

CONTROLE ALTERNATIVO DE *RHIZOCTONIA SOLANI* POR ISOLADOS DE *TRICHODERMA SPP*

Thayza Karine de Oliveira Ribeiro (1) ; Layanne de Oliveira Ferro (1) ; Leslie Waren Silva de Freitas(2) ; Luciana Gonçalves de Oliveira(4)

Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)(1;2;3) Thayza_karine@hotmail.com,; Instituto agrônomo de Pernambuco (IPA)

Resumo: Os fungos são considerados a maioria dentre os patógenos que acometem a cultura do feijão-caupi, destacando-se *Rhizoctonia solani*, agente etiológico do tombamento ou “Damping-off”. Este trabalho teve por objetivo avaliar o controle biológico por espécies *Trichoderma spp* sobre *Rhizoctonia solani*. Para tanto, a análise do antagonismo ocorreu por meio do método de pareamento das culturas *in vitro*, em meio BDA (Batata-dextrose-ágar) avaliadas durante 7 dias de desenvolvimento. Dentre os isolados de *Trichoderma spp* testados, ARC 4 demonstrou maior eficiência no controle do crescimento *R. solani*, apresentando ainda a capacidade de hiperparasitar o fitopatógeno. No entanto, o isolado ARC 3 não apresentou atividade antagônica sobre os isolados do patógeno analisados. O isolado de *Trichoderma sp* (ARC4) mostrou-se promissor no controle de *Rhizoctonia solani*.

Palavras-chave: *Trichoderma sp*, *Rhizoctonia solani*, Biocontrole, Feijão-caupi.

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, as culturas do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e a do feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] possuem grande importância econômica e social, constituindo a principal fonte de proteína vegetal e ferro na alimentação humana. Estas leguminosas fornecem quase todos os aminoácidos essenciais, carboidratos, vitaminas e minerais, além de possuir grande quantidade de fibras dietéticas e baixa quantidade de lipídios (MACHADO et al., 2008; CHAVES; BASSINELLO,2014). Estima-se que o país, durante a safra 2016/2017, apresentou área plantada de feijão-caupi de 1.247.000, 1 ha, onde 83% concentrou-se na região Nordeste (CONAB, 2017).

No entanto, estas culturas vêm sendo acometidas por diversos grupos de organismos como bactérias, vírus e principalmente fungos que possuem maior atividade patogênica devido a sua maior habilidade de penetração e colonização dos tecidos vegetais (MACHADO, 2000). Dentre os fitopatógenos que acometem a cultura do feijão-caupi destaca-se *Rhizoctonia solani*, que pode causar o apodrecimento das raízes e do caule das plantas impossibilitando que as mesmas mantenham-se eretas, causando o sintoma denominado *damping-of*, que podem ocasionar até a perda total no rendimento da

cultura (GHINI; ZARONI, 2001). Este fungo é geralmente encontrado na sua forma micelial e possui a capacidade de sobreviver no solo por um longo tempo mesmo na ausência de um hospedeiro, pela formação de estruturas de resistência denominadas escleródios, dificultando com isso o controle da doença (KRUGNER et al., 1995).

Com intuito de minimizar os danos causados por este patógeno e diminuir a utilização de defensivos agrícolas que são atualmente empregados no controle do mesmo, mas que são prejudiciais tanto ao ambiente quanto a saúde humana, novas alternativas mais sustentáveis e, igualmente, rentáveis vêm sendo adotadas, como por exemplo o biocontrole realizado por fungos antagonistas. Neste contexto, o gênero *Trichoderma* vem sendo amplamente estudado e utilizado no controle biológico de diversos fitopatógenos (MACHADO; SILVA, 2013). Os fungos deste possuem inúmeros mecanismos de ação que podem ser empregados durante o antagonismo a fungos fitopatogênicos como, por exemplo: antibiose, hiperparasitismo, competição e indução de defesa do hospedeiro (MACHADO et al., 2012).

Logo, este trabalho teve por objetivo avaliar o antagonismo *in vitro*, de isolados de *Trichoderma* spp. ao fitopatógeno *Rhizoctonia solani*.

2. METODOLOGIA

A presente pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Controle Biológico do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA).

Plantas que apresentavam sintomas de tombamento foram coletadas no município de Goiânia (Itapirema) e levadas para o laboratório para que fosse feito o isolamento e a identificação do fungo. Desta forma, o isolamento foi realizado de acordo com Menezes e Silva (1997), no qual fragmentos do colo da planta foram retirados e desinfestados superficialmente e, posteriormente, plaqueados, em meio de cultura BDA (Batata-dextrose-água) acrescido de cloranfenicol (100mg/L). O crescimento da cultura foi acompanhado por 72h em câmara de germinação e os isolados foram transferidos para tubos de ensaio contendo o meio BDA.

Para o isolamento de *Trichoderma*, amostras de solo foram coletadas no Município de Arcoverde-PE e levadas ao laboratório para posterior manipulação. A diluição de 10^{-3} do solo foi realizada e plaqueada em meio BDA com adição de cloranfenicol (100mg/L), segundo Clark (1965), com algumas modificações. As placas foram incubadas a 26°C durante cinco

dias. Os microrganismos isolados foram mantidos em tubos de ensaio contendo o meio BDA.

A identificação morfológica das espécies, tanto do fitopatígeno quanto do fungo antagonista, foi realizada através da técnica de cultura em lâmina e posterior análise das estruturas reprodutoras em microscópio óptico utilizando literatura específica. Para a realização do experimento foram selecionados dois isolados de *R. solani* (ITAP 3 e ITAP 8) e dois isolados de *Trichoderma* sp (ARC 3 e ARC 4).

O potencial antagônico dos isolados de *Trichoderma* foi analisado pelo método de pareamento entre antagonistas e fitopatógenos, descrito por Bell et al. (1982). Para tanto, discos de ágar contendo micélio do fitopatígeno e do antagonista, medindo 0,28 cm foram colocados em pontos equidistantes em placas de Petri contendo meio BDA solidificado, sendo os experimentos conduzidos em triplicata.

Considerou-se previamente o crescimento micelial de cada isolado, como descrito anteriormente. Foram realizadas medições diárias, durante sete dias para o acompanhamento do crescimento micelial das colônias que se desenvolviam uma em direção à outra e o posterior encontro das mesmas, assim como a sobreposição de um fungo pelo outro. A avaliação do potencial antagônico dos isolados de *Trichoderma* foi realizada com base na escala de Bell et al., 1982 conforme a tabela 1.

Classe	Característica
1	<i>Trichoderma</i> cresce sobre o patógeno e ocupa toda a superfície do meio
2	<i>Trichoderma</i> cresce sobre pelo menos 2/3 da superfície do meio
3	<i>Trichoderma</i> e patógeno ocupam cada um aproximadamente metade da superfície do meio e nenhum dele parece se sobressair
4	Patógeno cresce pelo menos 2/3 da superfície do meio
5	<i>Trichoderma</i> não cresce e o patógeno ocupa toda a superfície da placa

Tabela 1- Classe de antagonismo para teste de pareamento de culturas de *Trichoderma* com *R. solani*. Fonte: Bell et al. (1982)

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade antagônica de *Trichoderma* sp (ARC 4) sobre *R. solani* (ITAP 3 e ITAP 8) está representada na Tabela 2. O antagonismo foi verificado sobre os dois isolados de *R. solani*, onde o fungo antagonista cresceu sobre todo o fitopatógeno, denotando um alto potencial como micoparasita, obtendo nota 1 na escala de nota proposta por Bell et al., 1982 (Figuras 1). Estes resultados corroboram com os dados encontrados por Kotasthane et al., 2015 no qual os autores afirmam que 75% dos 20 isolados de *Trichoderma* sp testados enquadraram-se na classe 1 contra *R. solani*. Guédez et al. (2012) também apontaram a eficiência de *Trichoderma* sp no controle do crescimento micelial de *R. solani*, no qual todos os isolados utilizados exibiram porcentagens de inibição superiores a 50%. A característica antagônica deste gênero de fungo pode estar relacionado tanto à competição que ocorre contra o patógeno por nutrientes e espaço, quanto pela produção de antibióticos, como gliotoxina, viridina, trichodermina, suzucacilina, alameticina e dermadina que atuam inibindo o crescimento de outros fungos (DENNIS;WEBSTER, 1971). De acordo com Sousa et al., 2017 alguns isolados de *Trichoderma* sp foram capazes de reduzir, em média, 40% o índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) da colônia de *R. solani*.

Antagonista/ Patógeno	Classificação Bell et al., (1982)
ARC 3	
ITAP 3	4
ITAP8	4
ARC 4	
ITAP 3	1
ITAP 8	1

Tabela 2. Classificação dos isolados de *Trichoderma spp*, quanto ao antagonismo a *R. solani*, segundo a escala de Bell et al. (1982)

Apesar da presença do halo de inibição no encontro entre as colônias denotando limitação do crescimento do fitopatógeno pelo antagonista, o isolado ARC 3 não impediu o avanço micelial de nenhum dos isolados testados, os quais alcançaram mais da metade da placa de Petri (Tabela 2 e Figura 2) enquadrando-se na classe 4 da escala de Bell et al. (1982) e indo de encontro aos trabalhos mencionados até agora. No entanto, Sudo-martelleto et al. (2012) apontaram a mudança no desenvolvimento dos isolados TENA33 de *Trichoderma* e RhE de *Rhizoctonia* ao alterar-se o pH do meio. Eles constataram que em meio ácido o antagonista possuía maior crescimento micelial enquanto que em meio neutro o fitopatógeno obteve maior vantagem neste quesito. Isto demonstra que os resultados negativos obtidos no presente trabalho podem sofrer alterações quando reavaliados em um meio acidificado.

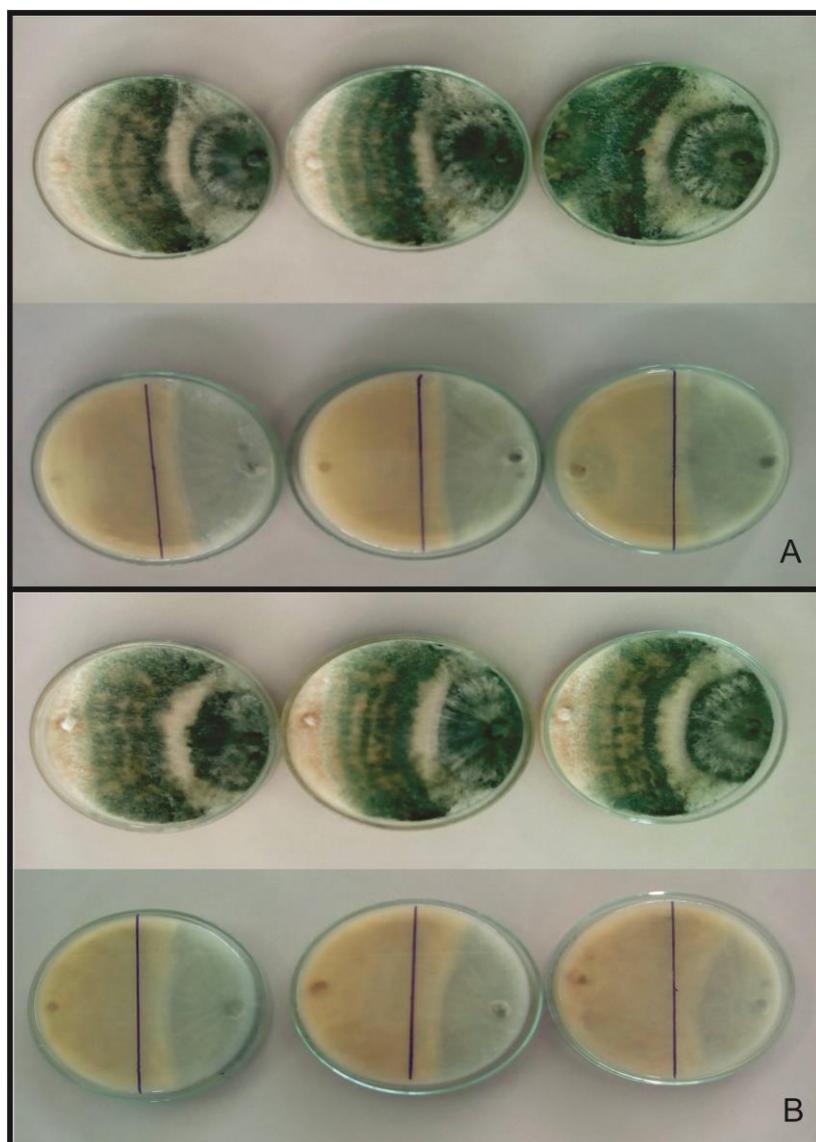


Figura 1. Confrontação direta entre o isolado ARC4 de *Trichoderma* sp e ITAP 8 (A) e ITAP 3 (B) de *R. solani*.

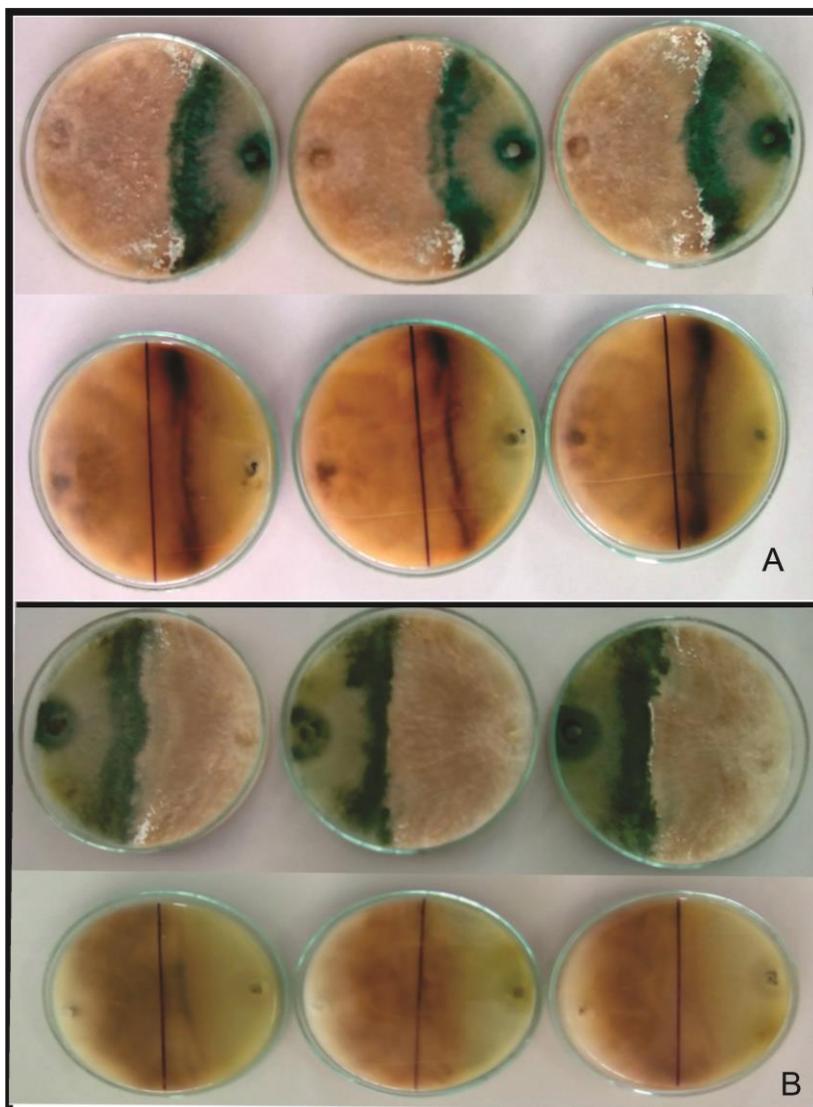


Figura 2. Confrontação direta entre o isolado ARC3 de *Trichoderma* sp e ITAP 8 (A) e ITAP 3 (B) de *R. solani*.

4. CONCLUSÃO

O isolado ARC 4 proporcionou maior percentual de inibição do crescimento de ambos os isolados *R. solani*, apresentando-se com potencial para o biocontrole do agente etiológico do tombamento (*damping-off*) do feijão-caupi.

5. REFERÊNCIAS

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

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos, v.4, n.6. Disponível em http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_03_10_15_11_39_boletim_graos_marco_2017.pdf. Acesso em: 12 mar 2017.

CHAVES, M. O.; BASSINELLO, P. Z. O feijão na alimentação humana. In: GONZAGA, A. C. de O. (Ed.). **Feijão: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. 2.ed. rev. e atual. Brasília, DF: Embrapa, 2014. p. 15-23.

CLARK, F.E. Agar-plate method for total microbial count. In: BLACK, C. A. EVANS, D.D. WHITE, J.L. ENSMINGER, L.E., CLARK, F.E., DINAVER, R. C. (eds). **Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbial properties**, New York. Madson Inc. 1965. P.1460-1466.

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: III. Hyphal interaction. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 57, n. 1, p. 59-363. 1971

GHINI, R., ZARONI, M.M., 2001. Relação entre coberturas vegetais e supressividade de solos a *Rhizoctonia solani*. **Fitopatol. Bras.** 26, 10–15.

GUÉDEZ, C. et al. Evaluación in vitro de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* em plantas de tomate. **Revista de la sociedad venezolana de microbiología**, Caracas, v. 32, n. 1, p. 44-49, jun.2012.

KOTASTHANE, A., AGRAWAL, T., KUSHWAH, R. et al. In-vitro antagonism of *Trichoderma* spp. against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani* and their response towards growth of cucumber, bottle gourd and bitter gourd. **European journal of plant pathology**, Europa, v. 141, n. 3, p. 523-543, mar, 2015.

KRUGNER, T. L.; BACCHI, L. M. A. Fungos. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim,

- L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, cap. 4, p. 85.
- MACHADO, J.C. Tratamento de sementes no controle de doenças. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000, 138p.
- MACHADO, C. F. et al. Identificação de genótipos de feijão-caupi quanto à precocidade, arquitetura da planta e produtividade de grãos. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 01, p. 114-123, 2008.
- MACHADO, D.F.M. et al. Trichoderma no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, p. 01-05, 2012.
- MACHADO, D.F.M. e SILVA, A.C.F.da. Trichoderma no controle in vitro de fungos presentes em diásporos de *Gochnatia polymorpha*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, p. 07-09, 2013.
- MENEZES, M.; SILVA, D. M. W. Guia prático para isolamentos de fungo fitopatogênicos . Recife,PE: UFRPE, 1997. 120p.
- SOUSA, Iêda Alana Leite et al. Potencial de Biocontrole de *Rhizoctonia solani* do Feijão-Caupi. **Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)**, v. 7, n. 1, p. 86-89, 2017.
- SUDO-MARTELLETO, M. et al. Pareamento in vitro entre culturas de isolados de *Trichoderma spp.* e *Rhizoctonia solani* . **Revista de ciências da vida**, Rio de janeiro, v. 32, n. 1, p. 78-92, jan./jun. 2012.