

Inibição da germinação de escleródios de *Rhizoctonia solani* por rizobactérias do feijão-caupi. Isabel Santos Diniz¹; Kátia de Lima Nechet²; Giovanni Ribeiro de Souza¹;

Bernardo de Almeida Halfeld-Vieira². ¹Universidade Federal de Roraima, Centro de Ciências Agrárias, BR 174 Km 12, 69300-000, Boa Vista, Roraima; ²Embrapa Meio Ambiente, Rodovia SP 340 Km 127,5, Jaguariúna, São Paulo. E-mail: isabelsd_rr@hotmail.com; nechet@cnpma.embrapa.br; giovanni@cpafrr.embrapa.br; halfeld@cnpma.embrapa.br.

RESUMO

O uso de rizobactérias vem sendo investigado como controle alternativo da mela do feijão-caupi, causado por *Rhizoctonia solani*. Este trabalho teve como objetivo selecionar rizobactérias do feijão-caupi com capacidade de reduzir a germinação de escleródios de *R. solani*. No primeiro ensaio, 117 isolados foram testados e avaliou-se a germinação de escleródios do fungo mantido por 24 horas em suspensão de rizobactéria *in vitro*. Dezenove isolados agruparam separadamente do grupo da testemunha, a partir de dendograma baseado no índice de inibição de germinação (IIG), e foram testados em casa-de-vegetação. Neste ensaio, suspensões dos isolados foram adicionadas, separadamente, a vasos contendo solo esterilizado e pecíolos de feijão-caupi colonizados por escleródios de *R. solani*. Após 10 dias recuperou-se os escleródios e verificou-se a germinação em ágar-água. Oitos isolados de rizobactérias com IIG entre 33 e 96% foram selecionados para estudos como agentes de biocontrole da mela do feijão-caupi.

Palavras-Chave: *Vigna unguiculata*, *Thanatephorus cucumeris*, antibiose, controle biológico.

ABSTRACT

Inhibition of sclerotia germination of *Rhizoctonia solani* by cowpea rhizobacteria.

The use of rhizobacteria has been investigated as an alternative to control cowpea web blight caused by the fungus *Rhizoctonia solani*. The objective of this work was to screen cowpea rhizobacteria capable to reduce the sclerotia germination of *Rhizoctonia solani*. In the first trial, 117 isolates were tested and evaluated the germination of sclerotia when it was maintained for 24 hours in rhizobacteria suspension *in vitro*. Nineteen isolates clustered separately from control group from dendogram based on inhibited germination index (IGI), and were evaluated in greenhouse. In this assay, suspensions of isolates were added, separately, to pots containing sterilized soil and cowpea petioles colonized with *R. solani* sclerotia. Ten days after, the germination of sclerotia was determined on water agar. Eight rhizobacteria isolates with IGI between 33 and 96% were screened for future research as biocontrol agents of cowpea web blight.

Keywords: *Vigna unguiculata*, *Thanatephorus cucumeris*, antibiosis, biocontrol.

INTRODUÇÃO

O fungo *Rhizoctonia solani* Kühn [teleomorfo *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk] é um patógeno do solo que apresenta alta capacidade de saprofitismo, ampla gama de hospedeiros, cultivados ou não, e sobrevive por longo período, na ausência de hospedeiros, através de estruturas de resistência chamadas de escleródios (Papavizas & Davey, 1961). No feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], o fungo é o agente causal da mela ou murcha-da-teia-micélica, uma das principais doenças da cultura na região Norte causando mancha foliar e desfolha das plantas (Nechet et al., 2009). Não há fungicidas registrados para a cultura do feijão-caupi e as cultivares resistentes à doença não são as mais aceitas comercialmente, o que torna essencial a busca por métodos alternativos de controle. Estudos demonstram que rizobactérias têm potencial no controle de fitopatógenos. O objetivo desse trabalho foi selecionar rizobactérias do feijão-caupi com capacidade de reduzir a germinação de escleródios de *R. solani*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados em duas etapas. Na primeira etapa, *in vitro*, foram utilizados 117 isolados de rizobactérias e na segunda etapa, *in vivo*, 19 isolados selecionados pelo índice de inibição de germinação de escleródios de *R. solani in vitro*.

Ensaio *in vitro*: os isolados de rizobactérias foram repicados para placas de Petri contendo meio 523 de Kado e Heskett (1970) a 26°C por 24 h. Após esse período, foi feita uma suspensão para cada rizobactéria em concentração ajustada a $A_{540} = 0,3$ e uma alíquota de 150 µl foi depositada em uma lâmina escavada de vidro. Em cada lâmina foram colocados 10 escleródios de *R. solani* obtidos de colônias crescidas em meio Batata-Dextrose-Ágar por 10 dias a 26°C e escuro contínuo. As lâminas foram depositadas em caixas gerbox e mantidas a 26°C por 24 h. Após esse período, os escleródios foram transferidos para placas de Petri contendo ágar-água e retornaram para incubadora por mais 24 h. Como controle utilizou-se escleródios mantidos em água. Por comparação com a germinação observada no tratamento testemunha, calculou-se o índice de inibição da germinação. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 118 tratamentos (117 isolados+testemunha) e quatro repetições, sendo cada repetição uma lâmina de vidro contendo 10 escleródios. A divergência genética foi estimada por análise de agrupamento a partir dos valores médios do índice de inibição de germinação utilizando-se como medida de dissimilaridade o coeficiente do quadrado da distância euclidiana e método de agrupamento o das médias aritméticas não ponderadas (UPGMA) usando o programa SAS 9.0.

Ensaio *in vivo*: Para a obtenção de pecíolos de feijão-caupi colonizados por escleródios, fragmentos padrões de 5 cm de pecíolos de feijão-caupi foram colocados em placas de Petri contendo colônia de *R. solani* e mantidas em incubadora do tipo BOD a 25 °C durante 15 dias. Para obtenção das

suspensões de rizobactérias utilizou-se a mesma metodologia descrita anteriormente. Uma alíquota de 50 ml foi depositada em copos plásticos contendo solo previamente desinfestado com fumigante de solo e quatro pecíolos colonizados com microescleródios de *R. solani*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 20 tratamentos e quatro repetições, sendo cada repetição um copo. A testemunha foi representada pela adição de água destilada. Após 10 dias foram retirados dois pecíolos de cada copo e de cada pecíolo retirados 10 escleródios de *R. solani* que foram depositados em lâminas de vidro contendo uma camada de ágar-água. As lâminas foram mantidas a 25 °C por 24 horas. Após esse período, contou-se o número de escleródios germinados para obtenção do índice de inibição da germinação. Os dados foram analisados por análise de variância e testes de média, por meio do programa SAS 9.1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A matriz de dissimilaridade permitiu agrupar os isolados de rizobactérias em três grupos (Figura 1). Um grupo com isolados que apresentaram índice de inibição de germinação (IIG) entre 4 e 43% (37 isolados), sendo que neste grupo foram incluídos a testemunha e os isolados com IIG igual a zero (61 isolados). O segundo grupo com IIG entre 71 e 100 % (16 isolados) e o terceiro grupo com IIG entre 54 e 60% (3 isolados). Os isolados pertencentes a esses dois últimos grupos foram selecionados para os testes em casa-de-vegetação (Tabela 1). O IIG dos isolados C61 (96%), C41 (93%), C12 (71%), C131 (70%), C111 (55%), C65 (44%), C34 (41%), C153 (33%) foram significativamente diferentes da testemunha. Os demais isolados apresentaram IIG entre 9 e 30%. Houve uma variação de IIG quando se comparam os resultados obtidos *in vivo* e *in vitro* para a maioria dos isolados. Dez isolados agrupados com IIG entre 71 e 100% no ensaio *in vitro* não diferiram significativamente da testemunha no ensaio *in vivo* apresentando IIG máximo de 30% nestas condições. Apenas os isolados C41 e C12 apresentaram IIG semelhantes nos dois ensaios, com redução em torno de 93% e 70%, respectivamente. É necessário um número elevado de isolados para realizar screening de rizobactérias do feijão-caupi. Neste trabalho a partir de 117 isolados, selecionaram-se oito isolados de interesse para estudos como agentes de biocontrole, com destaque para os isolados C61, C41, C12 e C131 que inibiram a germinação de escleródios de *R. solani* acima de 70%.

LITERATURA CITADA

NECHET KL; HALFELD-VIEIRA BA; BOARI AJ; NASCIMENTO JF. 2009. Doenças. In: ZILLI JE; VILARINHO AA; ALVES JMA (eds.). *A cultura do feijão-caupi na Amazônia Brasileira*. Boa Vista: Embrapa Roraima. p. 245-270.

PAPAVIZAS GC; DAVEY CB. 1961. Saprophytic behavior of *Rhizoctonia* in soil. *Phytopathology* 51:693-699.

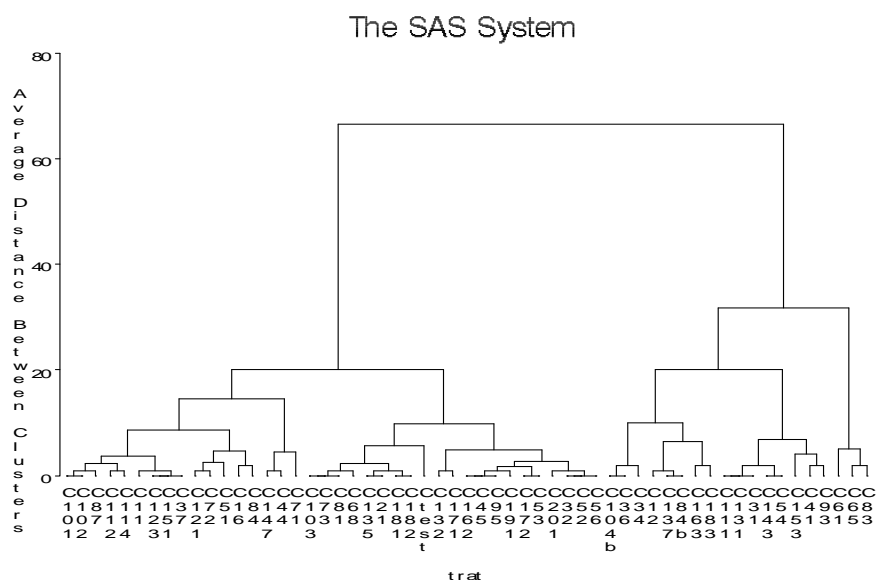


Figura 1. Dendrograma gerado pelo agrupamento UPGMA, construído com base na raiz quadrada da distância euclidiana a partir dos valores médios do índice de inibição de germinação *in vitro* de escleródios de *Rhizoctonia solani* por isolados de rizobactérias do feijão-caupi (*Vigna unguiculata*). Boa Vista, Embrapa Roraima, 2010. Dendrogram UPGMA based on the square root of Euclidean distance data from inhibited germination index *in vitro* of *Rhizoctonia solani* sclerotia from cowpea rhizobacteria isolates. Boa Vista, Embrapa Roraima, 2010.

Tabela 1. Contrastes entre isolados de rizobactérias do feijão-caupi e a testemunha para índice de inibição da germinação (IIG) de escleródios de *Rhizoctonia solani*. Boa Vista, Embrapa Roraima, 2010. Contrasts between cowpea rhizobacteria isolates and control for inhibited germination index of *Rhizoctonia solani* sclerotia. Boa Vista, Embrapa Roraima, 2010.

| Tratamento | IIG (%) | Tratamento | IIG (%) |
|-------------------|---------|--------------|---------|
| C61 | 96** | C84b | 24 |
| C41 | 93** | C83 | 24 |
| C12 | 71** | C36 | 21 |
| C131 | 70** | C163 | 21 |
| C111 | 55** | C183 | 14 |
| C65 | 44** | C143 | 14 |
| C34 | 41** | C31 | 11 |
| C153 | 33** | C137 | 9 |
| C54 | 30 | C104b | 9 |
| C93 | 30 | | |
| Testemunha | | 0 | |
| CV (%) | | 11 | |

Médias assinaladas com ** diferem significativamente da testemunha pelo teste Dunnett ($p \leq 0,05$). Means assigned with ** are significantly different for the control by Dunnett test ($p \leq 0,05$).

Área de Afinidade: Fitopatologia

Agente/meio de biocontrole: *Rhizoctonia solani*

Espécie do hospedeiro (se for o caso): *Vigna unguiculata*

Nome comum do hospedeiro (se for o caso): Feijão-caupi