

## USO DE RIZOBACTÉRIAS ISOLADAS OU COMBINADAS NO BIOCONTROLE DE *Rhizoctonia solani* EM ARROZ\*

**SCHAFFER, Jaqueline Tavares<sup>1</sup>, ANACKER, Lauren Fonseca<sup>2</sup>, CORRÊA, Bianca Obes<sup>3</sup>, CAMPESATO, Cibeli Bastos Marques<sup>4</sup>, MORENO, Stefânia de Amorim Bernal<sup>5</sup>, MOURA, Andréa Bittencourt<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>Mestranda em Fitossanidade Bolsista CAPES, <sup>2</sup>Graduanda em Ciências Biológicas Bolsista CNPq PIBIC, <sup>3</sup>Doutoranda em Fitossanidade Bolsista CAPES, <sup>4</sup>Graduanda em Ciências Biológicas Bolsista CNPq ITI A, <sup>5</sup>Graduanda em Agronomia Bolsista PROBIC FAPERGS, <sup>6</sup>Professora Departamento de Fitossanidade Bolsista CNPq Produtividade em Pesquisa

FAEM, UFPel, CEP 96010-970, Pelotas, RS, Brasil. jaquelinets@gmail.com

\* Projeto com apoio CNPq – Processo 474122/2008-5

### 1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é considerado o principal cultivo alimentar em muitos países. O Brasil é um dos principais produtores mundiais, onde o sistema de cultivo irrigado tem contribuído com a maior parte da produção nacional, tendo o Rio Grande do Sul como o maior produtor brasileiro (IRGA, 2010). Por sua vez, está sujeita à ocorrência de várias doenças que provocam perdas na produtividade incluindo fungos, bactérias, vírus e nematóides (PRABHU et al., 1999).

A queima das bainhas no arroz, causada pelo fungo *Rhizoctonia solani* Kuhn, ocorre em áreas temperadas e tropicais. Alguns fatores agravam sua incidência e severidade como, a utilização de adubação nitrogenada excessiva, alta densidade de plantas por área cultivada, e plantio de cultivares de ciclo precoce, ou de baixa estatura, ou de alto perfilhamento ou com maior nível de suscetibilidade (LEE & RUSH, 1983; MARZARI et al., 2007).

Desta forma, medidas complementares ou alternativas ao uso do controle químico e variedades resistentes têm sido propostas, como o controle biológico que tem ganhado destaque pelos resultados satisfatórios em vários patossistemas (BETTIOL & MORANDI, 2009), podendo atuar por diferentes mecanismos sendo que a presença de mais de um mecanismo de ação em um mesmo biocontrolador é visto como uma característica favorável para a eficiência, estabilidade e inespecificidade do biocontrole (MELO & AZEVEDO, 1998).

Por outro lado, a inconsistência do controle biológico a campo é atribuída em muitos casos à sensibilidade dos biocontroladores às variações climáticas, e então a utilização de misturas destes pode conferir algumas vantagens: ampliação do espectro de ação, melhor adaptação às variações climáticas; possibilidade de sinergismo, podendo resultar em maiores níveis na estabilidade do controle das doenças (GUETSKY et al., 2001; MAKETON et al., 2008).

Assim, o objetivo deste trabalho foi testar diferentes tratamentos bacterianos eficientes, isolados ou em combinação, visando o controle da queima das bainhas em plantas de arroz.

### 2 MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1 Isolados bacterianos e microbiolização de sementes

Os isolados bacterianos foram selecionados por Moura et al. (1998), e utilizados de forma isolada e em combinação por Souza Junior (2010).

Os isolados foram crescidos em meio 523 de Kado & Heskett (1970) e incubados a 28°C/24h. Após crescimento estes foram suspensos em solução salina (NaCl 0,85%) com concentração de  $A_{540}=0,5$  em espectrofotômetro. Sementes da cv. El Paso 144L foram microbiolizadas na suspensão bacteriana, durante 30 minutos a 10°C. Como testemunha, sementes foram imersas somente em solução salina [testemunha inoculada (T+I) e testemunha não inoculada (T)] ou em salina mais o fungicida Vitavax Thiram® 200SC (Carboxin + Thiram) (T+F), na concentração correspondente a 3mL.Kg<sup>-1</sup> de sementes.

Os tratamentos utilizados foram: DFs185; DFs223; DFs306; DFs416; DFs418; DFs185+DFs306; DFs185+DFs416; DFs185+DFs306+DFs416; Testemunha + fungicida, com inoculação; Testemunha + salina, com inoculação; e Testemunha + salina, sem inoculação, onde: DFs185 (*Pseudomonas synxatha* (Ehrenberg) Holland), DFs223 (*P. fluorescens* Migula), DFs306 (não identificado), DFs 416 e DFs418 (*Bacillus* sp. Cohn). Estas bactérias foram determinadas por seqüenciamento do gene 16S DNA (dados não publicados).

## 2.2 Plantio e inoculação de *R. solani*

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, onde foram depositadas seis sementes tratadas por vaso contendo 7Kg solo não esterilizado. No estádio V2 (segunda folha) (COUNCE et al., 2000), realizou-se o desbaste para duas plantas por vaso.

O substrato para o crescimento do fungo foi preparado com 75% de grãos de arroz com casca e 25% de casca de arroz misturados em erlenmeyer de 250mL e cobertos com água destilada, por 24 horas. Após, acrescentaram-se 5g de sacarose por Erlenmeyer. Estes foram autoclavados, e transferidos para placas de Petri esterilizadas para onde foram repicadas porções de meio de cultura colonizados por *R. solani*. As placas foram incubadas a 22±2°C. Quando as plantas atingiram o estádio V3 (terceira folha) (COUNCE et al., 2000), 4g de meio colonizado foram distribuído uniformemente em cada um dos vasos, em intervalos de dez dias. As plantas foram mantidas em câmara úmida, 24 horas antes e 48 horas depois de cada infestação, completando três para o ensaio. Após isto, as plantas foram mantidas sob inundaçãõ.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições.

## 2.3 Avaliação

As plantas foram avaliadas sete dias após a última infestação do solo segundo a severidade da doença, atribuindo-se notas, de acordo com a intensidade de sintomas e porcentagem de área atacada (IRRI, 1975), onde: 1 - lesões limitadas a menos de ¼ das bainhas foliares; 3 - lesões presentes em menos de ½ das bainhas foliares; 5 - lesões presentes em mais de ½ das bainhas foliares, com ligeira infecção nas folhas inferiores; 7 - lesões presentes em mais de ¾ das bainhas foliares, com severa infecção nas folhas inferiores e superiores; 9 - lesões que chegam a ponta dos caules, com severa infecção em todas as folhas.

Após as plantas atingirem o estádio de maturação, contaram-se o número de panículas (NP), os grãos foram colhidos, secos e pesados (PSG) e as raízes foram destacadas com um corte na altura do colo, lavadas em água corrente, e secas em estufa a 60°C/4 dias, sendo mensurado o peso seco de raízes (PSR).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De todos os tratamentos avaliados, os que mostraram melhores desempenhos foram DFs418 com 60% de controle da doença em relação à testemunha, seguido de DFs185/306 e DFs185 com 50% e 40% de controle, respectivamente. Estes diferiram significativamente da testemunha e dos outros tratamentos (Tabela 1).

Para os valores do peso seco de raízes (PSR), os tratamentos DFs185, DFs416 e DFs223 se destacaram, diferindo estatisticamente dos demais. Já para o número de panículas (NP) e peso seco de grãos (PSG), todos os tratamentos foram iguais, mostrando que o controle do patógeno neste caso, não interferiu na produção (Tabela 1).

Os isolados DFs185, DFs223 e DFs306 foram selecionados como agentes promissores de controle biológico devido à redução na severidade da queima das bainhas (LUDWIG & MOURA, 2007). Neste trabalho, os autores observaram que associado ao biocontrole houve incremento do peso da matéria seca de raízes e parte aérea alcançando, em níveis iguais ou até mesmo superiores aos propiciados pelo tratamento com fungicida, comportamento que não se repetiu no presente trabalho.

A ausência de controle por parte do fungicida, pode ser explicada pelo fato de o mesmo não ser recomendado para o controle da queima-das-bainhas, não conferindo proteção da planta ao ataque de *R. solani* (AGROFIT, 2010).

Embora Souza-Júnior (2010) ao utilizar os mesmos tratamentos bacterianos tenha observado que as combinações foram mais eficientes que as bactérias utilizadas isoladamente (43 a 50% de controle), no presente trabalho somente DFs185/306 resultou em comportamento superior.

Tabela 1: Porcentagem de controle da doença, peso seco de raízes (PSR), número de panículas (NP) e peso seco de grãos (PSG) de plantas de arroz originadas de sementes microbiolizadas com diferentes isolados e combinações de rizobactérias, inoculadas com *Rhizoctonia solani* três vezes com intervalos de 10 dias, conduzidas em casa de vegetação

Tratamento	% Controle	PSR (g)	NP <sup>ns</sup>	PSG (g) <sup>ns</sup>
DFs185	40 a	88,66 a	16,25	11,52
DFs223	10 b	74,41 a	20,25	12,03
DFs306	0 b	58,86 b	16,00	9,27
DFs416	30 b	78,36 a	18,50	11,65
DFs418	60 a	50,68 b	18,00	7,66
DFs 185/306	50 a	48,98 b	18,25	13,14
DFs185/416	30 b	58,45 b	20,50	14,32
DFs185/306/416	20 b	40,82 b	16,25	14,14
T+F	0 b	40,01 b	18,00	10,83
T+I	0 b	35,40 b	18,75	9,29
T	0 b	34,84 b	21,00	10,73
C.V.(%)	44,46	38,38	22,66	29,41

Letras iguais não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância, em quatro repetições; <sup>ns</sup> – valores de médias não significativos; T+F - tratamento com o fungicida Carboxin + Thiram na concentração de 3mL.Kg<sup>-1</sup> de sementes; T+I – testemunha com inoculação do patógeno; T – testemunha tratada com solução salina

## 4 CONCLUSÕES

O uso de alguns tratamentos bacterianos permite o controle da queima das bainhas.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROFIT. [http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em 27 de agosto de 2010.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa- CNPMA, 2009. 341p.
- COUNCE, P.A.; KEISLING, T.C.; MITCHELL, A.J. A uniform, objective and adaptative system for expressing rice development. **Crop Science**, v.40, p.436-443, 2000.
- GUETSKY R.; SHTIENBERG, D.; ELAD Y.; DINOOR, A. Combining biocontrol agents to reduce the variability of biological control. **Phytopathology**, v.91, n.7, p.621-627, 2001.
- IRGA. Disponível em: <<http://www.irga.rs.gov.br/arquivos/20100107113702.jpg>>. Acesso em: 06/08/2010.
- INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE. **Sistema de Evaluación Stándart para Arroz**. Los Baños, 1975. 64p.
- KADO, C.I.; HESKETT, M.S. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, v.60, p.969-976, 1970.
- LEE, F. N.; RUSH, M. C. Rice sheath blight: a major rice disease. **Plant Disease**, v.67, p.829-832, 1983.
- LUDWIG, J.; MOURA, A.B. Controle biológico da queima-das-bainhas em arroz pela microbiolização de sementes com bactérias antagonistas. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n.5, p.381-386. 2007.
- MAKETON, M.; APISITSANTIKUL, J.; SIRIRAWEEKUL, C. Greenhouse evaluation of *Bacillus subtilis* ap-01 and *Trichoderma harzianum* AP-001 in controlling tobacco diseases . **Brazilian Journal of Microbiology**, v.39, p.296-300, 2008.
- MARZARI, V.; MARCHEZAN, E.; SILVA, L.S.; CAMARGO, E.R.; TELÓ, G.M. População de plantas, dose de nitrogênio e aplicação de fungicida na produção de arroz irrigado: I – características agrônômicas. **Ciência Rural**, v.37, p.330-336, 2007.
- MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Controle biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 1998. 262p.
- MOURA, A.B.; PIEROBOM, C.R.; NAVA, D.E.; AFONSO, A.P. Tratamento de sementes de arroz para seleção massal de procariontes potenciais antagonistas a *Bipolaris oryzae*. **Fitopatologia Brasileira**, v.23 (Suplemento), 1998. (Resumo).
- PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C.; RIBEIRO, A.S. Doenças e seu controle. In: VIEIRA, N.R.A.A.; SANTOS, A.B.; SANT'ANA, E.P. **A cultura do arroz no Brasil**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999, p.262-307.
- SOUZA JUNIOR, I.T.; **Controle biológico de doenças do arroz: ampliação do espectro de ação e promoção de crescimento pelo uso de combinações de rizobactérias eficientes**. 68f. 2010. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2010.