



VI CONGRESSO LATINO-AMERICANO
X CONGRESSO BRASILEIRO
V SEMINÁRIO DO DF e ENTORNO
12-15 SETEMBRO 2017
BRASÍLIA- DF, BRASIL

Tema Gerador 9

Manejo de Agroecossistemas
e Agricultura Orgânica



Controle alternativo “in vitro” de *Rhizoctonia solani* com extratos vegetais em Alta Floresta - MT

*Alternative “in vitro” control of *Rhizoctonia solani* with plant extracts in Alta Floresta - MT.*

DAVID, Grace, grace@unemat.br, Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT) campus de Alta Floresta-MT; CERESINI, Paulo, pauloceresini@yahoo.com, Universidade Estadual Paulista; PERES, Walmor, walmorperes@unemat.br, Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT) campus de Alta Floresta-MT

Tema Gerador: Manejo de Agroecossistemas e Agricultura Orgânica

Resumo

Rhizoctonia solani é um fungo cosmopolita, habitante de solo, com vasto número de hospedeiros, responsável por várias doenças em cultivos agrícolas e florestais. Diante disso, objetivou-se avaliar o potencial de extratos vegetais aquosos sobre o desenvolvimento de *R. solani*, agente causal da queima foliar em citros, obtido de folhas coletadas em propriedades rurais em de Alta Floresta - MT. O ensaio foi realizado no laboratório de Microbiologia e UNEMAT, sendo avaliado o crescimento micelial do patógeno mantido em BDA tratado com extrato pirolenhoso de Timburi e manipueira, em doses. As placas foram mantidas em câmara de germinação a 24°C e fotoperíodo de 12 horas. O experimento montado em DIC continha 5 repetições. Verificou-se inibição total do crescimento pelo extrato pirolenhoso na dose de 1 mL. Já a manipueira teve melhores Resultados com a dose de 0,25 mL. Conclui-se que o extrato pirolenhoso de Timburi apresenta atividade fungitóxica promissora no controle de *R. solani*.

Palavras-chave: Queima das folhas; Fungicida alternativo; Crescimento fúngico.

Abstract

Rhizoctonia solani is a cosmopolitan, soil-dwelling fungus with a large number of hosts responsible for various diseases in agricultural and forestry crops. The objective of this study was to evaluate the potential of aqueous extracts on the development of *R. solani*, a causal agent of leaf burning in citrus, obtained from leaves collected in rural properties in Alta Floresta - MT. The assay was carried out in the Microbiology and UNEMAT laboratory, and the mycelial growth of the pathogen maintained in BDA treated with Pirolenous extract of Timburi and manipueira in doses was evaluated. The plates were kept in a germination chamber at 24°C and photoperiod of 12 hours. The DIC mounted experiment contained 5 replicates. Total inhibition of growth was observed by pyroligneous extract at 1 ml dose. The manipueira had better results with the 0.25 mL dose. It is concluded that the pyrillenous extract of Timburi shows promising fungitoxic activity in the control of *R. solani*.

Keywords: Burning the leaves; Alternative fungicide; Fungal growth.

Introdução

Rhizoctonia solani é um fungo cosmopolita, com vasto número de hospedeiros, e causa importantes doenças na maioria das plantas cultivadas em todo o mundo. Os sintomas podem variar ligeiramente sobre as diferentes culturas, com a fase de crescimento em que a planta é infectada, e com as condições ambientais predominantes. Os sintomas



VI CONGRESSO LATINO-AMERICANO
X CONGRESSO BRASILEIRO
V SEMINÁRIO DO DF e ENTORNO
12-15 SETEMBRO 2017
BRASÍLIA- DF, BRASIL

Tema Gerador 9

Manejo de Agroecossistemas
e Agricultura Orgânica



mais comuns são tombamento de plântulas e podridão radicular. Em alguns casos, no entanto, o patógeno também causa podridão de órgãos de armazenamento e manchas foliares (AGRIOS, 2005 apud. NASCIMENTO, 2009).

Com o advento da agricultura convencional, o controle dos problemas fitossanitários em plantas há muito tempo é realizado quase que exclusivamente por meio de produtos químicos, objetivando-se aumentar a produtividade dos cultivos. O menor retorno sobre o rendimento médio das culturas e os custos crescentes com os insumos químicos, somados aos problemas ambientais e de saúde, chamam atenção para tecnologias menos nocivas e mais sustentáveis (SOARES; PORTO, 2010).

Conforme Bettiol (2012), o desenvolvimento de métodos alternativos de controle de doenças de plantas, tem por finalidade oferecer alternativas para diminuir a dependência dos agroquímicos e contribuir para se praticar uma agricultura que seja mais adequada às novas exigências de qualidade ambiental e de qualidade de vida da sociedade moderna.

A exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleos essenciais de plantas, pode constituir, ao lado da indução de resistência, em uma forma alternativa de controle de doenças de plantas cultivadas (SANTOS, 1998 apud. SILVA et al. 2007).

O extrato pirolenhoso (EP), também conhecido como ácido pirolenhoso ou vinagre de madeira, é obtido pela condensação da fumaça formada pela queima da madeira na produção de carvão vegetal, conforme menção de Maekawa (2002). Trata-se de um líquido de cor amarela a marrom-avermelhada, composto, em sua maior parte, por água e mais de 200 compostos orgânicos, dentre os quais ácido acético, álcoois, cetonas, fenóis e alguns derivados de lignina.

A manipueira é o líquido amarelo resultante da prensagem das raízes da Mandioca (*Manihot esculenta*) durante o processo de fabricação da farinha (ASSIS et al., 2011). É uma suspensão de aspecto leitoso e de coloração amarelo clara, apresentando uma variada composição química. Nela podem ser encontrados goma, glicose e outros açúcares, proteínas, macronutrientes (N, P, K), cálcio, micronutrientes (Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, B), além de enxofre e compostos cianogênicos (PONTE, 1999).

As doenças provocadas por fungos em plantas cultivadas tem sido responsáveis por inúmeros prejuízos ao longo da história da agricultura no mundo. Diante desse fato o controle de fungos fitopatogênicos por meio do uso de metabólitos secundários extraídos de plantas teria grande utilidade prática, devido essas substâncias naturais serem de pequeno custo e fácil aquisição, além de não serem residual e de fácil degradação,



servindo como alternativa de controle, uma vez que, podem ter efeito sobre os patógenos e também sobre o hospedeiro ao estimular os mecanismos naturais de resistência da planta.

O presente estudo teve por objetivo avaliar a eficiência de extratos vegetais sobre o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* na região de Alta Floresta - MT.

Materiais e Métodos

O fitopatógeno foi isolado de folhas de laranjeira apresentando sintomas de queima foliar, com manchas de coloração marrom escuro, coletadas em propriedades rurais no município de Alta Floresta - MT. Os materiais sintomáticos foram levados ao laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT). O isolamento do fungo foi realizado a partir de fragmentos de 1cm² da folha, região limítrofe entre o tecido sadio e o lesionado, os quais foram desinfestados superficialmente com álcool 70% (1 minuto), hipoclorito de sódio 1% (1 minuto) e lavado três vezes em água destilada. Os fragmentos foram transferidos para placas de Petri contendo BDA, sendo posteriormente incubadas em câmara de germinação (BOD) com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 22°±2° C.

Após o crescimento do fungo, a identificação foi realizada através do preparo de lâminas contendo estruturas do patógeno coradas com azul de algodão com lactofenol observadas ao microscópico óptico e consulta a chaves de classificação (MENEZES; OLIVEIRA, 1993). Dentre os fungos ocorridos e observados foi identificado o fitopatógeno *R. solani*. O mesmo foi repicado para placas contendo meio BDA de onde se obteve a cultura pura.

Nos testes preliminares foram avaliados 7 extratos vegetais: Assa peixe (*Vernonia polyanthes*), Boldo (*Plectranthus barbatus*) Nim (*Azadirachta indica*), Chá verde (*Camelia sinensis*), Pata de vaca (*Bauhinia forficata*), a manipueira e o extrato pirolenhoso bruto do Timburi (*Enterolobium contorsiliquum*), em dose única de 0,5 mL para cada tratamento. Dentre os extratos avaliados, a manipueira (M) e o extrato pirolenhoso (EP) se mostraram eficientes, em relação aos demais, sendo então utilizados nos ensaios finais em diferentes doses (1; 0,5; 0,25 mL).

Nos ensaios finais, o extrato pirolenhoso bruto foi diluído em água destilada sendo testado na concentração de 50%. Na obtenção da manipueira foi utilizado 80g de raízes de mandioca triturada em liquidificador com 80 mL de água destilada (1:1) ficando em repouso por 24 horas sendo o líquido suspenso por decantação separado e utilizado no experimento.



Na câmara de fluxo laminar, as diferentes doses de cada um dos extratos, foram adicionadas a placas de Petri contendo BDA fundente, a solução foi homogeneizada. Após a solidificação do meio foi repicado para o centro das placas discos de micélio de 10 mm Ø do patógeno retirados de colônia com 5 dias de idade. As placas foram incubadas em câmara de germinação a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas. Os tratamentos constaram de EP - 1 mL, EP - 0,5 mL, EP - 0,25 mL, M - 1 mL, M - 0,5 mL, M - 0,25 mL além da testemunha. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (2 x 3) consistindo de 2 extratos e 3 doses com 5 repetições.

Para avaliação da eficácia dos tratamentos foi mensurado o crescimento micelial através de medições do diâmetro das colônias (média de duas medidas perpendiculares) até que um dos tratamentos tivesse preenchido completamente as placas. Na análise estatística, os dados foram submetidos ao Teste de Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade por meio do programa SISVAR® (FERREIRA, 2000).

Resultados e Discussão

Os Resultados obtidos nos testes finais indicaram diferenças entre os extratos vegetais e entre as dose utilizadas sobre o crescimento micelial de *R. solani*.

Tabela 1. Crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* (mm), em função do efeito dos extratos aquosos de extrato pirolenhoso (EP) e manipueira (M) mais a testemunha (sem extrato), nas concentrações: 0,0; 0,25; 0,50 e; 1,0 mL. Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia - Universidade do Estado de Matos Grosso, Alta Floresta – MT, 2012.

Tratamentos (mL)	Médias (mm)	
	Av. 01	Av. 02
E.P - 1,0	0,0 a	0,0 a
E.P - 0,5	4,20 b	11,40 b
E.P - 0,25	8,70 d	28,30 e
M - 1,0	7,50 c	26,40 d
M - 0,5	8,10 c	24,30 c
M - 0,25	9,30 e	23,40 c
T - 0,0	10,30 f	39,19 f
CV (%)	9,29	6,53

* Médias seguidas de mesma letra dentro da mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott (1974).



EXTRATO PIROLENHOSO

Analisando-se a Tabela 1, verificou-se que o extrato pirolenhoso na dose de 1 mL mostrou-se eficiente no controle de *R. solani*, conseguindo inibir 100% o crescimento micelial do patógeno durante o período avaliado, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Resultado semelhante foi encontrado por FURTADO et al. (2002) que constataram, in vitro, que o extrato pirolenhoso, na dose de 1 mL.L-1, inibiu totalmente o crescimento micelial de *Botrytis cinerea*, *Cylindrocladium clavatum* e *Rhizoctonia solani*, isolados de mudas de eucalipto (*Eucalyptus* sp.) e também inibiu a germinação dos conídios de *B. cinerea* na proporção de 2,2; 3,1 e 4,3% nas doses de 1; 4 e 6 mL L-1, respectivamente.

Quanto as doses de 0,5 e 0,25 mL observou-se diferenças significativas entre os tratamentos que apresentaram nas primeiras 24 horas percentual de inibição de 52% e 16% respectivamente comprovando que com a diminuição nas dosagens o patógeno consegue se desenvolver, porém tem-se uma redução na velocidade de crescimento. Após 48 horas, a dose de 0,5 mL do extrato permaneceu estatisticamente semelhante a primeira avaliação. Já a menor dose, a capacidade de controle diferiu estatisticamente da primeira avaliação e significativamente das demais doses.

O uso do extrato pirolenhoso no controle de fitopatógenos ainda é pouco estudado. MAEKAWA (2002) mencionou que o extrato pirolenhoso, quando utilizado nas diluições de 300 a 400 vezes, mostra-se eficiente no controle de pragas e patógenos, devendo, preferencialmente, ser misturado a outros extratos de plantas. Entretanto segundo Saigusa (2002), o efeito ativador ou inibidor do EP sobre os organismos vivos depende de sua concentração. No caso de microrganismos, a solução tem efeito instantâneo e pouco duradouro. O EP é eficiente para recuperar a vitalidade e, ao mesmo tempo, fortalecer o sistema de defesa que existe na planta, reduzindo, assim, o grau de danos causados por microrganismos

MANIPUEIRA

O efeito no crescimento micelial com o extrato de manipueira inicialmente teve melhores Resultados com as doses de 1 e 0,5 mL, com taxas de inibição de 27% e 21% respectivamente. Porém na última avaliação os tratamentos diferiram estatisticamente entre si, sendo a menor dose constante sobre a inibição do crescimento, com a taxa de desenvolvimento de *R.solani* semelhante a primeira avaliação. FREIRE (2001) ao testar a manipueira no controle de *Oidium* sp.em plantas de cirigueleira, tanto como fungicida preventivo quanto curativo, constatou que todos os frutos pulverizados com o extrato bruto quanto na concentração de 50% inibiu o desenvolvimento do patógeno



sobre os frutos. Em relação à pulverização curativa, as duas concentrações de manipueira foram eficazes em paralisar o crescimento do fungo. O efeito da manipueira sobre as estruturas do patógeno foi comprovado após exame microscópico, no qual os conídios e conióforos apresentavam-se deformados, indicando a ocorrência de uma forte ação plasmolítica.

Na dose de 0,25 mL, a taxa de crescimento do patógeno foi maior que os outros tratamentos durante a primeira avaliação, entretanto nas 24 horas restantes o crescimento micelial foi reduzido significativamente, igualando-se estatisticamente a dose de 0,5 mL. Com isso, comprova-se que no uso da manipueira, as menores doses se mostraram mais eficientes na inibição do desenvolvimento do patógeno. Já Ponte & Franco (1979) estudaram o efeito da manipueira sobre a população de rizóbio (*Rhizobium* spp.) e constataram um decréscimo populacional inversamente proporcional à quantidade de manipueira aplicada ao solo.

A atividade fungitóxica depende ou não das concentrações utilizadas e da espécie vegetal. Acredita-se que a atividade fungicida seja causada pela presença de dois glicosídeos cianogênicos, que são a linamarina, que participa em maior proporção (92-98%), a lotaustralina metil, derivada da linamarina (2-8%), e pela presença da enzima linamarase, que promove a hidrólise dos glicosídeos (CARVALHO, CARVALHO, 1979).

Quando comparado à atividade dos extratos vegetais torna-se evidente que, apesar de ambos terem demonstrado controle sobre o desenvolvimento do patógeno, o extrato pirolenhoso apresentou melhores Resultados em relação à manipueira. Observa-se diferença no comportamento de doses, uma vez que no uso do extrato pirolenhoso as maiores doses se mostraram melhores, fato não observado para os tratamentos com a manipueira.

Conclusão

Os Resultados obtidos através da realização deste estudo permitem concluir que o controle alternativo com extrato pirolenhoso na dose de 1 mL apresentou efeito fungicida e portanto promissor no controle do crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* "in vitro".

Referências Bibliográficas

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5. Ed. Elsevier Academic Press, New York, 2005, apud. NASCIMENTO, L. D. Reação de genótipos de fava a *Rhizoctonia solani* e estabilidade da resistência. UFAL, Rio Largo – Alagoas, 2009.



VI CONGRESSO LATINO-AMERICANO
X CONGRESSO BRASILEIRO
V SEMINÁRIO DO DF e ENTORNO
12-15 SETEMBRO 2017
BRASÍLIA- DF, BRASIL

Tema Gerador 9

Manejo de Agroecossistemas
e Agricultura Orgânica



BETTIOL, W. Controle Alternativo. In: EMBRAPA – Agência de Informação Embrapa Agricultura e Meio Ambiente. Disponível em http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/arvore/CONTAG01_23_299200692526.html. Acesso em 10 de abril 2017.

CARVALHO, V. D. ; CARVALHO, J. G. Princípios tóxicos da mandioca. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 5, n. 59/60, p. 82- 88, 1979.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows versão 4.0 In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45.p, 2000, São Carlos. Anais São Carlos: UFSCar, 2000.

FREIRE, F. das C. O. Uso da manipueira no controle de oídio na cirigueleira: Resultados preliminares. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Comunicado Técnico, n.70. Fortaleza – CE, 2001.

FURTADO, G.R.; PEREIRA, R.T.G.; ZANETTI, R.; SOUZA-SILVA, A. Efeito do ácido pirolenhoso in vitro sobre isolados de *Botrytis cinerea*, *Cylindrocladium clavatum* e *Rhizoctonia solani*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, suplemento, v.27, 2002 citado por ALVES, M. Impactos da utilização de fino de carvão e extrato pirolenhoso na agricultura. ESALQ – Jaboticabal, São Paulo, 2006.

MAEKAWA, K. Curso sobre produção de carvão, extrato pirolenhoso e seu uso na agricultura: apostila. APAN – Associação dos produtores de Agricultura Natural, 2002 citado por CORBANI, R. Z. Estudo do extrato pirolenhoso Biopirol® no manejo de nematóides em cana-de-açúcar, olerícolas e citros, em diferentes ambientes. Jaboticabal – SP, 2008.

MENEZES, M.; OLIVEIRA, S. M. A. Fungos fitopatogênicos. Imprensa Universitária, UFPE, Recife – PE, 1993.

PONTE, J.J. Cartilha da manipueira: uso do composto como insumo agrícola. Secretaria da Ciência e Tecnologia do Ceará, p. 53,1999 *citado por* FREIRE, F. das C. O. Uso da manipueira no controle de oídio na cirigueleira: Resultados preliminares. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Comunicado Técnico, n.70. Fortaleza – CE, 2001.

PONTE, J. J. da. Uso da manipueira como insumo agrícola: defensivo e fertilizante. In: CEREDA, M. P. Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca. Fundação Cargill – São Paulo, 2001. Cap. 5, p. 80-95: Uso da manipueira como insumo agrícola: defensivo e fertilizante.



VI CONGRESSO LATINO-AMERICANO
X CONGRESSO BRASILEIRO
V SEMINÁRIO DO DF e ENTORNO
12-15 SETEMBRO 2017
BRASÍLIA- DF, BRASIL

Tema Gerador 9

Manejo de Agroecossistemas
e Agricultura Orgânica



SAIGUSA, T. Aplicação de extrato pirolenhoso na agricultura: apostila APAN – Associação dos Produtores de Agricultura Natural, 2002.

SANTOS, L.G. Biodiversidade e políticas públicas. 1998 apud. SILVA, W. C.; RIBEIRO, J. D.; SOUSA, H. E. M.; CORRÊA, R. S. Atividade inseticida de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) sobre *Aetalion* sp. (Hemiptera: Aetalionidae), praga de importância econômica no Amazonas. **Acta Amazônica**, vol. 37(2) 2007: 293 – 298.