



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

CLAUDIA MARIA OLIVEIRA LONGA

**OCORRÊNCIA, PATOGENICIDADE E CONTROLE ALTERNATIVO
DE *Rhizoctonia solani* KÜHN EM BOA-NOITE (*Catharanthus roseus* G.
DON.) PELO USO DE *Trichoderma* spp. E COMPOSTO ORGÂNICO**



**SALVADOR - BAHIA,
OUTUBRO - 2002**

CLAUDIA MARIA OLIVEIRA LONGA

**OCORRÊNCIA, PATOGENICIDADE E CONTROLE ALTERNATIVO
DE *Rhizoctonia solani* KÜHN EM BOA-NOITE (*Catharanthus roseus* G.
DON.) PELO USO DE *Trichoderma* spp. E COMPOSTO ORGÂNICO**

**DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO
INSTITUTO DE BIOLOGIA, DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA, PARA
A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS. ÁREA DE
CONCENTRAÇÃO: BIOLOGIA VEGETAL.**

**ORIENTADORA: DRA. JOSANIDIA SANTANA LIMA
CO-ORIENTADORA: MSC. MARIA ZÉLIA ALENCAR DE OLIVEIRA**

**SALVADOR, BA
OUTUBRO - 2002**

COMISSÃO EXAMINADORA

Dra. Josanidia Santana Lima

Instituto de Biologia / UFBA

MSc. Maria Zélia Alencar de Oliveira

Superintendência de Parques e Jardins / Prefeitura Municipal do Salvador

Dr. Aristóteles Pires de Matos

Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura (CNPMPF) / EMBRAPA

HOMOLOGADA EM _____ / _____ / 2002.

*A N. Sra. da Luz, meu socorro e proteção;
A Fátima, minha grande amiga e mãe;
A Jonga, Carla e Cátia, meus irmãos,
melhores companheiros que a vida me deu.*

*Em Memória
de meu pai, Carlos,
meu irmão, Beto e Iza da Paz.*

*Com especial carinho, da minha infância recordo
a bela e aconchegante casa da Fazenda Ponta de
Trilho e a oração de Santa Terezinha D'Ávila -
pintada em azulejo pelas freiras do Carmelo da
Bahia - que nos acolhia na porta principal:*

“Nada te perturbe

Nada te espante

Tudo passa

Só Deus não muda

A paciência tudo alcança

Quem a Deus tem nada lhe falta

Só Deus basta.”

AGRADECIMENTOS

À **Superintendência de Parques e Jardins (SPJ)**, da Prefeitura Municipal do Salvador (PMS), na pessoa de **Dr. Thelmo Gavazza Queiroz**, pela oportunidade concedida ao meu aprimoramento profissional.

À **Coordenação e aos professores do curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Bahia (UFBA)** pelos ensinamentos e auxílio durante o curso de Mestrado.

À **Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA)**, por disponibilizar, através do convênio SPJ/EBDA, o laboratório e a casa de vegetação para realização dos experimentos.

A **Profa. Dra. Josanidia Santana Lima**, pela orientação e correções efetuadas na dissertação.

Em especial, a **MSc. Maria Zélia Alencar de Oliveira**, pela sugestão do tema, segura e valiosa orientação, estímulo, total empenho na correção de cada capítulo, constante demonstração de amizade e auxílio indispensável durante todo o desenvolvimento deste trabalho.

Aos Engenheiros Agrônomos **João Albany Costa e Pedro Jacinto Cruz**, da Faculdade de Agronomia da UFBA, pela disponibilidade para realização das análises estatísticas e ajuda fundamental na interpretação dos resultados.

A Bibliotecária **Lícia Melo de Paiva**, pela revisão das referências bibliográficas e aos demais funcionários da biblioteca da EBDA, pela ajuda no levantamento bibliográfico.

Aos funcionários **Ana Rita Santos da Cunha** e **Gerson Pereira Souza**, da SPJ, e **Aloína Maria dos Santos** e **José Domingos Vitório de Jesus**, da EBDA, pela preciosa ajuda na preparação dos materiais e execução dos experimentos.

Aos colegas da SPJ, particularmente a **Maria do Carmo Barbosa**, **Tiago Neto** e **Artur Portela**, pelo encorajamento e amizade.

Aos colegas do Mestrado, em especial a **Solange Alcântara**, **Léa Lopes**, **Nilton Tosta**, **Ana Rodarte** e **César Carqueja**, cuja companhia amenizou os momentos mais difíceis e tornou ainda mais importante esta conquista.

Às amigas, **Cida**, **Dinha**, **D. Helenita**, minhas sobrinhas **Bebel** e **Mila**, e todos que dividiram comigo as incertezas, alegrias e preocupações deste período.

Meu mais particular obrigada a **Andrea Ferruzzi**, pelo amor, paciência e dedicação. Por rezar comigo para o sucesso deste empreendimento e pela presença constante, apesar da distância física.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

ÍNDICE GERAL

Capítulo 1 - Introdução geral	01
Capítulo 2 - Ocorrência de <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn em sementes de boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.)	12
Capítulo 3 - Patogenicidade de <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn em boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.)	21
Capítulo 4 - Efeito antagônico de <i>Trichoderma</i> spp. a <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn em boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.), pelo tratamento do solo	35
Capítulo 5 - Microbiolização de sementes de boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.) com <i>Trichoderma</i> spp. visando ao controle de <i>Rhizoctonia</i> <i>solani</i> Kühn	56
Capítulo 6 - Influência do uso de composto orgânico na supressão de “damping- off” de pré e pós-emergência causado por <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn em boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.)	69
Capítulo 7 - Considerações finais	85

ANEXO

ÍNDICE DE QUADROS, FIGURAS E TABELAS

Capítulo 2

Ocorrência de *Rhizoctonia solani* Kühn em Sementes de Boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.)

Tabela 1 - Incidência de fungos associados às sementes de boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.) no período de 2000 a 2001 em Salvador, BA	15
Tabela 2 - Frequência de fungos observados em 20 amostras de sementes de boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.) no período de 2000 a 2001 em Salvador, BA	16
Figura 1 - Correlação entre a ocorrência de <i>Aspergillus niger</i> van Tiegh. e <i>Penicillium</i> sp. e a porcentagem de germinação de sementes de boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.)	17

Capítulo 3

Patogenicidade de *Rhizoctonia solani* Kühn em Boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.)

Tabela 1 - Médias de sementes de boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.) infectadas por <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn no teste de patogenicidade “in vitro”	26
Tabela 2 - Médias de plântulas de boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.) sobreviventes nos testes de patogenicidade com <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn em casa-de-vegetação	27

Figura 1 - <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn em boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don).	28
(A) Solo inoculado com o isolado R3. (B) Solo inoculado com o isolado R1. Em ambas as fotos as testemunhas estão localizadas na parte superior	
Figura 2 - <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn em boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don).	29
(A) Sementes inoculadas com o isolado R1. (B) Sementes inoculadas com o isolado R3. Em ambas as fotos as testemunhas estão localizadas na parte superior	
Figura 3 - Lesões escuras e deprimidas na região do hipocótilo e manchas foliares em plântulas de boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.) infectadas por <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn (isolado R6)	30
Figura 4 - Sementes de boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.) infectadas por <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn. (A) Radícula apresentando lesão necrótica escura, procedente de solo inoculado com o isolado R3. (B) Semente com germinação atípica, sem exposição das primeiras folhas, procedente de solo inoculado com o isolado R2	31
Figura 5 - Plântulas de boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.). (A) Plântulas infectadas com <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn, isolado R1. (B) Plântulas infectadas com o isolado R3. Em cada foto, as plântulas testemunhas, sem sintomas de doença, estão localizadas à direita	32

Capítulo 4

Efeito Antagônico de *Trichoderma* spp. a *Rhizoctonia solani* Kühn em Boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.), pelo Tratamento do Solo

Tabela 1 - Isolados de <i>Trichoderma</i> spp. utilizados no teste de antagonismo “in vitro”	38
--	----

Tabela 2 - Seleção de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. com potencial para o controle de <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn	42
Figura 1 - Isolados de <i>Trichoderma</i> Pers. ex Fr. com potencial para controle de <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn (R6), pelo método de culturas pareadas em BDA. Em cada foto: testemunha de <i>R. solani</i> (abaixo à direita); testemunha de <i>Trichoderma</i> (abaixo à esquerda); e pareamento acima. A = <i>Trichoderma</i> sp. (T1); B = <i>T. longibrachiatum</i> Rifai (T3)	43
Figura 2 - Isolados de <i>Trichoderma</i> Pers. ex Fr. com potencial para controle de <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn (R6), pelo método de culturas pareadas em BDA. Em cada foto: testemunha de <i>R. solani</i> (abaixo à direita); testemunha de <i>Trichoderma</i> (abaixo à esquerda); e pareamento acima. A = <i>Trichoderma</i> sp. (T11); B = <i>T. harzianum</i> Rifai (T12)	44
Figura 3 - Isolados de <i>Trichoderma</i> Pers. ex Fr. com potencial para controle de <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn (R6), pelo método de culturas pareadas em BDA. Em cada foto: testemunha de <i>R. solani</i> (abaixo à direita); testemunha de <i>Trichoderma</i> (abaixo à esquerda); e pareamento acima. A = <i>T. aureoviride</i> Rifai (T5) B = <i>Trichoderma</i> sp. (T17)	45
Figura 4 - Inibição do crescimento de <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn por <i>Trichoderma</i> spp., apresentando, nitidamente, a zona de demarcação	46
Quadro 1 - Características culturais de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. em pareamento “in vitro” com <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn, em BDA	47
Figura 5 - Crescimento micelial radial de isolados de <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn e <i>Trichoderma</i> spp. “in vitro”, em cultivo individual em BDA, em dois períodos de leitura	48
Figura 6 - Taxa de crescimento micelial de <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn e <i>Trichoderma</i> spp., em cultivo individual em BDA	49

Tabela 3 - Médias de plântulas de boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.) sobreviventes após o 15º dia do tratamento de <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn com <i>Trichoderma</i> spp., em condições de casa-de-vegetação	50
Figura 7 - Efeito antagônico de <i>Trichoderma</i> Pers. ex Fr. a <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn em casa-de-vegetação. Aplicação simultânea dos isolados (T1, T3 e T18) do antagonista e do patógeno no solo. Testemunha (R6)	51
Figura 8 - Efeito antagônico de <i>Trichoderma</i> Pers. ex Fr. a <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn em casa-de-vegetação. Aplicação do isolado T11 anterior e posteriormente ao patógeno. Testemunha (R6)	51
Tabela 4 - Análise de variância do efeito antagônico de <i>Trichoderma</i> spp. a <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn em condições de casa-de-vegetação, em relação aos tratamentos e aos métodos de aplicação	52

Capítulo 5

Microbiolização de Sementes de Boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.) com *Trichoderma* spp. Visando ao Controle de *Rhizoctonia solani* Kühn

Figura 1 - Sementes de boa-noite infectadas com <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn. (A) Tratadas com <i>Trichoderma</i> sp. (T1), à esquerda, e <i>T. longibrachiatum</i> Rifai (T3), à direita. (B) Tratadas com <i>Trichoderma</i> sp. (T11), à esquerda, e <i>T. harzianum</i> Rifai (T12), à direita. (C) Testemunha: não tratadas com o antagonista	62
Tabela 1 - Médias de sementes de boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.) germinadas após tratamento com <i>Trichoderma</i> spp., em casa-de-vegetação	63

Tabela 2 - Médias de plântulas sobreviventes de boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.) 15 dias depois de infectadas artificialmente com <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn e tratadas com <i>Trichoderma</i> spp., em casa-de-vegetação	64
Figura 2 - Plântulas de boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.) oriundas de sementes infectadas artificialmente com <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn e tratadas com <i>Trichoderma</i> Pers. ex Fr. (A) <i>T. longibrachiatum</i> Rifai (T3). (B) à esquerda, <i>Trichoderma</i> sp. (T11), e à direita, testemunha: plântulas oriundas de sementes infectadas por <i>R. solani</i> (R6) e não tratadas com o antagonista	65

Capítulo 6

Influência do Uso de Composto Orgânico na Supressão de “Damping-off” de Pré e Pós-emergência Causado por *Rhizoctonia solani* Kühn em Boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.)

Tabela 1 - Valores médios dos percentuais de sementes germinadas e plântulas sobreviventes de boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.) no controle de “damping-off” de <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn pelo tratamento do solo com composto orgânico	74
Figura 1 - Efeito do composto orgânico SPJ, em três concentrações (10, 20 e 30%), sobre “damping-off” de pré e pós-emergência ocasionado por <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn em boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.). Em cada foto: à direita, tratamento com composto e à esquerda, testemunha	75
Figura 2 - Efeito do composto orgânico UFBA, em três concentrações (10, 20 e 30%), sobre “damping-off” de pré e pós-emergência ocasionado por <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn em boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.). Em cada foto: à direita, tratamento com o composto e à esquerda, testemunha	76

Tabela 2 - Graus de liberdade (GL) e quadrados médios (QM) nas análises de variância e coeficientes de variação da percentagem de sementes germinadas (PSG) e de plântulas sobreviventes (PPS) de boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.)	77
Figura 3 - Efeito dos compostos UFBA e SPJ, em três concentrações, no controle de “damping-off” de pré-emergência de <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn em boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.)	78
Figura 4 - Efeito dos compostos UFBA e SPJ, em três concentrações, no controle de “damping-off” de pós-emergência de <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn em boa-noite (<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.)	79

Capítulo 1

INTRODUÇÃO GERAL

A produção de plantas ornamentais no Brasil ganhou impulso a partir da década de 80, quando passou a utilizar tecnologias modernas e estruturas apropriadas para o cultivo de espécies de interesse paisagístico (Lorenzi e Souza, 1995).

Com pouco mais de 30 anos de atividade em escala comercial, a floricultura nacional movimentou cerca de US\$ 1,5 bilhão no ano de 2001. O valor, se acrescido da movimentação registrada com plantas ornamentais, sobe para US\$ 2 bilhões (Gazeta, 2002).

Claro e Santos (1998) enfatizam que a biodiversidade e a amplitude de climas e solos do Brasil possibilitam cultivos diversificados, caracterizando-se em excelentes vantagens técnicas para o complexo agroindustrial de flores.

Entretanto, a floricultura brasileira concentra-se nas regiões sul-sudeste, onde se destacam os estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Também, vêm se sobressaindo os estados de Pernambuco, Paraná, Goiás e Bahia (Graziano, 1997).

Scherer (2001) considera o Estado da Bahia como um berço natural para a produção de flores e plantas ornamentais, desde que sejam observadas as condições de cultivo, espécies utilizadas e nível tecnológico empregado, pois é grande a disponibilidade de recursos naturais, como clima, solo e recursos hídricos, tanto para espécies de clima tropical como para as de clima temperado.

Vale mencionar a importância da adoção das técnicas corretas de cultivo, a fim de se evitar, com o incremento significativo da produção, problemas tais como a incidência de doenças nas diversas espécies de ornamentais. Atualmente, ocorrem em viveiros de ornamentais, algumas doenças, notadamente aquelas ocasionadas por agentes fúngicos.

Motos (1997) cita que durante a fase de produção podem surgir doenças foliares diversas causadas por *Diplocarpon* Wolf, *Peronospora* Corda e *Puccinia* Pers.; Freitas et al. (1996) registram a ocorrência de *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr. na cultura de lisianto

[*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shin.]; Freitas et al. (1997) apontam como principal patógeno do crisântemo o fungo *Puccinia horiana* Henn.; Carvalho e Schuta (1998) detectaram manchas foliares ocasionadas por *Cercospora* sp. em *Impatiens* sp. e *Spiraea* sp., *Cercospora* sp. e *Botrytis* sp. em *Hydrangea* sp., *Alternaria* sp. e *Puccinia pelargonizionalis* Doidge em *Pelargonium* sp., e *Bipolaris* sp. em *Rhapis* sp.; Bastos e Bezerra (1999) relatam *Colletotrichum capsici* (Sydow) Butler & Bisby em mudas de *Bougainvillea* sp. apresentando lesões necróticas nas folhas e murcha nas flores.

Não obstante, as doenças mais comuns são o “damping-off”, murchas e podridões de caule e raiz causadas por espécies de *Fusarium* Link ex Fr., *Pythium* Pringsh., *Phytophthora* de Bary e *Rhizoctonia* DC. ex Fr. (Garcia-Garza e Hall, 1999).

De acordo com Stephens et al. (1981), o “damping-off” é a principal doença e seu controle e prevenção em viveiros comerciais são dificultados por envolverem um grande número de patógenos e vegetais.

Muitas espécies de *Rhizoctonia* são relatadas como ocasionadoras de danos em ornamentais, sendo *Rhizoctonia solani* Kühn a mais comum. Conforme Suguino e Maringoni (1995), *R. solani* apresenta uma ampla faixa de hospedeiros, sendo considerada uma espécie polífaga, composta por vários grupos e subgrupos. Chase (1992) relacionou *R. solani* em *Anthurium* spp., *Aphelandra squarrosa* Nees, *Dieffenbachia* spp., *Monstera deliciosa* Liebm., *Peperomia* spp., *Philodendron* spp., *Polyscias* spp., *Schefflera arboricola* (Hay.) Merr., *Spathiphyllum* spp. e *Syngonium podophyllum* Schott. Caldari Jr. et al. (1996) mencionam *R. solani* em plantas jovens de lisianto, ocasionando o anelamento da região do colo, e em plantas jovens e adultas de orquídea (*Phalaenopsis* sp.) exibindo subdesenvolvimento. Oliveira et al. (1999), estudando a população fúngica em sementes de ornamentais na Bahia, analisaram 80 amostras e recuperaram 19 fungos, entre eles *R. solani*, associado a jacarandá-pitanga (*Adenanthera pavonina* L.).

Apesar disto, a quantidade de informações disponíveis sobre o tema, principalmente no tocante à literatura brasileira, é limitada, pois os estudos realizados priorizam outras culturas tais como algodão (Silva-Mann et. al., 2002; Howell et al., 2000; Silva et al., 1996), feijão (Picinini e Fernandes, 2000; Noronha et al., 1996; Maringoni et al., 1992), tomate (Lopes e Santos, 1994), trigo (Brammer et. al., 2000) e essências florestais (Ferreira et al, 1998; Carvalho et al., 1996; Garcia et al., 1994; Santos e Melo, 1993).

R. solani vem sendo isolado, desde 1999 em Salvador- BA, de mudas de boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.) com sintomas de “damping-off” de pré e pós-emergência. Esta é uma planta arbustiva, semi-herbácea, da família Apocynaceae, com ampla utilização ornamental em jardins tanto públicos como particulares. Soma-se a este inquestionável potencial paisagístico, a sua importância como planta medicinal.

A boa-noite desperta um grande interesse farmacológico pela produção de alcalóides. Quatro de seus princípios ativos, a vimblastina, vincristina, vindesina e vinorelbina, já são utilizados como quimioterápicos oncológicos na medicina alopática. A vimblastina e a vincristina, também disponíveis por via sintética, se destacam por sua atividade antitumoral (Castro et al., 2001), contribuindo para alcançar avanços decisivos na cura de dois dos mais mortíferos tipos de cânceres, o mal de Hodgking, que afeta principalmente jovens adultos, e a leucemia linfática aguda, tida como uma verdadeira sentença de morte para crianças. Corrêa (1984) e Matos (1997) falam da grande utilidade deste vegetal na cura das febres intermitentes. É oportuno ressaltar a inclusão desta espécie na lista de plantas estudadas pela Central de Medicamentos do Ministério da Saúde (CEME).

Quanto a *R. solani*, fungo que vem sendo encontrado em associação com boa-noite, é um patógeno amplamente disseminado, presente em grande parte dos solos cultivados e não-cultivados em todo o mundo. É responsável por sérios danos tanto no campo como em cultivo protegido. Devido à grande variedade de hospedeiros por ele atacada, assim como sua habilidade para sobreviver em condições ambientais adversas, na forma de escleródios, o potencial do emprego de várias estratégias de controle é enormemente afetado.

O uso de agrotóxicos é a prática mais comum no controle deste fungo, sobretudo no sistema de cultivo em ambientes protegidos. Contudo, a pressão da sociedade no sentido de se substituírem os pesticidas atuais por produtos ou por técnicas adequadas, que contribuam para a sustentabilidade dos agroecossistemas, vem concorrendo para a racionalização e a redução do seu emprego.

A utilização contínua de fungicidas resultou no acúmulo de compostos tóxicos potencialmente danosos para humanos e para o ambiente e também no desenvolvimento de resistência por parte de certos patógenos.

Segundo Ghini e Kimati (2000), a resistência de organismos aos produtos químicos usados para o seu controle tem sido um sério problema em diversas áreas. Continuando, afirmam que na agricultura, quando ocorre resistência de fungos a fungicidas, as consequências podem ser desastrosas para os vários segmentos da sociedade envolvidos na cadeia produtiva.

Por outro lado, a qualidade e a quantidade de matéria orgânica disponíveis no solo são comprometidas pela deficiência de micro e macrorganismos, em razão, entre outros fatores, do excessivo emprego de agrotóxicos (Valarini et al., 1999).

Para confrontar este problema global, estão sendo sugeridas alternativas viáveis (Sreenivasaprasad e Manibhushanrao, 1990). Dentre as principais práticas de manejo utilizadas estão a nutrição mineral como forma de aumentar a resistência das plantas às doenças, a frequência de irrigação, o monitoramento fitossanitário, e, mais recentemente, o uso de agentes de controle e promotores de crescimento de plantas de origem biológica.

A introdução de microrganismos antagonicos no solo é um meio não-químico potencial para controle de doenças de plantas (Elad et al., 1980). Muitos microrganismos são capazes de exercer uma ação antagônica contra diversos patógenos.

Homechin (1991) admite que estes organismos são controlados pela ação de medidas que atuam destruindo as unidades propagativas; prevenindo a formação do inóculo no solo ou destruindo o inóculo presente em resíduos infestados; reduzindo o vigor e a virulência do patógeno; e promovendo o desenvolvimento das plantas.

Os microrganismos agentes de controle de fungos fitopatogênicos apresentam mais chances de sucesso no combate aos patógenos habitantes do solo, como *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *R. solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary e *Sclerotium rolfsii* Sacc. (Melo e Azevedo, 1998).

No caso específico de *R. solani* têm sido investigados vários agentes bacteriológicos e fúngicos (Melo e Azevedo, 1998; Bettiol, 1991; Mihuta-Grimm e Rowe, 1986).

As espécies de *Trichoderma* Pers. ex Fr., destacam-se entre os mais promissores agentes biocontroladores de patógenos do solo e do filoplano. A literatura aponta diversos estudos sobre os mecanismos de ação de *Trichoderma* no controle biológico de fungos, sendo descritos, dentre outros, o envolvimento de enzimas e antibióticos naturais; interações físicas com o patógeno, tais como, enrolamento de hifas e penetração direta; e competição por nutrientes (Michereff et al., 1993).

Melo (1991), citando Chet e Elad, descreveu as etapas que levam ao parasitismo de *R. solani* por *Trichoderma* spp., as quais se iniciam com a detecção do patógeno pelo antagonista que, provavelmente, ocorre em resposta à presença de estímulos químicos liberados por *R. solani*. Continuando, expressam que o passo seguinte seria o reconhecimento e a ligação do micoparasita ao seu hospedeiro, pois foi detectada a presença de lignina sobre a parede celular de *R. solani*, a qual se liga a um carboidrato sobre a parede celular de *Trichoderma* spp.; sendo o terceiro, a ocasional degradação e lise da parede celular.

Bettiol et al. (2000) indicam como outra opção para restringir a adoção de fungicidas na agricultura, o uso do composto orgânico visando à redução da severidade de doenças de plantas causadas por fungos habitantes do solo. Esta prática vem merecendo, atualmente, uma atenção especial e tem sido objeto de discussão pela comunidade científica.

Pereira et al. (1996), fazendo uma análise sobre algumas pesquisas realizadas com composto orgânico, concluíram que a sua aplicação na quase totalidade dos casos apresenta efeito supressivo na redução da severidade das doenças e da população de patógenos habitantes do solo. Entretanto, a ação dos compostos orgânicos sobre as doenças de plantas pode variar com a relação patógeno-hospedeiro, a quantidade a ser incorporada ao solo, o estágio de maturação do composto e o próprio tipo de composto.

Hoitink e Fahy (1986) falam dos fatores físico-químicos e biológicos como capazes de causar, também, influência na efetividade dos compostos, destacando entre eles o tamanho das partículas, o teor de nitrogênio, o teor de celulose, o teor de lignina e o pH.

Com relação à microflora em compostos orgânicos, estes pesquisadores postulam que a maioria dos resultados obtidos aponta para a ocorrência de vários microrganismos de ação antagônica comprovada. Entre esses, têm sido isolados e identificados, a partir de compostos supressivos, *Trichoderma* spp., *Gliocladium virens* Miller, Giddens & Foster e bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp., *Flavobacterium* spp., *Enterobacter* spp. e *Bacillus* spp.

Melo (1996) acredita que *R. solani* é altamente competitivo como saprófita, utilizando-se de celulose e colonizando compostos frescos. No entanto, o patógeno não coloniza compostos à base de cascas de árvore maduras com baixo teor de celulose. Por sua vez, *Trichoderma* é capaz de colonizar estes compostos.

Em virtude da importância no paisagismo e das propriedades farmacológicas de *C. roseus*, e considerando, ainda, a escassez bibliográfica sobre a incidência, patologia e controle de doenças em plantas ornamentais, associada a uma ausência de dados referentes à ação de *R. solani* sobre esta espécie vegetal, o presente trabalho tem como objetivos:

- conhecer a sanidade de sementes de boa-noite em relação a *R. solani*;
- determinar a patogenicidade de isolados de *R. solani* a boa-noite;
- selecionar isolados de *Trichoderma* spp. com potencial de biocontrole a *R. solani* em boa-noite; e
- verificar a influência do uso de composto orgânico na supressão de “damping-off” de pré e pós-emergência, causado por *R. solani*, em boa-noite.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BASTOS, C. N.; BEZERRA, J. L. Ocorrência de mancha foliar em *Bougainvillea* sp. causada por *Colletotrichum capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.24, n.4, p.577, dez.1999.

BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA-CNPDA, 1991. 388p.

BETTIOL, W.; MIGHELI, Q.; GARIBALDI, A. Control of *Pythium* damping-off of cucumber with composted cattle manure. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.25, n.1, p.84-87, 2000.

BRAMMER, S. P.; BARCELLOS, A. L.; MORAES-FERNANDES, M. I. B.; MILACH, S. C. K. Bases genéticas da resistência durável à ferrugem da folha do trigo e estratégias biotecnológicas para o melhoramento no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.25, n.1, p.5-20, mar. 2000.

CALDARI JR., P.; FREITAS, J. C.; KIMATI, H. Ocorrência de *Rhizoctonia solani* em lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) e orquídea (*Phalaenopsis* sp.) no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.21, p.350, ago.1996. Suplemento.

CARVALHO, A. O.; FERREIRA JUNIOR, M. F.; CARMO, M. G. F.; MARTINS, A.; AKIBA, F. Caracterização de isolados de *Rhizoctonia* de mudas de espécies florestais nativas da Mata Atlântica e de *Bauhinia* sp. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.21, p.396, ago.1996. Suplemento.

CARVALHO, R. I. N.; SCHUTA, L. R. Doenças em espécies ornamentais herbáceas e arbustivas de interesse no ajardinamento em Curitiba-PR. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.23, p.232, ago.1998. Suplemento.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 104p.

CHASE, A. R. **Compendium of ornamental foliage plant diseases**. St. Paul, Minnesota: APS Press, 1992. 92p., il.

CLARO, D. P.; SANTOS, A. C. O complexo agroindustrial das flores sob a ótica da economia dos custos de transação. **Caderno de Pesquisas em Administração**, São Paulo, v. 1, n. 7, 1998.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro, RJ: Ministério da Agricultura/Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, v.1, 1984. 747p.

ELAD, Y.; CHET, I.; KATAN, J. *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* e *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, St. Paul, v.70, n.2, p.119-121, 1980.

FERREIRA, F. A.; SILVEIRA, S. F.; ALFENAS, A. C.; DEMUNER, A. M. Mancha-de-criptoriopsis em eucalipto no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.23, n.3, p.414, set.1998.

FREITAS, J. C.; AGOSTINI, L. A.; MATSUOKA, S.; CALDARI JUNIOR, P.; GARCIA, A. A. F.; OLIVEIRA, S. H. F. Controle da ferrugem branca do crisântemo (*Puccinia horiana*) em condições de casas de vegetação com diferentes mantas de cobertura. **Summa phytopathologica**, São Paulo, v.23, n.3-4, p.268-271, jul./dez.1997.

FREITAS, J. C.; CALDARI JR., P.; KIMATI, H. Mofo cinzento provocado por *Botrytis cinerea* na cultura de lisianthus no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.21, p.414, ago.1996. Suplemento.

GARCIA-GARZA, J.; HALL, R. Control of soil born plant pathogens in greenhouse crops. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.24, p.231-232, 1999. Suplemento.

GARCIA, M. C. C.; FERREIRA, F. A.; MIZUBUTI, E. S.G. Supressividade de *Cylindrocladium scoparium* e *Rhizoctonia solani* por linhagens selecionadas de *Trichoderma* spp. a serem usadas em viveiros suspensos de eucalipto. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, p.331, ago.1994. Suplemento.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. 78p., il.

GRAZIANO, T. T. Sistemas de Produção. In: ALMEIDA, I. M. G.; MALAVOLTA JÚNIOR, V. A.; IMENES, S. L. **Problemas fitossanitários em plantas ornamentais**. Campinas: Instituto Biológico, 1997. p.26-32.

HOMECHIN, M. Controle biológico de patógenos do solo. In: BETTIOL, W. **Controle Biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA-CNPDA, 1991. p.7-23.

HOITINK, H. A. J.; FAHY, P. C. Basis for the control of soilborne plant pathogens with compost. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, California, USA, v.24, p.93-114, 1986.

HOWELL, C. R.; HANSON, L. E.; STIPANOVIC, R. D.; PUCKHABER, L. S. Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. **Phytopathology**, St. Paul, v.90, n.3, p.248-251, 2000.

LOPES, C. A.; SANTOS, J. R. M. **Doenças do tomateiro**. Brasília: EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças, 1994. 67p.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. Nova Odessa, SP: Ed. Plantarum, 1995. 720p.

MARINGONI, A. C.; TOFOLI, J. G.; FREGONESE, L. H. Ação de fungicidas in vitro sobre *Rhizoctonia solani* e no controle do tombamento do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.18, p.269-276, jul./dez. 1992.

MATOS, F. J. A. **O formulário fitoterápico do professor Dias da Rocha**. Fortaleza, CE: Universidade Federal do Ceará, 1997. 258p.

MELO, I. S. Potencialidade de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA – CNPDA, 1991. Cap.9, p.135-156.

MELO, I. S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, RS, v.4, p.261-295, 1996.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle Biológico**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA, v.1, 1998. 262p., il.

MICHEREFF, S. J.; MENEZES, M.; MARIANO, R. L. R. Antagonismo de espécies de *Trichoderma* sobre *Colletotrichum graminicola*, agente da antracnose do sorgo em condições de laboratório. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.19, n.1, p.14-17, 1993.

MIHUTA-GRIMM, L.; ROWE, R.C. *Trichoderma* spp. as biocontrol agents of *Rhizoctonia* damping-off of radish in organic soil and comparison of four delivery systems.

Phytopathology, St. Paul, v.76, n.3, p.306-312, 1986.

MOTOS, J. R. Aspectos fitossanitários na produção de mudas de ornamentais. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.23, n.1, p.76, jan./mar. 1997.

NORONHA, M. A.; ANTUNES SOBRINHO, S.; SILVEIRA, N. S. S.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R.; MARANHÃO, E. Potencial de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *Sclerotium rolfsii* em feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.22, n.2, p.156-162, 1996.

OLIVEIRA, M. Z. A.; LONGA, C. M. O.; BARBOSA, M. C. F. Fungos associados a sementes de ornamentais na Bahia. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.24, p.312, ago. 1999. Suplemento.

PEREIRA, J. C. R.; ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X. R.; CHAVES, G. M. Compostos orgânicos no controle de doenças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, RS, v.4, p.353-379, 1996.

PICCININI, E. C.; FERNANDES, J. M. Controle químico da mancha angular e da antracnose do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.25, n.1, p.92-94, 2000.

PRODUÇÃO de flores tropicais aumenta na região Nordeste. **Gazeta**, Recife, 21 mar. 2002.

SANTOS, T. M.; C. MELO, I. S. Influência de microrganismos antagônicos sobre o tombamento de pré e pós-emergência em *Eucalyptus* causado por *Rhizoctonia solani* e *Cylindrocladium scoparium*. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v. 19, n.2, p.127-129, 1993.

SCHERER, A. M. S. Flores da Bahia. **Ibraflor informativo**, Campinas, Ano VII, n.26, jun. 2001.

SILVA, J. B.; MATOS, J. A. R.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R. Efeito da bacterização de sementes de algodoeiro no controle de *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 342-348, 1996.

SILVA-MANN, R.; SALGADO, K. C. C.; VIEIRA, M. G. G. C.; MACHADO, J. C. Variabilidade genética de isolados do complexo *Colletotrichum* associados a sementes de algodoeiro, por meio de técnicas moleculares e inoculação em plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, n.1, p.27-32, jan./fev. 2002.

SREENIVASAPRASAD, S.; MANIBHUSHANRAO, K. Antagonistic potencial of *Gladiolus virens* e *Trichoderma longibrachiatum* to phytopathogenic fungi. **Mycopathologia**, Netherlands, v.109, p.19-26, 1990.

STEPHENS, C. T.; POWELL, C. C.; SCHIMITTHENNER, A. F. A method of evaluating postemergence damping-off pathogens of bedding plants. **Phytopathology**, St. Paul, v.71, n.11, p.1225-1228, 1981.

SUGUINO, E.; MARINGONI, A. C. Comportamento de variedades de feijoeiro a *Rhizoctonia solani*. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.21, n.2, p.124-126, 1995.

VALARINI, P. J.; ROBBS, C. F.; TOKESHI, H. **Impactos das práticas agrícolas e os problemas fitopatológicos: pesquisas e recomendações de proteção integrada**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 1999. 25p.

Capítulo 2

Ocorrência de *Rhizoctonia solani* Kühn em Sementes de Boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.)

RESUMO

Determinou-se a presença de *Rhizoctonia solani* Kühn em 20 amostras de sementes de boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.). Para cada amostra foram plaqueadas 400 sementes em meio de cultura (batata-dextrose-ágar + tetraciclina). As placas permaneceram incubadas a temperatura ambiente ($24\pm 2^{\circ}\text{C}$), sob regime de luz contínua, durante oito dias. Os resultados foram expressos em incidência de fungos e em frequência de aparecimento para cada amostra avaliada. Além de *R. solani*, as sementes foram colonizadas por *Aspergillus niger*, *Chaetomium globosum*, *Curvularia lunata*, *Fusarium solani*, *Lasioidiplodia theobromae*, *Penicillium* sp., *Pestalotia* sp., *Rhizopus stolonifer* e *Trichoderma* sp. Os dados obtidos mostraram que *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp. e *R. solani* ocasionaram danos a sementes de boa-noite.

Palavras-chave: *Catharanthus roseus*, *Rhizoctonia solani*, sanidade de sementes, fungos.

ABSTRACT

Occurrence of *Rhizoctonia solani* Kühn in vinca (*Catharanthus roseus* G. Don.) seeds

The presence of *Rhizoctonia solani* Kühn was determined in 20 samples of vinca (*Catharanthus roseus* G. Don.) seeds. For each sample, 400 seeds were plated in culture medium (potato-dextrose-agar + tetracycline) and incubated at room temperature ($24\pm 2^{\circ}\text{C}$) and continuous presence of light for eight days. The results were reported based on fungi occurrence and in frequency in each analysed sample. Besides *R. Solani*, the seeds were colonized by *Aspergillus niger*, *Chaetomium globosum*, *Curvularia lunata*, *Fusarium solani*, *Lasioidiplodia theobromae*, *Penicillium* sp., *Pestalotia* sp., *Rhizopus stolonifer* e *Trichoderma* sp. As a result, the data obtained showed that *Aspergillus niger* van Tiegh., *Penicillium* sp. and *R. solani* cause damages in vinca seeds.

Key words: *Catharanthus roseus*, *Rhizoctonia solani*, seed health, fungi.

INTRODUÇÃO

A necessidade de se avaliar a qualidade sanitária de sementes torna-se cada dia mais evidente.

Segundo Silva-Mann et al. (2002), o aspecto de sanidade de sementes, do ponto de vista de prognóstico e controle de doenças em plantas, tem assumido uma posição de destaque mundial, devido ao acentuado número de patógenos que podem ser transmitidos pelas sementes.

A presença de organismos patogênicos nas sementes de diversas culturas e os danos por eles ocasionados são apontados em literatura por um grande número de pesquisadores (Borém et al., 2000; Machado, 2000; Silva e Silva, 2000; Oliveira et al., 1999; Oliveira, 1998; Richardson, 1990; Soave e Wetzel, 1987; Tanaka e Corrêa, 1981; Dhingra et al., 1980).

Em associação a sementes de ornamentais, são citados os fungos *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler, *A. zinniae* Pape e *Pyrenochaeta* spp. em girassol, e *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (Prill. & Delacr.) Snyder & Hansen em cravo (Mendes e Ferreira, 1994); os gêneros *Phomopsis* (Sacc.) Sacc. e *Phoma* sensu Sacc. em cássia, canafistula e ipê (Coêlho et al., 1996).

Certos patógenos quando associados às sementes provocam perdas pela redução da germinação, emergência em solo e vigor das plântulas.

Um outro aspecto a ser considerado, é o da introdução aleatória e precoce de focos de infecção em áreas de plantio, atuando, muitas vezes, como meio de perpetuação de doenças entre gerações (disseminação no tempo). Machado (1988) afirma que muitos patógenos tiveram sua introdução assegurada em diferentes partes do mundo, por meio de sementes.

Trabalhos realizados em diversas espécies vegetais mostram a presença de *Rhizoctonia solani* Kühn nas suas sementes. Este fungo, que vem sendo recuperado em plantas de boa-noite, com sintomas de “damping-off”, exerce uma ação patogênica em uma grande variedade de hospedeiros.

Faiad e Wetzel (1987) demonstraram que *R. solani* é capaz de sobreviver por três anos em sementes armazenadas. Sua alta longevidade seja no solo, na semente ou nos restos vegetais, dificulta o seu controle.

No caso específico de boa-noite, não existem estudos de detecção de patógenos em sementes. Pesquisas neste sentido são de fundamental importância, pois podem fornecer subsídios para a produção de mudas.

Com base no exposto, realizou-se o presente trabalho, objetivando verificar a associação de *R. solani* a sementes de boa-noite, espécie que vem sendo utilizada no paisagismo da cidade do Salvador, Bahia.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado no laboratório de fitopatologia da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA), pelo convênio de cooperação técnica celebrado entre esta empresa e a Superintendência de Parques e Jardins (SPJ) da Prefeitura Municipal do Salvador.

Com o objetivo de determinar a incidência de *R. solani* em sementes de boa-noite comercializadas em Salvador-BA, no período de 2000 a 2001, foram analisadas 20 amostras, pelo método de plaqueamento em BDA (extrato de batata + dextrose e ágar + tetraciclina).

Quatrocentas sementes, de cada amostra, escolhidas ao acaso, foram desinfestadas com uma solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 1% durante dois minutos e lavadas duas vezes em água destilada esterilizada (Machado, 1988). Em seguida, as sementes foram distribuídas em placas de Petri e incubadas a temperatura ambiente ($24\pm 2^{\circ}\text{C}$), sob regime de luz contínua. Após o período de oito dias, procedeu-se à leitura para observação da presença de *R. solani*, notificando-se, também, os demais fungos incidentes nas sementes.

A identificação dos organismos presentes foi realizada pela visualização de suas colônias e pela caracterização das estruturas ao microscópio óptico, com o auxílio da literatura especializada.

Os resultados foram expressos em incidência de fungos (percentagem de sementes infectadas) e em frequência de aparecimento (presença ou não do patógeno) para cada amostra avaliada.

Registrou-se, ainda, o percentual de germinação das amostras submetidas ao teste de sanidade. As sementes foram consideradas como germinadas, quando a radícula apresentava 1,5 vez o comprimento da semente (Nicholson e Sinclair, 1971).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fungos detectados em sementes de boa-noite estão listados nas Tabelas 1 e 2. Um total de 10 gêneros foi identificado nas 20 amostras avaliadas.

R. solani, considerado um patógeno agressivo de plantas, apresentou uma incidência máxima de 3,0%, tendo sido identificado em 55% das amostras analisadas (Tabelas 1 e 2). Ficou patenteado que a maioria das sementes por ele colonizadas, não germinou, e quando emitia a radícula, logo ocorria a necrose dessa e, posteriormente o seu apodrecimento.

Tabela 1 - Incidência de fungos associados às sementes de boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.) no período de 2000 a 2001 em Salvador, BA

Fungo	Incidência (%)*	
	Máxima	Média
<i>Aspergillus niger</i>	32,0	12,6
<i>Chaetomium globosum</i>	3,0	2,2
<i>Curvularia lunata</i>	3,0	0,8
<i>Fusarium solani</i>	2,3	2,0
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	3,0	0,9
<i>Penicillium</i> sp.	31,0	0,7
<i>Pestalotia</i> sp.	3,0	0,8
<i>Rhizoctonia solani</i>	3,0	0,4
<i>Rhizopus stolonifer</i>	6,0	0,5
<i>Trichoderma</i> sp.	2,0	0,6

* A percentagem de incidência para cada organismo foi obtida em relação à soma total das colônias formadas nas sementes (400 sementes/amostra).

Um grande número de pesquisadores cita, também, *R. solani* como patógeno de várias outras espécies de ornamentais.

Tabela 2 - Frequência de fungos observados em 20 amostras de sementes de boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.) no período de 2000 a 2001 em Salvador, BA

Fungo	Frequência (%)*
<i>Aspergillus niger</i>	100,0
<i>Chaetomium globosum</i>	35,0
<i>Curvularia lunata</i>	40,0
<i>Fusarium solani</i>	40,0
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	25,0
<i>Penicillium</i> sp.	100,0
<i>Pestalotia</i> sp.	45,0
<i>Rhizoctonia solani</i>	55,0
<i>Rhizopus stolonifer</i>	60,0
<i>Trichoderma</i> sp.	30,0

*A percentagem de frequência foi obtida em relação a 20 amostras analisadas (400 sementes / amostra).

Pitta et al. (1990) apontam *R. solani* como responsável pelo apodrecimento do colo e da haste de gladiolo (*Gladiolus* sp.), sibipiruna (*Caesalpinia peltophoroides* Benth) e de estacas de azaléia (*Azalea indica* L.).

Benson e Cartwright (1996) listam 360 gêneros de ornamentais parasitados por este patógeno nos USA, dentre os quais, *Anthurium*, *Begônia*, *Bougainvillea*, *Caesalpinia*, *Calathea*, *Catharanthus*, *Ixora*, *Kalanchoe*, *Lantana*, *Monstera*, *Peperômia*, *Philodendron*, *Polyscias*, *Rhapis*, *Tagetes*, *Tradescantia* e *Zinnia*.

Richardson (1990) já se referia à associação de *R. solani* em sementes de *Chrysanthemum carinatum* Schousb. e *Tagetes* spp. na América, *Hibiscus* spp. na Índia, *Impatiens* na Dinamarca e *Zinnia elegans* Jacq., na Califórnia, Dinamarca e USA, ocasionando “damping off”.

Cabe ainda comentar os aspectos verificados por Benson e Cartwright (1996) quanto à possibilidade das plantas ornamentais propagadas por sementes serem particularmente vulneráveis à infecção por *R. solani*. Afirmam que as primeiras 24 às 72h após o plantio é o período crítico para o “damping-off” de pré-emergência.

Segundo Chase e Broschat (1998), *R. solani* é facilmente isolado de sementes de palmeiras. Citam ser este fungo responsável pelo “damping-off” de pré e pós emergência em Arecaceae.

Além deste organismo foram observados nas sementes *Aspergillus niger* van Tiegh., *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *Lasiodiplodia theobromae* [Pat. (Griff. & Maubl.)] e *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb. ex Fr.) Lind, citados na literatura em associação com plantas ornamentais, apresentando podridões de caule e raiz (Chase, 1992); *Curvularia lunata* (Walk.) Boedijn e *Pestalotia* sp. como responsáveis por manchas foliares (Pitta et al., 1990); *Chaetomium globosum* Kunze, *Penicillium* sp. e *Trichoderma* sp.

Observou-se correlação negativa entre as variáveis, porcentagem de germinação e incidência de *Aspergillus niger* e *Penicillium* sp. ($r = -0,96$ e $-0,75$, respectivamente), indicando o efeito desfavorável desses fungos na germinação das sementes (Figura 1). Tanaka e Corrêa (1981) afirmam que estes organismos contribuem para a redução do poder germinativo de sementes de várias espécies vegetais.

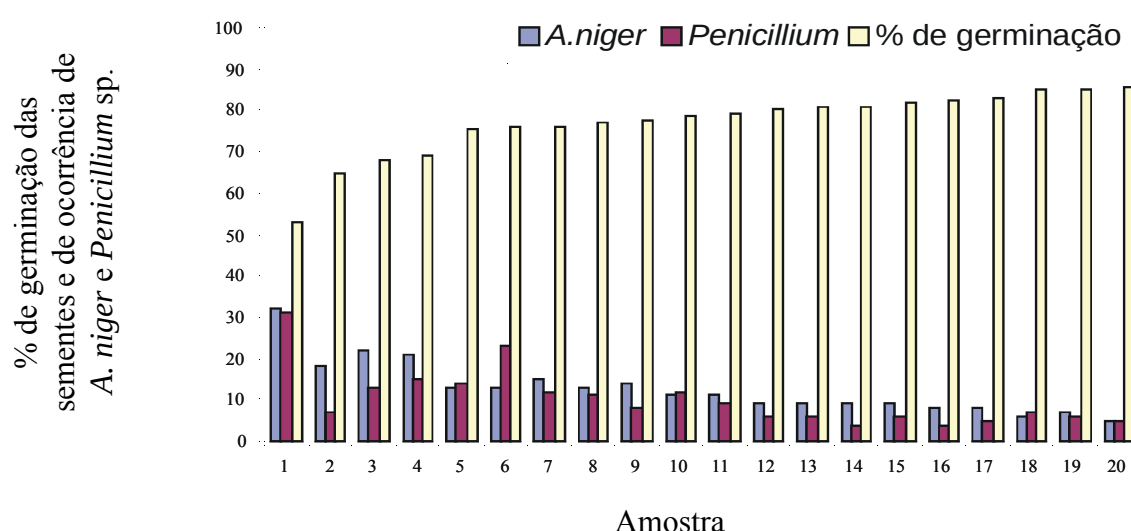


Figura1 - Correlação entre a ocorrência de *Aspergillus niger* van Tiegh. e *Penicillium* sp. e a porcentagem de germinação de sementes de boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.)

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem evidenciar: a) sementes de boa-noite podem transportar *R. solani*, responsável pelo “damping-off” de pré e pós-emergência, além de outros fungos com potencial fitopatogênico; e b) *A. niger* e *Penicillium* sp. ocasionam a perda do poder germinativo de sementes de boa-noite.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENSON, M.; CARTWRIGHT, K. Ornamental diseases incited by *Rhizoctonia* spp. In: SNEH, B.; JABAJI-HARE, S.; NEATE, S.; DIJST, G. ***Rhizoctonia* species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996. p. 303-314.

BORÉM, F. M.; SILVA, R. F.; HARA, T.; MACHADO, J. C. Ocorrência de fungos no ar e em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) armazenadas em ambientes com equipamento modificador de atmosfera. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 22, n. 1, p. 195-202, jan./mar.2000.

CHASE, A. R. **Compendium of ornamental foliage plant diseases**. St.Paul, Minnesota: APS Press, 1992. 92p., il.

CHASE, A. R.; BROCHAT, T. K. **Diseases and disorders of ornamental palms**. 3 ed. St. Paul, Minnesota, USA : APS Press, 1998. 56p., il.

COÊLHO, R. M. S.; CASTRO, H. A.; MENEZES, M. Patogenicidade de *Phomopsis* e *Phoma* associados a sementes de Ipê (*Tabebuia serratifolia*) e angico vermelho (*Anadenanthera perigrina*). **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.22, n.3-4, p.224-227, jul./dez.1996.

DHINGRA, O. D.; MUCHOVEJ, J. J.; CRUZ FILHO, J. **Tratamento de sementes** (controle de patógenos). Viçosa: UFV. Imprensa Universitária, 1980. 121 p.

FAIAD, M. G. R.; WETZEL, M. M. V. S. Sobrevivência de fungos em sementes de feijão armazenado. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.12, n.2, p.153, 1987.

MACHADO, J. C. **Patologia de sementes**: fundamentos e aplicações. Brasília: ESAL/FAEPE, 1988. 107p., il.

MACHADO, J. C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS/UFLA/FAEP, 2000. 138p., il.

MENDES, M. A. S.; FERREIRA, M. A. S. V. Fungos patogênicos detectados em germoplasma vegetal introduzido no Brasil de 1990 a 1992. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.19, n.3, p.449-454, set.1994.

NICHOLSON, J. F.; SINCLAIR, J. B. Amsoy soybean seed germination inhibited by *Pseudomonas glycinea*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 61, p. 1390-1393, 1971.

OLIVEIRA, M. Z. A. Fungos associados a sementes de mamona produzidas na Bahia. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 265, ago.1998.

OLIVEIRA, M. Z. A.; LONGA, C. M. O.; BARBOSA, M. C. F. Fungos associados a sementes de ornamentais na Bahia. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, p. 312, ago.1999. Suplemento.

PITTA, G. P. B.; CARDOSO, R. M. G.; CARDOSO, E. J. B. N. **Doenças das plantas ornamentais**. São Paulo: Instituto Brasileiro do Livro Científico, 1990. 186p., il.

RICHARDSON, M. J. **An annotated list of seed-borne diseases**, 4 ed. Zurich: ISTA, 1990. 320p.

SILVA, M. A. D.; SILVA, W. R. Comportamento de fungos e de sementes de feijoeiro durante o teste de envelhecimento artificial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.3, p. 599-608, mar.2000.

SILVA-MANN, R.; SALGADO, K. C. C.; VIEIRA, M. G. G. C.; MACHADO, J. C. Variabilidade genética de isolados do complexo *Colletotrichum* associados a sementes de algodoeiro, por meio de técnicas moleculares e inoculação em plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, n. 1, p. 27-32, jan./fev.2002.

SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. S. **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. 480p.

TANAKA, M. A. S.; CORRÊA, M. U. Influência de *Aspergillus* e *Penicillium* no armazenamento de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 6, n. 3, p. 451-456, out.1981.

Capítulo 3

Patogenicidade de *Rhizoctonia solani* Kühn em Boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.)

RESUMO

Rhizoctonia solani Kühn foi consistentemente recuperado de plântulas de boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.) com sintomas de “damping-off”, em Salvador-BA, no ano de 1999. Testes de patogenicidade foram realizados “in vitro”, utilizando-se seis isolados do fungo, pelo método de inoculação de sementes; e em condições de casa de vegetação, quatro isolados, por meio da infestação artificial do solo e pela inoculação de sementes. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com 10 repetições. Os reisolamentos de *R. solani* comprovaram os postulados de Koch, confirmando-se assim a hipótese de que este fungo é o agente causal da doença. Este é o primeiro relato de *R. solani* em boa-noite no Brasil.

Palavras-chave: fungo, *Rhizoctonia solani*, *Catharanthus roseus*, “damping-off”.

Patogenicity of *Rhizoctonia solani* Kühn in Vinca (*Catharanthus roseus* G. Don.)

ABSTRACT

Rhizoctonia solani Kühn was continuously got from damping-off seedlings of vinca (*Catharanthus roseus* G. Don.) in Salvador, State of Bahia, Brazil, in 1999. Pathogenic tests “in vitro” were carried out, using six isolated of the fungus, by the seeds inoculation method and four isolates under greenhouse conditions by artificial soil infestation and seeds inoculation. The experimental design was entirely randomized with 10 repetitions. The reisolations of *R. solani* proved Koch's postulates, confirming the hypothesis that this fungus is the agent that causes the disease. This is the first *R. solani* report related to vinca in Brazil.

Key words: fungi, *Rhizoctonia solani*, *Catharanthus roseus*, damping-off.

INTRODUÇÃO

A vinca ou boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.) é uma planta arbustiva, semi-herbácea, da família Apocynaceae, comumente usada para ornamentação de jardins e

logradouros públicos. Como todas as plantas cultivadas, as ornamentais são suscetíveis a um grande número de doenças fúngicas (Mendes et al., 1998; Chase, 1992; Viégas, 1961).

Entretanto, no Brasil poucos estudos têm sido realizados quanto ao aspecto patológico, em relação às plantas ornamentais.

A partir de 1999, em Salvador - BA, vem sendo constatada em mudas de boa-noite, a ocorrência de “damping-off” de pré e pós-emergência, sendo o agente etiológico identificado como *Rhizoctonia solani* Kühn.

Este organismo, considerado um patógeno em potencial, é um habitante natural do solo, capaz de infectar desde plantas herbáceas até lenhosas. A sua disseminação pode ocorrer pela água da chuva ou de irrigação, pelo movimento do solo durante as operações de aração e gradagem, pelo transporte de mudas e por sementes contaminadas.

Benson e Cartwright (1996) apontam, dentre as doenças causadas por *R. solani* em ornamentais, “damping-off” de pré e pós-emergência e podridão do caule.

Daughtrey et al. (1995) citam que a incidência e severidade da doença dependem do hospedeiro, raças do fungo e condições ambientais. Mencionam que em estudos realizados sobre o desenvolvimento de podridões de raízes associadas a *Rhizoctonia* DC. ex Fr., a doença aumenta de intensidade em solos com temperatura na faixa de 17-26°C e que apresentam uma capacidade de retenção de umidade abaixo de 40%. Afirmam que solos com níveis elevados de oxigênio e baixos teores de dióxido de carbono tendem a intensificar a severidade do ataque do patógeno.

Segundo Bedendo (1995), o contato entre hospedeiro e patógeno pode ser estabelecido quando a semente é colocada no solo infestado, podendo o patógeno atacar diretamente a semente ou os tecidos jovens produzidos após sua germinação.

Em vista da importância econômica e social que o cultivo e comercialização de plantas ornamentais representa atualmente para o Brasil, e dos prejuízos que os patógenos associados a “damping-off” vêm ocasionando, principalmente durante a produção de mudas, o presente trabalho tem como objetivo demonstrar a patogenicidade de isolados de *R. solani* em boa-noite.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi desenvolvido no laboratório de fitopatologia e casa-de-vegetação da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA), pelo convênio de cooperação técnica celebrado entre esta empresa e a Superintendência de Parques e Jardins (SPJ) da Prefeitura Municipal do Salvador.

Microrganismos

Foram utilizados seis isolados de *R. solani* nos experimentos “in vitro” e quatro em casa-de-vegetação, recuperados de sementes e de plântulas de boa-noite com sintomas típicos de “damping-off”.

Os isolados do fitopatógeno foram cultivados individualmente em placas de Petri contendo batata-dextrose-ágar (BDA) e incubados a temperatura ambiente ($24 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa de 78%, sob regime de luz constante, mantido pelo uso de lâmpadas fluorescentes de 40W.

Preparo do inóculo

O inóculo utilizado nos experimentos, referente a cada isolado de *R. solani*, foi obtido triturando-se o conteúdo de duas placas de Petri, contendo meio BDA e estruturas do fungo, com oito dias de idade, e 100ml de água destilada esterilizada, em liquidificador, com velocidade máxima, por dois minutos, segundo metodologia adaptada de Halloin (1975).

Procedência das sementes

Nos experimentos “in vitro” e em casa de vegetação foram utilizadas sementes da marca ISLA, lote 12358 com validade até outubro de 2004, apresentando 86% de germinação e 99,9% de pureza.

Teste de patogenicidade “in vitro”

Neste experimento as sementes foram desinfestadas com hipoclorito de sódio (NaClO) a 1%, durante dois minutos e lavadas duas vezes com água destilada esterilizada.

Em seguida, procedeu-se à imersão das sementes, separadamente nas suspensões dos seis isolados (R1, R2, R3, R4, R5 e R6) de *R. solani*, durante uma hora. Após este período, o excesso de líquido foi drenado, tendo sido postas a secar em papel filtro, a temperatura ambiente, por 10 minutos.

As sementes assim tratadas foram transferidas para placas de Petri com meio BDA, empregando-se 100 sementes para cada tratamento, e incubadas a temperatura ambiente ($24 \pm 2^\circ\text{C}$) e umidade relativa de 78%, sob regime de luz constante.

O mesmo procedimento foi adotado com sementes desinfestadas e não inoculadas com os isolados de *R. solani*, que serviram como testemunha.

O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado com sete tratamentos, representados pelos seis isolados de *R. solani* e a testemunha, com 10 repetições.

A avaliação foi efetuada no oitavo dia de incubação, anotando-se o número de sementes com colônias do fungo nos diferentes tratamentos.

Testes de patogenicidade em casa-de-vegetação

Visando à comprovação da patogenicidade de *R. solani* em plântulas de boa-noite, em condições de casa-de-vegetação, foram aplicados dois métodos:

- a) teste de patogenicidade pela inoculação de sementes;
- b) teste de patogenicidade pela inoculação do solo.

Delineamento estatístico:

O delineamento estatístico empregado foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos, representados pelos quatro isolados do patógeno e a testemunha, com dez repetições.

Fatores ambientais

Durante os experimentos foram registradas na casa-de-vegetação uma temperatura média de $26 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa em torno de 70%.

Avaliações

As avaliações ocorreram após 15 dias da semeadura, anotando-se o número de plântulas sobreviventes em cada tratamento.

Teste de patogenicidade pela inoculação de sementes

Sementes de boa-noite foram inoculadas, separadamente, com os isolados R1, R2, R3 e R6 de *R. solani*, seguindo a metodologia anteriormente descrita para o teste de patogenicidade “in vitro”.

As sementes inoculadas foram plantadas em sacos de polietileno contendo 0,5kg de solo autoclavado por 60 minutos a 120°C e 1atm, e previamente umedecido com água destilada esterilizada. Dez sementes de boa-noite foram utilizadas para cada saco, perfazendo um total de 100 sementes por tratamento.

O mesmo procedimento foi adotado com sementes desinfestadas e não inoculadas com os isolados de *R. solani*, que serviram como testemunha.

Teste de patogenicidade pela infestação do solo

Utilizaram-se sacos de polietileno contendo 0,5 kg de solo autoclavado por 60 minutos a 120°C e 1 atm e previamente umedecido com água destilada esterilizada. Este foi inoculado, separadamente, com uma suspensão de 20ml dos isolados de *R. solani* (R1, R2, R3 e R6). Os sacos foram fechados e incubados por cinco dias, após o que ocorreu a semeadura. Dez sementes desinfestadas de boa-noite foram utilizadas para cada saco, perfazendo um total de 100 sementes por tratamento.

A testemunha consistiu de sementes plantadas em solo esterilizado, não inoculado com o fitopatógeno.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes ao teste de patogenicidade “in vitro” estão contidos na Tabela 1.

As sementes inoculadas com os isolados R2, R3 e R6 apresentaram os mais elevados índices de colonização, não diferindo entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A colonização das sementes inoculadas com os isolados R4 e R5 foi inferior à apresentada pelos isolados acima citados, havendo, entretanto diferença significativa entre eles (Tabela 1).

As sementes testemunhas não foram infectadas pelo patógeno.

Tabela 1 - Médias de sementes de boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.) infectadas por *Rhizoctonia solani* Kühn no teste de patogenicidade “in vitro”

Tratamento	Semente infectada ^{a/}
R6	3,3 ^A
R3	3,2 ^A
R2	3,2 ^A
R4	2,9 ^B
R5	1,8 ^C
R1	1,6 ^D
Testemunha	0,0
C.V. (%) = 6,4	
Teste F' = 93,7**	

^{a/} Dados transformados por raiz de $x + 1$. Médias seguidas da mesma letra na vertical, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

^{a/} Dados obtidos de 10 repetições com 10 sementes cada.

Em todos os tratamentos, as sementes infectadas apresentaram-se revestidas pelo micélio do patógeno e com inibição da germinação. Em geral, quando a semente emitia a radícula, ocorria a necrose desta, que se apresentava com coloração marrom escura e posterior apodrecimento.

As médias de plântulas sobreviventes nos testes de patogenicidade em condições de casa-de-vegetação pela inoculação de sementes e do solo, correspondente a cada isolado de *R. solani*, são apresentadas na tabela 2.

As observações e resultados obtidos em ambos os métodos evidenciam *R. solani* como um patógeno agressivo a boa-noite (Figuras 1 e 2).

Todos os isolados de *R. solani* foram patogênicos a boa-noite, diferindo significativamente da testemunha pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade em ambos os métodos adotados (Tabela 2).

Tabela 2 - Médias de plântulas de boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.) sobreviventes nos testes de patogenicidade com *Rhizoctonia solani* Kühn em casa-de-vegetação

Tratamento	Método de Inoculação	
	Semente ^{a/}	Solo ^{a/}
Testemunha	3,0 ^A	3,2 ^A
R1	2,2 ^B	2,4 ^B
R2	2,2 ^B	1,9 ^C
R6	2,1 ^B	1,8 ^C
R3	2,0 ^B	1,7 ^C
C.V. (%) =	15,4	12,1
Teste F ^o =	33,2 ^{**}	21,3 ^{**}

^{a/} Dados transformados por raiz de x+1. Médias seguidas da mesma letra na vertical, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

^{**} Significativos ao nível de 1% de probabilidade.

^{a/} Dados obtidos de 10 repetições com 10 sementes cada.

A maior média de plântulas sobreviventes no método de infestação do solo foi registrada pelo isolado R1, que apresentou diferença significativa dos demais isolados (Tabela 2).

Nas inoculações realizadas pela imersão das sementes de boa-noite nas suspensões fúngicas, os isolados mostraram comportamento similar, não diferindo estatisticamente entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Em todos os tratamentos efetuados observou-se o aparecimento de manchas foliares, necrose e escurecimento da região do colo e hipocótilo (Figura 3).

Sementes severamente infectadas não germinaram. No caso de infecção parcial, as sementes germinaram, mas não alcançaram a fase de plântula (Figuras 4A e 4B), ou desenvolveram plântulas anômalas (Figura 5) com coloração amarelada, ou sofreram “damping-off” de pós-emergência.

As plântulas testemunhas mantiveram-se sadias, sem sintomas de doença.



A



B

Figuras 1 - *Rhizoctonia solani* Kühn em boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don). (A) Solo inoculado com o isolado R3. (B) Solo inoculado com o isolado R1. Em ambas as fotos as testemunhas estão localizadas na parte superior

A



B



Figuras 2 - *Rhizoctonia solani* Kühn em boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don).
(A) Sementes inoculadas com o isolado R1. (B) Sementes inoculadas com o isolado R3. Em ambas as fotos as testemunhas estão localizadas na parte superior

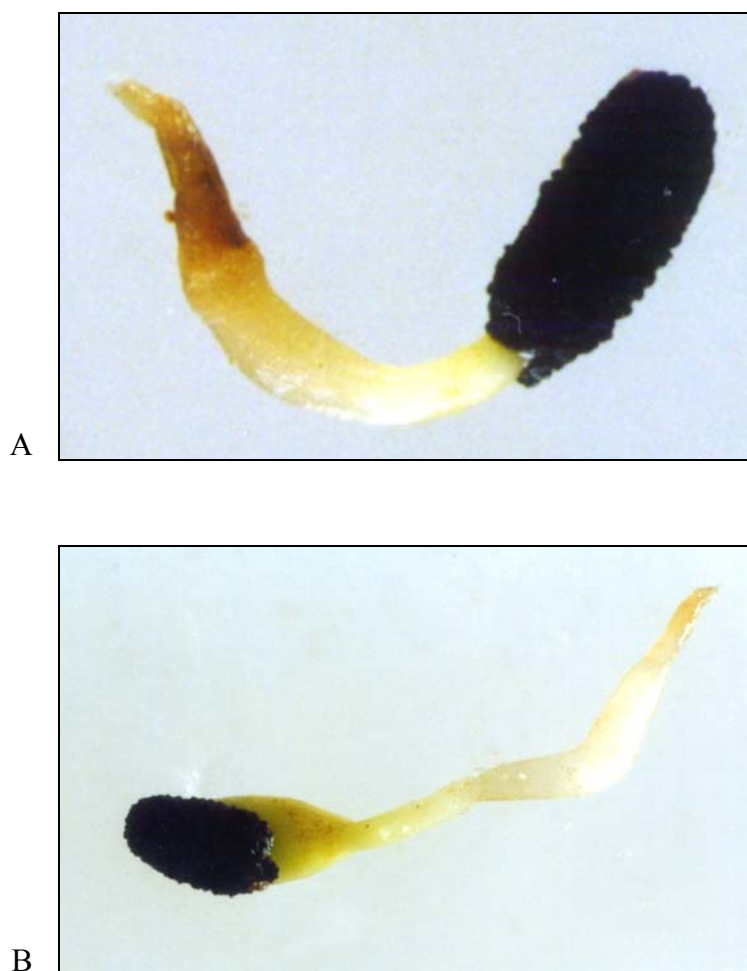


Figura 3 - Lesões escuras e deprimidas na região do hipocótilo e manchas foliares em plântulas de boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.) infectadas por *Rhizoctonia solani* Kühn (isolado R6)

Os dados concernentes às pesquisas realizadas, tanto “in vitro”, como em condições de casa-de-vegetação, pelos dois métodos aplicados, mostraram que *R. solani* afetou significativamente a germinação das sementes de boa-noite e ocasionou problemas de pós-emergência.

Bedendo (1995) menciona que *R. solani* vive saprofiticamente na matéria orgânica do solo ou em restos de cultura, tornando-se um patógeno agressivo quando encontra sementes em germinação e tecidos jovens, como cotilédones, hipocótilos e raízes.

Os resultados obtidos no presente trabalho estão de acordo com Benson e Cartwright (1996) que citam este fungo como capaz de atacar os tecidos jovens de plantas ornamentais, sendo as sementes, de um modo geral, particularmente vulneráveis a sua infecção.



Figuras 4 – Sementes de boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.) infectadas por *Rhizoctonia solani* Kühn. (A) Radícula apresentando lesão necrótica escura, procedente de solo inoculado com o isolado R3. (B) Semente com germinação atípica, sem exposição das primeiras folhas, procedente de solo inoculado com o isolado R2

De acordo com Caldari Junior et al. (1997), *R. solani* é caracterizado pelo rápido desenvolvimento e alta patogenicidade às plantas ornamentais, afetando azaléia (*Rhododendron* sp.), craveiro (*Dianthus caryophyllus* L.), poinsetia (*Euphorbia pulcherrima* Willd) e várias espécies da família Orchidaceae, onde pode causar sérios danos como podridão de raízes, provocada pelo ataque direto do patógeno no local. Continuando, afirmam que a evolução da doença compromete a passagem da água e nutrientes para a parte aérea da planta, promovendo sintomas reflexos de murcha foliar e deficiência nutricional, como avermelhamento de folhas.



Figuras 5 - Plântulas de boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.). (A) Plântulas infectadas com *Rhizoctonia solani* Kühn, isolado R1. (B) Plântulas infectadas com o isolado R3. Em cada foto, as plântulas testemunhas, sem sintomas de doença, estão localizadas à direita

A diferença na virulência entre alguns isolados de *R. solani* em relação à infecção de sementes e plântulas de boa-noite, apresentada nos testes “in vitro” e em casa-de-vegetação, pelo método de inoculação do solo, indica a variabilidade patogênica existente entre isolados, assemelhando-se ao relato de vários pesquisadores (Papavizas e Davey, 1962; Galindo et al., 1982; Ogoshi, 1987).

Os reisolamentos de *R. solani* comprovaram os postulados de Koch, confirmando-se, assim, a hipótese de que esse fungo é o agente causal do “damping-off” de pré e pós-emergência em boa-noite.

Apesar de minuciosa consulta à literatura disponível, não foram encontrados relatos desse patógeno parasitando plantas de boa-noite no Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEDENDO, I. P. Damping-off. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. M. **Manual de fitopatologia**: princípios e conceitos. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, cap.42, p.820-847.
- BENSON, M.; CARTWRIGHT, K. Ornamental diseases incited by *Rhizoctonia* spp. In: SNEH, B.; JABAJI-HARE, S.; NEATE, S.; DIJST, G. ***Rhizoctonia* species**: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996. p. 303-314.
- CALDARI JUNIOR, P.; FREITAS, J. C.; REZENDE, J. A. M. Doenças das plantas ornamentais. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de fitopatologia**: doenças das plantas cultivadas. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, cap. 57, p. 594-615.
- CHASE, A. R. **Compendium of ornamental foliage plant diseases**. St. Paul, Minnesota: APS Press, 1992. 92p., il.
- DAUGHTREY, M. L.; WICK, R. L.; PETERSON, J. L. **Compendium of flowering potted plant diseases**. St. Paul, Minnesota: APS Press, 1995. 90p., il.

GALINDO, J. J.; ABAWI, G. S.; PHURSTON, H. G. Variability among isolates of *Rhizoctonia solani* associated with snap beans hypocotyls and soil in New York. **Plant Disease**, St. Paul, v.66, p.390-394,1982.

HALLOIN, M. J. Postharvest Infection of Cottonseed by *Rhizopus arrhizus*, *Aspergillus niger*, and *Aspergillus flavus*. **Phytopathology**, St. Paul, v.65, p.1229-1232, 1975.

MENDES, M. A. S.; SILVA, V. L.; DIANESE, J. C.; FERREIRA, M. A. S. V.; SANTOS, C. E. N.; GOMES NETO, E.; URBEN, A. F.; CASTRO, C. **Fungos em plantas no Brasil**. Brasília: Embrapa-SPI / Embrapa-Cenargen, 1998. 569p.

OGOSHI, A. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, California, USA, v.25, p.125-143, 1987.

PAPAVIZAS, G. C.; DAVEY, C. B. Isolation and pathogenicity of *Rhizoctonia* saprophytically existing in soil. **Phytopathology**, St. Paul, v.52, p.834-840, 1962.

VIÉGAS, A. P. **Índice de fungos da América do Sul**: parte III. Campinas, São Paulo: Instituto Agrônômico, 1961. p.244-248.

Capítulo 4

Efeito Antagônico de *Trichoderma* spp. a *Rhizoctonia solani* Kühn em Boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.), pelo Tratamento do Solo

RESUMO

Com o objetivo de buscar meios alternativos para o controle de *R. solani* em boa-noite, foi estudada, “in vitro” e em casa-de-vegetação, a atividade antagônica de *Trichoderma* spp. (*Trichoderma aureoviride*, *T. harzianum*, *T. longibrachiatum*, *T. koningii* e *Trichoderma* spp.). “In vitro”, foram testados 20 isolados pelo método de culturas pareadas e em condições de casa-de-vegetação foram usadas suspensões de 10^5 conídios/ml de cinco isolados de *Trichoderma* (*T. harzianum*, *T. longibrachiatum* e *Trichoderma* spp.), que apresentaram eficiência no teste “in vitro”. Estes foram aplicados ao solo autoclavado, antes, simultaneamente e após inoculação de *R. solani*. Cinco dias depois de processadas as inoculações em solo, ocorreu o plantio das sementes de boa-noite. Todas as espécies de *Trichoderma* inibiram *R. solani* “in vitro”, diferindo dos resultados obtidos em casa-de-vegetação. Nesta condição, destacou-se o isolado T11 (*Trichoderma* sp.), que controlou *R. solani* nos três métodos adotados. O isolado T3 (*T. longibrachiatum*) foi eficaz no controle de *R. solani*, quando aplicado simultaneamente e anteriormente a este patógeno.

Palavras – chave: biocontrole, *Rhizoctonia solani*, *Trichoderma*, *Catharanthus roseus*.

ABSTRACT

Antagonistic effect of *Trichoderma* spp. to *Rhizoctonia solani* Kühn in vinca (*Catharanthus roseus* G. Don.), by the Treatment of the Soil

With the objective of seeking alternative means to control *Rhizoctonia solani* Kühn in vinca (*Catharanthus roseus* G. Don.), the antagonistic activity of *Trichoderma* spp. (*Trichoderma aureoviride*, *T. harzianum*, *T. longibrachiatum*, *T. koningii* and *Trichoderma* spp.) was evaluated “in vitro” and under greenhouse conditions. 20 isolates were tested “in vitro” by the dual culture method and under greenhouse conditions 10^5 conidial suspensions of five *Trichoderma* (*T. harzianum*, *T. longibrachiatum* and *Trichoderma* spp.) isolates were used. These five isolates reported efficiency in the test “in vitro”. They were applied to sterilized soil, before, simultaneously and after *R. solani* inoculation. Five days after the soil inoculations, the seeds of vinca were planted. The results showed that all *Trichoderma* species inhibited *R. solani* “in vitro”, while under greenhouse conditions the results obtained were different. Under this condition, the isolated T11 (*Trichoderma* sp.) was the most effective agent of controlling *R. Solani*. The isolate T3 (*T. longibrachiatum*) was effective in *R. solani* control when it was applied simultaneously and previously to this pathogen.

Key words: biocontrol, *Rhizoctonia solani*, *Trichoderma*, *Catharanthus roseus*.

INTRODUÇÃO

O cultivo de boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.) é afetado por várias enfermidades, sendo a mais severa o “damping-off” ou tombamento das plântulas, ocasionado por *Rhizoctonia solani* Kühn.

Daughtrey et al. (1995) apontam *R. solani* em diversas espécies de ornamentais, inclusive em boa-noite. Entretanto, faz-se necessário que sejam encetadas pesquisas que levem a uma melhor compreensão das interações patógeno-planta, no caso *R. solani*/boa-noite, como também, no que diz respeito ao controle a ser empregado.

Em geral, muitos fungos patogênicos habitam as raízes de seus respectivos hospedeiros, sobrevivendo por muito tempo.

Sendo *R. solani* um patógeno comumente encontrado no solo e na rizosfera de plântulas com tombamento, os métodos convencionais de controle adotados, muitas vezes, são ineficientes.

Daí a necessidade de outras formas de controle serem investigadas, tais como, o biocontrole, como um possível processo alternativo, capaz de reduzir o potencial de inóculo e, conseqüentemente, determinar um declínio na incidência da doença.

Segundo Melo (1998), alguns fungos antagonistas têm sido relatados como parasitas de uma grande variedade de patógenos. Entretanto, este pesquisador acrescenta que muitos desses agentes demonstram certa especialização em parasitas de determinadas classes.

Para May e Kimati (1999) o sucesso do uso de microrganismos no controle biológico depende muito da forma de aplicação do antagonista e naturalmente da especificidade deste em relação ao patógeno.

Dentre os fungos antagonistas, *Trichoderma* Pers. ex Fr. situa-se como um dos mais potentes e eficientes saprófitas de solo. Este organismo é um micoparasita necrotrófico eficaz no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos, principalmente aqueles com estruturas de resistência consideradas difíceis de serem atacadas por microrganismos.

Bettiol (1996) cita, dentre os diversos patossistemas estudados, *Trichoderma* spp. para o controle de *Phytophthora* sp., *Crinipellis perniciosus* (Stahel) Sing., *R. solani*, *Sclerotium rolfsii* Sacc., *Sclerotinia* spp. e *Cylindrocladium* sp.

Melo (1991) selecionou esse organismo como agente promissor para o controle biológico, por apresentar um grande número de vantagens, dentre as quais, a de adquirir resistência a fungicidas. De acordo com Michereff et al. (1993), a velocidade de crescimento apresentada por *Trichoderma* spp. tem motivado a utilização deste microrganismo como agente de biocontrole.

A atividade de agentes de biocontrole é influenciada por vários fatores, inclusive ambientais. Papavizas (1981) ressalta que espécies de *Trichoderma* necessitam de uma base alimentar adequada, para estabelecer-se no solo e na rizosfera.

Hadar et al. (1984) salientam que os isolados de *Trichoderma* nativos são mais adaptáveis ao solo que os introduzidos. Melo (1998) relata que a incorporação de antagonistas adaptados ao microhabitat do patógeno é um aspecto relevante para muitos sistemas planta-patógeno. Explica que, no entanto, com algumas exceções, antagonistas podem ser introduzidos em outro ambiente diferente daquele onde foi isolado, estabelecer-se e parasitar o patógeno.

Com base na complexidade apresentada por agentes do biocontrole, e levando em consideração a importância relevante, que atualmente exerce o cultivo de ornamentais, este trabalho tem como objetivo selecionar isolados de *Trichoderma*, que apresentem qualidade antagônica a *R. solani*, visando a reduzir as perdas ocasionadas por este patógeno em boa-noite.

MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram conduzidos no laboratório de fitopatologia e casa-de-vegetação da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA), pelo convênio de cooperação técnica celebrado entre esta empresa e a Superintendência de Parques e Jardins (SPJ) da Prefeitura Municipal do Salvador.

Como candidatos antagonistas, foram testados 20 isolados de *Trichoderma* spp. (Tabela 1).

Seleção de *Trichoderma* spp. com potencial para controle de *R. solani* “in vitro”

Os vinte isolados de *Trichoderma* spp., listados na Tabela 1, foram testados contra *R. solani*, pelo método de culturas pareadas (Bell et al., 1982). Discos de batata-dextrose-

ágar (BDA), de 4mm de diâmetro, removidos das margens das colônias do patógeno e antagonista com oito dias de idade, foram transferidos para placas de Petri contendo BDA, e colocados em lados opostos a uma distância de 7cm entre si. As placas permaneceram incubadas, durante oito dias, sob luz fluorescente, a uma temperatura ambiente em torno de $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 78%, quando ocorreram as avaliações.

Tabela 1 - Isolados de *Trichoderma* spp. utilizados no teste de antagonismo “in vitro”

Isolados	Espécie	Procedência*	Cultura
T1	<i>Trichoderma</i> sp.	CNPMA	-
T2	<i>Trichoderma</i> sp.	SPJ	Sálvia
T3	<i>T. longibrachiatum</i> Rifai	UnB	-
T4	<i>Trichoderma</i> sp.	SPJ	Grama esmeralda
T5	<i>T. aureoviride</i> Rifai	UnB	-
T6	<i>Trichoderma</i> sp.	CNPMA	-
T7	<i>Trichoderma</i> sp.	CNPMA	-
T8	<i>Trichoderma</i> sp.	CNPMA	-
T9	<i>Trichoderma</i> sp.	SPJ	Grama esmeralda
T10	<i>Trichoderma</i> sp.	SPJ	Grama esmeralda
T11	<i>Trichoderma</i> sp.	SPJ	Grama esmeralda
T12	<i>T. harzianum</i> Rifai	UnB	-
T13	<i>Trichoderma</i> sp.	SPJ	Alpinia
T14	<i>Trichoderma</i> sp.	SPJ	Ctenanthe
T15	<i>Trichoderma</i> sp.	SPJ	Ctenanthe
T16	<i>Trichoderma</i> sp.	SPJ	Grama esmeralda
T17	<i>Trichoderma</i> sp.	SPJ	Pingo-de-ouro
T18	<i>T. harzianum</i> Rifai	CNPMA	-
T19	<i>T. koningii</i> Oud.	CNPMA	-
T20	<i>Trichoderma</i> sp.	SPJ	Palmeira Phoenix

* CNPMA – Centro Nacional de Proteção ao Meio Ambiente / EMBRAPA

SPJ – Superintendência de Parques e Jardins / Prefeitura Municipal do Salvador

UnB – Universidade de Brasília

As avaliações basearam-se nos critérios estabelecidos por Bell et al. (1982), constantes de uma escala de notas que variam de 1 a 5, na qual o valor 1 foi atribuído quando *Trichoderma* invadiu completamente o patógeno e colonizou todo o substrato; 2, quando o antagonista invadiu pelo menos 2/3 da superfície do meio; 3, quando o antagonista e o patógeno colonizaram a metade da superfície do meio; 4, quando o patógeno colonizou no mínimo 2/3 da superfície do meio e parece se opor ao antagonista; e o valor 5, quando o patógeno invadiu completamente o antagonista e ocupou toda a superfície do meio.

Para cada tratamento foram aplicadas cinco repetições. As testemunhas consistiram de placas contendo, separadamente *Trichoderma* e *R. solani*.

Foram observadas as características culturais dos isolados de *Trichoderma* pareados com os isolados de *R. solani*.

Crescimento de isolados de *R. solani* e espécies de *Trichoderma* “in vitro”, em cultivo individual

A metodologia aplicada, neste experimento, baseou-se em Jackisch-Matsuura e Menezes (1999).

Foram determinados o crescimento micelial e a taxa de crescimento de cinco isolados de *Trichoderma* que obtiveram nota 1, no experimento anterior e de seis isolados de *R. solani*, patogênicos à cultura de boa-noite.

Discos de aproximadamente 4mm de diâmetro foram retirados das margens das colônias dos isolados de ambos os fungos, com oito dias de idade e transferidos para o centro de placas de Petri contendo BDA. As placas foram incubadas a temperatura ambiente ($24 \pm 2^{\circ}\text{C}$), em regime de luz constante.

Para cada tratamento foram feitas cinco repetições, sendo o experimento realizado em delineamento inteiramente casualizado.

O registro do crescimento micelial radial deu-se pela medida do diâmetro de cada colônia, com auxílio de régua milimetrada, em dois intervalos de tempo, 24h e 48h. A taxa de crescimento de cada organismo foi determinada aplicando-se a fórmula adaptada de Lilly e Barnett citada por Jackisch-Matsuura e Menezes (1999):

$$T_{xc} = \frac{(C_2 - C_1)}{T_2 - T_1}$$

onde: T_{xc} = taxa de crescimento;

C_2 = crescimento após 48h de incubação;

C_1 = crescimento após 24h de incubação;

T_2 = 48h;

T_1 = 24h.

Efeito de *Trichoderma* spp. no biocontrole de *R. solani* em boa-noite, em casa-de-vegetação, pelo tratamento do solo

Com a finalidade de verificar o efeito de *Trichoderma* spp. sobre *R. solani* em boa-noite, foram realizados três experimentos em condição de casa-de-vegetação:

- a) inoculação do solo com *R. solani* anterior ao tratamento com *Trichoderma* spp.;
- b) inoculação simultânea do solo com *R. solani* e *Trichoderma* spp.;
- c) inoculação do solo com *R. solani* após o tratamento com *Trichoderma* spp.

Foram empregados um isolado de *R. solani* (R6) e cinco de *Trichoderma* (T1, T3, T11, T12, e T18), escolhidos dentre aqueles que obtiveram nota 1 no teste de seleção de *Trichoderma* spp. com potencial para controle de *R. solani* “in vitro”.

Preparo do Inóculo

O inóculo foi preparado triturando-se por dois minutos, em um liquidificador com 100ml de água destilada esterilizada, o conteúdo de duas placas de Petri, com meio BDA e culturas, com oito dias de idade, de *R. solani* (R6) e de cada isolado de *Trichoderma*, separadamente, segundo metodologia descrita por Halloin (1975).

No caso de *Trichoderma*, a concentração das suspensões de cada isolado foi determinada pelo emprego da câmara de Neubauer e posteriormente ajustada para 10^5 esporos/ml.

Inoculação

As inoculações foram realizadas em solo autoclavado, contido em sacos de polietileno com capacidade para 0,5kg.

Nos experimentos onde ocorreu a inoculação do solo com *R. solani* anterior e posterior a *Trichoderma*, foi resguardado um período de cinco dias entre a inoculação do patógeno e a do antagonista ou vice-versa.

No caso da inoculação simultânea, procedeu-se primeiro à inoculação com *R. solani* e em seguida ao tratamento do solo com cada um dos isolados de *Trichoderma*, separadamente.

A quantidade das suspensões dos inóculos adicionadas ao solo foi de 20ml, tanto em relação ao patógeno, quanto aos isolados de *Trichoderma*, nos três experimentos.

Plantio

Foram empregadas 10 sementes de boa-noite/saco, após cinco dias das inoculações.

Fatores Ambientais

Durante a execução dos experimentos foi registrada na casa-de-vegetação uma temperatura em torno de $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 70%.

Delineamento Estatístico

O delineamento estatístico empregado nos três experimentos foi o inteiramente casualizado com seis tratamentos, representados pelos cinco isolados de *Trichoderma* e a testemunha, e cinco repetições.

As testemunhas consistiram de sementes plantadas em solo inoculado apenas com *R. solani*.

Avaliações

As avaliações foram efetuadas no 15º dia após a semeadura, determinando-se a porcentagem de plântulas sobreviventes, sem sintomas da doença, nos diversos tratamentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito Antagônico de isolados de *Trichoderma* a *R. solani* “in vitro”

Os isolados de *Trichoderma* testados evidenciaram capacidade variável de inibir o crescimento micelial de *R. solani* (Tabela 2).

Tabela 2 - Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. com potencial para o controle de *Rhizoctonia solani* Kühn

Isolados de <i>Trichoderma</i>	Notas ¹	Isolados de <i>Trichoderma</i>	Notas ¹
T1	1*	T11	1*
T2	1	T12	1*
T3	1*	T13	2
T4	1	T14	2
T5	2	T15	1
T6	3	T16	1
T7	1	T17	3
T8	2	T18	1*
T9	1	T19	1
T10	4	T20	1

¹ Valores médios de notas de cinco repetições de acordo com os critérios de Bell et al. (1982).

* Isolados de *Trichoderma* selecionados para os testes de antagonismo em casa-de-vegetação.

Os isolados T1, T2, T3, T4, T7, T9, T11, T12, T15, T16, T18, T19 e T20 recobriram completamente a colônia do patógeno até o oitavo dia de incubação, sendo-lhes atribuída a nota 1. Dentre estes, alguns foram selecionados para uso nos demais experimentos mesmo conhecendo-se a inexistência de correlação entre os resultados de experimentos “in vitro” e “in vivo” (Blakeman e Fokkema, 1982).

Os demais isolados receberam notas 2, 3, ou 4, dependendo do grau de inibição da colônia do patógeno (Figuras 1, 2 e 3).

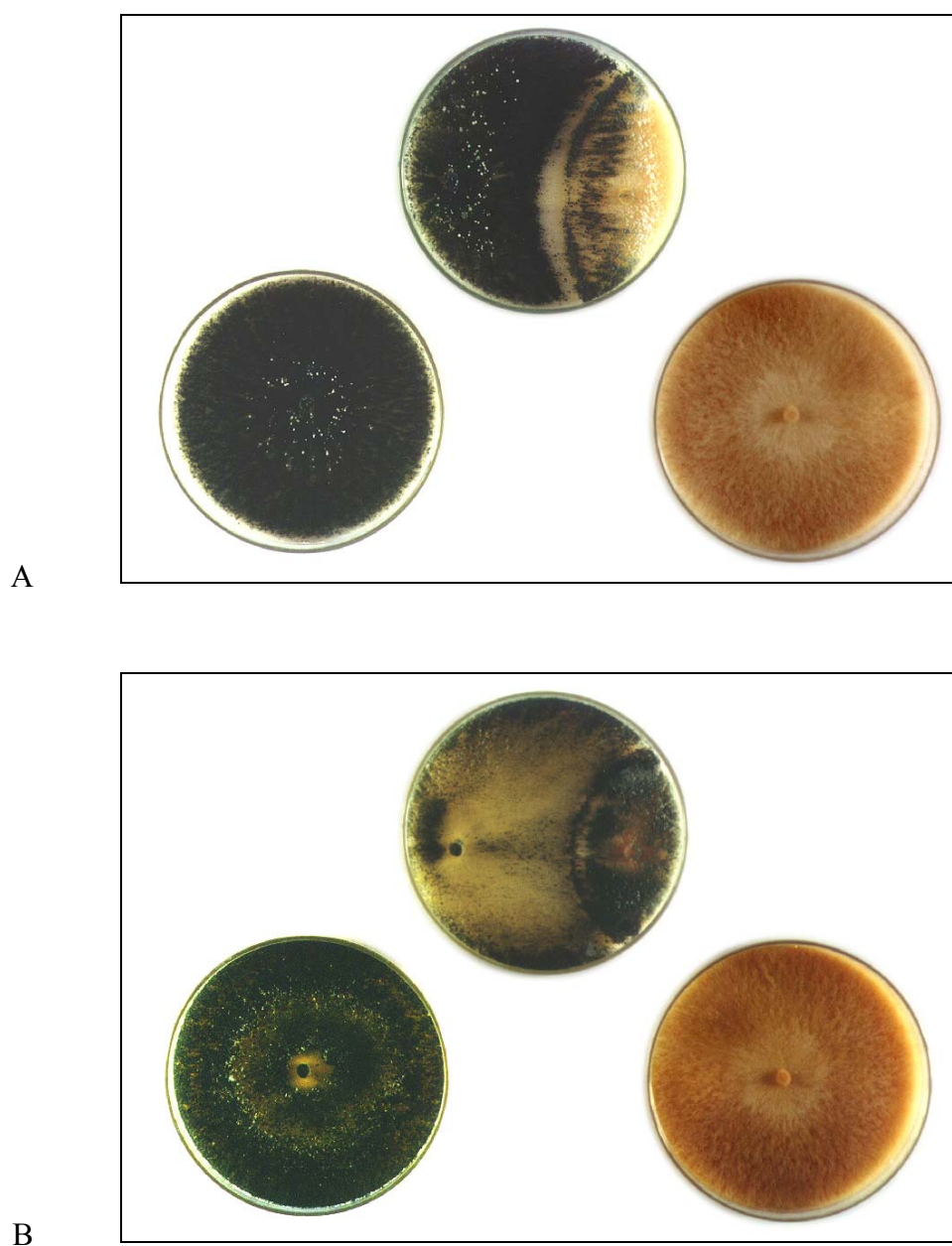


Figura 1 - Isolados de *Trichoderma* Pers. ex Fr. com potencial para controle de *Rhizoctonia solani* Kühn (R6), pelo método de culturas pareadas em BDA. Em cada foto: testemunha de *R. solani* (abaixo à direita); testemunha de *Trichoderma* (abaixo à esquerda); e pareamento acima. A = *Trichoderma* sp. (T1); B = *T. longibrachiatum* Rifai (T3)

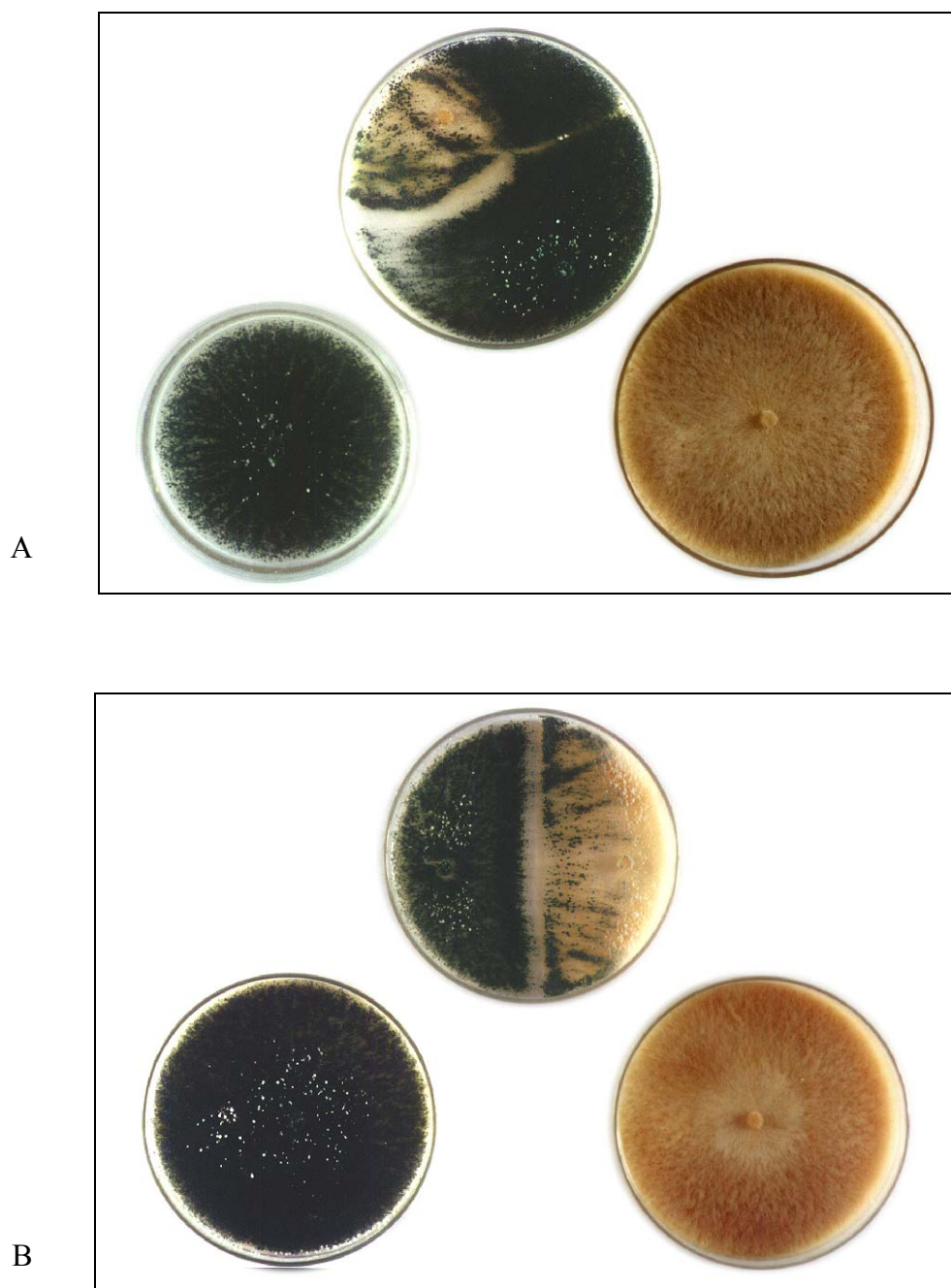


Figura 2 - Isolados de *Trichoderma* Pers. ex Fr. com potencial para controle de *Rhizoctonia solani* Kühn (R6), pelo método de culturas pareadas em BDA. Em cada foto: testemunha de *R. solani* (abaixo à direita); testemunha de *Trichoderma* (abaixo à esquerda); e pareamento acima. A = *Trichoderma* sp. (T11); B = *T. harzianum* Rifai (T12)

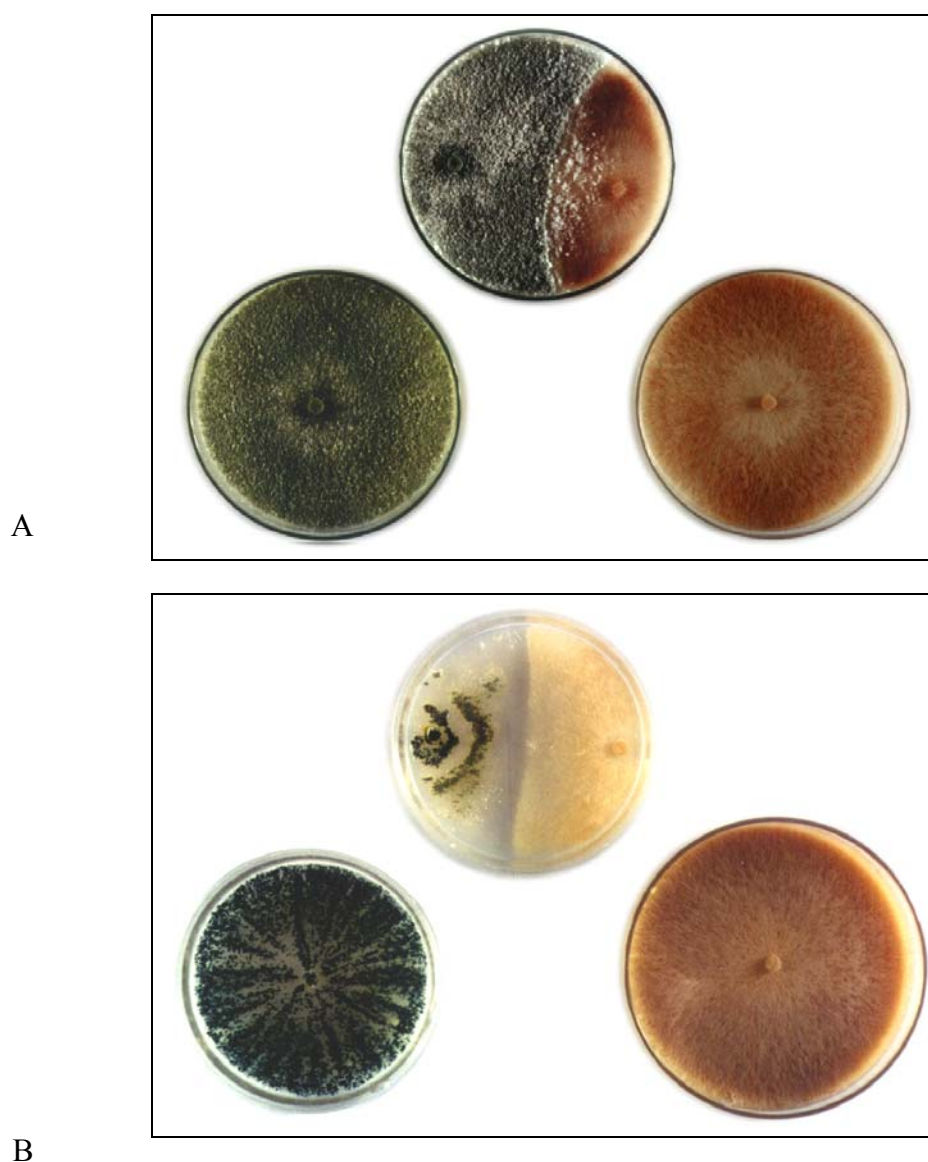


Figura 3 - Isolados de *Trichoderma* Pers. ex Fr. com potencial para controle de *Rhizoctonia solani* Kühn (R6), pelo método de culturas pareadas em BDA. Em cada foto: testemunha de *R. solani* (abaixo à direita); testemunha de *Trichoderma* (abaixo à esquerda); e pareamento acima. A = *T. aureoviride* Rifai (T5); B = *Trichoderma* sp. (T17)

O crescimento de *R. solani* foi sempre interrompido quando em contato com *Trichoderma*, apresentando uma evidente zona de demarcação na área de encontro dos dois organismos (Figura 4). Esta zona desaparecia gradativamente com o crescimento de *Trichoderma* sobre a área colonizada pelo patógeno.



Figura 4 - Inibição do crescimento de *Rhizoctonia solani* Kühn por *Trichoderma* sp., apresentando, nitidamente, a zona de demarcação

A redução do crescimento de *R. solani* na presença de *Trichoderma* spp. ocorreu, provavelmente, devido à liberação de substâncias de natureza enzimática ou antibiótica no meio de cultura. Metabólitos produzidos por espécies de *Trichoderma* têm sido relatados como responsáveis pela inibição do crescimento de vários fitopatógenos (Silveira et al., 1994; Melo, 1991; Papavizas, 1985).

Não pode ser descartada a possibilidade de as zonas de inibição resultarem de produtos oriundos da colônia do patógeno, isoladamente ou em reação com metabólitos dos antagonistas (Blakeman e Fokkema, 1982).

Observações feitas quanto às características culturais nos pareamentos mostraram a ocorrência de sobreposição da colônia de *R. solani* por *Trichoderma*, esporulação deste sobre *R. solani*, formação de halo de separação e coloração do meio de cultura por parte do antagonista, conforme apresentados no Quadro 1.

Os isolados T3 e T18 foram os que aparentemente produziram metabólitos, deixando o meio BDA com uma coloração verde-limão e amarelo-intensa, respectivamente.

Trabalhos realizados com *Trichoderma* apresentaram as mesmas características culturais observadas neste experimento (Jackisch-Matsuura e Menezes, 1999; Silveira et al., 1994; Michereff et al., 1993).

Dennis e Webster (1971 a, b) observaram a paralisação do crescimento de diversos fungos fitopatogênicos em culturas pareadas, entre eles *R. solani* Kühn, quando em contato com *Trichoderma* spp., seguindo este último seu crescimento normal de modo a

recobrir toda a placa, enquanto que as hifas dos patógenos apresentavam alterações morfológicas, mostrando-se mais ramificadas e espessas que o normal.

Quadro 1 - Características culturais de isolados de *Trichoderma* spp. em pareamento “in vitro” com *Rhizoctonia solani* Kühn, em BDA

Pareamento	Esporulação sobre <i>R. solani</i>	Halo de separação	Pigmentação do meio	Sobreposição de <i>R. solani</i>
R1 x T1	++	++	-	++
R1 x T2	++	+	-	++
R1 x T3	++	+	++	++
R1 x T4	++	-	-	++
R1 x T5	+	-	-	+
R1 x T6	+	++	-	+
R1 x T7	++	+	-	++
R1 x T8	+	-	+	-
R1 x T9	++	++	-	++
R1 x T10	-	-	-	-
R1 x T11	++	+	-	++
R1 x T12	++	++	-	++
R1 x T13	+	++	-	+
R1 x T14	+	++	-	+
R1 x T15	++	++	-	++
R1 x T16	++	++	-	++
R1 x T17	-	+	-	-
R1 x T18	++	+	++	++
R1 x T19	++	+	-	++
R1 x T20	++	++	-	++

(++) = intenso

(+) = pouco intenso

(-) = ausente

Crescimento Micelial

Os resultados do crescimento micelial nos períodos de 24 e 48h estão apresentados na Figura 5, e a taxa de crescimento em mm/dia, na Figura 6.

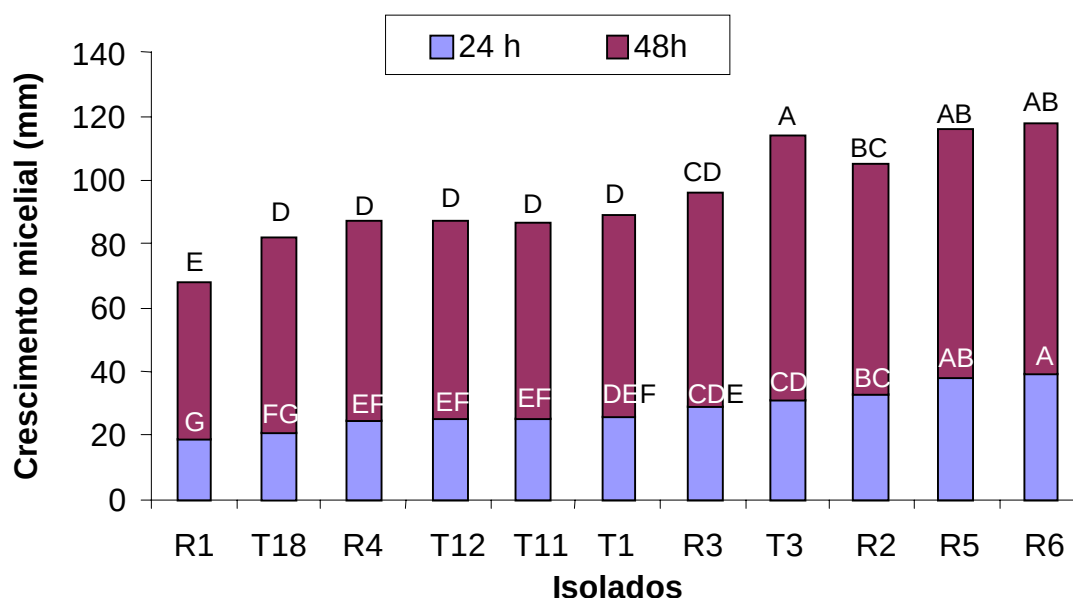


Figura 5 - Crescimento micelial radial de isolados de *Rhizoctonia solani* Kühn e *Trichoderma* spp. "in vitro", em cultivo individual em BDA, em dois períodos de leitura.

O crescimento micelial do isolado T3 nos períodos de 24 (30,8mm) e de 48h (83,4mm) mostrou diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade pelo teste de Tukey, em relação aos outros isolados de *Trichoderma*.

No período de 24h os isolados R5 (38,2mm) e R6 (39,6mm) apresentaram um crescimento significativamente maior que os demais isolados testados. Os isolados R2 (33,2mm) e T3 (30,8mm) não mostraram diferença significativa entre si ao nível de 1% de probabilidade. Quanto ao isolado R1 (18,8mm), seu crescimento foi menor, diferindo dos demais, com exceção do T18 (21,0mm).

No período de 48h, a média dos diâmetros das colônias foi maior para o isolado T3 (83,4mm) de *Trichoderma*, e para os isolados R6 e R5 (78,6 e 77,6mm, respectivamente) de *R. solani*, que diferiram significativamente dos demais ao nível de 1% de probabilidade.

Com relação à taxa de crescimento micelial os dados obtidos indicaram valores maiores para T3 e T12 (2,19mm) que foram estatisticamente diferentes dos outros isolados estudados.

R5 e R6 apresentaram as maiores taxas de crescimento (1,64 e 1,62 mm, respectivamente), sendo que R1 obteve a menor (1,27 mm), diferindo significativamente ao nível de 1% de probabilidade dos demais isolados de *R. solani*.

Os isolados de *R. solani* que apresentaram as maiores taxas de crescimento demonstraram um comportamento mais agressivo a boa-noite em testes de patogenicidade “in vitro” e em condições de casa-de-vegetação. A taxa de crescimento micelial pode indicar uma maior capacidade para colonizar substratos e competir pela habilidade saprofítica com outros fungos habitantes do solo.

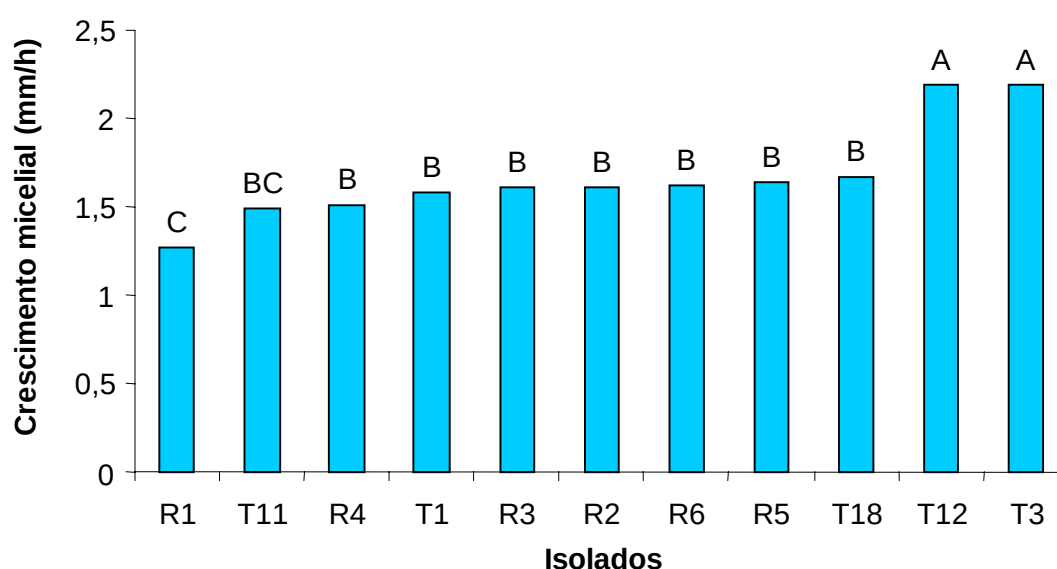


Figura 6 - Taxa de crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* Kühn e *Trichoderma* spp. em cultivo individual, em BDA

Efeito Antagônico de isolados de *Trichoderma* a *R. solani* em condições de casa-de-vegetação, pelo tratamento do solo

Os resultados do teste de antagonismo em condições de casa-de-vegetação estão representados na Tabela 3, onde constam os dados referentes às comparações entre cada tratamento e a testemunha.

Somente o isolado T11 de *Trichoderma* nas três seqüências de aplicação dos inóculos (*R. solani* aplicado antes, simultâneo e após *Trichoderma*), apresentou uma diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade em relação à testemunha (Tabela 3). Muito embora se observasse em todos os tratamentos com *Trichoderma* uma tendência a apresentar maior número de plântulas sadias em relação à testemunha inoculada com o isolado R6 de *R. solani* (Figuras 7 e 8).

O isolado T3 de *Trichoderma* também diferiu significativamente da testemunha na seqüência de inoculação com *R. solani* simultâneo a *Trichoderma*.

Os demais isolados testados na supressão de “damping-off” causado por *R. solani* em boa-noite, não diferiram significativamente da testemunha (Tabela 3).

Tabela 3 - Médias de plântulas de boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.) sobreviventes após o 15º dia do tratamento de *Rhizoctonia solani* Kühn com *Trichoderma* spp., em condições de casa-de-vegetação

Tratamentos	<i>R. solani</i> antes de <i>Trichoderma</i> ^{a/}	<i>R. solani</i> simultâneo a <i>Trichoderma</i> ^{a/}	<i>R. solani</i> após <i>Trichoderma</i> ^{a/}
T 11	2,6 ^A	2,4 ^A	2,6 ^A
T3	2,1 ^B	2,5 ^A	2,2 ^{AB}
T1	2,0 ^B	2,2 ^{AB}	2,2 ^{AB}
T18	1,9 ^B	2,2 ^{AB}	2,0 ^B
T12	1,8 ^B	2,0 ^{AB}	2,0 ^B
Testemunha	1,7 ^B	1,7 ^B	1,7 ^B
C.V. = 15,30%			
F = 12,15 **			

^{a/} Médias seguidas das mesmas letras na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Dados transformados em raiz de $x + 1$, obtidos de cinco repetições com 10 sementes cada.

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.



Figura 7 - Efeito antagônico de *Trichoderma* Pers. ex Fr. a *Rhizoctonia solani* Kühn em casa-de-vegetação. Aplicação simultânea dos isolados (T1, T3 e T18) do antagonista e do patógeno no solo. Testemunha (R6)



Figura 8 - Efeito antagônico de *Trichoderma* Pers. ex Fr. a *Rhizoctonia solani* Kühn em casa-de-vegetação. Aplicação do isolado T11 anterior e posteriormente ao patógeno. Testemunha (R6)

Este efeito variável entre isolados foi demonstrado por Silveira et al. (1994), ao estudar a redução do tombamento em pré-emergência de plântulas de feijão causado por *Sclerotium rolfsii*, pelo tratamento de sementes e do solo com *Trichoderma* spp.

Patrício et al. (2001), estudando o controle de tombamento ocasionado por *R. solani* em rabanete, obteve resultados semelhantes aos deste estudo, quanto ao efeito antagônico de *Trichoderma*. Mostrou que os isolados, que se destacaram “in vitro”, apresentaram comportamento variável quando adicionados ao solo, possivelmente por ser o biocontrole multifatorial, resultante da atuação de vários mecanismos, tais como o reconhecimento específico, produção de antibióticos e competição por nutrientes.

A análise de variância utilizando cada isolado de *Trichoderma* em relação ao método de aplicação do inóculo antes, após ou simultâneo a *R. solani* (fatorial tratamento x método) mostrou que não houve diferença quanto ao método de aplicação dos inóculos e, também para a interação tratamento x método (Tabela 4). Entretanto, os tratamentos empregados (T1, T3, T11, T12 e T18) mostraram-se significativos ao nível de 1% de probabilidade (Tabela 4).

Tabela 4 - Análise de variância do efeito antagônico de *Trichoderma* spp. a *Rhizoctonia solani* Kühn em condições de casa-de-vegetação, em relação aos tratamentos e aos métodos de aplicação

Fontes de Variação	G.L.	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio
Tratamento	5	115,3889	23,7778
Método	2	7,6222	3,8111
Tratamento x Método	10	15,9778	1,5978
Resíduo	72	128,8000	1,7888
C.V.= 37,268			
Tratamento	5	115,3889	23,7778
C.V. = 15,30%			
F = 12,15 **			

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Neste trabalho os isolados de *Trichoderma* que produziram pigmentação no meio (T3 e T18) foram ineficazes no controle de *R. solani* no solo, exceto quando o isolado T3 foi aplicado simultaneamente ao patógeno. O isolado T3 foi, também, o que apresentou a

maior taxa de crescimento. Estes dados concordam com aqueles obtidos por Pessoa (1986), que encontrou maior atividade antagônica em isolados que não produziram pigmentação. A mesma autora cita Choudhury e Oliveira, que afirmam haver relação entre a característica de ausência de pigmentação e uma maior atividade antagônica do isolado.

Muitas explicações podem ser levantadas para justificar a ineficácia de alguns dos isolados de *Trichoderma* testados.

Segundo Melo e Faull (2000), as associações micoparasíticas são afetadas por fatores ambientais como temperatura, pH, umidade, tipo de solo, radiação solar, nutrição, etc. Microrganismos isolados e selecionados para controlar certo patógeno em um determinado ecossistema, possivelmente não expressariam seus potenciais atributos em outro habitat, com fatores ecológicos diversos.

Pode-se também considerar que as interações planta-patógeno-antagonista-ambiente foram desfavoráveis ao aparecimento de atividade antagônica no período do experimento (Lewis e Papavizas, 1984).

Considerando os resultados obtidos, conclui-se que: a) houve uma variabilidade na capacidade antagonista dos isolados de *Trichoderma* avaliados; e b) o isolado T11 apresentou promissor potencial antagônico a *R. solani* em boa-noite, indicando a possibilidade do uso de *Trichoderma* no biocontrole deste fitopatógeno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. In vitro antagonist of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, St. Paul, v.72, n.4, p.379-382, 1982.
- BETTIOL, W. Alternativas de controle de doenças de plantas. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.22, n.1, p.73-74, 1996.
- BLAKEMAN, J. P.; FOKKEMA, N. J. Potencial of soil-borne pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, California, USA, v.20, p.167-192, 1982.

DAUGHTREY, M. L.; WICK, R. L.; PETERSON, J. L. **Compendium of flowering potted plant diseases**. USA: APS Press, 1995. 90p. il.

DENNIS, C. E.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. I. Production of non-volatile antibiotics. **Transactions of British Mycological Society**, v.57, n.1, p.25-39, 1971a.

DENNIS, C. E.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. III. Hyphal interaction. **Transactions of British Mycological Society**, v.57, n.3, p.363-369, 1971b.

HADAR, Y.; HARMAN, G. E.; TAYLOR, A. G. Evaluation of *Trichoderma koningii* and *Trichoderma harzianum* from New York soils for biological control of seed rot caused by *Pythium* spp. **Phytopathology**, St. Paul, v.74, n.1, p.106-110, 1984.

HALLOIN, M. J. Postharvest Infection of Cottonseed by *Rhizopus arrhizus*, *Aspergillus niger*, and *Aspergillus flavus*. **Phytopathology**, St. Paul, v.65, p. 1229-1232, 1975.

JACKISCH-MATSUURA, A. B.; MENEZES, M. Efeito de *Trichoderma* spp. no controle de *Pythium aphanidermatum* em fumo (*Nicotiana tabacum*). **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.25, n.2, p.161-164, 1999.

LEWIS, J. A.; PAPAIVIZAS, G. C. A new approach to stimulate population proliferation of *Trichoderma* species and other potencial biocontrol fungi introduced into natural soils. **Phytotathology**, St. Paul, v.74, n.11, p.1240-1244, 1984.

MAY, L. L.; KIMATI, H. Controle biológico de *Phytophthora parasitica* em mudas de citros. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.24, n.1, p.18-24, 1999.

MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle biológico**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA-CNPDA, 1998. p.17-67.

- MELO, I. S. Potencialidade de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA-CNPDA, 1991. p.135-156.
- MELO, I. S.; FAULL, J. L. Tombamento de plântulas e controle biológico de *Rhizoctonia solani* e *Pythium* spp. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle biológico**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA-CNPDA, 2000. p.237-262.
- MICHEREFF, S. J.; MENEZES, M.; MARIANO, R. L. R. Antagonismo de espécies de *Trichoderma* sobre *Colletotrichum graminicola*, agente da antracnose do sorgo em condições de laboratório. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.19, n.1, p.14-17, 1993.
- PAPAVIZAS, G. C. Survival of *Trichoderma harzianum* in soil and in pea and bean, rhizosphere. **Phytopathology**, St. Paul, v.71, p.121-125, 1981.
- PAPAVIZAS, G. C. *Trichoderma* e *Gliocladium*: biology, ecology and potencial for biocontrol. **Annual Review of Phytopatology**, Palo Alto, California, USA, v.23, p.23-54, 1985.
- PATRÍCIO, F. R. A.; KIMATI, H.; BARROS, B. C. Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. antagonicos a *Pythium aphanidermatum* e *Rhizoctonia solani*. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.27, n.2, p.223-229, abr./jun.2001.
- PESSOA, M. N. G. **Deteção e localização de *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid., em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), controle biológico e químico**. 1986. 176f. Tese (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1986.
- SILVEIRA, N. S. S.; MICHEREFF, S. J.; MENEZES, M.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. Potencial de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *Sclerotium rolfsii* em feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.20, n.1, p. 22-25, jan./mar.1994.

Capítulo 5

Microbiolização de Sementes de Boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.) com *Trichoderma* spp. Visando ao Controle de *Rhizoctonia solani* Kühn

RESUMO

Com o objetivo de se obter um controle alternativo de *Rhizoctonia solani* em boa-noite, foram testados cinco isolados de *Trichoderma* (T1, T3, T11, T12 e T18) “in vitro” e em casa-de-vegetação, pela microbiolização de sementes artificialmente infectadas. Também procedeu-se à inoculação de sementes apenas com *Trichoderma* com a finalidade de se verificar uma possível ação fitotóxica deste fungo sobre a germinação das sementes. A concentração da suspensão de cada isolado do antagonista foi ajustada para 10^5 esporos/ml. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e 10 repetições. A testemunha constou de sementes inoculadas com *R. solani* e não tratadas com *Trichoderma*. Todos os isolados testados, “in vitro”, reduziram a incidência de “damping-off”. Em condições de casa-de-vegetação, somente o isolado T18 não diferiu significativamente da testemunha pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Evidenciou-se a ausência de uma ação fitotóxica de *Trichoderma* sobre as sementes.

Palavras-chave: biocontrole, microbiolização, *Rhizoctonia solani*, *Trichoderma* spp.

ABSTRACT

Microbiolization of vinca (*Catharanthus roseus* G. Don.) seeds with objective of *Rhizoctonia solani* Kühn control

With the objective of obtaining *Rhizoctonia solani* alternative control in vinca, five isolates of *Trichoderma* (T1, T3, T11, T12 and T18) were tested “in vitro” and under greenhouse conditions by microbiolization of artificial infected seeds. Seeds inoculation just with *Trichoderma* was done to verify the possibility of a phytotoxic action in seeds germination. The concentration of each isolate suspension of the antagonist was adjusted for 10^5 spores/ml. The experimental design was completely randomized with six treatments and 10 replications. The control consisted of seeds inoculated by *R. solani* and not treated with *Trichoderma*. All the isolates tested “in vitro” reduced the incidence of damping-off. Under greenhouse conditions only T18 isolate did not differ significantly from the control in Tukey's test for 5% level of probability. Absence of seeds *Trichoderma* phytotoxic action was proved.

Key words: biocontrol, microbiolization, *Rhizoctonia solani*, *Trichoderma* spp.

INTRODUÇÃO

O tratamento de sementes tem como objetivo precípuo a preservação do seu desempenho, além de evitar problemas quanto à introdução de patógenos em novas áreas ou mesmo a contínua adição do inóculo destes agentes de doenças, o que, de acordo com Menten (1996), contribui para alterar o equilíbrio entre os microrganismos do ecossistema, particularmente do solo.

A microbiolização de sementes é uma das medidas preconizadas para o controle dos patógenos a elas associados. Atualmente, este método vem sendo estudado para que sejam minimizados os impactos desfavoráveis sobre o ambiente, resultantes do uso indiscriminado de produtos químicos e de certas práticas agrícolas.

A inoculação de sementes com antagonistas poderá não somente eliminar os patógenos a elas aderidos, mas também proteger as plântulas contra aqueles que habitam o solo (Dhingra et al., 1980).

Diversos pesquisadores vêm avaliando o tratamento de sementes com antagonistas no controle de agentes fitopatogênicos (Patrício et al., 2001; Cardoso et al., 1997; Luz, 1994; Silveira et al., 1994; Lifshitz et al., 1986; Lewis e Papavizas, 1985).

A literatura aponta que fungos dos gêneros *Chaetomium* Kunze ex Fr., *Penicillium* Link ex Fr., *Trichoderma* Pers. ex Fr. e *Gliocladium* Corda são capazes de controlar algumas espécies de *Fusarium* Link ex Fr., *Pythium* Pringsh., *Rhizoctonia* DC. ex Fr., *Sclerotium* Tode ex Fr., *Helminthosporium* Link ex Fr. e *Macrophomina* Petrak, que podem ser transportados pelas sementes (Melo, 1998; Dhingra et al., 1980).

O tombamento de pré-emergência de ervilha pode ser controlado efetivamente pela microbiolização de sementes com esporos de *Penicillium oxalicum* Currie & Thom (Windels, 1981). Do mesmo modo, sementes de grão-de-bico impregnadas com esporos desse antagonista foram protegidas do ataque de *Pythium ultimum* Trow (Kaiser e Hannan, 1984).

Harman et al. (1980) obtiveram sucesso no controle de *Rhizoctonia solani* Kühn e de *Pythium* spp. pelo tratamento de sementes de ervilha e de rabanete com conídios de *Trichoderma hamatum* (Ben.) Bain. Observaram que o tratamento de sementes com o antagonista apresentou igual eficiência quanto à alcançada pela aplicação de fungicidas.

Um aspecto positivo observado neste trabalho foi o do aumento de propágulos de *T. hamatum* em solos onde ocorreu o plantio de sementes tratadas com este antagonista.

Rech Filho (1983) assinalou que as espécies *Trichoderma harzianum* Rifai e *T. viride* Pers. ex S. F. Gray exercem uma proteção em sementes de feijão e soja infectadas por *R. solani* e *Sclerotium rolfsii* Sacc., durante o período de germinação, aumentando o peso seco das plantas e reduzindo a incidência de doenças ocasionadas por esses organismos.

A atuação de certos patógenos no solo ou em outros substratos por ocasião da germinação de sementes pode ser impedida ou restringida pela ação de organismos antagonísticos presentes na própria semente (Machado, 1988).

Luz (1991) afirma que a microbiolização das sementes tem grandes possibilidades, pois além de proporcionar o controle de patógenos na espermosfera, atua também sobre aqueles que sobrevivem no solo.

Portanto, a incorporação de antagonistas à superfície das sementes de maneira dirigida é uma alternativa que se busca para introduzir esses organismos em áreas onde agentes patogênicos estão estabelecidos como parte da microflora do solo (Machado, 2000). Em alguns casos, a eficiência do biocontrole tem sido igual ou superior ao tratamento químico.

Por outro lado, um produto químico ou um método físico, calor, por exemplo, que erradique um patógeno, pode determinar a morte do embrião, ou pelo menos reduzir a germinação a um nível que torna o processo inviável na prática. São também comuns os casos nos quais os métodos não afetam a germinação, porém, a eficiência do controle não é satisfatória (Casa et al., 1998; Reis e Casa, 1998). Pode, ainda, ocorrer que o produto além de não controlar eficientemente os fungos presentes nas sementes cause algum efeito tóxico sobre a germinação e o vigor (Pizzinatto et al., 2000).

Luz (1991) explica que o principal modo de ação dos agentes de biocontrole aplicados na espermosfera é a antibiose, isto é, a produção de substâncias que inibem o crescimento dos agentes das doenças.

Além deste mecanismo Baker e Lynch, citados por Melo (1998), sugerem que certos isolados de *Trichoderma* promovem o crescimento de plantas e aumentam a germinação e emergência de sementes.

Levando em consideração o acima exposto e a carência de dados em relação à patologia de sementes em ornamentais, inclusive nas questões relativas ao controle de

fungos parasitas de sementes, este trabalho tem por finalidade analisar: (a) o uso de isolados de *Trichoderma*, pela microbiolização das sementes no controle de *R. solani*, agente de “damping-off” de pré e pós-emergência em boa-noite; e (b) o seu efeito sobre a germinação das sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram conduzidos no laboratório de fitopatologia e casa-de-vegetação da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA), pelo convênio de cooperação técnica celebrado entre esta empresa e a Superintendência de Parques e Jardins (SPJ) da Prefeitura Municipal do Salvador.

Foram utilizados cinco isolados de *Trichoderma* (T1e T11, *Trichoderma* spp.; T3, *T. longibrachiatum* Rifai; T12 e T18, *T. harzianum*) e um isolado de *R. solani* (R6).

Para multiplicação de *R. solani* e dos isolados de *Trichoderma* foi empregado o meio de cultura batata-dextrose-água (BDA).

Preparo do inóculo

O inóculo foi preparado triturando-se por dois minutos, em um liquidificador com 100ml de água destilada esterilizada, o conteúdo de duas placas de Petri, com meio BDA e culturas, com oito dias de idade, de *R. solani* (R6) e de cada isolado de *Trichoderma* (T1, T3, T11, T12, e T18), separadamente, segundo metodologia descrita por Halloin (1975).

No caso de *Trichoderma*, a concentração das suspensões de cada isolado, foi determinada pelo emprego da câmara de contagem tipo Neubauer e posteriormente ajustada para 10^5 esporos/ml.

Inoculação das sementes

A metodologia de inoculação foi semelhante à descrita por Halloin (1975).

Sementes de boa-noite comprovadamente sadias e previamente desinfestadas com 1% de NaClO por dois minutos e em seguida lavadas duas vezes com água destilada esterilizada, foram imersas durante uma hora, em 20ml da suspensão do isolado de *R.*

solani (R6). Após este período, o excesso de líquido foi drenado e as sementes postas a secar sobre papel de filtro por 10 minutos, a temperatura ambiente.

Em seguida, procedeu-se à imersão das sementes por uma hora, nas suspensões dos isolados de *Trichoderma*, separadamente.

Teste de laboratório

Depois de secas, as sementes tratadas com *Trichoderma* foram plaqueadas em meio de BDA + Tetraciclina, utilizando-se 100 sementes para cada isolado (10 sementes/placa).

As avaliações ocorreram no oitavo dia de incubação das placas a temperatura ambiente ($26 \pm 2^\circ\text{C}$), sob regime de luz constante, pelo registro do número de sementes com colônias de *R. solani* nos diferentes tratamentos.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado com seis tratamentos, representados pelos cinco isolados de *Trichoderma* e a testemunha, com 10 repetições. A testemunha constou de sementes inoculadas com *R. solani* e não tratadas com *Trichoderma*.

Teste em condições de casa-de-vegetação

As sementes de boa-noite artificialmente infectadas por *R. solani* e tratadas com *Trichoderma* foram plantadas em sacos de polietileno contendo 0,5kg de solo anteriormente autoclavado, na proporção de 10 sementes/saco.

As observações foram efetuadas 15 dias após a semeadura, pela contagem de plântulas sobreviventes em cada tratamento.

Durante a permanência do experimento na casa-de-vegetação, foi registrada uma temperatura média de $26 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa em torno de 70%.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com seis tratamentos e três repetições. A testemunha constou de sementes inoculadas, apenas com o patógeno.

Procedeu-se à inoculação de sementes com *Trichoderma* spp. com a finalidade de se verificar uma ação fitotóxica deste fungo sobre a germinação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A viabilidade do tratamento de sementes de boa-noite com *Trichoderma* spp. no controle de *R. solani*, tornou-se evidente “in vitro”.

Todos os isolados avaliados (T1, T3, T11, T12 e T18) inibiram completamente o crescimento de *R. solani* nas sementes. Quanto à testemunha, cujas sementes não sofreram tratamento com o antagonista, foi capaz de desenvolver colônias do patógeno. Estes dados são semelhantes aos conseguidos por Maia e Menezes (1991), que em laboratório, verificaram a eficiência de *Trichoderma* na redução da infecção de *R. solani* em sementes de caupi, em todos os tratamentos empregados.

Os resultados deste experimento estão ilustrados na Figura 1.

Devido à uniformidade dos dados não houve necessidade de se efetuar a análise estatística.

Os dados relativos ao experimento para verificar a ação de *Trichoderma* sobre a germinação de sementes de boa-noite, em condições de casa-de-vegetação, estão expressos na Tabela 1.

Os isolados testados não apresentaram diferença significativa em relação à testemunha ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey, o que indica a ausência de efeito fitotóxico de *Trichoderma* sobre as sementes.

Os resultados do teste de microbiolização em casa-de-vegetação estão apresentados na Tabela 2.

Nos tratamentos com os isolados de *Trichoderma* T1, T3, T11 e T12, o número de plântulas sobreviventes foi significativamente maior que os resultados obtidos pela testemunha (Figura 2). Somente o isolado T18 não diferiu significativamente da testemunha pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os dados obtidos neste trabalho são semelhantes aos estudos efetuados com outras espécies vegetais.

Elad et al. (1982) determinaram que a proteção de sementes de algodão com *Trichoderma* spp. reduziu a incidência de “damping-off” causada por *R. solani* em mais de 83%, em casa-de-vegetação.

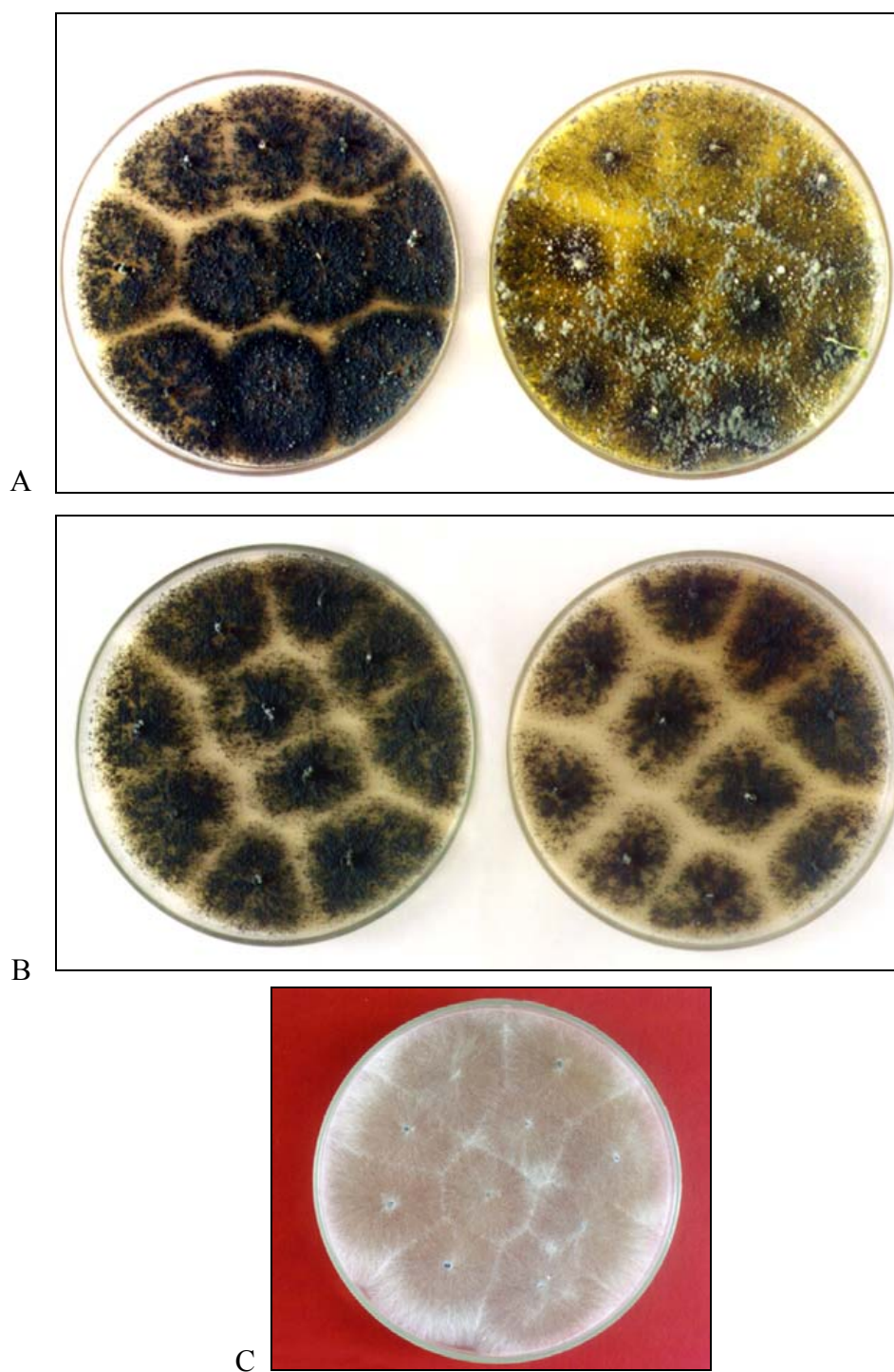


Figura 1 - Sementes de boa-noite infectadas com *Rhizoctonia solani* Kühn. (A) Tratadas com *Trichoderma* sp. (T1), à esquerda, e *T. longibrachiatum* Rifai (T3), à direita. (B) Tratadas com *Trichoderma* sp. (T11), à esquerda, e *T. harzianum* Rifai (T12), à direita. (C) Testemunha: não tratadas com o antagonista

Tabela 1 - Médias de sementes de boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.) germinadas após tratamento com *Trichoderma* spp., em casa-de-vegetação

Tratamentos	Sementes Germinadas ^{a/}
Testemunha	3,2 ^A
T18	3,2 ^A
T3	3,1 ^A
T11	3,0 ^A
T12	2,9 ^A
T1	2,9 ^A
C.V. = 6,0%	
Teste F' = 1,41 **	

^{a/} Médias seguidas das mesmas letras na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Dados transformados em $x + 1$, obtidos de três repetições com 10 sementes cada.

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Também Homechin (1983) demonstrou, em campo, a viabilidade do tratamento de sementes de soja com *Trichoderma* sp. no controle do tombamento de plântulas causado pelos fungos *R. solani*, *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid. e *Sclerotium rolfsii*.

Soave e Moraes (1987) afirmam que o tratamento biológico, pela inoculação das sementes, tem sido utilizado com sucesso. Declaram que as vantagens do tratamento de sementes prendem-se ao fato de ser uma medida econômica, de fácil aplicação e de oferecer boa eficiência nas fases iniciais de desenvolvimento da planta, além de, praticamente, não apresentar efeito danoso sobre o meio ambiente, fauna silvestre e microrganismos do solo.

Segundo Luz (1993) a microbiolização da semente é um sistema ideal para se introduzir bioprotetores no controle das doenças das sementes, do tombamento, da morte de plântulas e das podridões radiculares, porque são colocados diretamente na corte de infecção e num ambiente favorável, na espermosfera.

Tabela 2 - Médias de plântulas sobreviventes de boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.) 15 dias depois de infectadas artificialmente com *Rhizoctonia solani* Kühn e tratadas com *Trichoderma* spp., em casa-de-vegetação

Tratamentos	Plântulas sobreviventes ^{a/}
T3	2,9 ^A
T11	2,8 ^A
T1	2,6 ^A
T12	2,5 ^A
T18	2,3 ^{A B}
Testemunha	1,8 ^B
C.V. = 9,86%	
Teste F' = 7,23 **	

^{a/} Médias seguidas das mesmas letras na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Dados transformados em $x + 1$, obtidos de três repetições com 10 sementes cada.

**Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Patrício et al. (2001) faz referência a trabalhos onde o uso de produtos comerciais, à base de *Gliocladium virens* Miller, Giddens & Foster e *T. harzianum*, reduziram os danos provocados por *R. solani* em zínia e crisântemo.

Os resultados alcançados no presente estudo permitem concluir que a microbiolização de sementes com *Trichoderma* controlou *R. solani*, reduziu significativamente a severidade do “damping off” de pré e pós-emergência e melhorou consideravelmente a emergência de plântulas de boa-noite.

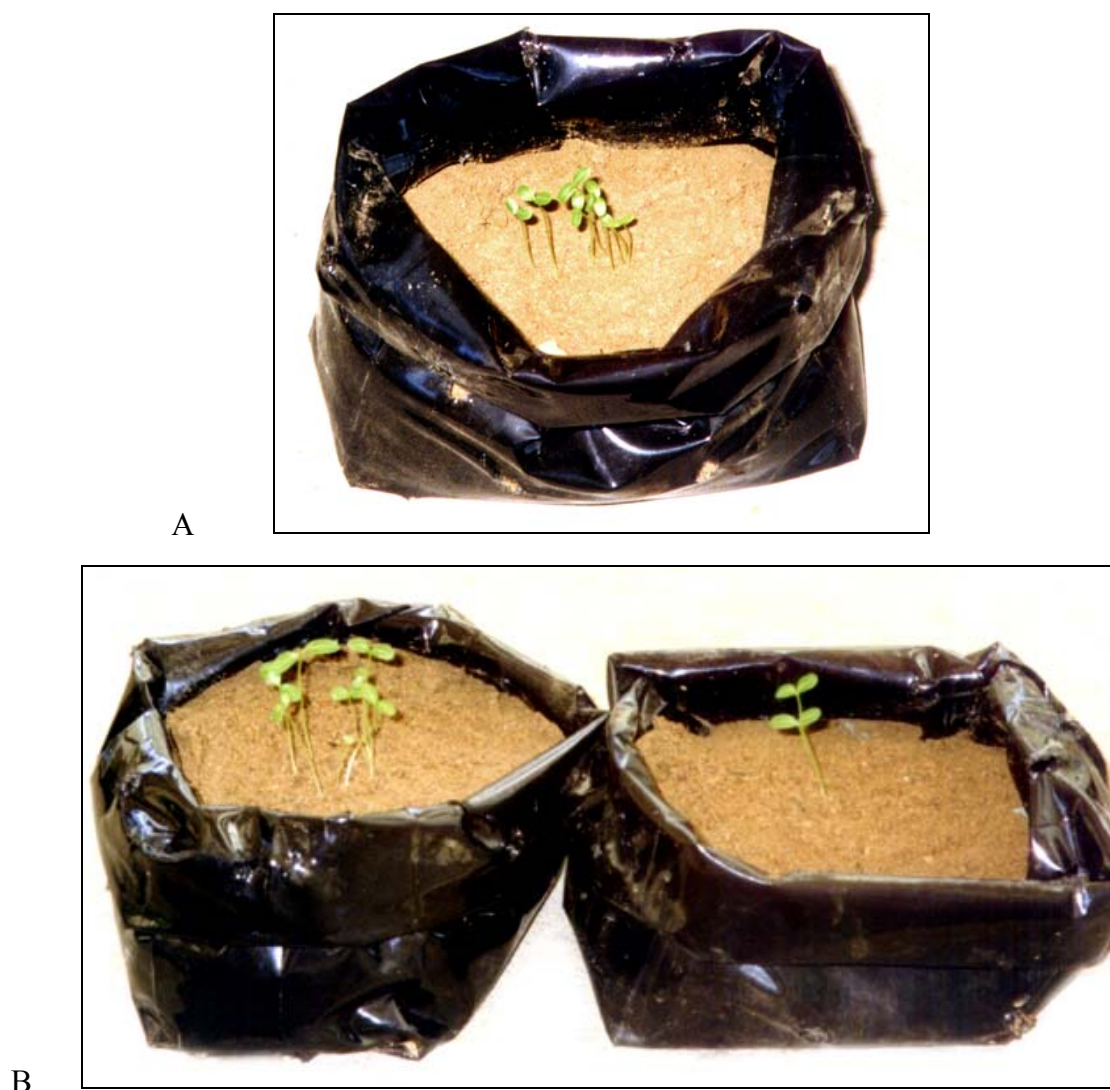


Figura 2 - Plântulas de boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.) oriundas de sementes infectadas artificialmente com *Rhizoctonia solani* Kühn e tratadas com *Trichoderma* Pers. ex Fr. (A) *T. longibrachiatum* Rifai (T3). (B) à esquerda, *Trichoderma* sp. (T11), e à direita, testemunha: plântulas oriundas de sementes infectadas por *R. solani* (R6) e não tratadas com o antagonista

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARDOSO, J. E.; SILVA, S. A. G.; MARQUES, E. E. Controle químico e biológico das podridões radiculares do feijoeiro comum. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.22, n.1, p.39-44, mar.1997.

CASA, R. T.; REIS, E.M.; ZAMBOLIM, L. Fungos associados à semente de milho produzida nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.23, n.3, p.370-373, set.1998.

DHINGRA, O. D.; MUCHOVEJ, J. J.; CRUZ FILHO, J. **Tratamento de sementes** (controle de patógenos). Viçosa: UFV. Imprensa Universitária, 1980. 121p.

ELAD, Y.; KAUFON, A.; CHET, I. Control of *Rhizoctonia solani* in cotton by seed-coat with *Trichoderma* spp. spores. **Plant and Soil**, The Hague, v.66, n.2, p.279-281, 1982.

HALLOIN, J. M. Postharvest infection of cotton seed by *Rhizopus arrhizus*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*. **Phytopathology**, St. Paul, v.65, p.1229-1232, 1975.

HARMAN, G. E.; CHET, I.; BAKER, R. *Trichoderma hamatum* effects on seed and seedling disease induced in radish and pea by *Pythium* spp. and *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, St. Paul, v.70, p. 1167-1172, 1980.

HOMECHIN, M. Tratamento de semente com *Trichoderma* sp. para controle do tombamento de soja. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.8, n.3, p. 554, out 1983.

KAISER, W. J.; HANNAN, R. M. Biological control of seed rot and preemergence damping-off of chick pea with *Penicillium oxalicum*. **Plant Disease**, St. Paul, v.68, p.806-811, 1984.

LEWIS, J. A.; PAPAVIDAS, G. C. Effect of mycelial preparations of *Trichoderma* and *Gliocladium* on populations of *Rhizoctonia solani* and the incidence of damping-off. **Phytopathology**, St. Paul, v.75, p.812-817, 1985.

LIFSHITZ, R.; WINDHAM, M. T.; BAKER, R. Mechanism of biological control of preemergence damping-off pea by seed treatment with *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, St. Paul, v.76, p.720-725, 1986.

LUZ, W. C. Efeito da microbiolização de sementes no rendimento e controle da podridão comum das raízes e de patógenos das sementes de trigo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.19, n.2, p.144-148, jun.1994.

LUZ, W. C. Microbiolização de sementes para o controle de doenças das plantas. **Revisão anual de patologia de plantas**. Passo Fundo, RS, 1993. v. 1, p. 33-77.

LUZ, W. C. Controle biológico das doenças na espermosfera. In: BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA-CNPDA, 1991. p.25-31.

MACHADO, J. C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000. 132p.

MACHADO, J. C. **Patologia de sementes**: fundamentos e aplicações. Brasília: Ministério da Educação; Lavras: ESAL/FAEPE. 1988. 107p., il.

MAIA, S. N. E.; MENEZES, M. Efeito do tratamento biológico sobre *Rhizoctonia solani* em sementes de feijão caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp]. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.16, n. 2, p.43, jun.1991.

MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle biológico**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA-CNPMA, 1998. p.17-67.

MENTEN, J. O. Tratamento de sementes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 4., 1996. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1996. p. 3-23.

PATRÍCIO, F. R. A.; KIMATI, H.; BARROS, B. C. Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. antagonistas a *Pythium aphanidermatum* e *Rhizoctonia solani*. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.27, n.2, p.223-229, abr./ jun.2001.

PIZZINATTO, M. A.; BOVI, M. L. A.; SOAVE, J.; SPIERING, S. H.; BINOTTI, C. S. Tratamento químico de sementes de pupunheira (*Bactris gasipaes*): efeitos na sanidade, germinação e vigor. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.26, n.1, p.42-47, jan./mar.2000.

RECH FILHO, E. L. **Efeito de *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* sp., *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma viride* a fungos fitopatogênicos**. 1983. 52f. Tese (Mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília, 1983.

REIS, E. M.; CASA, R. T. **Patologia de sementes de cereais de inverno**. Passo Fundo: Aldeia Norte Editora. 1998. 88p.

SILVEIRA, N. S. S.; MICHEREFF, S. J.; MENEZES, M.; CAMPOS-TAKATI, G. M. Potencial de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *Sclerotium rolfsii* em feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.20, n.1, p.22-25, janeiro/março 1994.

SOAVE, J.; MORAES, S. A. Medidas de controle das doenças transmitidas por sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. S. **Patologia de sementes**. Campinas, SP: Fundação Cargill, 1987. cap. 8, p.192-259.

WINDELS, C. E. Growth of *Penicillium oxalicum* as a biological seed treatment on pea seed in soil. **Phytopathology**, St. Paul, v.71, p.929-933, 1981.

Capítulo 6

Influência do Uso de Composto Orgânico na Supressão de “Damping-off” de Pré e Pós-emergência Causado por *Rhizoctonia solani* Kühn em Boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.)

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o efeito de composto orgânico na supressão de “damping-off” de pré e pós-emergência em boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.) ocasionado por *Rhizoctonia solani* Kühn, foi conduzido um experimento em condições de casa de vegetação, incorporando-se ao solo esterilizado, dois tipos de composto nas concentrações de 10, 20 e 30%. Após 15 dias de incubação, ocorreu a infestação do solo com 20 ml do inóculo de *R. solani*, efetuando-se a semeadura cinco dias depois. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com oito tratamentos e 10 repetições, tendo-se utilizado 10 sementes/saco. A testemunha consistiu em sementes plantadas em solo inoculado com o patógeno e sem a adição do composto. O número de sementes germinadas e o número de plântulas sobreviventes foram determinados respectivamente no 8º e 15º dias, sendo significativamente maiores nos tratamentos com a adição do composto ao solo. Os resultados mostraram diferentes níveis de eficácia dos dois compostos na supressão de “damping-off” causado por *R. solani* em boa-noite.

Palavras-chave: composto orgânico, *Rhizoctonia solani*, boa-noite, “damping-off”,

Influence of the Use of Organic Composite in Damping-off's Suppression of Pre and Post-emergency Caused by *Rhizoctonia solani* Kühn in Vinca (*Catharanthus roseus* G. Don.)

ABSTRACT

With the objective of evaluating the organic composted effectiveness in damping-off suppression of pre and post-emergency in vinca (*Catharanthus roseus* G. Don.) caused by *Rhizoctonia solani* Kühn, an experiment in greenhouse condition was done, incorporating two types of organic composite with concentration of 10, 20 and 30% to sterilized soil. After 15 incubation days an infestation of the soil with 20 ml of *R. solani* suspension was done and the sowing occurred five days afterwards. The experimental design was completely randomized with eight treatments and 10 replications using 10 seeds/bag. The

control consisted of seeds planted in soil inoculated by the pathogen and without the addition of the composted. The number of germinated seeds and the number of surviving seedlings were determined respectively in the 8th and 15th days, being significantly larger in the treatments with organic compost incorporated to the soil. The results showed different levels of effectiveness in the both composts related to damping-off suppression caused by *R. solani* in vinca.

Key words: organic composted, *Rhizoctonia solani*, vinca, damping-off.

INTRODUÇÃO

Os danos ocasionados pela poluição ambiental, principalmente no que se refere ao uso indiscriminado de fungicidas, e a necessidade de redução nos custos de produção da agroindústria, têm se constituído em uma preocupação em todo o mundo.

Segundo Bettiol et al. (1997), o aumento da contaminação por pesticidas utilizados na agricultura resulta em problemas como: redução da biodiversidade; alterações na ciclagem de matéria orgânica e dos nutrientes, no controle biológico natural de doenças e de pragas, nas atividades microbianas no solo; seleção de organismos resistentes aos pesticidas e alterações das populações de organismos do solo e da água entre outros.

Alternativas ao controle químico de doenças, pragas e plantas invasoras vêm sendo pesquisadas para que sejam minimizados os prejuízos causados ao ambiente pelo uso de agrotóxicos (Tratch e Bettiol, 1997).

A adição de matéria orgânica é uma forma de controle biológico, uma vez que estimula a atividade microbiana competitiva. Além do que a sua incorporação é vantajosa por se constituir em uma fonte de macro e micronutrientes, e pelos efeitos benéficos que exerce sobre as propriedades físicas do solo, conferindo maior capacidade de retenção de água, maior resistência à erosão e redução no uso de fertilizantes minerais (Bettiol e Santos, 2001).

Lumsden et al. (1983) apontam que diversas formas de matéria orgânica são utilizadas na agricultura, sendo constituídas principalmente de esterco, compostos à base de restos de culturas ou cascas de árvores e o aproveitamento do excedente do lixo doméstico e do processo de tratamento de esgotos. Estes autores concluíram que a sobrevivência de *Sclerotinia minor* Jagger, *Rhizoctonia solani* Kühn e *Pythium* spp., foi

afetada em consequência do aumento da atividade microbiana estimulada pela adição de lodo no solo.

Chen et al. (1988) verificaram que materiais compostados induziram aumentos na biomassa e atividade microbiana, e reduziram também a severidade da doença causada por *Pythium ultimum* Trow em plântulas de pepino. Resultados semelhantes foram declarados por Bettiol e Santos (2001), quando, ao fazerem alusão a estudos realizados por Ferrara et al., falam que *P. ultimum* em pepino, beterraba e *Impatiens* foi controlado por um substrato produzido com composto de lodo de esgoto e casca de árvores. O mesmo substrato reduziu os danos de *Fusarium oxysporum* (Schl.) Snyder & Hansen em basilico e de *R. solani* em basilico e feijão. O fungo *Trichoderma* Pers. ex Fr. isolado do composto diminuiu a deterioração causada por *P. ultimum* em pepino.

Segundo Valdebenito-Sanhueza (1991), o efeito destes produtos na estimulação da atividade microbiana limita a atividade dos patógenos por competição e favorece os processos de antibiose e lise de propágulos.

Fatores como o material de origem, o método de compostagem e o nível de estabilização do composto afetam, indistintamente, populações de patógenos e de microrganismos antagonistas e, conseqüentemente, a supressividade às doenças (Pereira et al., 1996a).

Outros fatores como pH, tamanho das partículas, relação C:N, relação celulose:lignina e teor de umidade durante a compostagem ou durante o período de armazenamento são importantes na efetividade dos compostos em suprimir doenças. Contudo, o principal fator de supressividade é devido à biomassa, bem como à atividade dessa biomassa presente em compostos orgânicos (Pereira et al., 1996a).

Bettiol e Santos (2001), citando Hoitink et al., relatam que já está estabelecido que compostos e suas infusões ativam genes de resistência de doenças em plantas, afetando tanto enfermidades do sistema radicular como da parte aérea. Esclarecem que a quantidade e a qualidade dos nutrientes podem interferir sobre as doenças de plantas.

Van Brugger et al. (1996), falando sobre o uso de compostos, afirmam que o seu efeito positivo ou negativo em doenças induzidas por *Rhizoctonia* DC. ex Fr. está ligado ao material utilizado e ao seu estágio de decomposição. Acrescentam que este fator é, provavelmente, o mais importante na determinação do efeito dos compostos orgânicos sobre a saprogênese e a patogênese de *Rhizoctonia* spp. Continuando, mencionam

Papavizas ao colocarem que geralmente compostos baseados em celulose têm mais sucesso na supressão de doenças.

No Brasil, os relatos da utilização de compostos orgânicos no controle de doenças são recentes e se referem a trabalhos conduzidos em casa-de-vegetação ou em uma menor intensidade em condições de campo.

Face ao exposto, este trabalho tem como objetivo avaliar a influência do uso de composto orgânico no controle de “damping-off” de pré e pós-emergência causado por *R. solani* em boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.).

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi conduzido na casa-de-vegetação da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA), pelo convênio de cooperação técnica celebrado entre esta empresa e a Superintendência de Parques e Jardins (SPJ) da Prefeitura Municipal do Salvador, no período de novembro de 2001 a janeiro de 2002.

Foram utilizados dois tipos de composto, separadamente, aqui denominados composto UFBA, produzido na usina experimental de compostagem do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia, e obtido pela decomposição de restos de frutas e verduras; e composto SPJ, proveniente da compostagem da Superintendência de Parques e Jardins da Prefeitura Municipal do Salvador, que tem como material de origem as podas de árvores das áreas verdes da cidade.

Utilizaram-se sacos de polietileno que foram preenchidos com 0,5 kg de solo esterilizado, ao qual foi adicionado composto orgânico, na proporção de 10, 20 e 30%, segundo metodologia adaptada de Schueler et al. (1989), com correção das quantidades para o equivalente ao peso do composto seco ao ar (Kiehl, 1985). Estes foram fechados e incubados por 15 dias.

Após este período, o substrato foi infestado com 20 ml do inóculo do isolado R6 de *R. solani*, e incubado por cinco dias. Efetuou-se então a semeadura utilizando-se 100 sementes/tratamento.

As avaliações foram feitas no 8º e 15º dias do experimento, pela contagem do número de sementes germinadas e do número de plântulas sobreviventes, respectivamente.

A testemunha consistiu em sementes plantadas em solo autoclavado, infestado com o patógeno e sem adição de composto orgânico.

A testemunha absoluta (tratamento em branco) consistiu em sementes plantadas em solo esterilizado, não inoculado com *R. solani* e sem a adição de composto.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com oito tratamentos e 10 repetições.

As condições apresentadas na casa-de-vegetação durante a condução do experimento foram $26 \pm 2^\circ\text{C}$ de temperatura e 70% de umidade relativa do ar.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A incorporação dos compostos orgânicos ao solo mostrou diferentes níveis de eficiência na supressão de “damping-off” causado por *R. solani* em boa-noite.

Os resultados referentes aos percentuais de sementes germinadas e de plântulas sobreviventes em cada tratamento estão representados na Tabela 1.

Os tratamentos com os compostos utilizados apresentaram resultados sempre superiores em relação à testemunha.

Comparando os resultados obtidos por cada composto, observou-se que o composto SPJ (Figura1), nas três proporções utilizadas, foi mais eficiente que o composto UFBA (Figura 2) na supressão da doença em estudo, apresentando uma média de sementes germinadas e de plântulas sobreviventes mais próximas do tratamento em branco, cujo substrato não recebeu inoculação com *R. solani* nem o composto, apresentando valores mais elevados do que a testemunha (Tabela 1).

O composto UFBA mostrou-se mais efetivo na proporção de 30% no substrato quando comparado com as de 10 e 20%, tanto em relação à percentagem de sementes germinadas, quanto de plântulas sobreviventes (Tabela 1). Estes dados confirmam os resultados obtidos por Bettiol et al. (2000), que ao adicionarem 30% ou mais de esterco em um substrato contendo perlita:vermiculita:turfa:areia (2:1:2:1), conseguiram o controle do tombamento ocasionado por *P. ultimum* em pepino. Kuter et al. (1988) verificaram que os níveis de supressão, induzidos com a incorporação de 25% (v/v) de composto de lodo no substrato, foram adequados para evitar perdas em plantas ornamentais, causadas por *R. solani* ou *Pythium* spp. em casa de vegetação e viveiros. Este substrato foi submetido ao

regime de maturação por um período acima de cinco meses para *R. solani* e dois anos para *Pythium* spp. O trabalho mostrou que a microbiota presente durante a compostagem e o processo de amadurecimento estão envolvidos na supressão do tombamento causado pelos patógenos em questão.

Tabela 1 - Valores médios dos percentuais de sementes germinadas e plântulas sobreviventes de boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.) no controle de “damping-off” de *Rhizoctonia solani* Kühn pelo tratamento do solo com composto orgânico

Concentração do composto	Tipos de Composto			
	Composto UFBA*		Composto SPJ**	
	Sementes germinadas (%)	Plântulas sobreviventes (%)	Sementes germinadas (%)	Plântulas sobreviventes (%)
Testemunha	56	22	56	22
10%	63	51	85	85
20%	70	65	87	86
30%	75	75	90	84
Tratamento em branco	90	90	90	90

* Composto à base de restos de frutas e verduras, produzido na usina experimental de compostagem do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia / UFBA.

** Composto à base de podas de árvores, proveniente do Horto Municipal da Mata dos Oitis da Superintendência de Parques e Jardins / Prefeitura Municipal de Salvador-BA.

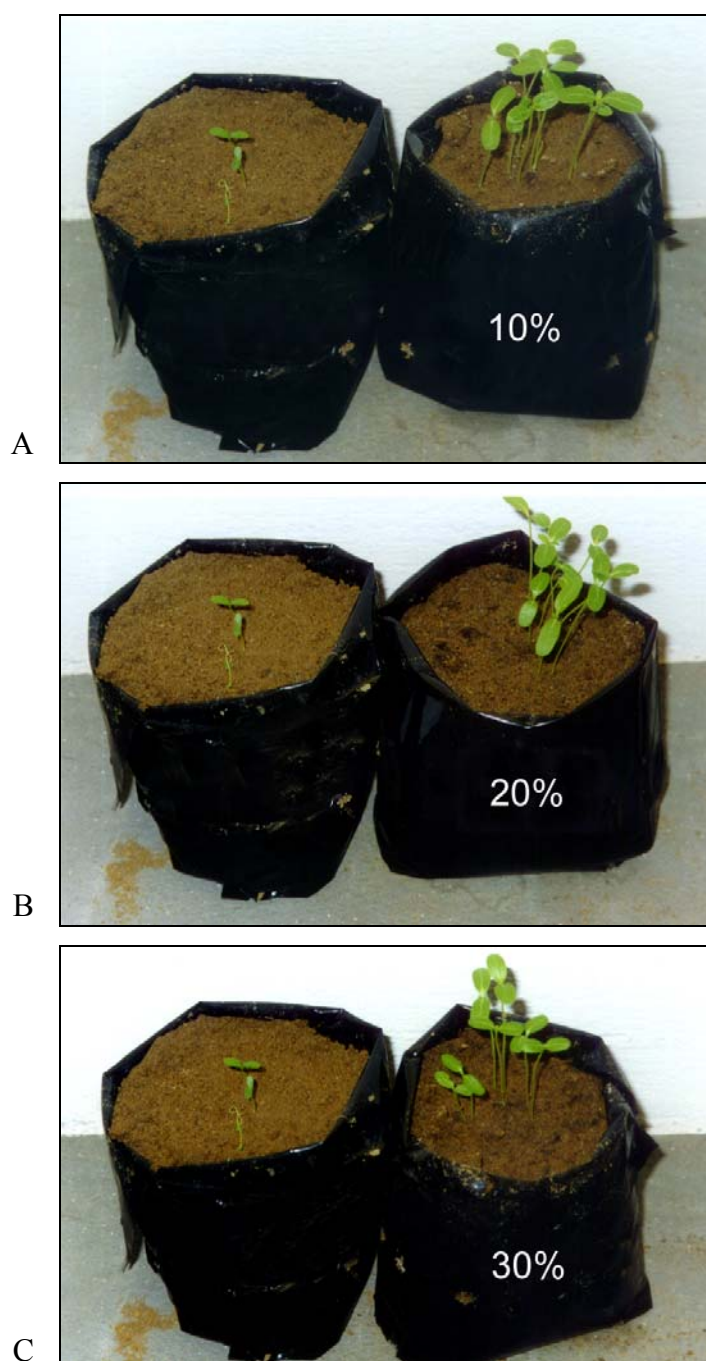


Figura 1 - Efeito do composto orgânico SPJ, em três concentrações (10, 20 e 30%), sobre “damping-off” de pré e pós-emergência ocasionado por *Rhizoctonia solani* Kühn em plântulas de boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.). Em cada foto: à direita, tratamento com composto e à esquerda, testemunha

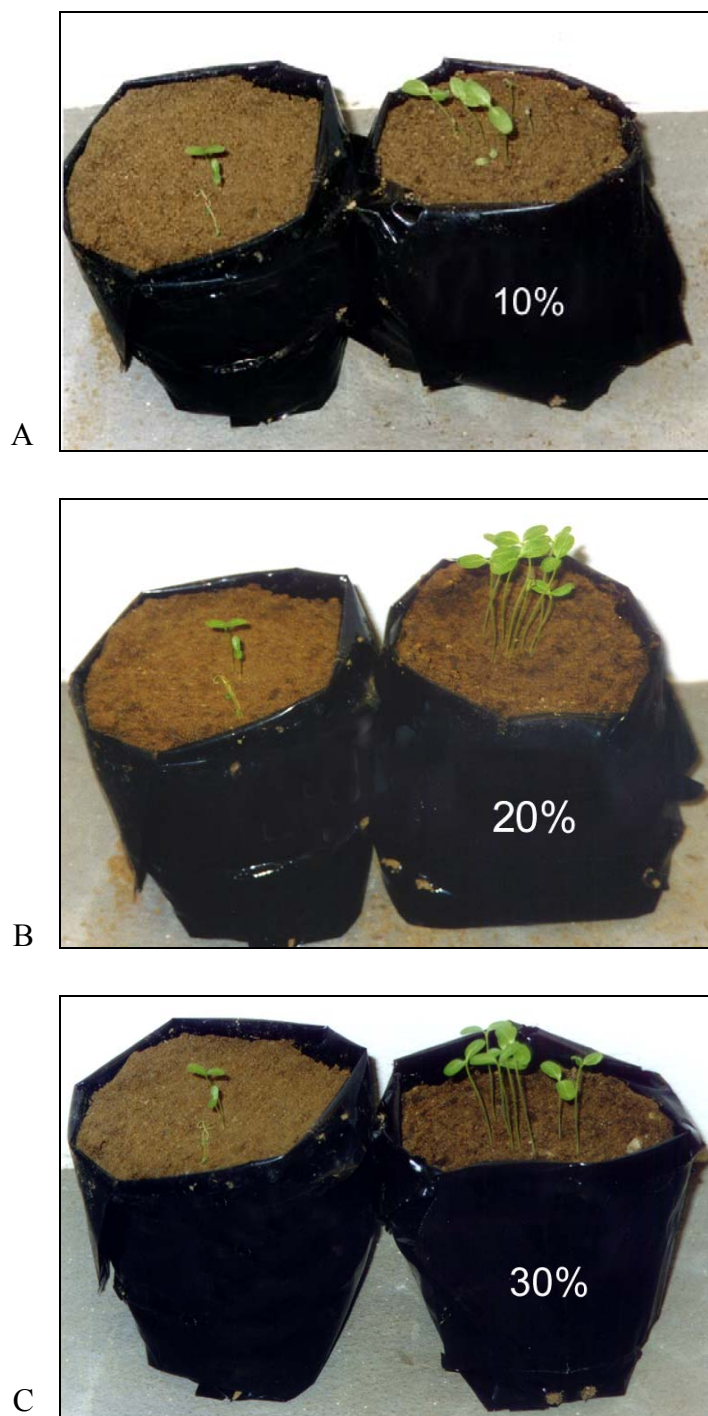


Figura 2 - Efeito do composto orgânico LAVIET, em três concentrações (10, 20 e 30%), sobre “damping-off” de pré e pós-emergência ocasionado por *Rhizoctonia solani* Kühn em boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.). Em cada foto: à direita, tratamento com o composto e à esquerda, testemunha

As análises de variância (Tabela 2) revelam que houve significância estatística pelo teste F entre os tratamentos ao nível de 1% de probabilidade, sendo que o tipo de composto foi o que determinou a diferença dos resultados manifestados em cada tratamento, tanto para a percentagem de sementes germinadas como para plantas sobreviventes.

Tabela 2 - Graus de liberdade (GL) e quadrados médios (QM) nas análises de variância e coeficientes de variação da percentagem de sementes germinadas (PSG) e de plântulas sobreviventes (PPS) de boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don)

Causas de variação	GL	Quadrados Médios (QM)	
		PSG ⁽¹⁾	PPS ⁽¹⁾
Tratamentos	(7)	959,41**	94,39**
Testemunha x Testemunha absoluta	1	3116,05**	410,23**
Testemunhas x Compostos	1	123,45 ^{n/s}	116,51**
Tratamentos com composto	(5)	695,27**	26,80**
Composto UFBA x Composto SPJ	1	3068,38**	89,46**
Proporções dos compostos	2	178,43 ^{n/s}	10,79**
Interação Composto x Proporção	2	25,54 ^{n/s}	11,48**
Resíduo	72	82,65	1,87
Coeficiente de variação (%)		14,36	9,12

¹ Dados transformados por arco seno da raiz da proporção.

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade segundo o teste F.

^{n/s} Não significativo a 5% de probabilidade segundo o teste F.

A decomposição destes efeitos na análise de variância, que avaliou a influência das proporções do composto no substrato, demonstra comportamento distinto entre os compostos tanto na percentagem de sementes germinadas como de plântulas sobreviventes (Tabela 2).

Observou-se, portanto, que o composto UFBA teve uma tendência linear descrita através da equação $\hat{Y}_1 = 56,40 + 0,64P$ (Figura 3), revelando que a cada acréscimo de 10% deste composto no solo houve um aumento médio de 6,4% no percentual de sementes que germinaram em relação à testemunha.

Enquanto para o composto SPJ a influência foi quadrática, segundo a regressão $\hat{Y}_2 = 57,40 + 2,9900P - 0,0650P^2$ (Figura 3), observando-se que a adição de 10% deste no substrato determinou um acréscimo de 31% de sementes que germinaram em relação à testemunha.

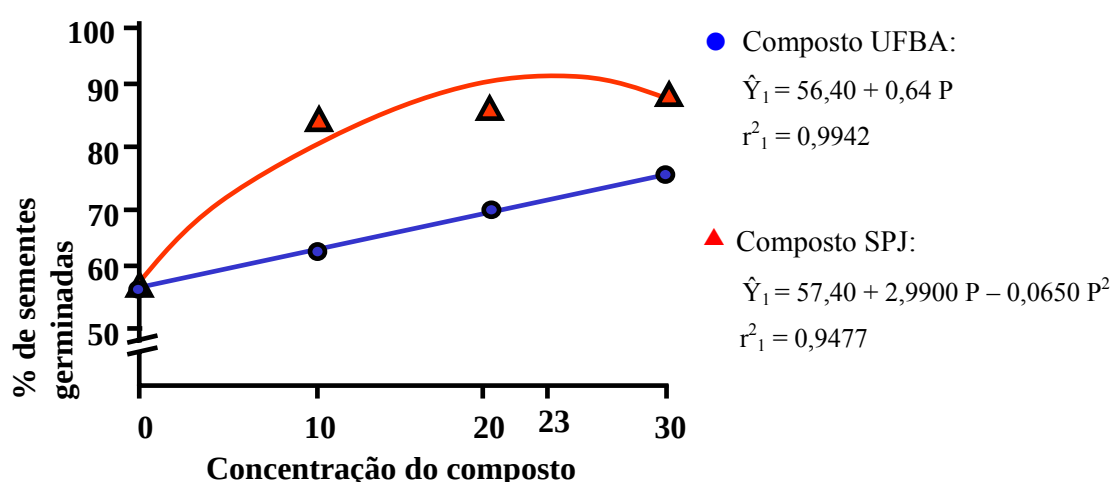


Figura 3 - Efeito dos compostos UFBA e SPJ, em três concentrações, no controle de “damping-off” de pré-emergência de *Rhizoctonia solani* Kühn em boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.)

As variações de 10 para 20% e deste para 30% no composto SPJ foram pouco expressivas sobre a percentagem de sementes germinadas, com acréscimos de 2 e 3%, respectivamente, em relação à testemunha.

A Figura 4 expressa que o percentual de plântulas sobreviventes cresceu linearmente conforme o aumento na proporção do composto UFBA. Verificou-se que o acréscimo de cada 10% deste composto no substrato determinou um aumento médio de 17,3% no índice

de sobrevivência de plântulas, segundo o que revela a equação $\hat{Y}_1 = 27,03 + 1,73P$ desta mesma figura.

A tendência para o efeito das proporções do composto SPJ sobre o percentual de plântulas sobreviventes foi quadrática, igual à que havia sido registrada para sementes germinadas. A inclusão de 10% deste composto no substrato determinou um acréscimo de 63% de plântulas que sobreviveram à inoculação de *R. solani* no solo (Figura 4).

O aumento da proporção do composto para 20 e 30%, praticamente não alterou a percentagem de plântulas sobreviventes, apenas 1%, em relação à proporção inicial de 10% do composto SPJ.

A consistência desta tendência é confirmada pela equação $\hat{Y}_2 = 24,95 + 6,7450 P - 0,1625P^2$, que foi obtida com 94,16% de representatividade para os dados observados (Figura 4).

Considerando a equação da regressão linear do composto UFBA, infere-se que poderiam ser obtidos melhores resultados na supressão do “damping-off”, com maiores percentuais de sementes germinadas e de plântulas sobreviventes, pelo aumento da sua concentração no substrato.

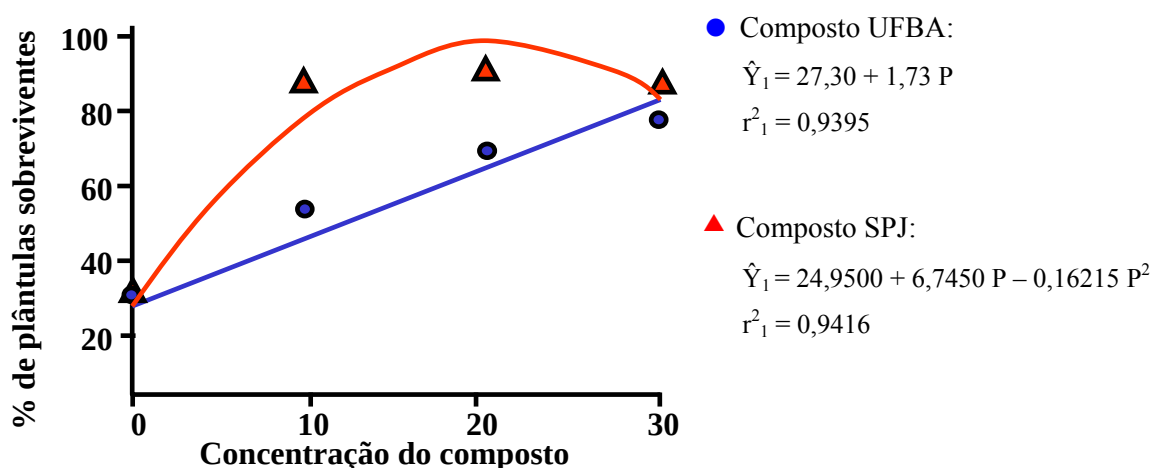


Figura 4 - Efeito dos compostos UFBA e SPJ, em três concentrações, no controle de “damping-off” de pós-emergência de *Rhizoctonia solani* Kühn em boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.)

A análise microbiológica dos compostos orgânicos aponta para a ocorrência de microrganismos de ação antagônica comprovada, entre os quais estão os gêneros *Trichoderma*, *Verticillium* Nees ex Wallr., *Gliocladium* Corda, *Chaetomium* Kunze ex Fr. e *Penicillium* Link ex Fr. (Anexo).

Vários pesquisadores indicam a competição microbiana do solo e a antibiose como fatores responsáveis pelo controle biológico de podridões de raízes alcançado com composto orgânico, o que deve ter ocorrido no presente trabalho. Papavizas e Davey (1960) demonstraram que populações de microrganismos do solo, particularmente actinomicetos, antagonistas a *R. solani*, aumentam em resposta à incorporação de matéria orgânica no solo.

Charchar e Bolkan (1980), observaram que entre os fungos que tiveram suas populações diminuídas na rizosfera do feijoeiro com a incorporação de casca de arroz, encontram-se espécies do gênero *Fusarium* Link ex Fr. e *R. solani*. De certa forma estes dados concordam com resultados de outros estudos, onde a redução da doença causada por *Rhizoctonia* spp., e conseqüentemente do inóculo, está diretamente relacionada ao efeito supressivo das populações de antagonistas, os quais suprimiram o crescimento micelial, paralisaram e lisaram as hifas e/ou mataram os escleródios.

Deve-se considerar também que o teor de matéria orgânica do solo influencia na supressividade de *R. solani*. Isto se baseia nos resultados obtidos com os tratamentos usando o composto SPJ, que se mostraram mais eficientes e cuja concentração de matéria orgânica, 201 g/kg⁻¹, foi superior à do composto UFBA, 164 g/kg⁻¹ (Anexo). Costa et al. (1998) verificando os efeitos da adição de matéria orgânica na supressividade de podridão radicular de *Rhizoctonia*, chegaram à conclusão de que, em solos com maior teor de matéria orgânica, a atividade microbiológica total é estimulada, induzindo a supressão da doença.

Hoitink e Bohem, citados por Pereira et al. (1996a), estabelecem uma relação carbono/nitrogênio ideal em compostos orgânicos estabilizados, variando entre 14:1 e 20:1, o que classifica os dois compostos avaliados neste estudo como de baixa relação C/N, desde quando o composto UFBA apresenta valor de 9,7:1 e SPJ igual a 11,5:1 (Anexo).

No que tange à influência da relação C/N na supressividade de doenças induzidas por *R. solani*, Valdebenito-Sanhueza (1991) observou que esta poderá exercer efeitos

diferentes dependendo da doença em estudo. Assim, produtos com alta relação C/N poderão inibir *R. solani* e estimular seus antagonistas, diminuindo a podridão de raízes do feijoeiro. Entretanto, Nelson e Hoitink (1982) mostraram que compostos de casca de madeira com alta relação C/N comportaram-se como conducente a *R. solani*, mesmo quando colonizado por *Trichoderma harzianum* Rifai, na concentração de 10^8 ufc. Contudo, em um composto com baixa relação C:N, *T. harzianum*, mesmo em concentrações muito mais reduzidas, 10^5 ufc, suprimiu *R. solani* e preveniu a ocorrência de tombamento.

No caso do “damping-off” de pré e pós-emergência de *R. solani* em boa-noite, os resultados alcançados neste trabalho permitem concluir que compostos com baixa relação C/N são supressivos a este patossistema.

Uma outra questão a ser mencionada é referente à ação dos elementos minerais acrescidos ao solo devido ao uso do composto. Pereira et al. (1996b) observaram que compostos orgânicos podem reduzir significativamente a severidade da mancha zonada do pepino e que este efeito se deve, aparentemente, à presença nesses compostos, de metais pesados como o ferro, zinco e manganês. Considerando o alto teor destes minerais, acusado na análise dos compostos em estudo (Anexo), pode-se supor que estes estejam envolvidos nos resultados obtidos na supressividade de *R. solani* em boa-noite.

Constatou-se também uma elevada concentração de cálcio, principalmente no composto SPJ (Anexo). Segundo Huber e ainda Wheeler e Hanchey, citados por Zambolim e Ventura (1993), este elemento, quando aplicado ao solo, pode reduzir a severidade de várias doenças causadas por patógenos de raiz e/ou caule, entre os quais destacam-se *Rhizoctonia*, *Sclerotium* Tode ex Fr., *Pythium* Pringsh., *Botrytis* Pers. ex Fr. e *Fusarium*.

A aplicação de hidróxido de cálcio ao solo tem sido também relatada como medida eficiente no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Chrysanthemi* Armstrong, Armstrong & Littrell, em plantas de crisântemo (Engelhard e Woltz, 1973; Woltz e Engelhard, 1973).

É interessante frisar, que a melhor atuação do composto SPJ pode ser explicada pelo seu teor de umidade, 64g/kg, durante o armazenamento e pela maior capacidade de retenção de água, 856 g/kg, em comparação ao composto UFBA, caracterizado por uma baixa umidade, 38 g/kg, e menor capacidade de retenção de água, 413 g/kg (Anexo). Vale

ressaltar, que o composto SPJ apresenta uma maior quantidade de argila, o que também influencia na manutenção da umidade.

Este fato está em consonância com Pereira et al. (1996a) quando cita que a manutenção do teor de umidade no composto elimina a bacteriostase, além de permitir melhor rearranjo das partículas e contribuir para manutenção do teor de oxigênio no nível ideal, ou seja, em torno de 25%. A adição de água a compostos, submetidos a algum período de dessecação, permite recolonização por parte de bactérias mesófilas e fungos filamentosos e pode restaurar a supressividade para determinados fitopatógenos.

Os dados obtidos permitem afirmar que (a) incorporação de matéria orgânica no solo reduz a incidência de “damping-off” de pré e pós-emergência ocasionado por *R. solani* em boa-noite; (b) solos mais ricos em matéria orgânica apresentam melhor efeito supressivo em relação à doença; e (c) características físico-químicas e biológicas do composto exercem influência sobre a supressividade da doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BETTIOL, W.; MIGHELI, Q.; GARIBALDI, A. Controle, com matéria orgânica, do tombamento do pepino, causado por *Pythium ultimum* Trow. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, p.57-61, 1997.

BETTIOL, W.; MIGHELI, Q.; GARIBALDI, A. Control of *Pythium* damping-off of cucumber with composted cattle manure. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.25, n.1, p.84-87, mar.2000.

BETTIOL, W; SANTOS, I. **Efeito do lodo de esgoto sobre fitopatógenos veiculados pelo solo**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente, 2001. 35p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 24).

CHARCHAR, M. J. D. A.; BOLKAN, H. A. Efeito da incorporação da casca de arroz na população de fungos associados com a rizosfera do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.5, n.1, p.51-58, fev.1980.

CHEN, W.; HOITINK, W. A. J.; MADDEN, L. V. Microbial activity and biomass in container media for predicting suppressiveness to damping-off caused by *Pythium ultimum*. **Phytopathology**, St. Paul, v.78, p.1447-1450, 1988.

COSTA, J. L. S.; SILVA, L. B.; ARAÚJO, R. S. Efeito da matéria orgânica na supressividade de um latossolo vermelho-escuro à podridão radicular de *Rhizoctonia*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.23, p.235, ago.1998. Suplemento.

ENGELHARD, A.W.; WOLTZ, S. S. *Fusarium* wilt of chrysanthemum: complete control of symptoms with an integrated fungicide-lime-nitrate regime. **Phytopathology**, St. Paul, v.63, p.1256-1259, 1973.

KIEHL, E. J. **Fertilizantes orgânicos**. Piracicaba: Editora Agronômica Ceres, 1985. 492p.,il.

KUTER, G. A.; HOITINK, H. A. J.; CHEN, W. Effects of municipal sludge compost curing time on suppression of *Pythium* and *Rhizoctonia* of ornamental plants. **Plant Disease**, St. Paul, v.72, p.751-756, 1988.

LUMSDEN, R. D.; LEWIS, J. A.; MILLNER, P. D. Effect of composted sewage sludge on several soilborne pathogens and diseases. **Phytopathology**, St. Paul, v.73, n.11, p.1543-1548, 1983.

NELSON, E. B.; HOITINK, H. A. J. Factors affecting suppression of *Rhizoctonia solani* in container media. **Phytopathology**, St. Paul, v.72, p.275-279, 1982.

PAPAVIZAS, G. C.; DAVEY, C. B. *Rhizoctonia* disease of bean as affected by decomposing green plant material and associates microflora. **Phytopathology**, St. Paul, v.50, p.516-522, 1960.

PEREIRA, J. C. R.; SILVA-ACUÑA, R.; GUIMARÃES, F. B.; CHAVES, G. M.; ZAMBOLIM, L. Novos enfoques no controle da mancha zonada (*Leandria mormodicae*) do pepino (*Cucumis sativus*). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.21, p.94-98, mar.1996b.

PEREIRA, J. C. R.; ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; CHAVES, G. M. Compostos orgânicos no controle de doenças de plantas. **Revisão anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, RS, v.4, p.353-379, 1996a.

SCHUELLER, C.; BIALA, J.; VOGTMANN, H. Antiphytopathogenic properties of biogenic waste compost. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam: Elsevier Science Publishers, v.27, p.477-482, 1989.

TRATCH, R.; BETTIOL, W. Efeito de biofertilizantes sobre o crescimento micelial e a germinação de esporos de alguns fungos fitopatogênicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.11, p.1131-1139, nov.1997.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. Práticas agrícolas e sua influência no controle biológico de doenças. In: BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna:EMBRAPA-CNPDA, 1991. p.195-200.

VAN BRUGGER, A. H. C.; GRÜNWALD, N. J.; BOLDA, M. Cultural methods and soil nutrient status in low and high input agricultural systems, as they affect *Rhizoctonia* species. In: SNEH, B.; JABAJI-ARE, S.N.; NEATE, S.; DIJST, G. ***Rhizoctonia* species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996. p.407-421.

WOLTZ, S. S.; ENGELHARD, A.W. *Fusarium* wilt of chrysanthemum: effect of nitrogen source and line on disease development. **Phytopathology**, St. Paul, v.63, p.155-177, 1973.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A. Resistências a doenças induzidas pela nutrição mineral das plantas. **Revisão anual de Patologia de Plantas**, São Paulo, v.1, p.275-318, 1993.

Capítulo 7

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo comprovou a ocorrência e a patogenicidade de *Rhizoctonia solani* Kühn em boa-noite (*Catharanthus roseus* G. Don.), culminando com a avaliação de práticas alternativas de controle capazes de suprimir a doença ocasionada por este patógeno, evitar problemas decorrentes de contaminação ambiental e apresentar maior economicidade.

A ocorrência de *R. solani* nas sementes de boa-noite disponíveis no comércio de Salvador-BA, no período de 2000 a 2001, demonstrou que os problemas de cultivo desta ornamental podem ter origem na utilização de sementes contaminadas.

Além de *R. solani*, também foram identificados outros fungos de importância fitopatológica (*Aspergillus* Mich. ex Fr., *Curvularia* Boedijn, *Fusarium* Link ex Fr., *Lasiodiplodia* Ellis & Everh., *Penicillium* Link ex Fr., *Pestalotia* de Not., *Rhizopus* Ehrenb. ex Corda e *Trichoderma* Pers. ex Fr.) em associação com as sementes de boa-noite, sendo importante dar continuidade às pesquisas com o intuito de se estabelecer a relação destes fungos com o hospedeiro.

Os resultados evidenciam a necessidade de se estudar a qualidade das sementes a serem utilizadas na produção de boa-noite, como de todas as outras espécies vegetais de interesse paisagístico, para que se obtenham informações precisas sobre a natureza, a frequência e o potencial de ocorrência de agentes fitopatogênicos. Com base neste conhecimento, é possível restringir-se ou evitar-se a incidência de inúmeras doenças.

Deve-se considerar ainda, o grande o risco de se introduzir um patógeno exótico, em uma determinada área, uma vez que, nem sempre, a importação de germoplasma, de uma região para outra região do País ou do exterior, é resguardada pelo trabalho de inspeção e quarentena.

Os danos apresentados em sementes e plântulas de boa-noite, nos testes de patogenicidade, mostraram ser esta ornamental vulnerável à ação de *R. solani*. Plântulas provenientes de sementes infectadas artificialmente exibiram sintomas de “damping-off”

de pré e pós-emergência, o que confirma a transmissibilidade do patógeno através deste órgão.

O uso de sementes sadias é uma meta prioritária e deve ser encarado como parte essencial na prevenção de qualquer patógeno.

Quanto à virulência dos isolados de *R. solani* testados, é importante ressaltar o grau de variabilidade observado, tanto “in vitro” como em condições-de-casa de vegetação, pelo método de inoculação no solo. Este fato confirma os resultados relatados por outros pesquisadores no que concerne à grande variabilidade patogênica de *R. solani* e corrobora a premissa de que a virulência deste fungo varia em uma graduação contínua de altamente virulento a não patogênico (Cassiolato e Souza, 2000).

No que tange ao controle biológico de fitomoléstias, poucas publicações têm sido divulgadas no que se refere ao uso deste método em plantas ornamentais. Em outras culturas, ao contrário, a utilização de micoparasitas como agentes de biocontrole é bem relatada e um certo número deles tem-se mostrado antagonista a *R. solani*, destacando-se, por sua eficiência, espécies de *Trichoderma*.

Ocorreu a redução do crescimento micelial de *R. solani* na presença de *Trichoderma* em laboratório, porém, este comportamento nem sempre determinou a capacidade de controle dos isolados avaliados em condições de casa-de-vegetação. Assim sendo, é prudente utilizar os resultados de antagonismo “in vitro” apenas como indicadores do potencial antagônico do isolado que se deseja estudar, sem extrapolar os dados para outras condições. Cabe dizer que na busca de um agente de biocontrole o crescimento do patógeno em relação ao do antagonista é relevante, devendo ser investigada.

Os dados deste trabalho sustentam a hipótese de que isolados de *Trichoderma* com potencial antagônico possam ser usados no controle do “damping-off” causado por *R. solani* em boa-noite.

Em casa-de-vegetação, pôde-se verificar que o isolado T11 (*Trichoderma* sp.), quando adicionado diretamente ao solo, reduziu o vigor e a virulência de *R. solani*. Entretanto, há uma necessidade premente de outras avaliações complementares para posterior aplicação em grande escala, como uma alternativa na redução do uso de fungicidas de forma a limitar a ação do patógeno em questão.

A aplicabilidade de *Trichoderma* em condições de campo é questionada por Adams (1990), principalmente pela grande quantidade de inóculo que é necessária no controle de

fitopatógenos. Todavia, no caso da condução da cultura no interior de ambientes protegidos (telados, casas-de-vegetação, viveiros, estufas), recomenda-se a aplicação deste agente de biocontrole, já que estas áreas são restritas, permitindo a esterilização do solo e sua inoculação com grandes concentrações do antagonista.

Nos testes visando à verificação dos efeitos de *Trichoderma* em boa-noite, confirmou-se não haver nenhum dano ocasionado por este fungo em sementes e plântulas deste vegetal. Não obstante, Ceresini e Nazareno (1997) incluem *Trichoderma* sp. em uma relação de patógenos do gengibre. Pereira (1997) reporta *Trichoderma viride* Pers. ex S. F. Gray como responsável por uma doença secundária em espigas de milho. Melo (1998) declara haver relatos, embora muito poucos, de ocorrência de doenças de plantas causadas por *Trichoderma*. Estes fatos justificam a importância de investigações prévias para o estabelecimento da relação deste organismo com a planta.

Com a microbiolização de sementes com espécies de *Trichoderma* obteve-se o controle do fitopatógeno, o que permite afirmar ser um método bastante vantajoso como componente de um programa de controle integrado, mesmo em condições de campo. Neste caso as facilidades oferecidas pela microbiolização tais como menor risco de contaminação, diminuição da quantidade do inóculo necessária para efetuar o tratamento das sementes e, conseqüentemente, redução da mão de obra e materiais gastos no processo, tornam viável esta forma de controle.

Uma característica importante deste método de controle é que uma das vias de introdução de microrganismos protetores do sistema radicular no solo é através das sementes. Assim sendo, uma atenção especial deve ser voltada para a ecologia, isto é, sobre as condições bióticas e abióticas, que podem atuar, tanto sobre o antagonista como sobre o organismo-alvo. A natureza do patógeno é um ponto a ser investigado por ser um elemento essencial para o sucesso de um programa de controle biológico.

O manejo do solo pela adição de compostos orgânicos, é uma forma de aumentar a supressividade de *R. solani*, além de representar a adição de nutrientes e a melhoria da estrutura do solo. A pesquisa em foco comprova que há um grande potencial na utilização deste método no controle do “damping-off” causado por *R. solani* em boa-noite, sendo, também, a sua aplicação bastante acessível.

Os diferentes resultados obtidos nos tratamentos com cada composto demonstraram que o tipo, a origem e a quantidade da matéria orgânica incorporada ao solo interferem na

supressão da doença em questão. Daí a necessidade de análise físico-química e biológica de cada composto que se deseja utilizar, para que sejam conhecidas as suas características.

Vale ressaltar que estudos complementares devem ser priorizados quanto à determinação das proporções suficientes do composto para se alcançar a supressão de doenças vegetais; à dosagem de metais pesados contida no composto, que não venha atuar de forma negativa no desenvolvimento de antagonistas e da própria planta; ao intervalo entre a adição do composto e o plantio.

Também, merece ser investigada a combinação do controle biológico, quer pela sua adição ao solo, quer pela microbiolização das sementes, com o uso do composto orgânico, já que o controle integrado vem sendo indicado como uma estratégia capaz de minimizar os efeitos deletérios ao meio ambiente.

Finalmente, é importante lembrar que com o controle biológico, não se pode esperar a erradicação do fitopatógeno, mas a manutenção da população em níveis suficientes para não provocar danos. O seu emprego não exclui práticas de manejo cultural, devendo ser utilizado como um elemento consistente de um sistema associado de controle.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, P. B. The potencial for biological control of plant diseases. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 28, p.59-72, 1990.

CASSIOLATO, A. M. R.; SOUZA, N. L. Controle biológico de *Rhizoctonia solani* por isolados de *Rhizoctonia* spp. não-patogênicos ou hipovirulentos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle biológico**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA-CNPMA. 2000. v.3, cap.5, p.117-140.

CERESINI, P. C.; NAZARENO, R. X. Doenças do gengibre (*Zingiber officinale* Rosc.) In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, cap. 38, p.421-426.

MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle biológico**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA-CNPMA. 1998. v.1, cap.1, p.17-67.

PEREIRA, O. A. P. Doenças do milho (*Zea mays* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, cap. 52, p.539-555.

ANEXO

