência de grande proporção de escleródios no solo após 15 e 20 anos, respectivamente. Segundo Coley-Smith e Entwistle (1988), o fungo ataca, em condições de campo, praticamente todas as espécies do gênero *Allium*.

Apesar dos escleródios serem unidades distintas e de mesmo formato, a quantificação destes no solo não é fácil. Isto porque a população de *S. cepivorum* no solo é relativamente baixa e, ao cultivá-lo em meio de cultura artificial, seu crescimento é muitas vezes inibido por organismos saprófitos (SCOTT, 1956; COLEY-SMITH, 1990).

De acordo com o Massola Jr. e colaboradores (2005), embora possa ocorrer à morte das plântulas e perdas durante o armazenamento, o sintoma da doença manifesta-se principalmente no campo, onde é observada geralmente em reboleiras, com plantas subdesenvolvidas, mostrando amarelecimento e morte de folhas mais velhas, seguidos por murcha e apodrecimento dos bulbos. Na planta doente observa-se junto ao solo e sobre os bulbos, sob condições de alta umidade, crescimento micelial esbranquiçado (podridão-branca). As raízes também sofrem apodrecimento e as plantas são facilmente arrancadas do solo.

A disseminação ocorre através de bulbos contaminados, água de chuva e de irrigação que atravessam áreas contaminadas e implementos agrícolas. A germinação se dá por meio de feixes de micélio que podem surgir de diferentes pontos do escleródio. Temperaturas do solo entre 10 e 20°C favorecem a infecção e rápido desenvolvimento da doença, que é mais severa em baixadas úmidas e em locais com excesso de irrigação (MASSOLA JR. et al., 2005)

2.3 Controle da Podridão-Branca

A rotação de culturas, o emprego de variedades resistentes ou fungicidas são os principais métodos de controle de patógeno do sistema radicular (COLEY-SMITH, 1990). No caso da podridão-branca, a capacidade de sobrevivência dos escleródios, praticamente inviabiliza a rotação de culturas como método de controle. Por outro lado, variedades de alho resistentes a esta doença, até o momento, não são conhecidas. O controle químico tem sido muito questionado, pois além de agredir o meio ambiente, os fungicidas mais recomendados têm apresentado perda gradativa de eficiência, provavelmente pelo desenvolvimento de isolados resistentes ou degradação pela microflora do solo (CROWE et al., 1980); (UTKHEDE; RAHE, 1983; RESENDE; ZAMBOLIM, 1986; COLEY-SMITH, 1990).

Tanto no ponto de vista fitopatológico quanto econômico, o controle desta doença ainda não atingiu níveis satisfatórios, principalmente, visando à recuperação de áreas infestadas que possuem características favoráveis ao cultivo do alho. A solarização é a técnica que consiste em cobrir o solo úmido com filme de polietileno, durante determinado período, com a finalidade de elevar a temperatura do solo a níveis letais, principalmente a organismos fitopatogênicos (KATAN, 1980).

O modo mais racional de controlar esta doença envolve a escolha de locais para plantio que não estejam infectados e de épocas e locais menos favoráveis ao desenvolvimento da doença. Rotação de culturas e uso de cultivares resistentes são pouco viáveis, devido às características da doença e ao fato de não se conhecer nenhuma espécie de *Allium* resistente (MASSOLA JR. et al., 2005).

Alguns fungicidas têm sido utilizados no controle da doença, como as dicarboximidas, iprodione, vinclozolin e procymidone, que se mostraram eficientes no tratamento de bulbos e bulbilhos antes do plantio. Outros fungicidas, como diniconazole, tebuconazole e fluazinan, eficientes no controle de outros patógenos formadores de escleródios, mostram-se promissores para o controle de *S. cepivorum*. (MASSOLA JR. et al., 2005)

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Micologia e Proteção de Plantas - LAMIP da Universidade Federal de Uberlândia. O isolado utilizado foi obtido de plantas de alho pertencente à Micoteca do LAMIP – UFU.

3.1 Preparação das placas

O isolado foi repicado a partir de escleródios para placas de Petri contendo o meio batata-dextrose-água (BDA). Discos de 0,6 cm de diâmetro de colônias puras cultivadas em BDA à temperatura de 22 a 25°C por 15 dias foram transferidos para placas de Petri com BDA + a concentração do produto testado.

Os fungicidas e os demais produtos foram diluídos em água destilada e esterilizada e incorporadas ao meio BDA após diluições em série que resultaram nas seguintes concentrações 50, 80, 100 e 160 ppm. Assim que os produtos foram incorporados ao meio BDA, o mesmo foi vertido em 5 placas de Petri representando as repetições. Na Figura 1 pode ser visto a diluição feita e o momento em que o meio contendo o produto na concentração desejada é vertido nas placas de Petri com BDA.



Figura 1 – Distribuição do meio BDA + concentração dos tratamentos em placas de Petri.

3.2 Locação das placas e avaliações

As placas foram colocadas em câmara de incubação com temperatura entre 22 a 25°C e fotoperíodo de 12 horas (Figura 2).



Figura 2 – Incubação das placas de Petri contendo os diferentes fungicidas e o produto biológico para a avaliação do crescimento micelial *Sclerotium cepivorum*.

As avaliações foram feitas diariamente às 17 horas até o 5º dia. As avaliações do crescimento micelial encerraram no momento em que as colônias do tratamento testemunha atingiram toda superfície do meio de cultura. A avaliação consistiu em medições do diâmetro das colônias (média de duas medidas diametralmente opostas) iniciadas após 48 horas de incubação, perdurando até o 5º dia.

3.3 Produtos utilizados e Delineamento experimental

Os fungicidas e o agente de controle biológico utilizados estão apresentados na Tabela 1.

Os tratamentos experimentais constituíram de Procimidone (50 e 100 ppm), Metalaxyl-M (50 e 100 ppm), Fluazinan (50 e 100 ppm), Quintozene (50 e 100ppm),

Tebuconazole (50 e 100 ppm), Tiofanato Metílico (50 e 100 ppm), Iprodione (50 e 100 ppm), Pencycuron (80 e 160 ppm), *Trichoderma* spp (50, 80, 100 e 160 ppm) e Testemunha.

Tabela 1 – Descrição dos produtos utilizados na avaliação da inibição do crescimento micelial de *Sclerotium cepivorum*.

Nome Comercial	Ingrediente ativo	Grupo Químico	Mecanismo de Ação	Tipo de Produto
Cercobim 700 PM	Tiofanato Metílico	benzimidazol	Inibição de DNA	Fungicida
Folicur 200 CE	Tebuconazole	triazol	Bloqueio na biossíntese de ergosterol	Fungicida
Frownicide 500 SC	Fluazinan	piridimina	Inibidor da síntese protéica e enzimática	Fungicida
Moncerem 250 SC	Pencycuron	feniluréias	Inibidor da síntese protéica e enzimática	Fungicida
Ridomil	Metalaxil-m + Mancozebe	fenilamidas e ditiocarbamatos	Inativação de enzimas essenciais	Fungicida
Rovral	Iprodione	hidantoínas	Inativação de enzimas essenciais	Fungicida
Sialex 500	Procimidone	dicarboximida	Inativação de enzimas essenciais	Fungicida
Terraclor 750 WP	Quintozene	cloroaromático	Inativação de enzimas essenciais	Fungicida
<i>Trichoderma</i> spp.	N/A	N/A	Hiperparasita e produtor de produtos metabólicos tóxicos	Controle biológico

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 21 tratamentos e 5 repetições. Realizou-se a análise de variância e aplicou-se o teste de Scott-Knott para a comparação entre médias ao nível de 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os nove produtos utilizados para a inibição do crescimento micelial de *Sclerotium cepivorum*, os que inibiram o crescimento foram os fungicidas fluazinan a 50 e 100 ppm, iprodione a 50 e 100 ppm, tebuconazole a 50 e 100 ppm e procimidone a 50 e 100 ppm. A Figura 3 a seguir ilustra a diferença de crescimento em relação à testemunha.

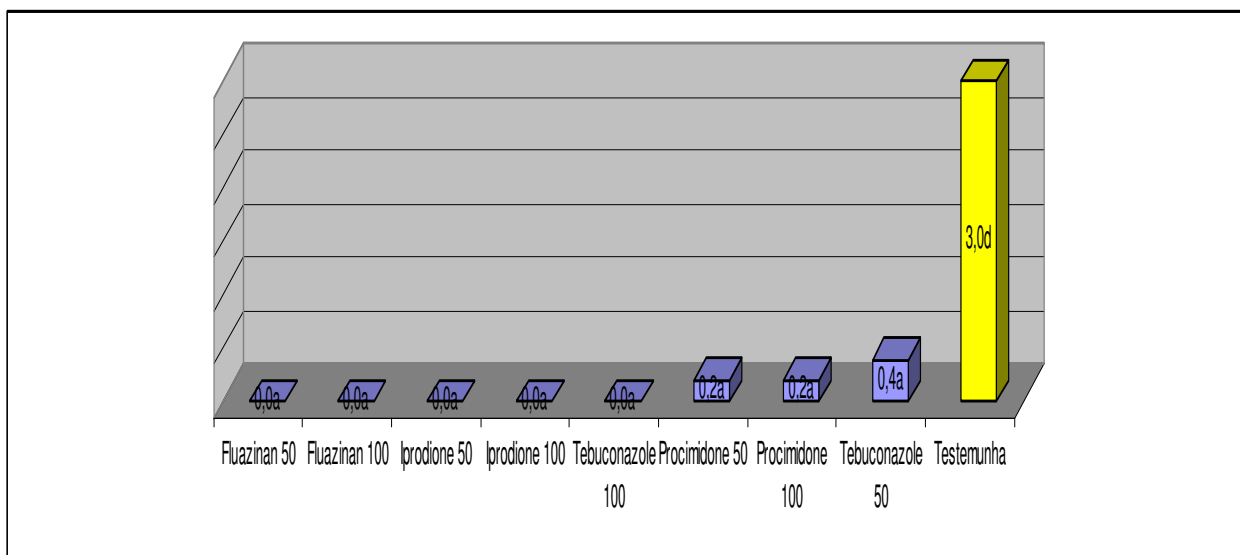


Figura 3 – Crescimento micelial de *Sclerotium cepivorum* submetida à incubação a 23 – 25°C após tratamento com diferentes fungicidas

Os produtos que inibiram o crescimento de *Sclerotium cepivorum*, mas de forma intermediária, foram o Tiofanato Metílico a 50 e 100 ppm e Pencycuron a 80 e 160 ppm, conforme a Figura 4.

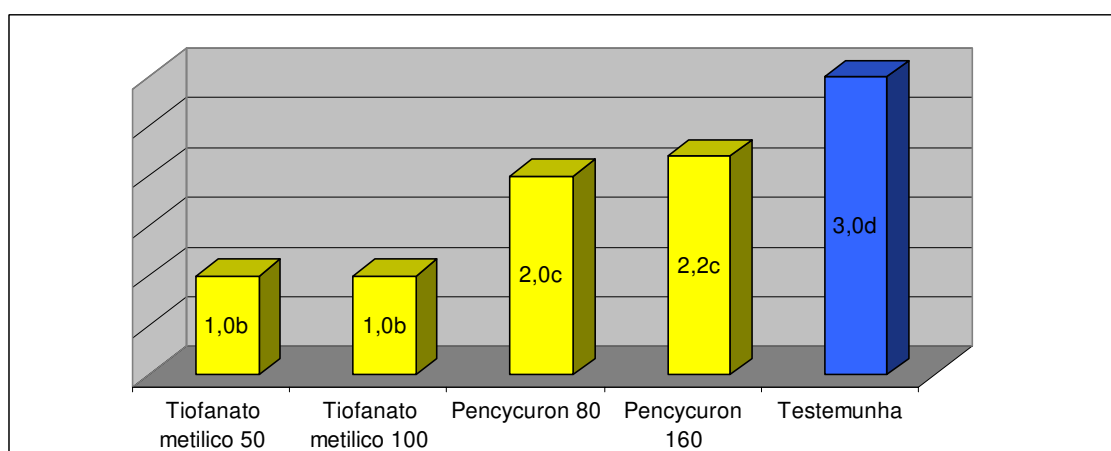


Figura 4 – Inibição e crescimento micelial cm para *Sclerotium cepivorum* em função de diversos tratamentos, porém de forma intermediária.

Os demais tratamentos não diferiram estatisticamente da testemunha, e o tratamento com *Trichoderma* spp. a 160 ppm, obteve um crescimento superior ao da testemunha, conforme a Figura 5.

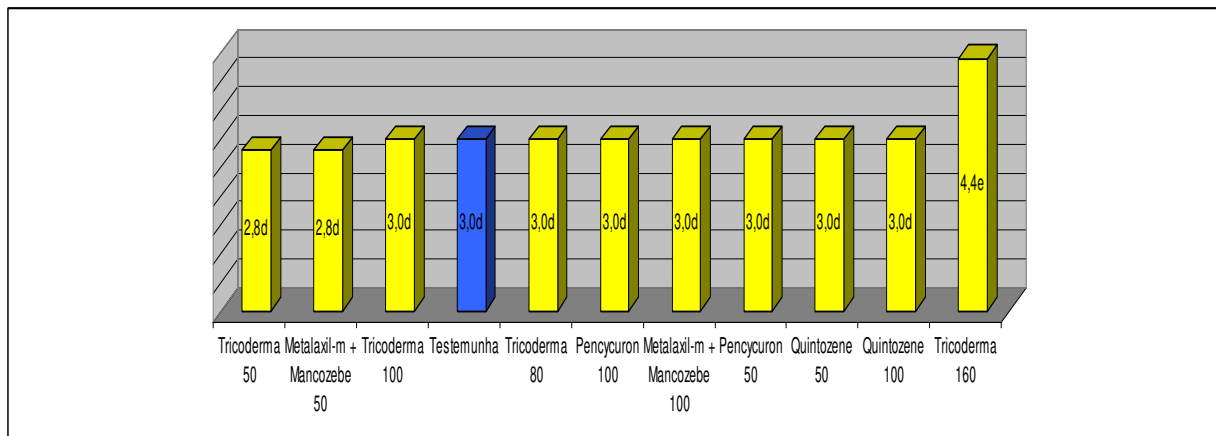


Figura 5 – Crescimento micelial de *Sclerotium cepivorum* sob efeito de diferentes tratamentos e do produto biológico (*Trichoderma* spp.).

Cruz Filho e colaboradores, (1982) relataram maiores pesos médios dos bulbos quando utilizaram maiores doses de iprodione. Esse efeito seria devido a uma ação sistêmica do produto controlando também doenças da parte aérea, principalmente mancha púrpura, incitada por *Alternaria porri*.

Tratamentos com PCNB ou formaldeído no solo combinados com iprodione nos bulbilhos proporcionaram, de maneira geral, progressos da doença mais lentos que os tratamentos com iprodione nos bulbilhos e solo. Esta possível ação sinérgica no controle da podridão branca quando se associaram dois fungicidas foi relatada por Cruz Filho e colaboradores, (1982) quando trataram o solo com vinclozolim e os bulbilhos com iprodione.

Considerando que o micélio de *S. cepivorum* propaga-se de planta a planta pelo contacto das raízes (SCOTT, 1956), espera-se que em condições de campo as plantas hospedeiras com pouco desenvolvimento radicular apresentam maior densidade de inóculo.

Crowe e Hall, (1980) o baixo nível de escleródios no solo contribuiu para a ocorrência tardia da infecção, enquanto o solo fértil e úmido e o sistema radicular mais desenvolvido contribuíram para uma rápida difusão do micélio de planta a planta, difusão esta que nem as maiores dosagens de iprodione conseguiram deter.

Os fungicidas Tiofanato metílico a 50 e 100 ppm e Pencycuron a 80 e 160 ppm diferiram estatisticamente da testemunha, porém não inibiram completamente o crescimento micelial de *Sclerotium cepivorum*.

Os demais tratamentos não diferiram estatisticamente em relação à testemunha. O tratamento *Trichoderma* spp. 160 tiveram um crescimento superior ao da testemunha diferindo estatisticamente da mesma.

Segundo Melo (1998) muitas espécies de *Trichoderma* spp. já estudadas possuem capacidade de produzir metabólicos tóxicos, tais como antibióticos e enzimas líticas capazes de inibir propágulos de fungos fitopatogênicos. Porém o *Trichoderma* spp. utilizado no presente trabalho não inibiu o crescimento micelial de *Sclerotium cepivorum* e sim obteve um crescimento micelial superior ao da testemunha. É importante ressaltar que este mecanismo deve ocorrer no solo, após aplicação do antagonista via água de irrigação, que após a colonização do mesmo, exerce sua atividade hiperparasita e antibiótica sobre os fitopatógenos de solo (*Fusarium*, *Sclerotinia*, etc.). Como os testes realizados foram “in vitro” em meio BDA o efeito antibiótico sobre os patógenos pode ter ficado comprometido.

Após 15 dias de inoculação das placas com tratamento *Trichoderma* spp. ocorreu o hiperparasitismo, ou seja, houve o crescimento micelial verde (reprodução conidial do agente de biocontrole).

5 CONCLUSÕES

1- Os tratamentos que inibiram o crescimento micelial de *Sclerotium cepivorum* foram: fluazinan a 50 e 100 ppm, iprodione a 50 e 100 ppm, procimidone a 50 e 100 ppm e tebuconazole 50 e 100 ppm.

2- O agente de biocontrole *Trichoderma* spp. exerceu sua ação de hiperparasita quinze dias após a incubação, onde se observou placas de Petri com *Sclerotium cepivorum* um crescimento de coloração verde (esporulação conidial).

REFERÊNCIAS

- COLEY-SMITH, J.R. White rot disease of *Allium*: problems of soilborne disease in microcosm. **Plant Pathology**, Oxford, v. 39, p. 214-222. 1990.
- COLEY-SMITH, J.R. Studies of the biology of *Sclerotium cepivorum* Berk. III. Host range, persistence and viability of sclerotia. **Annals of Applied Biology**, Beltsville, v. 47, n. 3, p. 511-518. 1959.
- COLEY-SMITH, J.R. Integrated control of *Sclerotium cepivorum*. In: **PROCEEDINGS OF THE 2nd INTERNATIONAL WORKSHOP ON ALLIUM WHITE ROT**, Beltsville, 1983, p. 87-98.
- COLEY-SMITH, J.R.; CHRISTINE, M.M.; CLAIRE, E.S. Long-term survival of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* and *Stromatinia gladioli*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 39, p. 58-69. 1990.
- COLEY-SMITH, J.R.; ENTWISTLE, A.R. Susceptibility of cultivars of garlic to *Sclerotium cepivorum*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 37, p. 261-264. 1988.
- CROWE, F.J., HALL, D.H., GREATHEAD, A.S.; BAGHOTT, K.H. Inoculum density of *Sclerotium cepivorum* and incidence of white rot of onion and garlic. **Phytopathology**, St. Paul, v. 70, n. 1, p. 64-69. 1980.
- CROWE, F.J.; HALL, D.H. Vertical distribution of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* and host root systems relative to white rot of onion and garlic. **Phytopathology**, St. Paul, v. 70, n. 1, p. 70-73. 1980.
- CRUZ FILHO, J., OLIVEIRA, A.C., GOMIDE, J.S., PÁDUA, J.G. PENA, C.A.F., JACCOUD FILHO, D.S.; PENA R.M. **Controle da podridão branca do alho**. Viçosa, UFV, Imprensa Universitária, 1982, 8p. (Informe Técnico, 29).
- CRUZ FILHO, J., SILVA, P.M., JACCOUD FILHO, D.S., PÁDUA, J.G.; GOMIDE, J.S. Efeito de fungicidas no controle da podridão branca (*Sclerotium cepivorum*) em alho (*Allium sativum* L.). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 9, n. 2, p. 371. 1984. (Resumo).
- JACCOUD FILHO, D.S.; ZAMBOLIM, L.; CRUZ FILHO, J. Doenças causadas por fungos e bactérias em alho e cebola. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 11, p. 3-14. 1985.
- KATAN, J. Solar pasteurization of soils for disease. **Plant Disease**, St. Paul, v. 64, p. 450-454. 1980.
- KATAN, J. Solar heating (solarization) of soil for control of soilborne pests. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 19, p. 211-236. 1981.
- KIMATI, H. Doenças do alho e da cebola. In: GALLI, F.; (Ed.), **Manual de fitopatologia – Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo, Agronômica Ceres, v. 2, p. 49-64. 1980.

MASSOLA JR., N.S.; JESUS, W.C.; KIMATI, H. Doenças do alho e da cebola. In; GALLI, F.; (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. Doenças das plantas cultivadas, São Paulo, 4ª. Ed.; v.2, p. 53-63. 2005.

MELO, I. S. Agente microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.) **Controle biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA. 1998. p. 17-66.

RESENDE, M.L.V.; ZAMBOLIM, L. Flutuação populacional de escleródios de *Sclerotium cepivorum* no solo em função do tratamento com diferentes fungicidas no plantio de alho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 12, p. 65-70. 1987.

SCOTT, M.R. Studies of the biology of *Sclerotium cepivorum*. Berk.II. The spread of white rot from plant. **Annals of Applied Biology**, Beltsville, v. 44, n 4, p. 584-589. 1956.

UTKHEDE, R.; RAHE, J.E. Evaluation of chemicals fungicides for control of onion white rot. **Pesticide Science**, Bronx, v. 42, n 5, p. 414-418. 1983.