II Congresso Internacional das **Ciências Agrárias** COINTER - PDVAgro 2017

INIBIÇÃO MICELIAL *in vitro* DE *Rhizoctonia solani* CAUSADOR Damping-off EM ALFACE COM USO DE *Trichoderma asperellum*

Apresentação: Pôster

Waldiney Xavier Ferreira¹; Aline Figueiredo Cardoso²; Cássia Cristina Chaves Pinheiro³;
Telma Fatima Vieira Batista⁴; Gisele Barata da Silva⁵

Introdução

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma cultura vegetal importante em muitos países do mundo, com uma produção global de 25 milhões de toneladas. Na bacia do Mediterrâneo, a Espanha, a Itália, a Turquia e a França são os principais países produtores de alface, contribuindo com 10% da produção global (FAOSTAT, 2013), é uma das hortaliças folhosas mais consumidas no Brasil e é fonte de vitamina C, ferro, Betacaroteno, entre outros nutrientes (OHSE *et al.*, 2009).

A alface pode ser afetada por várias doenças fúngicas, entre elas, o Damping-off ou tombamento causado pela *Rhizoctonia solani* que é conhecido como um principal patógeno em várias culturas e causa vários tipos de sintomas dependendo da fenologia do hospedeiro no momento da infecção. Em alface causa o estrangulamento na região do colo da plântula e a conseqüente queda da parte superior mais pesada e não atacada (BEDENDO, 1995; ABBAS; JIANG; FU, 2017). Em busca de um desenvolvimento agrícola sustentável com diminuição de insumos tóxicos, o uso de microrganismos vêm se destacando. (ALENCAR *et al.*, 2012). O gênero *Trichoderma* é descrito como importante na agricultura, principalmente pelo seu uso como agente de controle biológico culturas como arroz e até alface, neste último, *Trichoderma asperellum* reduziu a incidência de *Rhizoctonia solani*, causadora de queima das bainha. Podem ter ação direta e/ou indireta, como antibiose, competição e o hiperparasitismo, (REINO *et al.*, 2008; CARVALHO *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2014; ABBAS; JIANG; FU, 2017).

¹ Acadêmico de Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia, Pará, Brasil, ney_wxf@hotmail.com

² Doutoranda em Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia, Pará, Brasil, aline_f_cardoso@hotmail.com

³ Acadêmica de Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia, Pará, Brasil, cassiapinheiro002@gmail.com

⁴ Doutora em Ciências Agrárias, Universidade Federal Rural da Amazônia, Pará, Brasil, telmabatista@yahoo.com.br

⁵ Doutora em fitopatologia, Instituição Universidade Federal Rural da Amazônia, e-mail: giselbaratasilva@gmail.com

O objetivo do trabalho é avaliar a capacidade de quatro isolados de *Trichoderma asperellum* na produção de compostos voláteis durante o processo de antagonismo *in vitro* à *R. solani* isoladas de mudas de alface.0

Fundamentação Teórica

A alface (*Lactuca sativa* L.) pertence à família Asteraceae, é considerada uma fonte importante de nutrientes (FERNANDES *et al.*, 2002), além de ser uma das folhosas mais produzidas e consumidas. Entretanto, o seu cultivo apresenta limitações, principalmente em virtude de sua sensibilidade às condições adversas de temperatura e umidade (GOMES *et al.*, 2005) que podem ser fatores cruciais para o surgimento doenças fúngicas. Entre os principais patógenos radiculares que causam grandes prejuízos para a cultura no Brasil (LOPES; QUEZADO-DUVAL, 1998; Pavan; KURAZAWA, 1997), destaca-se o fungo *Rhizoctonia solani*, agente etiológico da doença Damping-off também conhecida como tombamento, que acomete as plântulas de alface. Desta forma, em busca de soluções sustentáveis, o uso de microrganismos na agricultura, pode ser viável a partir de diversos estudos que o empregaram. Assim, o uso de *Trichoderma*, torna-se uma importante ferramenta para o controle de *R. solani* em alface (KRISHNAMURTHY *et al.*, 1999).

Metodologia

O experimento foi realizado no Laboratório de Proteção de Plantas-LPP da Universidade Federal Rural da Amazônia-UFRA. Foram testados quatro isolados de *T. asperellum* (T-52, T-06, T-12 e T-09), da coleção de microrganismos do LPP. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos T-52, T-06, T-12, T-09 e controle, com quatro repetições. Cada placa, contendo meio de cultura BDA, sobreposta e adicionando um disco de micélio de 5mm de *R. solani* em um dos lados e no outro um disco de micélio com isolado de *T. asperellum* e incubados em temperatura ambiente, com fotoperíodo de 12h claro/escuro por três dias. O patógeno foi isolado de folhas com sintomas de mela em uma horta experimental localizada na UFRA, em Belém, PA.

A avaliação foi iniciada a partir de 24 horas da instalação do experimento, medindo-se diariamente o crescimento radial (cm) das colônias, até o crescimento completo da testemunha na placa. Os dados obtidos com essa avaliação foram empregados no cálculo do Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM), segundo equação adaptada de Oliveira (1991), calculado pela seguinte formula: $IVCM = \frac{D - D_a}{N}$ Em que D é igual ao diâmetro atual da colônia, D_{ma} é o diâmetro do dia anterior e N é o número de dias após o início do experimento. Foi determinada a percentagem de inibição do crescimento radial do patógeno nos tratamentos, em relação à

testemunha, de acordo com a equação de Ezziyyani *et al.*, (2004), calculado pela seguinte formula:

$PICR = \frac{R1-R2}{R1}$; Sendo PICR= % de inibição de crescimento micelial, R1=Raio da testemunha e R2= Raio do tratamento.

A análise estatística de variância foi feita pelo teste F (p-valor $\leq$ 0.05) e as médias de crescimento foram comparadas pelo teste de Scott-Knott (p-valor $\leq$ 0.05). O programa utilizado para as análises foi o SISVAR, versão 5.6.

Resultados e Discussões

O IVCm *R. solani* na presença de isolados de *T. asperellum* (T-09, T-12, T-06 e T-52), reduziram o crescimento micelial do patógeno destacando-se o T.09 com 1,55 cm, já o tratamento controle com 2,45cm (Figura 1, A e B). Tal resultado pode ser atribuído pela produção de antibióticos inibidores de crescimento de outros fungos, como gliotoxina e trichodermina (DENNIS; WEBSTER, 1971).

Figura 1- Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) em cm/dia de *R. solani* na presença de isolados de *T. asperellum*. Médias com letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott (p $\leq$ 0,05).

O crescimento micelial do patógeno foi menor, quando utilizado o isolado T.09 de *T. asperellum*, 35% (Tabela 1). Desta forma, indicando que o *T. asperellum* pode ser utilizado em estudos posteriores como possível antagonista de *R. solani* em alface. O uso de *Trichoderma* como antagonista a *R. solani*, já descrito em outras culturas, como em arroz, cujo agente causa queima das bainhas, *T. asperellum* induziu a redução da incidência da doença(SANTOS *et al.*, 2014), em tomate o biocontrole de *R. solani* foi promovido por *T. harzianum* (MONTEALEGRE *et al.*, 2010), essa ação antagonica metabolitos voláteis e solúveis em água (EZIASHI *et al.*, 2007) e metabolitos secundários de baixo peso molecular (SHUSTER: SCHOMOLL, 2017; KOTASTHANE, 2015).

Tabela 1. Percentual médio de inibição do crescimento radial (PICR) de *Rhizoctonia solani* por isolados de *Trichoderma* spp. *in vitro*. Médias com letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Isolados de <i>T. asperellum</i>	PICR (%)
T9	35,41 a
T6	13,91 b
T12	13, 28 b
T52	7, 56 c
CV(%)	16,90

Conclusões

O *T. asperellum* pode ser um possível agente de controle biológico a *R. solani* em alface, ressalta-se a importância de continuação de experimentos em casa de vegetação e campo.

Referências

- ABBAS, A.; JIANG, D.; FU, Y. *Trichoderma* Spp. as Antagonist of *Rhizoctonia solani* Plant Pathology, J Plant Pathol Microbiol 2017.
- ALENCAR, T. A.; TAVARES, A. T.; CHAVES, P. P. N.; FERREIRA, T. A.; NASCIMENTO, I. R. Efeito de intervalos de aplicação de urina bovina na produção de alface em cultivo protegido. **Revista Verde**. Mossoró, v.7, n.3, p. 53-67, 2012.
- BEDENDO, I. P. Damping-off. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 3. ed. São Paulo: **Agronômica Ceres**. v.1, cap. 42, p. 820-828.1995.
- CARVALHO, D.D.C., LOBO JUNIOR, M., MARTINS, I., INGLIS, P.W. & MELLO, S.C.M. 2014. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Phaseoli* by *Trichoderma harzianum* and its use for common bean seed treatment. *Tropical Plant Pathology*, 39: 384-391.
- DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. I - Production of non-volatile antibiotics. **Transactions of the British Mycological Society**, v.57, p.25-39, 1971.
- EZZIYYANI, M.; PÉREZ, S. C.; REQUENA, M. E.; RUBIO, L.; CANDELA, M. E. Biocontrol por *Streptomyces rochei* (Ziyani), de la podre dumbre del pimiento (*Capsicum annuum* L.) causada por *Phytophthora capsici*. **Anales de Biología**, n.26, p.69-78, 2004.
- EZIASHI, E.I.; OMAMOR, I.B.; DIMARO-ORUADE, E. A.; OGUNKANMI, L. A. Control of phytotoxin from *Ceratocystis paradoxa* using *Trichoderma* species phytotoxins on oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) sprouted seeds. *Plant Pathol J* 6: 324-329. 2007.

- FAOSTAT, 2013. Crop production data. [<http://faostat.fao.org>]. Acesso em 10 de outubro de 2017.
- FRANÇA, S. K. S.; CARDOSO, A. F.; LUSTOSA, D. C. E.; RAMOS, M. L. S.; FILIPPI, M. C. C. DE; G. B. Da Silva. Biocontrol of sheath blight by *Trichoderma asperellum* in tropical lowland rice. **Agron. Sustain. Dev.** 1014.
- FERNANDES, A.A.; MARTINEZ, H.E.P.; PEREIRA, P.R.G.; FONSECA, M.C.M. Produtividade, acúmulo de nitrato e estado nutricional de cultivares de alface, em hidroponia, em função de fontes de nutrientes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 195-200, 2002.
- GOMES, T.M. Efeito do CO₂ aplicado na água de irrigação e no ambiente sobre a cultura da alface (*Lactuca sativa*). Tese (doutorado) – **Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, 2001.
- KOTASTHANE, A.; AGRAWAL, T.; KUSHWAH, R.; RAHATKAR OV. In-vitro antagonism of *Trichoderma* spp. against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani* and their response towards growth of cucumber, bottle gourd and bitter gourd. **Eur J plant Pathol.** 141: 523-543. 2015.
- KRISHNAMURTHY, J.; SAMIYAPPAN, R. VIDHYASEKARAN, P. NAKKEERAN, S. RAJESWARI, E. Efficacy of *Trichoderma* chitinases against *Rhizoctonia solani*, the rice sheath blight pathogen. **J Biosci** 24: 207-213. 1999.
- LOPES, C. A.; QUEZADO-DUVAL, A. M. **Doenças da alface**. Brasília: EMBRAPA HORTALIÇAS, (Circular Técnica, 14), p.18, 1998.
- MONTEALEGRE, J.; VALDERRAMA, L.; SÁNCHEZ, S.; HERRERA, R.; BESOAIN X. Biological control of *Rhizoctonia solani* in tomatoes with *Trichoderma harzianum* mutants. **Electron J Biotechnol** 13: 1-2. 2010.
- OLIVEIRA, J. A. Efeito do tombamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.), p. 111, 1991. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – **Escola Superior de Agricultura de Lavras**, Lavras, 1991.
- OHSE, S.; RAMOS, D. M.; CARVALHO, S. M.; FETT, R.; OLIVEIRA, J. L. B. Composição centesimal e teor de nitrato em cinco cultivares de alface produzidas sob cultivo hidropônico. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 2, p. 407-414, 2009.
- PAVAN, M. A.; KUROSAWA, C. Doenças da alface (*Lactuca sativa* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO L.E.A.; REZENDE, J.A.M (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. v.2: Doenças das plantas cultivadas. 3.ed. São Paulo. Editora Agronômica Ceres, cap.4, p.18-25. 1997.
- REINO, J.L., GUERRERO, R.F., HERNÁNDEZ-GALÁN, R. and COLLADO, I.G. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. **Phytochemistry Reviews**, 7: 89-123. 2008.
- SCHUSTER, A.; SCHMOLL, M. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. **Appl Microbiol Biotechnol** 87: 787-799. 2010.