



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DE PERNAMBUCO**
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM FITOPATOLOGIA**

Tese de Doutorado

Controle biológico e alternativo da rizoctoniose em feijão-caupi

Viviane Maria da Silva

**Recife-PE
Janeiro-2014**

VIVIANE MARIA DA SILVA

**CONTROLE BIOLÓGICO E ALTERNATIVO DA RIZOCTONIOSE EM
FEIJÃO-CAUPI**

**RECIFE-PE
JANEIRO-2014**

VIVIANE MARIA DA SILVA

**CONTROLE BIOLÓGICO E ALTERNATIVO DA RIZOCTONIOSE EM
FEIJÃO-CAUPI**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientador: Prof. Dr. Delson Laranjeira (UFRPE)

Co-Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Rejane Pereira Neves (UFPE)

**RECIFE-PE
JANEIRO-2014**

Ficha catalográfica

S586c Silva, Viviane Maria da
Controle biológico e alternativo da rizoctoniose em feijão-
caupi / Viviane Maria da Silva. – Recife, 2014.
108 f. : il.

Orientador: Delson Laranjeira.
Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia,
Recife, 2014.
Referências.

1. Antagonista 2. Óleos essenciais 3. *Rhizoctonia solani*
4. *Trichoderma* 5. *Vigna unguiculata* L. I. Laranjeira, Delson,
orientador II. Título

CDD 632

**CONTROLE BIOLÓGICO E ALTERNATIVO DA RIZOCTONIOSE EM
FEIJÃO-CAUPI**

VIVIANE MARIA DA SILVA

Tese defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 16/01/2014

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Delson Laranjeira (UFRPE)

EXAMINADORES:

Prof^ª. Dr^ª. Rejane Pereira Neves (UFPE)

Prof^ª. Dr^ª. Neiva Tinti de Oliveira (UFPE)

Prof^ª. Dr^ª. Rejane Rodrigues da Costa e Carvalho (UFRPE)

Prof. Dr. Marcos Paz Saraiva Câmara (UFRPE)

**RECIFE-PE
JANEIRO-2014**

AGRADEÇO

À Deus, por mais uma bênção recebida, pelas amizades que fiz durante a minha permanência na Universidade Federal Rural de Pernambuco, por ter me dado força e saúde, para que eu pudesse realizar mais um sonho em minha vida.

DEDICO E AGRADEÇO

À Ricardo, meu noivo, por todo apoio recebido, incentivo, compreensão, companheirismo, e pelo seu amor em minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Delson Laranjeira, pela confiança no meu trabalho, orientação, ensinamentos, amizade e por todo o apoio oferecido durante minha permanência no Laboratório de Fungos de Solo e no decorrer do curso de Pós-Graduação em Fitopatologia (UFRPE);

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) pelo apoio institucional e oportunidade de estudo;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pela concessão da minha bolsa de estudo no curso de Doutorado em Fitopatologia;

À minha irmã Virgínia, pela atenção e apoio recebido durante o decorrer dos meus estudos;

À minha mãe Inajá e irmãs Valéria e Verônica, pelo incentivo e apoio recebido;

À Nívia, pela grande ajuda na realização de todos os experimentos, disponibilidade, apoio, atenção e amizade;

À Rejane Rodrigues, pela ajuda na execução das análises dos dados deste trabalho, pela amizade, confiança, atenção e apoio recebido;

Ao Sr. Luiz Coelho pela ajuda no decorrer dos trabalhos realizados em casa de vegetação, disponibilidade, atenção e amizade;

A todos os meus amigos da UFRPE, Adelmo, Gisely, Geane, Leonardo, Adriana, Tamiris, Luana, Emanuel, Bárbara, Emmanuelle e Cristina por todo apoio recebido e amizade;

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da UFRPE, Delson Laranjeira, Elvira Maria Régis Pedrosa, Rosa Mariano, Elineide Barbosa de Souza, Sônia Maria Alves de Oliveira e Marcos Paz Saraiva Câmara pelos ensinamentos;

Aos funcionários do Departamento de Fitossanidade, Darcy e Romildo pela atenção;

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO GERAL.....	8
GENERAL ABSTRACT.....	9
CAPÍTULO I – Introdução Geral.....	11
Referências Bibliográficas.....	28
CAPÍTULO II – Controle biológico da rizoctoniose em feijão-caupi por isolados de <i>Trichoderma</i>	43
Resumo.....	44
Abstract.....	45
Introdução.....	46
Materiais e Métodos.....	47
Resultados e Discussão.....	55
Referências.....	65
Anexos.....	72
CAPÍTULO III – Ação de óleos essenciais no controle de <i>Rhizoctonia solani</i> em feijão-caupi.....	79
Resumo.....	80
Abstract.....	81
Introdução.....	82
Material e Métodos.....	84
Resultados e Discussão.....	90
Referências.....	97
Anexos.....	103
CONCLUSÕES GERAIS.....	108

RESUMO GERAL

A cultura do feijão-caupi é atacada por vários patógenos, que influenciam a produtividade e qualidade da produção. *Rhizoctonia solani* é um fungo habitante do solo que causa o tombamento de plântulas em diversas culturas. O presente trabalho teve como objetivos selecionar e identificar isolados de *Trichoderma* no controle biológico de *R. solani*; avaliar o efeito dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *L. gracilis* e da atividade antifúngica do 1,8 cineol, timol, p-cymeno, β -coriofileno e γ -terpineno na inibição de *R. solani*, bem como avaliar o efeito dos óleos de *L. sidoides*, *L. gracilis* e do timol na severidade da rizoctoniose em feijão-caupi. 53 isolados de *Trichoderma* foram avaliados em casa de vegetação e cinco isolados de *T. asperellum* (LCB 79, LCB 72, LCB 70, LCB 47 e LCB 47-TE) foram selecionados para testes de biocontrole. O período de inoculação de isolados de *Trichoderma* não interferiu na eficiência do controle da rizoctoniose em feijão-caupi, sendo os isolados LCB 72, LCB 79 e LCB 47-TE os mais eficientes na redução da doença, apresentando índices de eficiência de 42%, 39% e 35%, respectivamente. Quanto à influência da aplicação de *Trichoderma* e da época de plantio do feijão-caupi na severidade da doença, o isolado LCB 47 foi responsável pelo menor índice de severidade da doença (20%). A idade do inóculo de *Trichoderma* também não interferiu na eficiência do controle da doença, sendo os isolados LCB 72, LCB 47-TE e LCB 79 os mais eficazes no controle de *R. solani*, com uma eficiência de 67,3%; 65% e 56,5%, respectivamente. Independente do isolado de *Trichoderma* utilizado, o índice de severidade da doença foi menor quando da utilização de 6g de casca de arroz colonizada pelos isolados de *Trichoderma* na estação de verão. No estudo *in vitro*, a inibição total de *R. solani* foi obtida a partir da concentração $0,3 \mu\text{L mL}^{-1}$ dos óleos essenciais de *Lippia*. A germinação das sementes de feijão-caupi não foi afetada pelo óleo de *L. sidoides*, mesmo em altas concentrações. Em teste realizado em casa de vegetação, a concentração $0,3 \mu\text{L mL}^{-1}$ dos óleos de *Lippia* reduziu a severidade de *R. solani*. A concentração $0,3 \mu\text{L mL}^{-1}$ do timol foi responsável por uma inibição *in vitro* de 100% de *R. solani*. O timol também reduziu a severidade da rizoctoniose em plantas de feijão-caupi nas concentrações 0,9 e $2 \mu\text{L mL}^{-1}$, com uma eficiência de controle de 50,9% e 45,6%, respectivamente. O uso de *Trichoderma* e óleos essenciais demonstrou ser uma ferramenta promissora no manejo de *R. solani* na cultura do feijão-caupi.

Palavras-chave: antagonista, óleos essenciais, *Rhizoctonia solani*, *Trichoderma*, *Vigna unguiculata* L.

GENERAL ABSTRACT

The culture of cowpea is attacked by various pathogens, influencing the productivity and quality of production. *Rhizoctonia solani* is an inhabitant soil fungus that causes damping off of seedlings in various crops. The present study aimed to select and identify of *Trichoderma* isolates in biological control of *R. solani*; evaluate the effect of essential oils from *Lippia sidoides* and *L. gracilis* and antifungal activity of 1,8 cineole, thymol, p-cymeno, β -coriofileno and γ -terpinene inhibition of *R. solani*, as well as to evaluate the effect of *L. sidoides*, *L. gracilis* oils and thymol in severity of *Rhizoctonia* canker in cowpea. 53 *Trichoderma* isolates were evaluated in greenhouse and five *T. asperellum* isolates (LCB 79, LCB 72, LCB 70, LCB 47 e LCB 47-TE) were selected for biocontrol tests. The inoculating period of *Trichoderma* isolates did not affect the efficiency in the control of *Rhizoctonia* canker in cowpea, being LCB 72, LCB 79 and LCB TE-47 isolates, the more efficient in reducing disease, presenting efficiency index of 42%, 39% and 35%, respectively. Regarding the influence of the application of *Trichoderma* and planting time cowpea in disease severity, isolated LCB 47 was responsible for the lower index of disease severity (20%). The age of the inoculum of *Trichoderma* also did not affect the efficiency in disease control, being the LCB 72 LCB 47-TE and LCB 79 isolates the most effective in controlling *R. solani*, with an efficiency of 67,3%, 65% and 56,5%, respectively. Regardless of *Trichoderma* used, the index of disease severity was lower when using 6g of rice husk colonized by *Trichoderma* isolates in summer season. In the *in vitro* study, the total inhibition of *R. solani* was obtained from the concentration 0,3 $\mu\text{L mL}^{-1}$ of the essential oils of *Lippia*. The germination of seeds of cowpea was not affected by *L. sidoides* oil, even at high concentrations. In testing conducted under greenhouse conditions, the concentration 0,3 $\mu\text{L mL}^{-1}$ of *Lippia* oils reduced the severity of *R. solani*. The concentration 0,3 $\mu\text{L mL}^{-1}$ of thymol was responsible for *in vitro* inhibition of 100% of *R. solani*. Thymol also reduced the severity of *Rhizoctonia* canker in cowpea plants at concentrations 0,9 and 2 $\mu\text{L mL}^{-1}$, with a control efficiency of 50,9% and 45,6%, respectively. The use of *Trichoderma* and essential oils proved to be a promising tool in the management of *R. solani* in the culture of cowpea.

Keywords: essential oils, *Rhizoctonia solani*, *Trichoderma*, damping off, *Vigna unguiculata* L.

CAPÍTULO I

Introdução Geral

CONTROLE BIOLÓGICO E ALTERNATIVO DA RIZOCTONIOSE EM FEIJÃO- CAUPI

INTRODUÇÃO GERAL

1. Feijão-caupi

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), também conhecido como feijão-de-corda ou feijão-macassar, é uma planta dicotyledonea, pertencente à ordem Fabales, à família Fabaceae e gênero *Vigna* (FREIRE FILHO et al., 2011). O gênero *Vigna* Savi, contém diversas espécies que são importantes na agricultura. Apenas as espécies de *V. unguiculata* (L.) Walp., *V. radiata* (L.) Wilczek e *V. mungo* (L.) Hepper são as mais cultivadas (WETZEL et al., 2005).

O feijão-caupi é uma planta herbácea, autógama, anual, sendo considerada uma das leguminosas mais adaptadas e versáteis, entre as espécies cultivadas (SINGH et al., 2002). Devido à rusticidade da espécie, é uma planta bem adaptada às condições de clima e solo da região Nordeste do Brasil e ao mesmo tempo possuidora de uma grande variabilidade genética (FREIRE FILHO et al., 2006), além da grande capacidade de fixar nitrogênio atmosférico, através da simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium* (FREIRE FILHO et al., 2005). A cultura apresenta ciclo curto, baixa exigência hídrica (EMBRAPA, 2003), devido à adaptação à seca e a diferentes níveis de estresse, ao longo dos diversos estágios de desenvolvimento da cultura, cresce numa faixa de temperatura entre 20 °C e 35 °C (PINHO; TÁVORA; GONÇALVES, 2005), possui alto potencial produtivo e excelente valor nutritivo, características estas que conferem à cultura grande valor atual (MACHADO et al., 2007; FREIRE FILHO et al., 2006) para as regiões tropicais e subtropicais do mundo (FREIRE FILHO; ARAÚJO LIMA; RIBEIRO, 2005).

A maior diversidade do feijão-caupi ocorre no sul da África, abrangendo o oeste da Namíbia, Botsuana, Zâmbia, Zimbábue, leste de Moçambique e África do Sul (PADULOSI; NG, 1997). A cultura do caupi é de origem africana, e foi introduzida no Brasil na metade do século XVI pelos colonizadores portugueses no Estado da Bahia. A partir da Bahia, foi disseminado por todo o País, expandindo para a região dos cerrados, regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste do Brasil (FREIRE FILHO et al., 2011).

A Nigéria é o principal país produtor dessa leguminosa, com uma produção de 2,24 milhões de toneladas, com uma área total colhida de 2,52 milhões de hectares (FAO, 2012). O

Níger ocupa a segunda posição e o Brasil, é o terceiro produtor mundial (SINGH et al., 2002; FAO, 2007).

No Brasil, a área colhida, produção e a produtividade do feijão-caupi oscilam muito de ano para ano, em virtude, principalmente, das variações climáticas. Entre 1993 e 2001, a média anual da área colhida foi de 1.355,184 hectares, com uma produção de aproximadamente 429 toneladas e uma produtividade de 317 Kg ha⁻¹ (FREIRE FILHO; ARAÚJO LIMA; RIBEIRO, 2005). No ano de 2010, a produção mundial de feijão-caupi atingiu cerca de 5,54 milhões de toneladas de grãos, em uma área colhida de aproximadamente 10,49 milhões de hectares (FAO, 2012).

O feijão-caupi tem sido cultivado praticamente em todas as regiões do país (FREIRE FILHO et al., 2005), predominante no sertão semiárido da região Nordeste e em pequenas áreas da Amazônia, sendo encontrados os mais variados métodos de plantio (EMBRAPA MEIO NORTE, 2003). No Brasil, a produção concentra-se nas regiões Nordeste (1,2 milhão de hectares) e Norte (55,8 mil hectares) do país. No entanto, a cultura está conquistando espaço na região Centro-Oeste, em razão do desenvolvimento de cultivares com características que favorecem o cultivo mecanizado. O feijão-caupi contribui com 35,6 % da área plantada e 15% da produção de feijão total (feijão-caupi e feijão-comum) no país (SILVA, 2011). No Nordeste brasileiro, o caupi é cultivado tanto para suprir as necessidades básicas dos agricultores, quanto em escala comercial (GOMES FILHO; TAHIN, 2002).

As maiores áreas plantadas com a cultura do caupi, encontram-se na região Nordeste, que desempenha função de destaque socioeconômico, por ser a principal fonte de proteína vegetal (CARDOSO; RIBEIRO, 2006), sobretudo, para a população rural de baixa renda, geração de emprego (FREIRE FILHO; ARAÚJO LIMA; RIBEIRO, 2005), além da fixação da mão-de-obra (CARDOSO; RIBEIRO, 2006). No Brasil, em média, foram produzidas 482 mil toneladas de grãos, em uma área de 1,3 milhões de hectares/ano. A produtividade média do feijão-caupi, é baixa (366 kg ha⁻¹), em função do baixo nível tecnológico empregado no cultivo. No entanto, estados como Amazonas, Goiás, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso apresentam produtividades superiores a 1.000 kg ha⁻¹ (SILVA, 2011).

Na região Nordeste, a produção do feijão tradicionalmente concentra-se nas áreas semiáridas, onde outras leguminosas anuais não se desenvolvem satisfatoriamente, em razão da irregularidade das chuvas e das altas temperaturas. A produção de feijão-caupi nas regiões Norte e Nordeste é feita por empresários e agricultores familiares que ainda utilizam práticas tradicionais. Na região Centro-Oeste, onde o caupi passou a ser cultivado em larga escala a partir de 2006, a produção provém principalmente de médios e grandes empresários (FREIRE

FILHO et al., 2011). A produção dos grãos, secos ou verdes, é destinada principalmente para o consumo humano *in natura*, na forma de conserva ou desidratado (EMBRAPA MEIO NORTE, 2003).

As sementes de feijão-caupi são consideradas uma das principais fontes de proteína e energia para o homem. Rico em lisina e outros aminoácidos essenciais, esta leguminosa constitui uma excelente fonte de vitaminas, como tiamina, niacina, riboflavina, piridoxina e ácido fólico, e de minerais, como ferro, zinco, potássio e fósforo (GRANGEIRO et al., 2005). O teor de proteína nas sementes de genótipos de feijão-caupi desenvolvidos no Nordeste brasileiro varia de 21,1% a 29,4%. Além disso, as sementes possuem alto teor de fibras dietéticas e baixa quantidade de lipídios (2% em média) (EMBRAPA, 2003).

A cultura do feijão-caupi apresenta grande importância socioeconômica para o Estado de Pernambuco. É uma cultura adotada basicamente por pequenos produtores rurais que utilizam a mão-de-obra familiar e que contribui para a permanência do homem no setor rural. Entretanto, esta cultura apresenta vários problemas, dentre os quais se destaca a falta de adoção de tecnologia, principalmente em relação aos insumos, sendo que o agricultor recorre ao uso de sementes, sem tratamento adequado. A má qualidade sanitária das sementes contribui para a sua baixa germinação, redução do número de plantas no estande, contribuindo assim, para o surgimento de doenças, como as podridões radiculares e murchas vasculares, comprometendo o rendimento da cultura (RODRIGUES; MENEZES, 2002). Além desses fatores, a baixa produtividade reflete a forma de cultivo, feita por pequenos agricultores numa exploração de subsistência, sem a utilização de tecnologias adequadas, como o controle de pragas e doenças (ASSUNÇÃO et al., 2005).

No Nordeste do Brasil, várias cultivares de feijão-caupi têm sido desenvolvidas, por meio de melhoramento genético, principalmente, visando à predominância de caracteres de interesse agrônomico, como o número de dias para floração e maturidade, número de ramos e vagens por planta, número de grãos por vagem e resistência a pragas e doenças (GRANGEIRO et al., 2005). Nesta região, a cultura do feijão-caupi tem sido atacada por vários patógenos, os quais influenciam negativamente a produtividade e a qualidade da produção. Entre esses, destacam-se os fungos, que possuem uma ampla diversidade de espécies patogênicas. No Brasil, mais de 20 espécies de fungos foram identificadas infectando o feijão-caupi. As bacterioses, apesar de apresentarem pouca importância econômica aos produtores, são de ocorrência frequente no Brasil. A pouca importância dada às bacterioses do caupi, tem sido explicada pela dificuldade que o produtor encontra na identificação da doença, quando a mesma se manifesta na semente ou nas plântulas (ATHAYDE SOBRINHO;

VIANA; SANTOS, 2005). As doenças causadas por nematóides também contribuem na redução da produtividade do feijão-caupi. Mais de 30 espécies associadas à cultura foram descritas. No entanto, poucas causam danos significativos à produção, com exceção aos nematóides-das-galhas do gênero *Meloidogyne*, nematóides-das-lesões-radulares do gênero *Pratylenchus* e ao nematóide-reniforme da espécie *Rotylenchulus reniformis* (SILVA, 2005). As viroses têm sido responsáveis por grandes prejuízos à cultura do feijão-caupi no Nordeste brasileiro. Além das infecções causadas por vírus isoladamente, infecções mistas podem constituir problemas de doenças específicas em muitas espécies cultivadas (LIMA; SITTOLIN; LIMA, 2005).

A maioria dos agentes etiológicos das doenças do feijão-caupi são transmitidos por sementes, principalmente as doenças causadas por fungos, que reduzem o poder germinativo e podem ser disseminados para novas áreas de cultivo (RODRIGUES; MENEZES, 2002). Entre os patógenos importantes transmitidos por sementes de feijão-caupi, ocorre uma predominância de fungos de armazenamento do gênero *Aspergillus* e *Penicillium* Link (WETZEL et al., 2005). Apesar do conhecimento de várias práticas efetivas para o controle das doenças do caupi, o uso de variedades resistentes aos patógenos constitui na principal medida de controle para as condições brasileiras, onde o feijão-caupi é produzido como uma cultura de subsistência (PIO-RIBEIRO; ASSIS FILHO; ANDRADE, 2005).

Entre as doenças de maior importância na cultura do feijão-caupi, são citadas as viroses, como o Mosaico severo (*Cowpea severe mosaic virus* - CPSMV), Mosaico de potyvirus (*Cowpea aphid-borne mosaic virus* - CABMV), Mosaico dourado (*Cowpea golden mosaic virus*); as bacterioses, como o Crestamento bacteriano causado por *Xanthomonas axonopodis* pv. *vignicola* (Burkholder) Dye e a murcha bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum*; as nematoses, apenas as do gênero *Meloidogyne* são consideradas limitantes para a cultura. Dentre as causadas por fungos, podemos citar as ferrugens (*Uromyces appendiculatus* var. *appendiculatus* F. Strauss), cercosporioses (*Pseudocercospora cruenta* (Sacc.) Deighton e *Cercospora canescens* Ellis & G. Martin, a sarna do feijão-caupi (*Sphaceloma* sp. de Bary), a murcha de Fusarium (*Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* W.C. Snyder & H.N. Hansen), a antracnose (*Colletotrichum lindenuhianum* (Sacc. & Magnus) Briosi & Cavara, o oídio (*Erysiphe polygoni* DC.), o carvão (*Entyloma vignae* Bat., J.L. Bezerra, Da Ponte & I. Vasconc.), a podridão cinzenta do caule (*M. phaseolina*, *Pythium aphanidermatum* Edson) Fitzp.) causador da podridão do colo e raízes, (PIO-RIBEIRO; ASSIS FILHO; ANDRADE, 2005), *Sclerotium rolfsii* Sacc, causador da podridão do colo e a rizoctoniose (*Rhizoctonia solani* J.G. Kühn) causando o tombamento de plântulas

(MICHEREFF et al., 2005). No entanto, a rizoctoniose é uma das doenças do caupi mais freqüentes e de maior intensidade no Nordeste brasileiro (ATHAYDE SOBRINHO; VIANA; SANTOS, 2005).

2. Gênero *Rhizoctonia*

No gênero *Rhizoctonia* são encontrados fungos que não produzem conídios durante a fase vegetativa, ou seja, apresentam um micélio estéril que não forma conídios assexuados. As hifas são bem desenvolvidas, com septos transversais evidentes, ramificam-se de modo característico formando um ângulo reto com relação a hifa de origem. O micélio é bastante vigoroso, sendo inicialmente hialino, evoluindo para marrom claro e posteriormente, marrom escuro. Escleródios são formados pelo micélio, possuem formatos irregulares, e atuam como estruturas de resistência (BEDENDO, 2011).

O gênero *Rhizoctonia* é um dos mais difundidos no mundo em terras cultivadas e não cultivadas, sendo capaz de induzir podridões em sementes e frutos, cancro no caule (OGOSHI, 1996), tombamentos de pós-emergência de plântulas, podridões radiculares e doenças foliares (LEWIS; LUMSDEN, 2001). Este gênero consiste de uma coleção bastante diversificada de teleomorfos que são componentes de diferentes famílias e classes, sendo *R. solani* Kühn (teleomorfo *Thanatephorus cucumeris* Frank) a principal espécie representante desse gênero (SNEH et al., 1996). As espécies do gênero *Rhizoctonia* são descritas como fungos imperfeitos, manifestando sua forma perfeita (estágio sexual) (MIRANDA; LOBO JÚNIOR; CUNHA, 2007; TU; KIMBROUGH, 1978) como um basidiomiceto *T. cucumeris* (BIANCHINI; MARINGONE; CARNEIRO, 2005).

A classificação da espécie *R. solani* se baseia em critérios morfológicos, fisiológicos, genéticos e patológicos (ANDERSON, 1982; OGOSHI, 1987; SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991; VILGALYS; CUBETA, 1994). A identificação de *Rhizoctonia* spp., em nível de grupo ou subgrupo de anastomose, além do objetivo taxonômico, é importante sob o ponto de vista ecológico e epidemiológico (OGOSHI, 1996). Os principais grupos subespecíficos de *R. solani* têm sido classificados tradicionalmente, com base nas reações de anastomoses de hifas e são denominados grupos de anastomose (AGs) (CARLING et al., 2002). Hifas de isolados pertencentes ao mesmo AG são atraídas e conectadas, ou fundidas, umas as outras, enquanto que, isolados de diferentes AG não exibem esse comportamento (OGOSHI, 1987). A espécie *R. solani* é composta de 14 AGs designados como AG-1 a AG-13 e AG-BI (EKEN; DEMIRCI, 2004).

Isolados de *Rhizoctonia* binucleadas estão dentro do grupo AG-A ao AG-S. (EKEN; DEMIRCI, 2004; SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991; OGOSHI, 1996; CARLING et al., 1999, 2002). A distribuição dos grupos de anastomose depende da espécie patogênica, distribuição das plantas hospedeiras, clima, tipo de vegetação e grupos saprofíticos (OGOSHI, 1996). Os quatro AGs descritos inicialmente causam importantes doenças em plantas do mundo todo. Os grupos descritos posteriormente são patógenos menos destrutivos e possuem uma restrita distribuição geográfica (CARLING et al., 2002). No AG-1 são encontrados isolados que causam podridão do hipocótilo e sementes, além da mela em muitas espécies de plantas. No AG-2, isolados que causam cancro em raízes de plantas, e muitas das espécies, causam doenças radiculares em crucíferas. No AG-3 são encontrados principalmente, isolados patogênicos a cultura da batateira. Os isolados do grupo AG-4 infectam uma ampla variedade de espécies de plantas, causando podridão do hipocótilo e de sementes na maioria das espécies das angiospermas (NEIL, 1982), tombamento de pré e pós-emergência e, ocasionalmente, podridão de raízes em diversas culturas (BARRETO et al., 2010). No grupo AG-4 encontra-se *R. solani*, o principal agente causal do tombamento de plântulas (GOULAR, 2008). Mundialmente, o AG-4 é considerado o principal grupo de anastomose, causando podridão de raízes de feijoeiro (EKEN; DEMIRCI, 2004). No Brasil, o AG-4 foi relatado causando doença na cultura do feijão-caupi (BOLKAN; RIBEIRO, 1985).

Rhizoctonia solani é considerado um fitopatógeno economicamente importante que possui uma ampla gama de hospedeiros, grande capacidade de competição saprofítica, sobrevive no solo colonizando restos de cultura ou através de estruturas de resistência. Alguns isolados são específicos para a cultura, enquanto outros atacam várias espécies (NECHET; HALFELD-VIEIRA, 2007; BIANCHINI; MARINGONE; CARNEIRO, 2005; KUNIEDA-ALONSO; ALFENAS; MAFFIA, 2005; CUBETA; VILGALYS, 1997). Espécies de *Rhizoctonia* estão presentes em solos, cultivados ou não, atuando como colonizadores e decompositores primários de matéria orgânica recém-adicionada ao solo (MIRANDA; LOBO JÚNIOR; CUNHA, 2007).

As espécies de *Rhizoctonia* podem causar diferentes tipos de sintomas no mesmo hospedeiro dependendo do tipo de infecção (LEWIS; LUMSDEN, 2001). Por ser considerado um patógeno habitante de solo, *R. solani* pode infectar as sementes e as plântulas no momento da germinação. Sementes contaminadas podem infestar, de forma definitiva, o campo de cultivo (ATHAYDE SOBRINHO; VIANA; SANTOS, 2005). Além disso, *R. solani* pode ser introduzida em solos ou substratos em qualquer etapa do plantio, por meio de substratos contaminados (LUCON et al, 2009; LEWIS; LUMSDEN, 2001), pelo transporte de solo e

restos de cultura infestados, através da água de irrigação, chuva e implementos agrícolas (BIANCHINI; MARINGONE; CARNEIRO, 2005).

Geralmente, *R. solani* é favorecida por temperaturas acima de 25 °C, alta umidade relativa do ar e do solo, solos mal drenados, irrigações excessivas, semeaduras densas, excesso de adubação nitrogenada, elevado teor de matéria orgânica, cultivos sucessivos no mesmo local, pH ácido (SNEH et al., 1996), plantio profundo de sementes, solos arenosos, desestruturados e pobres em outros microrganismos e plantas de crescimento lento (MICHEREFF; PEERUCH; ANDRADE, 2001). Porém, são muito desfavoráveis para o patógeno os solos muito secos ou muito encharcados (SNEH et al., 1996).

A podridão radicular causada por *R. solani* é bastante comum na América Latina e em outras regiões do mundo. É uma doença economicamente importante, sendo responsável pela diminuição do estande e redução da produção em feijoeiro e, em outras culturas de interesse econômico (MIRANDA; LOBO JÚNIOR; CUNHA, 2007; BIANCHINI; MARINGONE; CARNEIRO, 2005). Patógenos que causam podridões radiculares sobrevivem na rizosfera ou no rizoplano de plantas, na matéria orgânica, ou podem permanecer no solo, em períodos desfavoráveis, por vários anos (BLUM; CARVALHO; INÁCIO, 2006). Os primeiros sintomas da podridão radicular de *R. solani* são caracterizados pela maceração de tecidos do sistema radicular. Posteriormente, são formadas lesões necróticas de coloração pardo avermelhada, com bordos definidos, que eventualmente coalescem constituindo o sintoma típico da podridão radicular (MIRANDA; LOBO JÚNIOR; CUNHA, 2007; COSTA; MENGE; COSALE, 1996).

O tombamento de plântulas é uma das doenças causada por *R. solani* (LEWIS; LUMSDEN, 2001). Quando o ataque é provocado por este patógeno, os sintomas são logo perceptíveis no caule, onde se observam lesões deprimidas, alongadas e marrons, circundando, às vezes, todo o colo da planta (ATHAYDE SOBRINHO; VIANA; SANTOS, 2005). Com o desenvolvimento da doença, as lesões tornam-se mais pronunciadas, formando cancrios avermelhados, podendo destruir parcialmente a raiz principal. Infecções severas podem reduzir o desenvolvimento da planta e provocar a sua morte. A infecção durante a emergência produz cancrios profundos nas plântulas, que podem sofrer estrangulamento, levando ao tombamento de pré e pós-emergência (BIANCHINI; MARINGONE; CARNEIRO, 2005). *R. solani* é considerado o fungo mais prejudicial por causar, em maior intensidade que os demais, o tombamento de pré-emergência (GOULAR, 2002).

R. solani também afeta tecidos vegetais jovens, ainda dependentes ou recém-liberados das reservas nutricionais acumuladas na semente. A produção de enzimas celulolíticas e

pectolíticas é importante para a rápida colonização do tecido do hospedeiro (BIANCHINI; MARINGONE; CARNEIRO, 2005). No feijão, *R. solani* causa vários tipos de danos, como: podridão do hipocótilo, podridão da raiz e mela (EKEN; DEMIRCI; 2004). Este patógeno penetra a parede das células do hipocótilo pela destruição da celulose, o que determina a morte do tecido e, conseqüentemente, o tombamento de plantas (BLUM; CARVALHO; INÁCIO, 2006).

A severidade dessa doença está associada à quantidade de inóculo inicial. O seu controle baseia-se na modificação das práticas culturais, uso da resistência genética, erradicação e interação com microrganismos (RODRIGUES et al., 1998; LEACH; GARBER, 1970). Métodos de controle, como o uso de sementes saudáveis e certificadas, proteção das sementes com a utilização de fungicidas antes do plantio, (ATHAYDE SOBRINHO; VIANA; SANTOS, 2005) também tem sido utilizados. O tratamento de sementes com fungicidas é importante na proteção das plântulas em início do desenvolvimento (BIANCHINI; MARINGONE; CARNEIRO, 2005). No entanto, o uso intensivo de agrotóxicos no controle de doenças na agricultura, tem causado diversos problemas de ordem ambiental, como a contaminação dos alimentos, do solo, da água e dos animais (MORANDI; BETTIOL, 2009). Devido aos efeitos prejudiciais dos produtos químicos, sua possível ineficácia, o desenvolvimento de patógenos resistentes (LEWIS; LUMSDEN, 2001), habilidade de competição saprofítica, ampla gama de hospedeiros de *R. solani* e produção de escleródios que garantem a sua sobrevivência em condições adversas, (FALTIN, et al., 2004), o controle do patógeno torna-se difícil (SAITO et al., 2009).

Dentre as alternativas efetivas no controle de *R. solani* podem ser citadas a utilização de agentes de controle biológico como o uso de *Trichoderma* spp. (HARMAN et al., 2004) e a utilização de subprodutos de plantas medicinais como extratos brutos e óleos essenciais que apresentam em sua composição, substâncias com propriedades fungicidas (RODRIGUES et al., 2006).

3. Controle Biológico

Atualmente, o uso de agentes de biocontrole encontra-se bem difundido em diversos países (LOPES, 2009). A introdução de microrganismos adaptados ao microhabitat do patógeno é um dos aspectos mais relevantes para o sucesso do biocontrole de doenças de plantas (BETTIOL, 1991).

O controle biológico pode ser definido como “a redução da soma do inóculo ou das atividades determinantes da doença provocada por um patógeno, realizada por ou através de um ou mais organismos que não o homem” (COOK; BAKER, 1983). Este é um conceito amplo que abrange muito mais que a utilização de antagonistas, na realidade inclui qualquer controle obtido através de um sistema vivo, exceto o homem. O controle biológico é utilizado principalmente com o significado de controle de um patógeno por um antagonista. Embora o foco do controle biológico seja o patógeno, seu objetivo é a supressão da doença, mantendo através de certas práticas, o equilíbrio no agroecossistema de modo que o hospedeiro, na presença do patógeno, não sofra danos significativos em função da ação controladora dos organismos não patogênicos do sistema (GRIGOLETTI JR; SANTOS; AUER, 2000; COOK; BAKER, 1983). Segundo Mariano, Silveira e Gomes (2005), ambos os conceitos envolvem a redução da densidade populacional do patógeno, a proteção biológica da superfície de plantas e o controle dentro da planta.

O controle biológico tem sido apontado como um método promissor para minimizar o uso de agrotóxicos e promover a proteção das culturas, pois se baseia em procedimentos ambientalmente corretos que podem fazer parte de um sistema de controle integrado de doenças (PATEKOSKI; PIRES-ZOTTARELLI, 2010; GRIGOLETTI JR; SANTOS; AUER, 2000). Os bioprotetores apresentam-se como uma tecnologia alternativa para o controle de fitopatógenos, na redução do uso excessivo de fungicidas, desenvolvimento da agricultura sustentável e proteção do meio ambiente mantendo a estabilidade natural dos ecossistemas, além de evitar o surgimento de raças de fitopatógenos resistentes às substâncias químicas (MACHADO et al., 2012; BLUM, 2006; LUZ, 2001).

Antagonista é definido como um agente biológico com potencial para interferir nos processos vitais de fitopatógenos (COOK; BAKER, 1983). A importância deste componente do controle biológico depende da sua relação com o patógeno alvo e do tipo de mecanismo exercido (MARIANO; SILVEIRA; GOMES, 2005). Segundo Blum (2006), a presença adequada de antagonistas, a combinação dos mecanismos de supressão da doença e um ambiente favorável aos antagonistas, contribuem para o sucesso do controle biológico.

Os mecanismos de controle biológico são as interações antagônicas através das quais os antagonistas ativamente expressam oposição aos patógenos e reduzem a ocorrência das doenças. Os mecanismos apresentados pelos antagonistas no controle biológico de doenças de plantas são: antibiose, competição, parasitismo, predação, hipovirulência, indução de resistência e proteção cruzada (MARIANO; SILVEIRA; GOMES, 2005; MELO, 1996). Apesar da divisão, um antagonista pode agir por um ou mais mecanismos de interações

antagonísticas. Inclusive quando age por mais de um mecanismo, as chances de sucesso do biocontrole são aumentadas (BETTIOL, 2001).

Os antagonistas considerados como ideais para serem utilizados no biocontrole devem possuir uma ou mais características, tais como: boa capacidade de colonização e competitividade no ambiente do patógeno; requerimentos nutricionais semelhantes aos patógenos alvos; adaptação ao meio ambiente do patógeno; resistência a fatores ambientais como temperatura, dessecação, radiação e químicos; fácil cultivo, aplicação e formulação; não ser patogênico ao homem ou animais; não ser fitopatogênico; capacidade de atuar em diferentes plantas hospedeiras e amplo espectro de ação, contra diferentes patógenos; compatibilidade com pesticidas para uso em controle integrado e com outros microrganismos antagonistas, para uso em misturas; sobrevivência, persistência, e capacidade de redistribuição e baixa frequência de mutações (BETTIOL, 1991). O uso de combinações de vários organismos antagonistas pode proporcionar um melhor controle de doenças sobre o uso de organismos individuais (MACHADO et al., 2012).

Diversos fungos e bactérias têm sido testados no controle de doenças radiculares, alguns com sucesso comprovado, e muitos outros com grande potencial de uso (MELO, 1998). No controle biológico de doenças radiculares, os fungos são os principais agentes antagônicos aos fitopatógenos (MARIANO; SILVEIRA; GOMES, 2005). No começo da década de 1920 foram realizados os primeiros estudos sobre a ação de antagonistas em fungos causadores de tombamento de plantas (LOPES, 2009). Dos fungos com potencial de antagonismo, o gênero *Trichoderma* Pers. é um dos mais pesquisados e estudados (SAITO et al., 2009).

Trichoderma é o agente de controle biológico de doenças de plantas mais estudado e utilizado no Brasil e em outros países da América Latina (MORANDI; BETTIOL, 2009). A primeira publicação sobre o uso de *Trichoderma* como agente de biocontrole de doenças de plantas no Brasil foi na década de 1950, quando Foster descreveu a inativação do vírus do mosaico do fumo (TMV) por filtrados da cultura de *Trichoderma* sp. (FOSTER, 1950).

O gênero *Trichoderma* corresponde à fase anamórfica do Ascomiceto. Este gênero é um dos grupos mais interessantes de fungos antagônicos, visto que as espécies de *Trichoderma* são cosmopolitas, sendo encontrados na maioria dos solos (SAITO et al., 2009). Esses fungos também colonizam madeira, onde a fase sexual é frequentemente encontrada (MACHADO et al., 2012).

Os fungos do gênero *Trichoderma* são de grande importância econômica para a agricultura, uma vez que são capazes de atuarem como agentes de controle de doenças de

várias plantas cultivadas e possuem amplas possibilidades para aplicação, tanto no biocontrole de patógenos foliares, quanto de patógenos radiculares (LOUSADA et al., 2009). *Trichoderma* é um microrganismo encontrado naturalmente no solo, que apresenta uma importante função ecológica, pois participa da decomposição e mineralização dos resíduos vegetais, com a disponibilização de nutrientes para as plantas. Podem competir com outros organismos do solo por espaço e exsudatos expelidos pelas sementes durante a germinação (SAITO et al., 2009), além disso, pode viver como saprófita sobre a matéria orgânica do solo ou como parasita de outros fungos (MELO, 1998).

As espécies de *Trichoderma* produzem conídios em abundância a partir de conidióforos que se originam diretamente da hifa. O micélio é formado por hifas hialinas, muito ramificadas e de parede lisa (MELO, 1998). A coloração da colônia em vários tons de verde é, normalmente, devida à pigmentação e a quantidade dos conídios produzidos (MELO, 1991). As espécies mais conhecidas de *Trichoderma* são: *T. hamatum* (Bonord.) Bainier, *T. viride* Pers, *T. aureoviride* Rifai, *T. harzianum* Rifai, *T. koningii* Oudem, *T. pseudokoningii* Rifai *T. longibrachiatum* Rifai (BETTIOL; GHINI, 2005) e *T. asperellum* Samuels, Lieckf. & Nirenberg (YANG; XU, 2013).

Pesquisas têm mostrado que *T. asperellum* é considerado um importante biocontrolador devido a sua habilidade antagônica a fungos fitopatogênicos (YANG & XU, 2013), capacidade para promover o crescimento e indução de resistência de plantas a infecções causadas por patógenos (SHORESH et al., 2005), sendo utilizado no controle biológico de um amplo espectro de organismos causadores de doenças de plantas, incluindo fungos, nematóides e bactérias (SAMUELS et al., 2010).

Espécies de *Trichoderma* vêm sendo utilizadas com sucesso no controle de fitopatógenos habitantes do solo, por serem capazes de proteger as plantas por meio de diferentes mecanismos de ação antagonistas como parasitismo, antibiose, competição e indução de resistência (HARMAN, 2006; WOO et al., 2006). *Trichoderma* spp. pode atuar por mais de um mecanismo de interação antagonista, sendo essa característica importante em um organismo que sobrevive no solo. O parasitismo talvez seja um importante mecanismo de ação biocontroladora mais conhecido e documentado (BETTIOL, GHINI, 2005; HARMAN, 2000; MELO, 1996).

Trichoderma é um micoparasita necrotrófico eficaz no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos, principalmente aqueles com estruturas de resistência consideradas difíceis de serem atacadas por microrganismos, como conídios, escleródios, clamidósporos e microescleródios (SILVA, et al., 2008; MELO, 1996).

Espécies de *Trichoderma* parasitam uma variedade de fungos (HARMAN et al., 2004). Algumas linhagens de *Trichoderma* são utilizadas no controle de fungos fitopatogênicos (MACHADO et al., 2012), entre eles: *Rhizoctonia* spp. DC., *Sclerotium* spp. Tode, *Sclerotinia* spp. Fuckel, *Pythium* spp. Pringsh., *Phytophthora* spp. De Bary, *Fusarium* spp. Link, *Rosellinia* spp. De not. e *Botrytis* spp. P. Micheli ex Pers. (BETIOL, GHINI, 2005; MELO, 1996).

A redução da incidência do mofo-branco causado por *S. sclerotiorum* (Lib) de Bary), na cultura da soja (*Glycine Max* L.) foi observada por Görgen et al. (2009), após tratamento com *T. harzianum*. De acordo com Lousada et al. (2009), isolados de *Trichoderma* inibiram o crescimento micelial de *F. solani* e de *S. sclerotiorum* pelo teste de pareamento de culturas. A inibição *in vitro* de *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp por um produto formulado a base de *Trichoderma* foi relatada por Patekoski e Pires-Zottarelli (2010).

Lisboa et al. (2007), relataram que isolados de *T. harzianum* e *T. viride* foram eficazes na redução do mofo cinzento causado por *Botrytis cinerea* Pers. no cultivo de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.), após a aplicação foliar semanal das suspensões dos antagonistas. A diminuição da incidência de manchas foliares ocasionadas por *Cylindrocladium* sp. foi observada por Lohman et al. (2009), após aplicação de um produto a base de *T. harzianum* em mudas de eucalipto (*Eucalyptus* sp.).

O controle da podridão do alho causada por *S. rolfsii* foi obtido com aplicação de *T. harzianum* (SOUSA; BLUM, 2013). Lohmann et al. (2007) observaram a redução do tombamento de plantas de soja causado por *S. rolfsii* com o uso de *Trichoderma*.

Conforme Lewis e Lumsden (2001), isolados de *T. hamatum* e *T. virens* (J.H. Mill., Giddens e A. A. Foster) Arx. controlaram o tombamento de mudas de pimenta (*Capsicum* sp.) e reduziram o tombamento de plantas de berinjela (*Solanum melongena* L.), zínia (*Zinnia elegans* Jacq.), pepino (*Cucumis sativus* L.) e repolho (*Brassica oleracea* L.) causado por *R. solani*. Montealegre et al. (2010) trabalhando com isolados mutantes de *Trichoderma*, previniram em 100% a mortalidade de plantas de tomateiros causada por *R. solani*.

Trichoderma spp. podem viver endofiticamente em várias espécies botânicas e atuar na promoção de crescimento vegetal, além de atuarem como indutores de resistência das plantas contra doenças (MACHADO et al., 2012; CARVALHO FILHO et al., 2008). Pesquisas indicam que alguns isolados de *Trichoderma* podem induzir resistência sistêmica e localizada em várias plantas (HA, 2010). Algumas linhagens desses antagonistas vêm recebendo grande atenção da pesquisa, também, por sua versatilidade de ação (LOUSADA et al., 2009). Aumentam a tolerância das plantas ao estresse por estimular o desenvolvimento

das raízes, promovem inativação de enzimas dos patógenos e a solubilização de nutrientes inorgânicos do solo (COELHO NETO, 2013; HARMAN, 2000).

Segundo, Faria, Albuquerque e Neto (2003), sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) tratadas com *T. harzianum* apresentaram porcentagens elevadas de germinação e emergência de plântulas mais vigorosas. A interferência de *Trichoderma* spp. no crescimento de plantas e aumento da produtividade ocorrem, devido a capacidade das espécies em colonizar as raízes. Alguns isolados são excelentes competidores na rizosfera e por isso colonizam toda a superfície da raiz por várias semanas ou meses (HARMAN et al., 2004). *Trichoderma* spp. competem pelos exsudatos liberados das sementes no processo de germinação (SAITO et al., 2009; HARMAN et al., 2004). A promoção de crescimento também pode ser devida à solubilização de nutrientes necessários às plantas. Essas características tornam *Trichoderma* um dos fungos mais pesquisados em condições de laboratório, casa de vegetação e campo (MACHADO et al., 2012; SAITO et al., 2009).

As espécies de *Trichoderma*, também têm sido estudadas por produzirem uma série de enzimas extracelulares, por degradar paredes de células fúngicas e pela produção de vários metabólitos extracelulares com atividade antimicrobiana (MENEZES; SOUZA, 1995; MELO, 1991). De acordo com Mukherjee et al. (1995), *T. harzianum* parasita hifas e escleródios de *R. solani*. A inibição do crescimento de *R. solani* ocorre logo após o contato com o antagonista, seguindo-se os eventos de degradação da hifa hospedeira (BENHAMOU; CHET, 1993). Segundo Harman et al. (2004), isolados de *Trichoderma* spp. são conhecidos pela habilidade em produzir enzimas que degradam celulose e quitina. A espécie de *T. viride* produz uma substância tóxica, denominada de viridina, que pode estar envolvida na redução da viabilidade de escleródios de *R. solani* (PAPAVIZAS, 1985). Dos antibióticos produzidos por *Trichoderma*, são citados a gliotoxina, viridina, trichodermina, suzucacilina, alameticina e dermadina, que têm a capacidade de inibir o desenvolvimento de outros fungos (BASTOS, 1991).

O sucesso do controle biológico de fitopatógenos e da promoção de crescimento de plantas por bioagentes dependerá das propriedades e mecanismos de ação do organismo (MACHADO et al., 2012), da alta capacidade reprodutiva dos antagonistas, habilidade em sobreviver sob condições desfavoráveis, eficiência na utilização de nutrientes, capacidade de modificar a rizosfera, alta agressividade contra fungos fitopatogênicos (BENITEZ, 2004).

O controle biológico através de fungos do gênero *Trichoderma*, na podridão de raiz e do colo de plantas causada por *R. solani* tem sido utilizado como uma alternativa ao uso de fungicidas químicos (MONTEALEGRE, et al. 2010; PAPAVIZAS, 1985).

4. Óleos essenciais

A consciência mundial dos danos ambientais causados pelos pesticidas tem conduzido a procura de novas medidas para proteger as plantas contra as doenças. Métodos de controle alternativo que podem ser utilizados de maneira integrada para reduzir o impacto ambiental com produtos químicos, beneficia tanto os produtores orgânicos, que necessitam de mais opções de produtos, e um grande segmento de consumidores dispostos a pagar por alimentos livres de pesticidas (CARVALHO et al., 2013). A busca por produtos naturais que sejam eficientes no controle de doenças de plantas tem aumentado nos últimos anos, visando a obtenção de alternativas aos fungicidas sintéticos e que não apresentem efeitos negativos à saúde humana e ao meio ambiente (CARNEIRO et al., 2007).

Nas últimas décadas a exploração da atividade de compostos secundários de plantas medicinais como extrato bruto e óleo essencial tem se tornado uma alternativa no controle de fitopatógenos, uma vez que apresentam em sua composição, substâncias com propriedades fungicidas (NETO et al., 2012).

O uso de plantas medicinais tem adquirido importância nos últimos anos, devido ao crescente interesse pelos fitoterápicos. As plantas medicinais sintetizam compostos químicos a partir da luz e dos nutrientes que recebem. Os compostos químicos presentes nas plantas são resultantes do seu metabolismo primário e secundário. Tais substâncias são denominadas, também, de princípios ativos (MATOS et al., 2007). Algumas dessas substâncias podem ou não ser tóxicas, dependendo da dosagem em que venham a ser utilizadas. Uma planta medicinal é aquela que contém um ou mais princípio ativo (MARTINS et al., 1998). As substâncias bioativas encontradas nas plantas são metabólitos secundários que podem atuar na defesa da planta contra pragas, microrganismos patogênicos e na atração ou repulsão de diferentes insetos (EPAMIG, 2010).

A atividade de uma planta pode estar associada a uma molécula pura ou ao conjunto de moléculas. A maioria dos estudos químico-farmacêutico está direcionado em um princípio ativo ou um grupo da mesma classificação. A maior importância em conhecer os principais grupos de princípios ativos baseia-se no fato de que nem sempre existem na literatura, indicações precisas sobre o emprego de determinada planta, mas sim, sua constituição química (HERBARIUM, 2011). As plantas de mesma espécie, cultivadas em diferentes localidades, normalmente possuem os mesmos compostos, mas as proporções em que são produzidos podem variar (EPAMIG, 2010).

A International Standard Organization (ISO) define óleos essenciais como os produtos obtidos de parte aérea de plantas através de destilação por arraste com vapor de água. Os óleos são misturas complexas de compostos voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. Os componentes químicos dos óleos essenciais variam desde hidrocarbonetos terpênicos, alcoóis simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, óxidos, peróxidos, ácidos orgânicos, cumarinas e até compostos com enxofre. Estes compostos encontram-se no óleo em diferentes concentrações ocorrendo normalmente a presença de um ou poucos de forma majoritária, existindo alguns em menores quantidades. A complexidade da composição do óleo essencial e a concentração dos seus constituintes é o resultado de muitos processos metabólicos que ocorrem nas plantas, cuja biossíntese é afetada por diversos fatores como clima, solo, região geográfica, idade da planta etc. (MATOS et al., 2007).

Terpenos são compostos basicamente presente nos óleos essenciais. Óleos essenciais são princípios aromáticos encontrados em diferentes órgãos vegetais. São também chamados de óleos voláteis ou etéreos, por evaporarem quando expostos ao ar em temperatura ambiente (HERBARIUM, 2011).

Os óleos essenciais têm sido aplicados na medicina, na culinária, na cosmética e, recentemente na agricultura (MATOS et al., 2007). Óleos essenciais e extratos obtidos de plantas aromáticas são fontes ricas em compostos biologicamente ativos contra o crescimento de microrganismos (AGUIAR et al., 2008). A atividade antimicrobiana exercida pelos óleos essenciais tem sido atribuída a terpenóides e compostos fenólicos tais como o timol, carvona, carvacrol, mentol e murolene (CARVALHO et al., 2013).

A família Verbenaceae compreende cerca de 175 gêneros. Entre as 2300 espécies encontradas nas regiões tropicais e subtropicais, o gênero táxon *Lippia* é representado por aproximadamente 200 espécies. As espécies de seus gêneros são caracterizadas pela presença de óleos essenciais aromáticos com atividade antimicrobiana e compostos tais como, o timol e o carvacrol. A literatura tem relatado a eficácia dos óleos essenciais a partir de uma ampla variedade de espécies de plantas em promover a inibição do crescimento de muitos fungos patogênicos e também na atuação como acaricidas (CARVALHO et al., 2013).

Lippia sidoides Cham., também conhecida como alecrim-pimenta, estrepa-cavalo e alecrim-do-nordeste, é uma planta aromática encontrada na região do Nordeste do Brasil, especificamente na caatinga, entre as regiões de Mossoró do Rio Grande do Norte e tabuleiro do Ceará (MATOS et al., 2007). Alecrim-pimenta é uma planta arbustiva e silvestre, com caule quebradiço, com até três metros de altura, que possuem folhas simples, com sabor picante e flores esbranquiçadas (MATOS et al., 2007; MARTINS et al., 1998). No óleo

essencial de *L. sidoides* encontram-se vários princípios químicos diferentes, destacando-se: os monoterpenos (carvacrol, p-cimeno, timol, α -felandreno), sesquiterpene (β -cariofileno, α -copaeno, α -humuleno) (SOUZA et al., 2011; LEMOS et al., 1990; TERBLANCHÉ; KORNELIUS, 1996). No entanto, o seu óleo essencial é rico em timol e carvacrol (COSTA et al., 2002), sendo estes encontrados em maiores quantidades, p-cimeno e cariofileno, em menores quantidades (MATOS et al., 2007; MARTINS et al., 1998).

Segundo Lorenzi e Matos (2002), a análise fitoquímica das folhas de *L. sidoides* mostra que o óleo essencial contém mais de 60% de timol ou da mistura de timol e carvacrol, sendo ambos considerados terpenos fenólicos com atividade antimicrobiana. Estes constituintes químicos conferem ao óleo essencial forte ação contra fungos e bactérias patogênicas, apresentam ainda, ação moluscicida e larvicida (MATOS et al., 2007). Dentre os componentes químicos fixos identificados no extrato alcoólico das folhas e caules, estão os flavanóides e as quinonas que contribuem para a sua ação antiséptica (LORENZI; MATOS, 2002).

Lippia gracilis Schauer, também conhecido como alecrim-da-chapada e alecrim-de-tabuleiro, também é uma planta arbustiva e aromática, própria da vegetação do semi-árido nordestino, sendo comum sua presença no interior do Piauí na região entre Piri-Piri e Piracuruca. Alecrim-da-chapada é uma planta ramificada, de caule quebradiço e possui até dois metros de altura. Suas flores são pequenas e esbranquiçadas, as folhas são simples com sabor picantes. As folhas juntamente com as flores, são a parte medicinal desta planta (LORENZI; MATOS, 2002). Suas folhas são ricas em óleo essencial cuja composição é constituída de timol e carvacrol (OLIVEIRA, 2008).

A análise fitoquímica das folhas de *L. gracilis* mostra que a composição do óleo essencial é semelhante ao do óleo extraído de *L. sidoides*. No entanto, o teor de fenóis é um pouco menor, até 50% de timol ou da mistura de timol e carvacrol, sendo os dois considerados terpenos fenólicos com grande atividade antimicrobiana (LORENZI; MATOS, 2002). Devido ao seu elevado teor de monoterpenos, como o timol e o carvacrol, o óleo essencial de *L. gracilis* também possui ação bactericida, fungicida contra vários germes patogênicos (ALBUQUERQUE, 2006; LORENZI; MATOS, 2002).

Pesquisas têm mostrado que extrato bruto ou óleos essenciais de plantas medicinais possuem grande potencial no controle de patógenos, seja por ação tóxica direta, inibindo o crescimento de fungos e germinação de esporos, ou por indução de fitoalexinas, o qual indica a presença de compostos com características de elicitores. A exploração da atividade biológica de compostos secundários de extratos brutos ou óleos essenciais pode representar

uma forma potencial de controle alternativo de doenças em plantas cultivadas, juntamente com a indução de resistência (CARVALHO et al., 2013).

A atividade antimicrobiana de extratos e óleos essenciais tem sido frequentemente citada na literatura (BENINI et al., 2010). Conforme Medice et al. (2007) os óleos essenciais de eucalipto citriodora (*Corymbia citriodora*), citronela (*Cymbopogon nardus*), nim (*Azadirachta indica*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) inibiram em 100% a germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* em meio ágar-água. Em experimento realizado em casa de vegetação, os autores observaram que todos os óleos além de retardarem a evolução da ferrugem da soja (*G. max*) reduziram a severidade da doença.

Oliveira et al. (2006) observaram a inibição do crescimento bacteriano (*Staphylococcus aureus*) com o óleo de *L. sidoides*. Segundo Botelho et al. (2007), o óleo essencial de *L. sidoides* possui ação antimicrobiana contra patógenos como *Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout e mutantes de *Streptococcus*. Hillen et al. (2012), avaliaram a atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos e observaram que o óleo de palmarosa inibiu completamente o crescimento micelial de *R. solani*, *Alternaria* sp. Nees e *A. carthami* S. Chowdhury.

Resultados promissores foram obtidos com os óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* e *L. sidoides* na inibição do crescimento micelial de *R. solani* e *S. rolfsii* (GONÇALVES, 2012). Conforme Carvalho et al. (2013), o óleo essencial de *L. sidoides* inibiu o crescimento micelial e o número de conídios de *Thielaviopsis paradoxa* (De Seynes) Höhn. em todas as concentrações testadas. A ação antimicrobiana de *L. gracilis* foi observada por Rodrigues et al. (2006) na inibição de vários fungos.

O conhecimento de que alguns compostos que fazem parte dos óleos essenciais que podem atuar como antimicrobiano e outros, como repelentes ou tóxicos para herbívoros, tem estimulado pesquisas com o objetivo do uso de plantas aromáticas na proteção de culturas e produtos agrícolas, sem a contaminação dos alimentos com pesticidas sintéticos (MATOS et al., 2007). A procura por produtos alternativos que sirvam como defensivos e causem menores danos ambientais, sejam estes químicos, biológicos, orgânicos ou naturais, vem crescendo (MEDICE et al., 2007).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivos selecionar isolados de *Trichoderma* spp. no controle biológico de *R. solani* em feijão-caupi, avaliar o efeito dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *L. gracilis* e da atividade antifúngica do 1,8 cineol, timol, p-cimeno, β -coriofileno e γ -terpineno na inibição de *R. solani*, bem como avaliar o efeito do timol na severidade da rizoctoniose em feijão-caupi.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, J. S.; COSTA, M. C. C. D.; NASCIMENTO, S. C. SENA, K. X. F. R. Atividade antimicrobiana de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 18, n. 3, p. 436-440, 2008.

ALBUQUERQUE, C. C.; CAMARA, T. R.; MARIANO, R. L. R.; WILLADINO, L.; JÚNIOR, C. M.; ULISSES, C. Antimicrobial action of the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer. **Brazilian archives of biology and technology**, Curitiba, v. 49, n. 4, p. 527-535, 2006.

ANDERSON, N. A. The genetics and pathology of *Rhizoctonia solani*. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 20, p. 329-347, 1982.

ATHAYDE SOBRINHO, C.; VIANA, F. M. P.; SANTOS, A. A. dos. Doenças fúngicas e bacterianas. In: FREIRE FILHO, F. R.; ARAÚJO LIMA, J. A.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão-caupi: Avanços tecnológicos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. cap. 12, p. 461-484.

ASSUNÇÃO, I. P.; M. FILHO, L. R.; RESENDE, L. V.; BARROS, M. C. S.; LIMA, G. S. A.; COELHO, R. S. B.; LIMA, J. A. A. Genes diferentes podem conferir resistência ao *Cowpea severe mosaic virus* em caupi. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 3, p. 274-278, 2005.

BARRETO, F. A. S.; PEREIRA, W. V.; CIAMPI, M. B.; CÂMARA, M. P. S.; CERESINI, P. C. Associação de *Rhizoctonia solani* Grupo de Anastomose 4 (AG-4 HGI e HGIII) à espécies de plantas invasoras de área de cultivo de batata. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 36, n. 2, p. 145-154, 2010.

BASTOS, C. N. Possibilidade do controle biológico da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciosa*) do cacauero. In: BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. 388 p. (EMBRAPA-CNPDA. Documentos, 15).

BEDENDO, I. P. Damping-off. In: AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; RESENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011. v. 1, cap. 22, p. 820-828.

BENHAMOU, N.; CHET, I. Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*: Ultrastructure and gold cytochemistry of the mycoparasitic process. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 83, n. 10, p. 1062-1071, 1993.

BENINI, P. C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; KLAIS, E. C.; CRUZ, M. E. S.; ITAK, A. T.; MESQUINI, R. M.; STANGARLIN, J. R.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B. Efeito *in vitro* do óleo essencial e extrato aquoso de *Ocimum gratissimum* colhido nas quatro estações do ano sobre fitopatógenos. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 4, p. 677-683, 2010.

BENÍTEZ, T.; RICÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, Barcelona, v. 7, n. 4, p. 249-260, 2004.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Solos supressivos. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: Imprensa Universitária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2005. cap. 6, p. 125-152.

BETTIOL, W. Métodos alternativos para o controle de doenças de plantas. In: MICHEREFF, S. J.; BARROS, R. **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2001. cap. 5, p.123-139.

BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1991. 388 p.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, cap. 37, p.333-349.

BLUM, L. E. B. Controle biológico de fitopatógenos. In: BLUM, L. E. B.; CARES, J. E.; UESUGI, C. H. **Fitopatologia: O estudo das doenças de plantas**. 1. ed. Brasília: otimismo, 2006. Cap. ?, p.196-205.

BOLKAN, H. A.; RIBEIRO, W. R. C. Anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia* isolates from Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 69, n. 7, p. 599-601, 1985.

BOTELHO, M. A.; NOGUEIRA, N. A. P.; BASTOS, G. M. FONSECA, S. G. C.; LEMOS, T. L. G.; MATOS, F. J. A.; MONTENEGRO, D.; HEUKELBACH, J. ; RAO, V. S.; BRITO, G. A. C. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 40, n. 3, p. 349-356, 2007.

CARDOSO, M. J.; RIBEIRO, V. Q. Desempenho agrônômico do feijão-caupi, cv. Rouxinol, em função de espaçamentos entre linhas e densidades de plantas sob regime de sequeiro1 **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 37, n. 1, p. 102-105, 2006.

CARLING D. E.; POPE, E. J.; BRAINARD, K. A.; CARTER, D. A. Characterization of mycorrhizal isolates of *Rhizoctonia solani* from an orchid, including AG-12, a new anastomosis group. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 89, n. 10, p. 942-946, 1999.

CARLING D. E.; BAIRD, R. E.; GITAITIS, R. D.; BRAINARD, K. A.; KUNIAGA, S. Characterization of AG-13, a newly reported anastomosis group of *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 92, n. 8, p. 893-899, 2002.

CARNEIRO, S. M. T. P. G.; PIGNONI, E.; VASCONCELLOS, M. E. C.; GOMES, J. C. Eficácia de extratos de nim para o controle do oídio do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v. 33, n. 1, p. 34-39, 2007.

CARVALHO, R. R. C.; LARANJEIRA, D.; CARVALHO FILHO, J. L. S.; SOUZA, P. E. de; BLANK, A. F.; ALVES, P. B.; JESUS, H. C. R. de; WARWICK, D. R. N. *In vitro* activity of essential oils of *Lippia sidoides* and *Lippia gracilis* and their major chemical components against *Thielaviopsis paradoxa*, causal agent of stem bleeding in coconut palms. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 2, p. 241-244, 2013.

CARVALHO FILHO, M. R.; DE MELLO, S. C. M.; DOS SANTOS, R. P.; MENÊZES, J. E. **Avaliação de isolados de *Trichoderma* na promoção de crescimento, produção de ácido indolacético *in vitro* e colonização endofítica de mudas de Eucalipto.** Brasília: Embrapa, 2008. 16 p. (EMBRAPA. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 226).

COELHO NETO, R. A.; FERREIRA, A. A. B.; NODA, H. Manejo da podridão-de-Sclerotium em pimentão em um argisolo no Amazonas. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 43, n.3, p. 315-122, 2013.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens.** Saint Paul: The American Phytopathological Society, 1983. 539 p.

COSTA, S. M. C.; LEMOS, T. L. G.; PESSOA, O. D. L.; ASSUNÇÃO, J. C. C.; BRAZ-FILHO, R. Constituintes químicos de *Lippia sidoides* (Cham.) Verbenaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.12, suplemento, p. 66-67, 2002.

COSTA, J. L. S.; MENGE, J. A.; COSALE, W.L. Investigations on some of the mechanisms by which bioenhanced mulches can suppress *Phytophthora* root rot of avocado. **Microbiological Research**, Jena, Alemanha, v. 151, n. 2, p. 183-192, 1996.

CUBETA, M. A.; VILGALYS, R. Population biology of the *Rhizoctonia solani* complex. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 87, n. 4, p. 480-484, 1997.

EKEN, C.; DEMIRCI, E. Anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* and Binucleate *Rhizoctonia* isolates from bean in Erzurum, Turkey. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, Italy, v. 86, n. 1, p. 49-52, 2004.

EMBRAPA MEIO NORTE. **Cultivo do feijão-caupi.** Sistemas de Produção, 2. Versão Eletrônica, 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoCaupi/autores.htm>>. Acesso em: 18 nov. 2013.

EPAMIG. **Plantas medicinais e aromáticas.** Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 31, n. 255, p. 70-77, 2010.

FALTIN, F.; LOTTMANN, J.; GROSCH, R.; BERG, G. Strategy to select and assess antagonistic bacteria for biological control of *Rhizoctonia solani* Kühn. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 50, n. 10, p. 811-820, 2004.

FAO – Fao-Food and Agriculture Organization. Faostat. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>> Acesso em: 10 nov. 2012.

FAO. Faostat - Agricultural statistics database. Rome: World Agricultural Information Centre, 2007. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 07 jun. 2009.

FARIA, A. Y. K.; ALBUQUERQUE, M. V. F.; NETO, D. C. Qualidade fisiológica de sementes de algodoeiro submetidas a tratamentos químico e biológico. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 121-127, 2003.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; F. R.; ROCHA, M. M.; SILVA, K. J. D.; NOGUEIRA, M. S. R. **Feijão-caupi no Brasil**: Produção, melhoramento genético, avanços e desafios. Teresina: Embrapa meio norte, 2011. 84 p.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D.; SANTOS, C. A. F. Melhoramento genético de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] na região do Nordeste. Disponível em: <<http://www.cpatas.embrapa.br>>. Acesso em: 10 jan. 2006.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D.; SANTOS, A. A. dos. Melhoramento genético. In: FREIRE FILHO, F. R.; ARAÚJO LIMA, J. A.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão-caupi**: avanços tecnológicos. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. cap. 1, p. 27-92.

FREIRE FILHO, F. R.; ARAÚJO LIMA, J. A.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão-caupi**: avanços tecnológicos. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 519 p.

FOSTER, R. Inativação do vírus do mosaico comum do fumo pelo filtrado de culturas de *Trichoderma* sp. **Bragantia**, Campinas, v. 10, n. 5, p. 139-148, 1950.

GOMES FILHO, R. R.; TAHIN, J. F. Respostas fisiológicas de cultivares de caupi (*Vigna unguiculata*, L.) eretos e decumbentes a diferentes níveis de irrigação. **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v. 10, n. 1-4, p. 56-60, 2002.

GONÇALVES, A. H. **Atividade fungitóxica dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* Cham. e de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf. no controle de fitopatógenos do feijoeiro comum.** 2012. 90 f. Dissertação (Mestrado em produção vegetal) - Universidade Federal do Tocantins.

GÖRGEN, C. A.; SILVEIRA NETO, A. N.; CARNEIRO, L. C.; RAGAGNIN, V.; LOBO JUNIOR, M. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 12, p. 1583-1590, 2009.

GOULART, A. C. P. Efeito do tratamento de sementes de algodoeiro com fungicidas no controle do tombamento de plântulas causado por *Rhizoctonia solani*, sob condições de casa de vegetação, **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, n. 5, p. 2008.

GOULART, A. C. P. Efeito do tratamento de sementes de algodão com fungicidas no controle do tombamento de plântulas causado por *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 4, p. 399-402, 2002.

GRANGEIRO, T. B.; CASTELLON, R. E. V.; ARAÚJO, F. M. M. C. de; SILVA, S. M. S.; FREIRE, E. A.; CAJAZEIRAS, J. B.; NETO, M. A.; GRANGEIRO, M. B.; CAVADA, B. S. Composição bioquímica da semente. In: FREIRE FILHO, F. R.; ARAÚJO LIMA, J. A.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão-Caupi: avanços tecnológicos.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. cap. 9, p.337-365.

GRIGOLETTI JR, A.; SANTOS, A. F. dos; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, Curitiba, v. 30, n. 12, p. 155-165, 2000.

HA, T.N. Using *Trichoderma* species for biological control of plant pathogens in vietnam. **Journal International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences**, Laguna, v.16, n.1, p.17-21, 2010.

HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 96, n. 2, p. 190-194, 2006.

HARMAN, G. E. HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 84, n. 4, p. 377-393, 2000.

HILLEN, T.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; MESQUINI, R. M.; CRUZ, M. E. S.; STANGARLIN, J.R.; NOZAKI, M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicos *in vitro* e no tratamento de sementes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 3, p. 439-445, 2012.

HERBARIUM. **Introdução a fitoterapia**: Utilizando adequadamente as plantas medicinais. 2^a ed. Colombo: Herbarium Lab. Bot. Ltda, 2011, 104 p.

KUNIEDA-ALONSO, S.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A. Sobrevivência de micélio e escleródios de *Rhizoctonia solani* tratados com *Trichoderma* spp., em restos de cultura de *Eucalyptus* sp. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 164-168, 2005.

LEACH, L. D.; GARBER, R. H. Control of *Rhizoctonia solani*. In: PARMETER, J. R. ***Rhizoctonia solani*: Biology and pathology**. Berkeley, University of California, 1970. 478 p.

LEMONS, T. L. G.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A.; CLARK, A. M.; McCHESNEY, J. D. Antimicrobial activity of essential oils of Brazilian plants. **Phytotherapy Research**, London, v. 4, n. 2, p. 82-84, 1990.

LEWIS, J. A.; LUMSDEN, R. D. Biocontrol of damping-off of greenhouse-grown crops caused by *Rhizoctonia solani* with a formulation of *Trichoderma* spp. **Crop Protection**, Guilford, v. 20, n. 1, p. 49-56, 2001.

LIMA; J. A. A.; SITTOLIN, I. M.; LIMA, R. C. A. Diagnose e estratégias de controle de doenças ocasionadas por vírus. In: FREIRE FILHO, F. R.; ARAÚJO LIMA, J. A.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão-caupi**: avanços tecnológicos. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. cap. 11, p.403-459.

LISBOA, B. B.; BOCHESSEII, C. C.; VARGASI, L. K.; SILVEIRA, J. R. P.; RADINI, B.; DE OLIVEIRA, A. M. R. Eficiência de *Trichoderma harzianum* e *Gliocladium viride* na redução da incidência de *Botrytis cinerea* em tomateiro cultivado sob ambiente protegido. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 5, p. 1255-1260, 2007.

LOHMANN, T. R.; PAULINO, B. V.; YAMAMOTO, S.; LOPES, R. B.; FONSECA, E. D. da; MASCARIN, G. M. Efeito da aplicação de *Trichoderma harzianum* na supressão de doenças e no desenvolvimento de mudas de eucalipto. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, v. 4, n. 2, p. 1256-1259, 2009.

LOPES, R. B. A Indústria no Controle Biológico: Produção e Comercialização de Microrganismos no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas**: Uso e perspectivas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, São Paulo, 2009, cap. 2, p.15-28.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil**: Nativas e exóticas. Nova Odessa, 2002, 512 p.

LOUZADA, G. A. S., CARVALHO, D. D. C., MELLO, S. C. M., LOBO JÚNIOR, M., MARTINS, I.; BRAÚNA, L. M. Antagonist potential of *Trichoderma* spp. from distinct agricultural ecosystems against *Sclerotinia sclerotiorum* and *Fusarium solani*. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 9, n. 3, p. 145-149, 2009.

LUCON, C. M. M.; KOIKE, C. M.; ISHIKAWA, A. I.; PATRÍCIO, F. R. A. HARAKAVA, R. Bioprospecção de isolados de *Trichoderma* spp. para o controle de *Rhizoctonia solani* na produção de mudas de pepino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 3, p. 225-232, 2009.

LUZ, W.C. Efeito de bioprotetores em patógenos de sementes e na emergência e rendimento de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 16-20, 2001.

MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, Belém, v. 35, n. 1, p. 274-299, 2012.

MACHADO, C. F.; FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; COSTA, D. S. S. AMORIM, A. F. de. Herança da inflorescência composta da cultivar de feijão-caupi cacheado. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 5, p. 1347-1350, 2007.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, L. B.; GOMES, A. M. A. Controle biológico de doenças radiculares. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: Imprensa Universitária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2005, p. cap. 12, 303-322.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. Plantas Medicinais. Editora: UFV, 1998, 218 p.

MATTOS, S. H.; INNECCO, R.; MARCO, C. A.; ARAÚJO, A. V. **Plantas medicinais e aromáticas cultivadas no Ceará**: Tecnologia de Produção e óleos essenciais. Fortaleza, Séries BNB Ciência e tecnologia, v. 2, 2007, 108 p.

MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R. T. de.; MAGNO JÚNIOR, R. G.; LOPES, E. A. G. L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 83-90, 2007.

MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle Biológico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. v. 1, 1998. p. 17-67.

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

MELO, I. S. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**.

Jaguariúna: EMBRAPA- CNPDA, 1991. 388 p. (EMBRAPA- CNPDA. Documentos, 15).

MENEZES, M.; SOUZA, E. E. B. Avaliação de isolados de *Trichoderma* através da análise eletroforética em gel de poliacrilamida. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, suplemento, p. 308, 1995. resumo 185.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; PERUCH, L. A. M.; MENEZES, M.

Importância dos patógenos e das doenças radiculares em Solos Tropicais. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2005, cap. 1, p. 1-18.

MICHEREFF, S. J.; PEERUCH, L. A. M.; ANDRADE, D. E. G. T. Manejo sustentável de doenças radiculares em solos tropicais. In: MICHEREFF, S. J.; BARROS, R. **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2001. cap. 2, p. 15-69.

MIRANDA, B. A.; LOBO JÚNIOR, M.; CUNHA, M. G. Reação de cultivares do feijoeiro comum às podridões radiculares causadas por *Rhizoctonia solani* e *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiania, v. 37, n. 4, p. 221-226, 2007.

MONTEALEGRE, J.; VALDERRAMA, L.; SÁNCHEZ, S.; HERRERA, R.; BESOAIN, X.; PÉREZ, L. M. BIOLOGICAL Control of *Rhizoctonia solani* in tomatoes with *Trichoderma harzianum* mutants. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 13 n. 2, p. 1-11, 2010.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: Uso e Perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa meio ambiente, São Paulo, 2009. cap. 1, p.7-14.

MUKHERJEE, P. K.; MUKHOPADHYAY, A. N.; SARMAH, D. K.; SHRESTHA, S. M. Comparative antagonistic properties of *Gliocladium virens* and *Trichoderma harzianum* on *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani* - its relevance to understanding the mechanisms of biocontrol. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 143, n. 5, p. 275-279, 1995.

NECHET, K. L.; HALFELD-VIEIRA, B. A. Reação de cultivares de feijão-caupi à mela (*Rhizoctonia solani*) em Roraima. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 2, n. 5, p. 424-428, 2007.

NEIL, A. A. The genetics and pathology of *Rhizoctonia solani*. **Annual Review of Phytopathology**, Palo alto, v. 20, p. 329-347, 1982.

NETO, A. C. A.; ARAÚJO, P. C.; SOUZA, W. C. O.; MEDEIROS, J. G. F.; SANTOS, S. R. N. dos. Atividade antifúngica do óleo essencial de citronela em sementes de erva-doce (*Foeniculum vulgare* mill.) **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável**, Grupo verde de agricultura alternativa, Mossoró, v. 7, n. 1, p. 189-195, 2012.

OGOSHI, A. Introduction - the genus *Rhizoctonia*. In: SNEH, B.; JABAJI-HARE, S.; NEATE, S. M.; DIJST, G. *Rhizoctonia species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996. p. 1-9.

OGOSHI, A. Ecology and Pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn. **Annual Review of Phytopathology**, Palo alto, v. 25, p. 125-143, 1987.

OLIVEIRA, O. R.; TERAQ, D.; CARVALHO, A. C. P. P.; INNECCO, R.; ALBUQUERQUE, C. C. EFEITO de óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia* sobre fungos contaminantes encontrados na micropropagação de plantas. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 39, n. 1, p. 94-100, 2008.

OLIVEIRA, F. P.; LIMA, E. L.; SIQUEIRA JÚNIOR, J. P.; SOUZA, E. L.; BARRETO, H. M. Effectiveness of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) essential oil in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical material. **Revista Brasileira de Farmacognosia, Brazilian Journal of Pharmacognosy**, São Paulo, v. 16, n. 4, p. 510-516, 2006.

PADULOSI, S.; NG, N. Q. Origin, taxonomy and morphology of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In: SING, B. B.; MOHAN RAG, D. R.; DASHIEL, K. E.; JACKAI, L. E. N. **Advances in cowpea research**. Ibadan: International Institute of Tropical Agriculture, 1997. p. 1-12.

PAPAVIZAS, G. C. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology and potencial for biocontrol. **Annual Review of Phytopatology**, Palo Alto, v. 23, p. 23-54, 1985.

PATEKOSKI E, K. S.; PIRES-ZOTTARELLI, C. L.A. Patogenicidade de *Pythium aphanidermatum* a alface cultivada em hidroponia e seu biocontrole com *Trichoderma*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 8, p. 805-810, 2010.

PINHO, J. L. N.; TÁVORA, F. J. A. F.; GONÇALVES, J. A. Aspectos fisiológicos. In: FREIRE FILHO, F. R.; ARAÚJO LIMA, J. A.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão-caupi**: avanços tecnológicos. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. cap. 4, p. 191-210.

PIO-RIBEIRO, G.; ASSIS FILHO, F. M.; ANDRADE, G. P. Doenças do caupi (*Vigna unguiculata*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; RESENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia**: Doenças das plantas cultivadas. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, cap. 24, p. 215-222.

RODRIGUES, E. A.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; SCAPIM, C. A.; FIORI-TUTIDA, A. C. G. Potencial da planta medicinal *Ocimum gratissimum* no controle de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de trigo em sementes de trigo. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringa, v. 28, n. 2, p. 213-220, 2006.

RODRIGUES, A. A. C.; MENEZES, M. Detecção de fungos endofíticos em sementes de caupi provenientes de Serra Talhada e de Caruaru, Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 5, p. 532-537, 2002.

RODRIGUES, F. A.; CORRÊA, G. F.; SANTOS, M. A.; BORGES FILHO, E. L. Fatores envolvidos na supressividade a *Rhizoctonia solani* em alguns solos tropicais brasileiros. **Revista brasileira de ciência do solo**, Campinas, v. 22, p. 239-246, 1998.

SAITO, L. R.; SALES, L. L. S. R.; MARTINCKOSKI, L.; ROYER, R.; RAMOS, M. S.; REFFATTI, R. Aspectos dos efeitos do fungo *Trichoderma* spp. no biocontrole de patógenos de culturas agrícolas. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, Garapuava, v. 2, n. 3, p. 203-208, 2009.

SAMUELS, G.J.; ISMAIEL, A.; BON, M.C.; RESPINIS, S. de.; PETRINI, O. *Trichoderma asperellum* sensu lato consists of two cryptic species. **Mycologia**, v.102, p.944-966, 2010.

SHORESH, M., YEDIDIA, I., AND CHET, I. Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. **Phytopathology**, v.95, p.76-84, 2005.

SILVA, F. J. D. **Estatística da produção de feijão-caupi**. Grupo cultivar, 2011. Disponível em: <http://www.grupocultivar.com.br/site/content/artigos/artigos.php?id=880>. Acesso em: 21 nov. 2013

SILVA, G. S. Nematóides. In: FREIRE FILHO, F. R.; ARAÚJO LIMA, J. A.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. cap. 13, 485-519.

SINGH, B. B., EHLERS, J. D.; SHARMA, B.; FREIRE FILHO, F. R. Recent progress in cowpea breeding. In: FATOKUN, C. A.; TARAWALI, S. A.; SINGH, B. B.; KORMAWA, P. M. TAMÒ, M. **Challenges and opportunities for enhancing sustainable cowpea production**. Ibadan: IITA, 2002. p. 22-40.

SNEH, B.; JABAJI-HARE, S.; NEATE, S. M.; DIJST, G. *Rhizoctonia* species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996. 578 p.

SNEH, B.; BURPEE, L.; OGOSHI, A. **Identification of *Rhizoctonia* species**. Saint Paul: APS Press, Minnesota, 1991. 133 p.

SOUSA, T. G.; BLUM, L. E. B. Uso de *Trichoderma harzianum* e condicionador orgânico de solo para controle da podridão por *Sclerotium rolfsii* em alho. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, Suplemento 1, p. 1616-1623, 2013.

SOUZA, W. M. A.; RAMOS, R. A.; SILVA, I. C. B.; ALVES, L. C.; COELHO, M. C. O. C. C.; MAIA, M. B. S. Atividade *in vitro* do extrato hidroalcoólico de *Lippia sidoides* Cham

sobre larvas de terceiro estágio de nematódeos gastrintestinais (família trichostrongylidae) de caprinos. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 78, n. 1, p. 119-122, 2011.

TERBLANCHÉ, F.C.; KORNELIUS, G. Essential oil constituents of the genus *Lippia* (Verbenaceae) - A literature review. **Journal of Essencial Oil Research**, Taylor and Francis, v. 8, n. 5, p. 471-485, 1996.

TU, C. C.; KIMBROUGH, J.W. Systematic and phylogeny of fungi in the *Rhizoctonia*. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 139, n. 4, p. 454-466, 1978.

VILGALYS, R.; CUBETA, M. A. Molecular systematics and population biology of *Rhizoctonia*. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 32, p. 135-155, 1994.

YANG, P.; XU, C. The biocontrol mechanism of *Trichoderma asperellum* resistance plant pathogenic fungi. **Advanced materials research**. v.726-731, p.452-4528, 2013.

WETZEL, M. M. V. S.; FREIRE, M. S.; FAIAD, M. G. R.; FREIRE, A. B. Recursos genéticos: Coleção ativa e de base. In: FREIRE FILHO, F. R.; ARAÚJO LIMA, J. A.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. cap. 3, p. 157-190.

WOO, S. L, SCALA, F.; RUOCCO, M.; LORITO, M. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 96, n. 2, p. 181-185, 2006.

CAPÍTULO II

Controle biológico da rizoctoniose em feijão-caupi por isolados de *Trichoderma*

Controle biológico da rizoctoniose em feijão-caupi por isolados de *Trichoderma*

Viviane Maria da Silva⁽¹⁾, Francisca Nívia Teixeira da Silva⁽¹⁾, Rejane Rodrigues da Costa e Carvalho⁽¹⁾ Wilson José da Silva Júnior⁽¹⁾ e Delson Laranjeira⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP – 52171-901, Recife, PE, Brasil. E-mail: vmsilva.fito@gmail.com, niviagronomia@yahoo.com.br, rejanercosta@yahoo.com.br, Wilson_jsjunior@hotmail.com, delson@depa.ufrpe.br

*Autor correspondente <delson@depa.ufrpe.com.br>

Ciências Agrárias: Área de Fitopatologia

Autor para correspondência: Delson Laranjeira. Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade, Laboratório de Fungos de solo, Universidade Federal de Pernambuco. Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE, CEP–52171-901, Brasil. (81) 3320-6060.

Resumo: O objetivo do trabalho foi selecionar e identificar isolados de *Trichoderma* no biocontrole da rizoctoniose em feijão-caupi. 53 isolados de *Trichoderma* foram avaliados em casa de vegetação e cinco isolados de *T. asperellum* foram selecionados para testes de biocontrole. Foram avaliados três períodos (0, 4 e 8 dias) de inoculações de *Trichoderma* e este fator não interferiu na eficiência do controle de *R. solani*. Os isolados LCB 72, LCB 79 e LCB 47-TE foram mais eficazes na redução da doença, apresentando índices de eficiência de 42%, 39% e 35%, respectivamente. Quanto à influência da aplicação de *Trichoderma* e da época de plantio do feijão-caupi na severidade da doença, o isolado LCB 47 foi responsável pelo menor índice de severidade (20%) da doença. A idade do inóculo de *Trichoderma* não interferiu na eficiência do controle. Os isolados LCB 72 (67%), LCB 47-TE (65%) e LCB 79 (57%) apresentaram maiores valores de eficiência no controle de *R. solani*. Independente do isolado de *Trichoderma* utilizado, o índice de severidade foi menor quando da utilização de 6g de casca de arroz colonizada pelos isolados de *Trichoderma* na estação de verão. Estes resultados sugerem que os isolados de *Trichoderma* podem ser utilizados no biocontrole de *R. solani*.

Termos para indexação: Antagonista, fitopatógeno, *Rhizoctonia solani*, tombamento, *Vigna unguiculata* L.

Biological control of *Rhizoctonia* canker in cowpea by *Trichoderma* isolates

Abstract: The objective was select and identify *Trichoderma* isolates in biocontrol of *Rhizoctonia* canker in cowpea. 53 *Trichoderma* isolates were evaluated in greenhouse and five *T. asperellum* isolates were selected for biocontrol tests. Were evaluated three inoculations periods (0, 4 and 8 days) of *Trichoderma* and this factor did not affect the efficiency of the control of *R. solani*. The LCB 72, LCB 79 and LCB 47-TE isolates were most effective in reducing disease, with efficiency index of 42 %, 39 % and 35 %, respectively. Regarding the influence of the application of *Trichoderma* and planting time cowpea in disease severity, isolated LCB47 was responsible for the minor severity index (20%) of the disease. The age of the inoculum the *Trichoderma* did not affect the efficiency of control. The LCB 72 isolates (67%), LCB 47-TE (65%) and LCB 79 (57%) showed higher values efficiency in the control of *R. solani*. Regardless of *Trichoderma* used, the index of severity was lower when using 6g of rice husk colonized by *Trichoderma* isolates in summer season. These results suggest that *Trichoderma* isolates may be used in biocontrol of *R. solani*.

Index terms: Antagonist, pathogen, *Rhizoctonia solani*, damping-off, *Vigna unguiculata* L.

Introdução

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.) walp., é uma das fontes alimentares mais importantes e estratégicas para as regiões tropicais e subtropicais do mundo, sendo considerada uma das culturas mais adaptadas, versáteis e nutritivas, entre as espécies cultivadas (Freire Filho et al., 2005). Na região Nordeste do Brasil, a cultura do feijão-caupi é atacada por vários patógenos, destacando-se os fungos que influenciam negativamente a produtividade e a qualidade da produção e são representados por uma ampla diversidade de espécies patogênicas (Athayde Sobrinho et al., 2005).

Rhizoctonia solani Kühn é um fitopatógeno que está amplamente distribuído afetando diferentes culturas de importância econômica (Bautista et al., 2007). Este fungo possui uma ampla gama de hospedeiros, grande capacidade de competição saprofítica, sobrevive no solo colonizando restos de culturas ou através de estruturas de resistência denominadas escleródios (Bianchini et al., 2005; Nechet & Halfeld-Vieira, 2007). A infecção por *R. solani* durante a emergência das plântulas produz cancos profundos, que podem levar ao tombamento de pré ou pós-emergência (Bianchini et al., 2005).

O tratamento de sementes com fungicidas é importante na proteção das plântulas em início do desenvolvimento (Bianchini et al., 2005). No entanto, o uso intensivo de agrotóxicos no controle de doenças na agricultura, tem causado diversos problemas de ordem ambiental, como a contaminação dos alimentos, do solo, da água e dos animais (Morandi & Bettiol, 2009), uma alternativa efetiva no controle de *R. solani* é o uso de agentes de controle biológico (Harman et al., 2004).

Dos fungos com potencial de antagonismo, o gênero *Trichoderma* Pers. é um dos mais pesquisados (Saito et al., 2009), por serem utilizados com mais frequência em estudos de controle biológico (Sallam et al., 2008). Espécies de *Trichoderma* são agentes de controle biológico eficazes no controle de patógenos habitantes de solo e, também, são conhecidos por

sua capacidade de promover o crescimento de plantas. Pesquisas têm mostrado que *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckf. & Nirenberg induz a resistência de plantas a infecções causadas por patógenos (Shoresh et al., 2005), sendo utilizado no controle biológico de um amplo espectro de organismos causadores de doenças de plantas, incluindo fungos, nematóides e bactérias (Samuels et al., 2010). O presente trabalho teve como objetivos selecionar e identificar isolados de *Trichoderma* para o controle biológico da rizoctoniose em feijão-caupi.

Materiais e Métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fungos de solo e em casa de vegetação da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Obtenção dos isolados

Foram utilizados dez isolados de *Rhizoctonia solani* pertencentes à Coleção de Culturas de Fungos Fitopatogênicos da UFRPE, Campus Garanhuns (Tabela 1). Os isolados de *Trichoderma* spp. foram obtidos do Laboratório de Fungos de Solo da UFRPE, da Coleção do Laboratório de Micologia e Patologia de Sementes da Universidade Federal do Ceará, Campus Fortaleza e da Embrapa Semi-Árido (Tabela 2).

Preparo do inóculo de *R. solani*

O inóculo de *R. solani* foi preparado segundo a metodologia descrita por Barbosa, et al. (1995), onde frascos de Erlenmeyer de 250 mL, contendo 50 g de grãos de arroz parbolizado adicionado de 30 mL de água destilada foram preparados, e posteriormente

autoclavados durante 30 minutos a 120 °C, atm. Em cada frasco de Erlenmeyer, foram colocados três discos (5 mm de diâmetro) retirados de uma cultura de *R. solani* cultivada em meio batata-dextrose-ágar (BDA), com sete dias de idade. Os inóculos foram mantidos em laboratório por dez dias à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas (luz/escuro). Após este período, o substrato colonizado pelo patógeno foi acondicionado em sacos de papel autoclavado e colocado para secar nas mesmas condições ambientais por 72 horas, antes de ser triturado em liquidificador e pesado conforme a concentração a ser incorporada ao solo.

Teste de patogenicidade dos isolados de *R. solani*

No teste de patogenicidade foram utilizados dez isolados de *R. solani* visando à seleção do isolado mais agressivo na incitação dos sintomas da doença em plantas de feijão-caupi.

Vasos de plásticos ($1,5 \text{ L}^{-1}$ de capacidade) foram preenchidos com solo (pH= 6,2; P= 381 mg dm^{-3} ; K= $2,80 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; Na= $0,90 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; Ca= $8,40 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; Mg= $0,95 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; H= $3,46 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; Al= $0,0 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; Ca + Mg= $9,35 \text{ mol}_c \text{ dm}^{-3}$; S= $13,1 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; CTC= $16,5 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$) esterilizado em autoclave durante 1 hora a 120 °C; atm por dois dias consecutivos. O solo foi infestado com concentrações de 0,10 e $1,6 \text{ g L}^{-1}$, do arroz triturado e colonizado por *R. solani*. Antes do plantio, as sementes de feijão-caupi, cv. Miranda (IPA-207) foram superficialmente desinfestadas por imersão em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 0,2% por dois minutos e posteriormente lavadas duas vezes em água-destilada-esterilizada (ADE). O plantio das sementes ocorreu após a infestação do solo com *R. solani*. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, durante 14 dias, à temperatura de $32 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa do ar (UR) de 62%. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso com quatro plantas.

A quantificação da severidade da doença foi avaliada aos 14 dias após o plantio do feijão-caupi, com o auxílio de uma escala de notas variando de 0 a 4 (Noronha et al., 1995), onde: 0 = ausência de sintomas, 1 = hipocótilo com pequenas lesões, 2 = hipocótilo com grandes lesões, sem constrição, 3 = hipocótilo totalmente constricto, mostrando tombamento e 4 = sementes não germinadas e/ou plântulas não emergidas. Utilizando os dados obtidos com a escala de notas, foi calculado o índice da doença pela expressão: $IDO = [\sum(\text{grau da escala} \times \text{frequência}) / (\text{número total de unidades} \times \text{grau máximo da escala})] \times 100$ (Mckinney, 1923).

Para a realização dos testes de controle biológico, foi escolhido o isolado de *R. solani* que apresentou o maior índice de severidade da doença, bem como a melhor concentração do inóculo capaz de causar a doença.

Identificação de *R. solani*

O isolado de *R. solani* (CCG80) selecionado no teste de patogenicidade foi identificado em nível de espécie através de taxonomia clássica e, por taxonomia molecular, através das sequências das regiões genômicas ITS1 e ITS2, segundo Kuninaga et al. (1997).

Seleção de isolados de *Trichoderma* para controle biológico

No teste de seleção dos organismos antagonistas foram utilizados 53 isolados de *Trichoderma* para o controle biológico de *R. solani*. A casca de arroz foi utilizada como substrato para o preparo do inóculo de *Trichoderma*. O preparo do substrato foi realizado em sacos de polipropileno contendo 5 g de casca de arroz e adição de 9 mL de água destilada (AD). Os sacos contendo os substratos foram fechados com um auxílio de uma máquina seladora e esterilizados por 40 minutos para posterior inoculação com *Trichoderma*.

Os isolados de *Trichoderma* foram cultivados em meio de cultura BDA, durante sete dias à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de 77% e fotoperíodo de 12horas. As suspensões de conídios de *Trichoderma* spp. foram preparadas com adição de ADE nas placas de Petri e raspagem do crescimento fúngico da superfície do meio de cultura. As suspensões foram filtradas em gaze esterilizada e a determinação da concentração (1×10^7 conídios mL) foi realizada por meio de contagens de conídios em câmara de Neubauer. Após 24horas da esterilização da casca do arroz, a mesma foi inoculada com 2 mL da suspensão de cada isolado de *Trichoderma*. Os sacos contendo os inóculos de *Trichoderma* spp. foram mantidos em bancada do laboratório, durante 28 dias, à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de 75% e fotoperíodo de 12horas.

Vasos de plásticos ($1,5 \text{ L}^{-1}$ de capacidade) foram preenchidos com solo esterilizado e de mesma característica química utilizado no teste de patogenicidade. A infestação do solo com *Trichoderma* spp. foi realizada quatro dias antes da infestação de $0,10 \text{ g L}^{-1}$ de solo do arroz triturado e colonizado pelo isolado de *R. solani* (CCG 80), pertencente ao grupo de anastomose quatro (AG-4) e selecionado em teste de patogenicidade. As sementes de feijão-caupi previamente desinfestadas foram plantadas após infestação do solo com *R. solani*. Os vasos foram mantidos em de casa de vegetação, durante 14 dias, à temperatura de $34 \pm 2^\circ\text{C}$ e UR de 64%. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso com quatro plantas.

A quantificação da severidade da doença foi realizada conforme descrito anteriormente. Os cinco isolados de *Trichoderma* que apresentaram maiores índices de eficiência no controle de *R. solani* foram selecionados para os testes de biocontrole.

Identificação de isolados de *Trichoderma*

Cinco isolados de *Trichoderma* selecionados nos testes de biocontrole foram identificados em nível de espécie através de taxonomia clássica conforme Bisset, (1984) e, por taxonomia molecular, através do sequenciamento das regiões genômicas ITS1 e ITS4.

Efeito do período de inoculação de *Trichoderma* na severidade da rizoctoniose em feijão-caupi

Os inóculos de cinco isolados de *Trichoderma asperellum* (LCB 79, LCB 72, LCB 70, LCB 47 e LCB 47-TE) selecionados em teste de biocontrole, foram preparados conforme descrito no teste de seleção de *Trichoderma* e mantidos em bancada do laboratório, à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de 77% e fotoperíodo de 12horas.

Foram utilizados vasos de plásticos ($1,5 \text{ L}^{-1}$ de capacidade) preenchidos com solo esterilizado e de mesma característica química utilizado no teste de patogenicidade. O solo foi infestado com *Trichoderma* spp. em diferentes períodos (8, 4 e 0 dias) antes da infestação de $0,10 \text{ g L}^{-1}$ de solo do arroz triturado e colonizado por *R. solani*. As sementes de feijão-caupi previamente desinfestadas foram plantadas após a infestação do solo com o patógeno. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, durante 14 dias, à temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ e UR de 53%. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 5x3, representado por cinco isolados de *T. asperellum* e três épocas de inoculação de *Trichoderma*, com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso com quatro plantas. A quantificação da severidade da doença foi realizada conforme descrito anteriormente.

Influência da aplicação de *Trichoderma* e da época de plantio do feijão-caupi na severidade da doença

Para a produção do inóculo de *Trichoderma*, foram utilizados cinco isolados de *T. asperellum* (LCB 79, LCB 72, LCB 70, LCB 47 e LCB 47-TE) selecionados anteriormente. Os inóculos foram preparados conforme descrito no teste de seleção de *Trichoderma* e mantidos em bancada do laboratório, à temperatura de 27 °C, UR de 69%, sob fotoperíodo de 12horas.

O solo previamente esterilizado e de mesma característica química utilizado no teste de patogenicidade foi infestado com os inóculos de *Trichoderma* oito dias antes da infestação de 0,10 g L⁻¹ de solo do arroz triturado e colonizado por *R. solani*. Antes do plantio, as sementes de feijão-caupi foram previamente desinfestadas superficialmente. O plantio ocorreu em vasos de plásticos (1,5 L⁻¹ de capacidade) quatro dias após a infestação do solo com o patógeno. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, durante 14 dias, à temperatura de 38 ± 2°C e UR de 47%. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso com quatro plantas. A quantificação da severidade da doença foi realizada conforme descrito anteriormente.

Efeito da idade do inóculo de *Trichoderma* na severidade da rizoctoniose em feijão-caupi

Os isolados de *T. asperellum* (LCB 79, LCB 72, LCB 70, LCB 47 e LCB 47-TE) foram preparados conforme descrito anteriormente. No entanto, os inóculos foram mantidos em laboratório, por um período de 7, 14, 21 e 28 dias, à temperatura de 26 ± 2°C, UR de 68% e fotoperíodo de 12horas.

Os inóculos de *Trichoderma* foram adicionados ao solo previamente esterilizado e de mesma característica química utilizado no teste de patogenicidade conforme a idade de incubação (7, 14, 21 e 28 dias). A infestação do solo com os antagonistas foi realizada quatro dias antes da infestação de 0,10 g L⁻¹ de solo do arroz triturado e colonizado por *R. solani*. Antes do plantio, as sementes de feijão-caupi foram previamente desinfestadas superficialmente. O plantio ocorreu em vasos de plásticos (1,5 L⁻¹ de capacidade) após a infestação do solo com o patógeno. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, durante 14 dias, à temperatura média de 37 ± 2°C e UR de 46%. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 5x4, representado por cinco isolados de *Trichoderma* quatro idades de inóculos de *T. asperellum*, com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso com quatro plantas. A quantificação da severidade da doença foi realizada conforme descrito anteriormente.

Avaliação de diferentes concentrações de inóculos de *Trichoderma* na severidade da rizoctoniose em feijão-caupi

Os inóculos dos isolados de *T. asperellum* (LCB 79, LCB 72, LCB 70, LCB 47 e LCB 47-TE) foram preparados conforme descrito anteriormente. No entanto, os substratos para produção do inóculo de *Trichoderma* foram preparados em sacos de polipropileno nas quantidades de (6, 8 e 10g de casca de arroz por saco), com adição de 10, 13 e 16 mL de AD, respectivamente. Após 24horas da esterilização da casca de arroz, cada tratamento foi inoculado com 2, 3 e 4 mL da suspensão (1x10⁷ conídios mL) de *Trichoderma*. Como não houve diferença entre as idades dos inóculos de *Trichoderma* no experimento realizado anteriormente, os inóculos foram mantidos no laboratório durante sete dias, à temperatura de 25 ± 2°C, UR de 72% e fotoperíodo de 12horas.

O primeiro teste experimental foi realizado na estação do verão. Como não houve diferença entre os períodos de inoculação de *Trichoderma* no experimento realizado anteriormente, o solo previamente esterilizado foi infestado com isolados de *T. asperellum* quatro dias antes da infestação de 0,10 g L⁻¹ de solo do arroz triturado e colonizado por *R. solani*. As sementes de feijão-caupi previamente desinfestadas foram plantadas em vasos de plásticos (1,5 L⁻¹ de capacidade) após a infestação do solo com o patógeno. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, durante 14 dias, à temperatura de 36 ± 2°C e UR de 46%. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 5x3, representado por cinco isolados de *T. asperellum* e três concentrações de inóculos, com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso com quatro plantas. A quantificação da severidade da doença foi realizada conforme descrito anteriormente.

O segundo teste experimental foi realizado na estação chuvosa, seguindo a mesma metodologia descrita do primeiro teste e mesmos isolados de *T. asperellum*. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, à temperatura de 32 ± 2°C e UR de 68%. A quantificação da severidade da doença foi realizada conforme descrito anteriormente.

Análises estatísticas

Os dados obtidos nos testes experimentais foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade (P=0,05). As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa computacional SISVAR (Versão 5.1 Build 72; Universidade Federal de Lavras, Brasil).

Resultados e discussão

Teste de patogenicidade

Dentre os dez isolados de *R. solani* avaliados em teste de patogenicidade, os isolados CCG 76 e CCG 78 promoveram 100% de severidade da doença em feijão-caupi, mesmo em baixas concentrações ($0,10\text{g L}^{-1}$) no solo, não diferindo estatisticamente dos isolados CCG 84; CCG 77, CCG 79, CCG 83, CCG 80 e CCG 122, que apresentaram índices de severidade da doença acima de 80% (Tabela 3).

No presente trabalho, as duas concentrações de inóculo de *R. solani* resultaram em índices variáveis de severidade da doença. No entanto, a concentração de $0,10\text{g L}^{-1}$ de inóculo de *R. solani* foi suficiente para causar índices elevados de severidade da doença. Provavelmente, este resultado ocorreu devida a rápida germinação dos propágulos de *R. solani* no solo, colonização do patógeno nos tecidos jovens do hospedeiro e elevada viabilidade dos propágulos de *R. solani* no solo. Segundo Andrade et al. (2005), os elevados níveis de severidade da doença, mesmo em densidades de inóculos muito baixas, indicam a elevada viabilidade e infectividade dos propágulos de *R. solani* no solo.

Também foi observado que houve diferença entre isolados de *R. solani*. O isolado CCG 82 foi responsável pelo menor índice de severidade da doença 22%, mesmo quando sua concentração foi aumentada para $1,6\text{g L}^{-1}$. Por outro lado, o isolado CCG 75 causou 70% de severidade da doença em feijão-caupi, após o aumento da concentração do inóculo no solo (Tabela 3). A diferença na virulência entre isolados de *R. solani* em relação à infecção de plântulas de feijoeiros indica a grande variabilidade patogênica existente entre isolados de *R. solani*, assemelhando-se ao constatado por outros pesquisadores (Michereff Filho et al., 1996; Ogoshi, 1987).

Em estudos realizados por Michereff Filho et al. (1996), as densidades de inóculos (50, 100, 200 e 300 mg Kg⁻¹ de solo) de *R. solani* produziram índices de intensidade da doença que variaram de 32 a 92%. O aumento da doença na cultura do feijoeiro foi diretamente proporcional ao incremento na densidade de inóculo do patógeno, indicando uma correlação positiva entre os fatores.

Da mesma forma, Andrade et al. (2005), testaram várias densidades de inóculos de *R. solani* e observaram que as baixas densidades de inóculos (5, 10 e 25 mg Kg⁻¹ de substrato colonizado) produziram moderadas severidades da doença, que variaram de 13 à 47% e 12 à 43% para os isolados RS-9 e RS10, respectivamente. Densidades de inóculos de 50 a 200 mg Kg⁻¹ de substrato colonizado por *R. solani* produziram elevados níveis de severidade da doença que variam de 58,3 a 81%.

Da mesma forma, índices variados de severidade da doença também foram relatados por Michereff et al. (2008), quando da utilização de 50 mg kg⁻¹ de inóculo de *R. solani* em genótipos de melão. No estudo realizado por Oliveira et al. (2008), a densidade de 72 mg Kg⁻¹ de inóculo de *R. solani* no solo foi suficiente para causar sintomas de tombamento em plantas de cenoura.

Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. para controle biológico de *R. solani*

O isolado de *Trichoderma* LCB 79 foi o mais eficiente na redução da doença em feijão-caupi, apresentando um índice de eficiência de 38%, diferindo significativamente dos demais isolados testados. No entanto, os isolados LCB 72, LCB 70, LCB 47 e LCB 47-TE por apresentarem médias de eficiência igual ou superior a 25%, também foram utilizados nos testes de biocontrole (Tabela 4). Os demais isolados testados, não foram eficientes na redução do tombamento e morte das plantas de feijão-caupi causado por *R. solani*.

No presente estudo, a eficiência do isolado LCB 79 de *T. asperellum* pode estar relacionada com a maior capacidade de competição e parasitismo do antagonista e eficiência na promoção de crescimento das plântulas de feijão-caupi. É provável, que a variação no controle de *R. solani* pelos isolados de *Trichoderma* ocorreu devido a diferenças de mecanismos antagonistas existentes entre os isolados e adaptação dos antagonistas no solo. Além disso, os fatores ambientais podem ter influenciado a eficiência do controle de *R. solani* pelos isolados de *Trichoderma*.

O sucesso do controle de fitopatógenos e da promoção de crescimento por agentes de biocontrole dependerá das propriedades e mecanismos de ação do organismo utilizado no controle biológico, da maior capacidade antagonista, como a produção de antibióticos e competição com os patógenos (Gava & Menezes, 2012; Machado et al., 2012). Contudo, fatores bióticos e abióticos podem reduzir o crescimento da população de fungos de biocontrole no solo influenciando o controle da doença (Bae & Knudsen, 2005; Gava & Menezes, 2012).

Uma variação no controle de *R. solani* por isolados de *Trichoderma* em plantas de tomateiro, foi observada por Montealengre et al. (2010). Segundo os autores, plantas de tomateiro tratadas com isolados de *Trichoderma* Th12 e Th650 mostraram 100% de mortalidade enquanto que, os isolados Th650-NG7, Th12A10.1 e Th11A.80.1 reduziram a mortalidade das plantas que pareceram saudáveis.

Conforme Gava & Menezes (2012), agentes de controle biológico, principalmente fungos do gênero *Trichoderma*, possuem elevada capacidade de competição saprofítica e, são capazes de colonizar efetivamente a rizosfera de plantas proporcionando proteção das raízes, eliminando propágulos de patógenos ou competindo pelos nutrientes existentes. Por outro lado, cabe lembrar que excelentes resultados com antagonistas obtidos em testes *in vitro* podem não ser confirmados em condições de campo, já que esses organismos estão sujeitos às reações diferenciais do hospedeiro e do ambiente (Harman, 1991).

Efeito do período de inoculação de *Trichoderma* na severidade da rizoctoniose em feijão-caupi

Não houve interação entre os fatores períodos de inoculação e isolados de *Trichoderma*. O período de inoculação não interferiu na eficiência do controle de *R. solani* em feijão-caupi. No entanto, houve diferença significativa entre os isolados de *T. asperellum* quanto à eficiência de controle. Os isolados LCB 72, LCB 79 e LCB 47-TE apresentaram médias de eficiência de 42%, 39% e 35%, respectivamente, sendo considerados os mais eficazes na redução da doença (Tabela 5).

No presente trabalho, foi verificado que o período de inoculação de *Trichoderma* não interferiu no controle da doença. É possível, que este resultado tenha ocorrido devido à pequena diferença de tempo entre os períodos de inoculação de *Trichoderma*. Por outro lado, Elad et al. (1980) ao avaliarem o efeito do tipo de inóculo de *Trichoderma* e o tempo de aplicação do biocontrolador no solo, observaram que a porcentagem de plantas doentes de feijoeiro foi menor (4%) quando *Trichoderma* foi aplicado no solo 30 dias antes do plantio. *Trichoderma* também reduziu a incidência da doença em plantas de feijoeiro causada por *S. rolfisii* e *R. solani*. Para os autores, o biocontrole por espécies de *Trichoderma* depende do tipo de inóculo e do tempo de inoculação no solo.

Lewis & Lumsden (2001) avaliaram o tempo de aplicação de formulações a base de *Trichoderma* e observaram que a adição do biocontrolador em solo infestado com *R. solani* duas semanas antes do plantio ou no momento do plantio resultou no controle do tambamento de plantas de pepino e pimenta.

A redução da doença em plântulas de feijão-caupi pelos isolados LCB 72, LCB 79 e LCB 47-TE de *T. asperellum*, sugere uma maior capacidade de adaptação, multiplicação dos isolados de *Trichoderma* no solo e habilidade para competir e parasitar as hifas do patógeno.

Segundo Melo (1998), espécies de *Trichoderma* apresentam-se capazes de inibir fitopatógenos através de competição, parasitismo direto, produção de metabólitos secundários e micoparasitismo de estruturas de resistência de patógenos, como escleródios, esporos e clamidósporos, que em geral, são difíceis de serem destruídos. Em condições de solo adequadas, tais como, pH, textura e umidade e a inexistência de fatores bióticos desfavoráveis, os biocontroladores possuem uma capacidade de crescer e se multiplicar na rizosfera, controlando o patógeno, antes mesmos deste penetrar no hospedeiro (Menezes et al., 2004; Sousa & Blum, 2013).

Influência da aplicação de *Trichoderma* e da época de plantio do feijão-caupi na severidade da doença

Quanto à influência da aplicação de *Trichoderma* e da época de plantio do feijão-caupi na severidade da doença, o isolado *T. asperellum* LCB 47 foi responsável pelo menor índice de severidade da doença (20%), diferindo significativamente dos isolados de *Trichoderma* LCB 79, LCB 72, LCB 47-TE e LCB70, que apresentaram índices de severidade de 51%, 61%, 61% e 66%, respectivamente (Tabela 6).

O isolado LCB 47 além de reduzir a severidade da rizoctoniose, reduziu o tombamento de plântulas de feijão-caupi, sendo considerado o mais eficiente no controle do patógeno. Provavelmente, este resultado ocorreu devido a maior habilidade do isolado em se desenvolver, multiplicar e estabelecer-se no solo mais rapidamente que os outros isolados testados, inibindo o patógeno e conseqüentemente, a redução da doença. É importante lembrar que, o solo foi infestado com o antagonista oito dias antes de *R. solani* e o plantio do feijão-caupi, ocorreu quatro dias após a infestação do solo com o patógeno. O tempo de contato do patógeno e do antagonista na ausência do hospedeiro foi um fator importante na eficiência do controle biológico, promovendo a proteção dos possíveis sítios de infecção. Segundo (Yang &

Xu, 2013), *T. asperellum* produzem antibióticos e muitas enzimas que degradam a parede celular dos fitopatógenos.

Segundo Gava & Menezes (2012), a eficácia de controle das espécies de *Trichoderma* pode está associada às suas características intrínsecas como a habilidade de sobrepor os mecanismos de defesa dos patógenos, produção de metabólitos antibióticos e de enzimas líticas. Da mesma forma, o sucesso de um agente de controle biológico depende da sua capacidade de colonizar a cultura a ser protegida (Parke, 1991; Lisboa et al., 2007). Além disso, o controle de fitopatógenos por agentes de biocontrole também dependerá das propriedades e dos variados mecanismos de ação do organismo antagonista. Espécies de *Trichoderma* possuem característica hiperparasita, pois podem detectar e localizar hifas de fungos suscetíveis, crescendo em sua direção (Machado et al., 2012).

No presente estudo, apesar dos inóculos de *Trichoderma* serem preparados em substrato, que favorece seu desenvolvimento, a temperatura nas condições experimentais pode ter influenciado a eficácia dos isolados de *Trichoderma* LCB 79, LCB 72, LCB 47-TE e LCB70 no biocontrole de *R. solani*. Conforme Elad et al. (1980) a eficiência de *Trichoderma* diminui com o aumento da temperatura. Além disso, o comportamento de *Trichoderma* na rizosfera também pode ser diferente do comportamento *in vitro*. Os mecanismos de ação dos microrganismos são específicos e podem variar conforme a cultura, o ambiente, substrato e a umidade (Machado et al., 2012).

Por outro lado, embora os isolados de *Trichoderma* LCB 79, LCB 72, LCB 47-TE e LCB 70 apresentarem índices de severidade da doença superiores ao isolado LCB 47, os mesmos foram capazes de reduzir a severidade da doença em plântulas de feijão-caupi, quando comparado com a testemunha (Tabela 6).

Efeito da idade do inóculo de *Trichoderma* na severidade da rizoctoniose em feijão-caupi

Não houve interação significativa entre os fatores, isolados de *Trichoderma* e idade do inóculo. A idade do inóculo de *Trichoderma* não interferiu na eficiência do controle de *R. solani*. Porém, os isolados de *T. asperellum* diferiram significativamente entre si, quanto à eficiência de controle. Os isolados LCB 72 (67%), LCB 47-TE (65%) e LCB 79 (57%) apresentaram os maiores valores de eficiência no controle de *R. solani* (Tabela 7).

A eficiência dos isolados de *Trichoderma* LCB 72, LCB 47-TE e LCB 79 verificada no presente estudo, pode está relacionada com a habilidade dos antagonistas em se desenvolver e produzir conídios na casca de arroz independente da idade do inóculo. Segundo Cassiolato et al. (1996), uma importante característica à ser observada na seleção de um organismo antagonista, é a sua habilidade em crescer, colonizar e esporular em seu ambiente. Além disso, a inoculação de *Trichoderma* em um substrato que favoreça seu crescimento e desenvolvimento auxilia no aumento da eficiência do controle (Sousa & Blum, 2013).

A vantagem do uso de *Trichoderma* no controle biológico é que eles são cultiváveis em substratos com diferentes fontes de carbono e nitrogênio (Hjeljord & Tronsmo, 1998), são fortes colonizadores da palha e, apresentam uma poderosa atividade de celulase, sendo por esse motivo, de interesse no controle eficiente de diversos patógenos radiculares (Saito et al., 2009).

Pesquisas têm demonstrado o potencial de *Trichoderma* no controle do tombamento de plantas causado por *R. solani* (Sallam et al., 2008). Conforme Lewis & Lumsden (2001), isolados de *Trichoderma* reduziram o tombamento de plantas de várias culturas causado por *R. solani*. Yang & Xu (2013) relataram que *T. asperellum* é considerado um importante biocontrolador devido a sua habilidade antagônica a fungos patogênicos de plantas.

O biocontrole de fungos fitopatogênicos ocorre por meio da competição de espaço e nutrientes, modificação das condições ambientais, estimulando o crescimento das plantas e seus mecanismos de defesa, produzindo antibióticos, ou mediante o micoparasitismo (Benítez et al, 2004).

Avaliação de diferentes concentrações de inóculos de *Trichoderma* na severidade da rizoctoniose em feijão-caupi

No primeiro teste experimental, não houve interação significativa entre os fatores, isolados de *Trichoderma* e concentração do inóculo. No entanto, houve diferença significativa entre as concentrações de inóculo e, entre isolados de *T.asperellum*. Todas as concentrações de inóculo reduziram significativamente a severidade da doença, quando comparado com a testemunha. Independente do isolado de *Trichoderma* utilizado no controle de *R. solani*, o índice de severidade da doença foi menor quando da utilização de 6 g de casca de arroz colonizada pelos isolados de *T.asperellum*. Os isolados LCB 72, LCB 47, LCB 47-TE e LCB 79 reduziram significativamente a severidade da doença em plântulas de feijão-caupi e apresentaram índices de severidade de 28%, 36%, 37% e 40%, respectivamente (Tabela 8).

Em nosso estudo, a redução na eficiência do controle da rizoctoniose apresentada nas concentrações (8 e 10 g Kg⁻¹ de solo) de inóculo de *Trichoderma*, pode está relacionada com a elevada quantidade da biomassa de *Trichoderma* no solo. Segundo Bae & Knudsen (2005), a elevada biomassa microbiana no solo reduz o crescimento de *Trichoderma* e a eficácia do biocontrole. Este resultado pode ser causado pela competição do nicho ou nutrientes no solo.

Conforme Kok et al. (1996), para que o biocontrole possa acontecer satisfatoriamente, é necessário que a população de *Trichoderma* esteja num limite mínimo no solo. Da mesma forma, é necessária que haja a presença de células vivas do antagonista, bem como, uma base nutritiva disponível. Além disso, a eficiência do biocontrole está correlacionada positivamente

com a taxa de crescimento de *Trichoderma*, preparação de um substrato para o crescimento do antagonista e aplicação no solo e, negativamente, com o nível de infestação do patógeno no solo (Elad et al., 1980).

Por outro lado Elad et al. (1980) trabalhando com *Trichoderma* no controle biológico de *S. rolfsii*, verificaram que o controle do agente patogênico foi mais eficiente quando da utilização de concentrações mais elevadas de *Trichoderma* (7 g Kg⁻¹ de solo) e menores concentrações do patógeno (50 mg Kg⁻¹ de solo) no solo.

No segundo teste experimental, não houve interação significativa entre os fatores, isolados de *Trichoderma* e concentração do inóculo. Houve apenas diferença significativa entre isolados de *Trichoderma* quanto ao controle de *R. solani*. Os isolados de *Trichoderma* LCB 47, LCB 79, LCB 47-TE e LCB 72, reduziram significativamente a severidade da doença em plântulas de feijão-caupi independente da concentração de inóculo utilizada. No entanto, os isolados de *Trichoderma* LCB 47 (47%), LCB 79 (49%), LCB 47-TE (65%) e LCB 72 (66%), apresentaram índices de severidade superiores aos valores apresentados no primeiro teste experimental (Tabela 8).

Este resultado pode estar relacionado com a influência dos fatores ambientais, como a temperatura e umidade das condições experimentais. Segundo Fisher et al. (2010), a influência dos fatores ambientais e de solo, pode afetar o estabelecimento de *Trichoderma* no solo, pois são difíceis de serem mensurados. Além disso, a alta umidade relativa do ar e do solo, geralmente, favorece *R. solani* (Sneh et al., 1996).

Resultados semelhantes foram constatados por Hadar et al. (1979), que utilizaram diferentes concentrações (2, 6, 8 e 10 g Kg⁻¹) de inóculos de *Trichoderma* no controle biológico de *R. solani* e observaram uma redução da porcentagem da doença em mudas de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) em todos os tratamentos testados. Porém, não houve diferença de controle entre as concentrações de *Trichoderma* testadas.

No presente estudo, a introdução dos bioagentes (LCB 72, LCB 47, LCB 47-TE e LCB 79) no solo, além de promover o crescimento das plântulas de feijão-caupi, reduziu o tombamento de pré e pós-emergência. Este resultado indica uma maior capacidade dos isolados de *Trichoderma* para se desenvolver e exercer seus mecanismos antagonistas sobre *R. solani*. Segundo Machado et al. (2012), as espécies do gênero *Trichoderma* são as mais utilizadas no controle de fitopatógenos por serem encontradas em uma vasta diversidade de ambientes, devido à facilidade de serem cultivadas, ao rápido crescimento em um grande número de substratos e versatilidade de ação, como parasitismo, antibiose e competição, além de, atuarem como indutores de resistência das plantas contra as doenças.

O isolado LCB 70 de *T. asperellum* avaliado no presente trabalho, foi o menos eficiente no controle de *R. solani*. Provavelmente, esse resultado ocorreu devido a pouca capacidade do isolado e produzir conídios na casca de arroz. Além disso, eficácia do controle da doença depende da agressividade do isolado biocontrolador (Lewis & Lumsden, 2001).

Conclusões

1. Os isolados de *Trichoderma asperellum* (LCB 72, LCB 47, LCB 47-TE e LCB 79) apresentam potencial antagônico a *Rhizoctonia solani*.
2. Os isolados LCB 79, LCB 72, LCB 47 e LCB 47-TE são eficientes na redução da severidade da rizoctoniose em plântulas de feijão-caupi.

Agradecimentos

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela concessão de bolsa de estudo a Viviane Maria da Silva.

Referências

ANDRADE, D.E.G.T. de; SILVA, C.F.B. da; SILVA, L.G.C. da; MICHEREFF, S.J.; SALES JÚNIOR, R.; ASSIS, T.C de. Influência da densidade do inóculo e de isolados de *Rhizoctonia solani* na severidade da rizoctoniose do meloeiro. **Caatinga**, v.18, p.164-168, 2005.

ATHAYDE SOBRINHO, C.; VIANA, F.M.P.; SANTOS, A.A dos. Doenças fúngicas e bacterianas. In: FREIRE FILHO, F.R.; ARAÚJO LIMA, J.A. de; RIBEIRO, V.Q. (Ed.). **Feijão caupi: Avanços tecnológicos**. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, 2005. p.461-484.

BAE, Y.S.; KNUDSEN, G.R. Soil microbial biomass influence on growth and biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum*. **Biological Control**, v.32, p.236-242, 2005.

BARBOSA, M.A.G.; MICHEREFF, S.J.; MARIANO, R.L.R.; MARANHÃO, E. Biocontrole de *Rhizoctonia solani* em caupi pelo tratamento de sementes com *Pseudomonas* spp. *fluorescentes*. **Summa Phytopathologica**, v.21, p.151-157. 1995.

BAUTISTA, G.; MENDOZA, H.; URIBE, D. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* in native potato (*Solanum phureja*) plants using native *Pseudomonas fluorescens*. **Acta biológica Colombiana**, v.12, p.19-32, 2007.

BENÍTEZ, T.; RICÓN, A.M.; LIMÓN, M.C.; CODÓN, A.C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v.7, p.249-260, 2004.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Doenças do feijoeiro (*Faseolus vulgar*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.) **Manual de Fitopatologia: Doenças de plantas cultivadas**. 4ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p.333-349.

BISSET, J. A revision of the genus *Trichoderma* sp. I Section *Longibrachiatum* sect. **Canadian Journal of Botany**, v.62, p.924-931, 1984.

CASSIOLATO, A.M.R.; BAKER, R.; MELO, I.S de. Parasitismo de *Sclerotinia sclerotiorum* e *S. minor* por mutantes de *Trichoderma harzianum* em segmentos de aipo. **Fitopatologia Brasileira**, v.21, p.120-122, 1996.

ELAD, Y.; CHET, I.; KATAN, J. *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfii* and *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, v.70, p.119-121, 1980.

FISCHER, I.H.; ALMEIDA, A.M. de; FILETI, M.S.; BERTANI, R.M.A.; ARRUDA, M.C. de; BUENO, C. J. Avaliação de passifloraceas, fungicidas e *Trichoderma* para o manejo da podridão-do-colo do maracujazeiro, causada por *Nectria haematococca*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, p.709-717, 2010.

FREIRE FILHO, F.R.; RIBEIRO, V.Q.; BARRETO, P.D.; SANTOS, A.A dos. Melhoramento genético. In: FREIRE FILHO, F.R.; ARAÚJO LIMA, J.A. de; RIBEIRO, V.Q. (Ed.). **Feijão caupi: Avanços tecnológicos**. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, 2005. p.27-92.

GAVA, C.A.; MENEZES, M.E.L. Eficiência de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo. **Revista Ciência Agronômica**, v.43, p.633-640, 2012.

HADAR, Y.; CHET, I.; HENI, Y. Biocontrol control of *Rhizoctonia solani* damping-off with wheat bran culture of *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**, v.69, p.64-68, 1979.

HARMAN, G.E. Seed treatment for biological control of plant disease. **Crop Protection**, v.10, p.166-171, 1991.

HJELJORD, L.; TRONSMO, A. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an Overview. In: HARMAN, G.E.; KUBICEK, C.P. (Ed.). ***Trichoderma and Gliocladium: Enzymes, biological control and commercial applications***. v2. Taylor & Francis e-Library. 1998. p.115-133.

KOK, C.J.; HAGEMAN, P.E.J.; MAAS, P.W.T.; POSTMA, J.; ROOZEN, N.J.M.; VAN VUURDE, J. W. L. Processed manure as carrier to introduce *Trichoderma harzianum*: Population dynamics and biocontrol effect on *Rhizoctonia solani*. **Biocontrol Science and Technology**, v.6, p.147-161, 1996.

KUNINAGA, S.; NATSUAKI, T.; TAKEUCHI, T. Sequence variation of the rDNA ITS regions within and between anastomosis groups in *Rhizoctonia solani*, **Current Genetics**, v.32, p.237-243, 1997.

LEWIS, J.A.; LUMSDEN, R.D. Biocontrol of damping-off of greenhouse-grown crops caused by *Rhizoctonia solani* with a formulation of *Trichoderma* spp. **Crop Protection**, v.20, p.49-56, 2001.

LISBOA, B.B.; BOCHESSEII, C.C.; VARGASI, L.K.; SILVEIRA, J.R.P.; RADINI, B.; OLIVEIRA, A.M.R de. Eficiência de *Trichoderma harzianum* e *Gliocladium viride* na redução da incidência de *Botrytis cinerea* em tomateiro cultivado sob ambiente protegido. **Ciência Rural**, v.37, p.1255-1260, 2007.

MACHADO, D.F.M.; PARZIANELLO, F.R.; SILVA, A.C.F.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v.35, p.274-299, 2012.

MCKINNEY, H.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, v.26, p.195-218, 1993.

MELO, I.S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. (Ed.). **Controle Biológico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. v1. 1998. p.17-67.

MENEZES, M.; MACHADO, A.L.M.; SILVEIRA, M.C.V. da; SILVA, R.L.X da. Biocontrole de *Macrophomina phaseolina* com espécies de *Trichoderma* aplicadas no tratamento de sementes de feijão e no solo. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v.1, p.33-140, 2004.

MICHEREFF FILHO, M.; MICHEREFF, S.J.; SILVA, E.B.; ANDRADE, D.E.G.T.; ANTUNES SOBRINHO, S.; NORONHA, M.A.; MARIANO, R.L.R. Influência de tipos de solo do estado de Pernambuco na intensidade da doença induzida por *Rhizoctonia solani* em feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.21, p.19-25, 1996.

MICHEREFF, S.J.; SILVA, E.B.; ANDRADE, D.E.G.T.; SALES JÚNIOR, R. Reaction of melon genotypes to *Rhizoctonia solani*. **Horticultura Brasileira**, v.26, p. 401-404, 2008.

MONTEALEGRE, J.; VALDERRAMA, L.; SÁNCHEZ, S.; HERRERA, R.; BESOAIN, X.; PÉREZ, L.M. Biological Control of *Rhizoctonia solani* in tomatoes with *Trichoderma harzianum* mutants. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.13, p.1-11, 2010.

MORANDI, M.A.B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: Uso e Perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa meio ambiente, 2009. p.7-14.

NECHET, K.L.; HALFELD-VIEIRA, B.A. Reação de cultivares de feijão-caupi a mela (*Rhizoctonia solani*) em Roraima. **Fitopatologia Brasileira**, v.2, p.424-428, 2007.

NORONHA, M.A.; MICHEREFF, S.J.; MARIANO, R.L.R. Efeito do tratamento de sementes de caupi com *Bacillus subtilis* no controle de *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira**, v.20, p.174-178, 1995.

OGOSHI, A. Ecology and Pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn. **Annual Review of Phytopathology**, v.25, p.125-143, 1987.

OLIVEIRA, A.C.C. de; SOUZA, P.E. de; POZZA, E.A.; MANERBA, F.C.; LOPES, M.F. Metodologias de inoculação de *Rhizoctonia solani* na cultura da cenoura, **Ciência Agrotécnica**, v.32, p.992-995, 2008.

PARKE, J. L. Root colonization by indigenous and introduced microorganisms. In: KEISTER, D.L.; GREGAN, P.B. (Ed.). **The rhizosphere and plant growth**. Boston: Kluwer Academic, 1991. p.33-42.

SAITO, L.R.; SALES, L.L.S.R.; MARTINCKOSKI, L.; ROYER, R.; RAMOS, M.S. de; REFFATTI, R. Aspectos dos efeitos do fungo *Trichoderma* spp. no biocontrole de patógenos de culturas agrícolas. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v.2, p.203-208, 2009.

SALLAM, N.M.A.; ABO-ELYOUSR, K.A.M.; HASSAN, M.A.E. Evaluation of *Trichoderma* species as biocontrol agents for damping-off and wilt diseases of *Phaseolus vulgaris* L. and efficacy of suggested formula. **Egyptian Journal of Phytopathology**, v.36, p.81-93, 2008.

SAMUELS, G.J.; ISMAIEL, A.; BON, M.C.; RESPINIS, S. de.; PETRINI, O. *Trichoderma asperellum* sensu lato consists of two cryptic species. **Mycologia**, v.102, p.944-966, 2010.

SHORESH, M., YEDIDIA, I., AND CHET, I. Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. **Phytopathology**, v.95, p.76-84, 2005.

SNEH, B.; JABAJI-HARE, S.; NEATE, S. M.; DIJST, G. ***Rhizoctonia* species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996. 578 p.

SOUSA, T.G.; BLUM, L.E.B. Uso de *Trichoderma harzianum* e condicionador orgânico de solo para controle da podridão por *Sclerotium rolfsii* em alho. **Bioscience Journal**, v.29, p.1616-1623, 2013.

YANG, P.; XU, C. The biocontrol mechanism of *Trichoderma asperellum* resistance plant pathogenic fungi. **Advanced materials research**. v.726-731, p.452-4528, 2013.

Tabela 1. Isolados de *Rhizoctonia solani* utilizados em teste de patogenicidade em feijão-caupi.

Isolado *CCG	Código	Local	Hospedeiro
CCG-75	A4P19FC	São João – PE	Feijão-comum
CCG-76	A4P6FC	São João – PE	Feijão-comum
CCG-77	Aa17P3	São João – PE	Feijão-caupi
CCG-78	Aa16P9	São João – PE	Feijão-caupi
CCG-79	Aa12P15	São João – PE	Feijão-caupi
CCG-80	A2P6FC	São João – PE	Feijão-comum
CCG-82	Aa10P1	São João – PE	Feijão-caupi
CCG-83	A4P5FC	São João – PE	Feijão-comum
CCG-84	Aa21P2	São João – PE	Feijão-caupi
CCG-122	A2P3	São João – PE	Feijão-caupi

*CCG – Coleção de Culturas de Fungos Fitopatogênicos da Universidade Federal Rural de Pernambuco,

Campus Garanhuns.

Tabela 2. Origem dos isolados de *Trichoderma* spp. utilizados em teste de seleção de controle biológico.

Isolado	Origem
T 2	Laboratório de Fungos de Solo (UFRPE)
T 3	Laboratório de Fungos de Solo (UFRPE)
T 4	Laboratório de Fungos de Solo (UFRPE)
T 5	Laboratório de Fungos de Solo (UFRPE)
T 6	Laboratório de Fungos de Solo (UFRPE)
T 8	Laboratório de Fungos de Solo (UFRPE)
T 9	Laboratório de Fungos de Solo (UFRPE)
T 10	Laboratório de Fungos de Solo (UFRPE)
T 11	Laboratório de Fungos de Solo (UFRPE)
T 12	Laboratório de Fungos de Solo (UFRPE)
T 13	Laboratório de Fungos de Solo (UFRPE)
T 14	Laboratório de Fungos de Solo (UFRPE)
T 15	Laboratório de Fungos de Solo (UFRPE)
T 17	Laboratório de Fungos de Solo (UFRPE)
T 25	Laboratório de micologia e patologia de sementes (UFC – Campus Fortaleza)
T-C	Laboratório de micologia e patologia de sementes (UFC – Campus Fortaleza)
T-Feijão	Laboratório de micologia e patologia de sementes (UFC – Campus Fortaleza)
T 223	Laboratório de Fungos de Solo (UFRPE)
T 225	Laboratório de Fungos de Solo (UFRPE)
T 311	Laboratório de Fungos de Solo (UFRPE)
T 322	Laboratório de Fungos de Solo (UFRPE)
T 4077	Laboratório de Fungos de Solo (UFRPE)
<i>Trichoderma</i> A	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
<i>Trichoderma</i> B	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
<i>Trichoderma</i> B1	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
<i>Trichoderma</i> B2	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
<i>Trichoderma</i> B3	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
<i>Trichoderma</i> C	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
<i>Trichoderma</i> 1	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
<i>Trichoderma</i> 2 E-S	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 47	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 48	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 49	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 47-Te	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 48-Te	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
T 48	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 69	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 70	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 71	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 72	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 79	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 80	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 92	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 160	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 162	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 190	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 191	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 192	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 194	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 195	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 197	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 292	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE
LCB 294	Embrapa Semi-Árido Petrolina/PE

Tabela 3. Avaliação de dez isolados de *Rhizoctonia solani* na severidade da rizoctoniose em feijão-caupi calculado pelo índice de severidade da doença (ISD).

Isolado	Concentração do inóculo (g L⁻¹)	*ISD %⁽¹⁾
CCG-75	0,10	52,00 b ⁽²⁾
CCG-76	0,10	100,00 a
CCG-77	0,10	91,00 a
CCG-78	0,10	100,00 a
CCG-79	0,10	94,00 a
CCG-80	0,10	97,00 a
CCG-82	0,10	28,00 c
CCG-83	0,10	94,00 a
CCG-84	0,10	89,00 a
CCG-122	0,10	98,00 a
CCG-75	1,6	70,00 a
CCG-76	1,6	100,00 a
CCG-77	1,6	91,00 a
CCG-78	1,6	100,00 a
CCG-79	1,6	100,00 a
CCG-80	1,6	100,00 a
CCG-82	1,6	22,00 c
CCG-83	1,6	100,00 a
CCG-84	1,6	97,00 a
CCG-122	1,6	100,00 a
Testemunha	0,0	0,00 d

⁽¹⁾ Índice de severidade da doença.

⁽²⁾ Média originadas de quatro repetições. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Eficiência de 53 isolados de *Trichoderma* spp. no controle biológico de *Rhizoctonia solani* em feijão-caupi.

Isolados de <i>Trichoderma</i>	EFI (%) ⁽¹⁾	Isolados de <i>Trichoderma</i>	EFI (%) ⁽¹⁾
T 11	0,00 e ⁽²⁾	T3	13,00 c ⁽²⁾
T-C	0,00 e	T4	14,00 c
LCB 294	0,00 e	LCB 194	14,00 c
<i>Trichoderma</i> B3	0,00 e	T17	15,00 c
<i>Trichoderma</i> A	0,00 e	T25	16,00 c
LCB 92	0,00 e	LCB 191	16,00 c
<i>Trichoderma</i> B1	0,00 e	T2-ES	16,00 c
T4077	0,00 e	LCB 49	16,00 c
LCB 192	0,00 e	<i>Trichoderma</i> B2	17,00 c
LCB 160	0,00 e	LCB 197	17,00 c
T 322	0,00 e	T6	19,00 c
T14	0,00 e	T-Feijão	19,00 c
15	0,00 e	LCB 80	19,00 c
T 223	6,00 d	T12	19,00 c
LCB 292	6,00 d	T311	21,00 b
T5	8,00 d	LCB 71	22,00 b
T48	8,00 d	LCB 190	22,00 b
LCB 69	8,00 d	<i>Trichoderma</i> B	22,00 b
T8	9,00 d	T2	22,00 b
LCB 48-TE	9,00 d	<i>Trichoderma</i> 1	23,00 b
LCB 195	9,00 d	T9	23,00 b
T10	10,00 d	LCB 47-TE	25,00 b
T13	11,00 d	LCB 70	25,00 b
LCB 162	11,00 d	LCB 47	25,00 b
<i>Trichoderma</i> C	13,00 c	LCB 72	29,00 b
T225	13,00 c	LCB 79	38,00 a
LCB 48	13,00 c		

⁽¹⁾Eficiência dos isolados de *Trichoderma*.

⁽²⁾Médias originadas de quatro repetições. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 5. Eficiência de cinco isolados de *Trichoderma asperellum* na redução da severidade de *Rhizoctonia solani* em feijão-caupi.

Isolados de <i>Trichoderma</i>	*EFI (%) ⁽¹⁾
LCB 70	11,00 b ⁽²⁾
LCB 47	21,00 b
LCB 47TE	35,00 a
LCB 79	39,00 a
LCB72	42,00 a

⁽¹⁾ Eficiência dos isolados de *Trichoderma asperellum*.

⁽²⁾ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 6. Influência de cinco isolados de *Trichoderma asperellum* e da época de plantio do feijão-caupi na redução do índice de severidade da doença (ISD) causado por *Rhizoctonia solani* em feijão-caupi.

Isolados de <i>Trichoderma</i>	*ISD% ⁽¹⁾
	Época do plantio (4dias)
LCB 47	20,00 a ⁽²⁾
LCB 47TE	61,00 b
LCB 70	66,00 b
LCB72	61,00 b
LCB79	51,00 b
Testemunha	89,00 c

⁽¹⁾ Índice de severidade da doença.

⁽²⁾ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 7. Eficiência de cinco isolados de *Trichoderma asperellum* no controle biológico da rizoctoniose em feijão-caupi, causada por *Rhizoctonia solani*.

Isolados <i>Trichoderma</i>	EFI (%) ⁽¹⁾
LCB 70	26,00 b ⁽²⁾
LCB 47	42,00 b
LCB 79	57,00 a
LCB47TE	65,00 a
LCB72	67,00 a

⁽¹⁾Eficiência dos isolados de *Trichoderma asperellum*.

⁽²⁾Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 8. Efeito da concentração do inóculo e de cinco isolados *Trichoderma asperellum* na redução do índice de severidade da doença (ISD) causado por *Rhizoctonia solani* em feijão-caupi.

Concentração do inóculo/g	ISD (%) ⁽¹⁾	Isolados de <i>Trichoderma</i>	Estação de verão	Estação chuvosa
			*ISD (%) ⁽¹⁾	**ISD (%) ⁽²⁾
6	32,00 a ⁽⁴⁾	LCB 72	28,00 a ⁽⁴⁾	66,00 b ⁽⁴⁾
8	44,00 b	LCB 47	36,00 a	47,00 a
10	48,00 b	LCB 47TE	37,00 a	65,00 b
Testemunha	85,00 c	LCB 79	40,00 a	49,00 a
- ⁽³⁾	-	LCB70	65,00 b	71,00 c
-	-	Testemunha	85,00 c	90,00 d

⁽¹⁾Índice de severidade da doença do primeiro teste experimental.

⁽²⁾Índice de severidade da doença do segundo teste experimental.

⁽³⁾Não possui valores. ⁽⁴⁾Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

CAPÍTULO III

Ação de óleos essenciais e no controle de *Rhizoctonia solani* em feijão-caupi

Ação de óleos essenciais no controle de *Rhizoctonia solani* em feijão-caupi

Viviane Maria da Silva⁽¹⁾, Francisca Nívia Teixeira da Silva⁽¹⁾, Rejane Rodrigues da Costa e Carvalho⁽¹⁾, Arie Fitzgerald Blank⁽²⁾ e Delson Laranjeira⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP – 52171-901, Recife, PE, Brasil. E-mail: vmsilva.fito@gmail.com, niviagronomia@yahoo.com.br, rejanercosta@yahoo.com.br, delson@depa.ufrpe.br ⁽²⁾ Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Engenharia Agrônômica, Av. Marechal Rondon, s/n, Jardim Rosa Elze, CEP – 49100-000, São Cristovão, SE, Brasil. E-mail: afblank@ufs.br

*Autor correspondente <delson@depa.ufrpe.com.br>

Ciências Agrárias: Área de Fitopatologia

Autor para correspondência: Delson Laranjeira. Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade, Laboratório de Fungos de solo, Universidade Federal de Pernambuco. Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE, CEP–52171-901, Brasil. (81) 3320-6060.

Resumo - O presente trabalho teve como objetivos avaliar o efeito dos óleos essenciais de *Lippia sidoides*, *L. gracilis* e da atividade antifúngica do 1,8 cineol, timol, p-cymeno, β -coriofileno e γ -terpineno na inibição do crescimento micelial de *Rhizoctonia solani*, bem como avaliar o efeito destes óleos e do timol na redução da severidade da rizoctoniose em feijão-caupi. Os óleos de *Lippia sidoides*, *L. gracilis* e seus principais constituintes químicos foram avaliados na inibição *in vitro* de *R. solani*. Independente do óleo de *Lippia* utilizado, a inibição total de *R. solani* foi obtida a partir da concentração $0,3 \mu\text{L mL}^{-1}$. Dentre as principais subfrações dos óleos essenciais avaliadas na inibição de *R. solani*, a concentração $0,3\mu\text{L mL}^{-1}$ do timol foi responsável por uma inibição de 100% do patógeno. Em estudos realizados em casa de vegetação, a concentração $0,3\mu\text{L mL}^{-1}$ dos óleos essenciais de *Lippia* reduziu a severidade da rizoctoniose em feijão-caupi. O timol reduziu a severidade da rizoctoniose em plantas de feijão-caupi nas concentrações 0,9 e $2\mu\text{L mL}^{-1}$, obtendo uma eficiência de controle de 50, 878% e 45,614%, respectivamente. Estes resultados sugerem que os óleos essenciais de *Lippia* e o timol podem ser utilizados no controle de *R. solani*.

Termos para indexação: controle alternativo, *Lippia sidoides*, *L. gracilis*, tombamento, *Vigna unguiculata* L.

Action of essential oils in control *Rhizoctonia solani* in cowpea

Abstract - This study aimed to evaluate the effect of essential oils from *Lippia sidoides*, *L. gracilis* and antifungal activity of 1,8 cineole, thymol, p-cymene, β -caryophyllene and γ -terpinene in inhibiting the mycelial growth of *Rhizoctonia solani* as well as to evaluate the effect of these oils and thymol in reducing the severity of *Rhizoctonia* canker in cowpea. Oils *Lippia sidoides*, *L. gracilis* and their main chemical constituents been evaluated in the *in vitro* inhibition of *R. solani*. Independent of *Lippia* oil used, the total inhibition of *R. solani* was obtained from the concentration $0,3 \text{ mL}^{-1}$. Among the main essential oils subfractions evaluated in the inhibition of *R. solani*, the concentration $0,3 \text{ mL}^{-1}$ of thymol was responsible for a 100% inhibition of the pathogen. In studies conducted in the greenhouse, the concentration $0,3 \text{ mL}^{-1}$ of the essential oils of *Lippia* reduced the severity of *Rhizoctonia* canker in cowpea. The thymol reduced the severity of *Rhizoctonia* canker in cowpea plants concentrations $0,9$ and $2\mu\text{L mL}^{-1}$, achieving a control efficiency of 50, 878 % and 45,614 %, respectively. These results suggest that the essential oils of *Lippia* and thymol can be used to control *R. solani*.

Index terms: alternative control, *Lippia sidoides*, *L. gracilis*, damping off, *Vigna unguiculata* L.

Introdução

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), também conhecido como feijão-de-corda ou feijão-macassar, é uma planta herbácea, anual, sendo considerada uma das leguminosas mais adaptadas e versáteis, entre as espécies cultivadas (Freire Filho et al., 2005).

Apesar das características positivas da cultura, as doenças são responsáveis pela baixa produtividade da cultura do feijão-caupi no Brasil e em outras partes do mundo (Pio-Ribeiro et al., 2005). A maioria dos agentes etiológicos das doenças do feijão-caupi são transmitidos por sementes, principalmente as doenças causadas por fungos, que possuem uma ampla diversidade de espécies patogênicas e estão presente em diversos habitats, colonizando várias partes vegetais do feijoeiro (Rodrigues & Menezes, 2002; Athayde et al., 2005).

A rizoctoniose é uma doença causada por um fungo *Rhizoctonia solani* Kühn (Reis et al., 2005), sendo considerado um importante fitopatógeno que sobrevive no solo na forma de escleródios e possui uma ampla gama de hospedeiros (Huang et al 2012).

Atualmente, o manejo da doença causada por *R. solani* é realizado por meio de práticas culturais, como a rotação de culturas e métodos que minimizem o contato da planta com o patógeno, como o plantio em condições mais quentes e secas. Fungicidas químicos são frequentemente utilizados quando as perdas causadas por *R. solani* são substanciais. No entanto, o controle cultural e o químico não são completamente eficazes, e a rizoctoniose continua sendo um problema persistente (Huang et al 2012). Uma alternativa ao controle de *R. solani* é a utilização de subprodutos de plantas medicinais como extratos brutos e óleos essenciais.

Nas últimas décadas a exploração da atividade de compostos secundários de plantas medicinais como extrato bruto e óleo essencial tem se tornado uma alternativa no controle de

fitopatógenos, uma vez que apresentam em sua composição, substâncias com propriedades fungicidas (Neto, 2012).

O gênero *Lippia* pertencente à família Verbenaceae é representado por aproximadamente 200 espécies, que são caracterizadas pela presença de óleos essenciais aromáticos com atividade antimicrobiana e compostos, tais como, o timol e o carvacrol. A literatura tem relatado a eficácia dos óleos essenciais a partir de uma ampla variedade de espécies de plantas em promover a inibição do crescimento de muitos fungos patogênicos e também na atuação como acaricidas (Carvalho et al., 2013).

Lippia sidoides Cham, também conhecida como alecrim-pimenta e alecrim-do-nordeste, é uma planta arbustiva e aromática encontrada na região do Nordeste do Brasil, especificamente na caatinga, entre as regiões de Mossoró do Rio Grande do Norte e tabuleiro do Ceará. No óleo essencial de *L. sidoides* encontram-se vários princípios químicos, destacando-se os monoterpenos, como o timol e carvacrol, que promove ao óleo essencial forte ação antimicrobiana (Matos et al., 2007).

Lippia gracilis Schauer, conhecida como alecrim-da-chapada e alecrim-de-tabuleiro, também é uma planta arbustiva e aromática, sendo encontrada na região do semiárido nordestino (Lorenzi & Matos, 2002). Suas folhas são ricas em óleo essencial cuja composição é constituída de timol e carvacrol (Oliveira, 2008).

A exploração da atividade biológica de compostos secundários de extratos brutos ou óleos essenciais pode representar uma forma potencial de controle alternativo de doenças em plantas cultivadas (Carvalho et al., 2013). Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivos avaliar o efeito dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *L. gracilis* e da atividade antifúngica do 1,8 cineol, timol, p-cymeno, β -coriofileno e γ -terpineno na inibição do crescimento micelial de *R. solani*, bem como avaliar o efeito dos óleos de *L. sidoides*, *L. gracilis* e do timol na redução da severidade da rizoctoniose em feijão-caupi.

Material e Métodos

Obtenção do isolado do patógeno

O isolado de *Rhizoctonia solani* (CCG80) pertencente ao grupo de anastomose quatro (AG-4), foi cedido da Coleção de Culturas de Fungos Fitopatogênicos da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Campus Garanhuns e, selecionado em teste prévio de patogenicidade.

Obtenção dos óleos essenciais

Os óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *L. gracilis*, foram extraídos no laboratório de plantas medicinais da Universidade Federal de Sergipe (UFS), através do processo de hidrodestilação com um destilador tipo Clevenger. Cada óleo essencial foi retirado com o auxílio de uma micropipeta e acondicionado em frascos de vidro âmbar, envolto com papel alumínio e mantidos sobre refrigeração.

Análise química dos compostos

A análise química dos compostos presentes nos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *L. gracilis* foi realizada no Laboratório de Química da UFS, sendo encontrada a presença majoritária de dois componentes químicos, o timol e o carvacrol. No óleo de *L. sidoides* foi verificado a presença de 42,33% de timol e 4,56% de carvacrol. No óleo de *L. gracilis*, o carvacrol foi encontrado em maior quantidade 27,59%, seguido do timol 18%. Outros componentes químicos dos óleos essenciais de *Lippia* foram encontrados em baixas

concentrações, como o 1,8 cineol, p-cimeno, γ -terpineno e β -cariofileno, sendo estes selecionados para teste *in vitro* na inibição de *R. solani*.

Atividade antifúngica de óleos essenciais na inibição de *Rhizoctonia solani*

O experimento foi realizado no Laboratório de Fungos de solo da UFRPE. Para a realização do teste *in vitro* foram utilizadas as concentrações (0,04; 0,06; 0,08; 0,1; 0,3; 0,5; 0,7 e 0,9 $\mu\text{L mL}^{-1}$) dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *L. gracilis*. Inicialmente, cada óleo essencial foi adicionado ao meio BDA (Batata-dextrose-ágar) fundente com temperatura máxima de 45 °C, e em seguida, vertido em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Cada placa foi inoculada, no centro, com um disco (5 mm de diâmetro), retirados de uma cultura de *R. solani* cultivada em meio BDA, com sete dias de idade. A testemunha consistiu do patógeno cultivado apenas em meio BDA. As placas foram mantidas à temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa do ar (UR) de 68%, e fotoperíodo de 12 horas (luz/escuro).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2x8, representado por dois óleos essenciais e oito concentrações, com quatro repetições. As avaliações foram realizadas diariamente, através de medições do diâmetro das colônias em dois eixos ortogonais (média das duas medições diametricamente opostas), iniciando-se 24 horas após a inoculação das placas e sempre no mesmo horário, até que um dos tratamentos atingisse o diâmetro total da placa de Petri. As avaliações foram realizadas durante três dias, calculando-se a porcentagem de inibição do crescimento do patógeno dos tratamentos em relação à testemunha, utilizando-se a fórmula:

$$\text{PIC} = \frac{(\text{diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento})}{\text{diâmetro da testemunha}} \times 100$$

Efeito dos óleos de *L. sidoides* e *L. gracilis* na germinação de sementes de feijão-caupi

Primeiramente, as sementes de feijão-caupi, cv. Miranda (IPA-207) foram desinfestadas por imersão em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 0,2% por dois minutos, lavadas duas vezes em água-destilada-esterilizada (ADE) e secas em papel de filtro esterilizado. Antes do tratamento das sementes, os óleos essenciais foram solubilizados em ADE com adição de dimetilsulfóxido (DMSO), até alcançar as concentrações desejadas. Foram utilizadas apenas as concentrações (0,08; 0,1; 0,3; 0,5; 0,7 e 0,9 $\mu\text{L mL}^{-1}$) dos óleos essenciais de *L. sidoides* e *L. gracilis*, testadas no controle *in vitro* de *R. solani*. As sementes foram submetidas ao tratamento de imersão nas soluções de cada óleo essencial por cinco minutos e, em seguida, colocadas sobre papel de filtro esterilizado. A testemunha foi representada por sementes imersas apenas em ADE. Posteriormente, as sementes foram colocadas em caixas gerbox previamente esterilizadas com solução de NaClO, nas quais foram colocadas duas folhas de papel germitest esterilizado em autoclave a 120 °C durante 40 minutos. Em seguida, foram adicionados 10 mL de ADE em cada tratamento. As caixas foram incubadas em BOD à temperatura de 26 °C e fotoperíodo de 12 horas.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. Para cada repetição foram utilizadas 12 sementes. A avaliação foi realizada cinco dias após o tratamento das sementes com os óleos essenciais, através da observação de sementes germinadas e não germinadas.

Efeito dos óleos de *L. sidoides* e *L. gracilis* na severidade de *R. solani* em feijão-caupi

O inóculo de *R. solani* foi preparado segundo a metodologia descrita por Barbosa et al. (1995), onde frascos de Erlenmeyer de 250mL, contendo 50 g de arroz parbolizado descascado adicionado de 30 mL de água destilada foram preparados, e posteriormente

autoclavados durante 30 minutos à 120 °C, atm. Em cada frasco de Erlenmeyer, foram colocados três discos (5 mm de diâmetro) retirados de uma cultura de *R. solani* cultivada em meio BDA, com sete dias de idade. O inóculo de *R. solani* foi mantido em laboratório durante dez dias à temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas. Após este período, o inóculo foi acondicionado em sacos de papel autoclavado e colocado para secar por 72 horas, nas mesmas condições ambientais, antes de ser triturado em liquidificador e pesado conforme a concentração a ser incorporada ao solo.

Para a realização do teste *in vivo*, primeiramente, vasos de plásticos (1,5 L⁻¹ de capacidade) foram preenchidos com solo (pH= 6,2; P= 381 mg/dm³; K= 2,80 c/mol_c/dm³; Na= 0,90 c/mol_c/dm³; Ca= 8,40 c/mol_c/dm³; Mg=0,95 c/mol_c/dm³; H= 3,46 c/mol_c/dm³; Al= 0,0 c/mol_c/dm³; Ca + Mg= 9,35 c/mol_c/dm³; S= 13,1 c/mol_c/dm³; CTC= 16,5 c/mol_c/dm³) esterilizado em autoclave durante uma hora por dois dias consecutivos. As concentrações dos óleos essenciais a partir de 0,3 µL mL⁻¹ foram selecionadas para este teste. As sementes de feijão-caupi foram tratadas com os óleos de *L. sidoides* e *L. gracilis* nas concentrações de 0,3; 0,5; 0,7 e 0,9 µL mL⁻¹. Antes do tratamento das sementes, os óleos essenciais foram solubilizados em ADE com adição de DMSO, até alcançar as concentrações desejadas. O plantio do feijão-caupi foi realizado após infestação do solo com 0,10 g L⁻¹ de solo do arroz triturado e colonizado por *R. solani*. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, durante 14 dias, à temperatura de 33 ± 2 °C e UR de 47%. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso com quatro plantas.

A quantificação da severidade da doença foi avaliada aos 14 dias após o plantio do feijão-caupi, com o auxílio da escala de notas (Noronha et al., 1995), onde: 0 = ausência de sintomas, 1 = hipocótilo com pequenas lesões, 2 = hipocótilo com grandes lesões, sem constrição, 3 = hipocótilo totalmente constricto, mostrando tombamento e 4 = sementes não germinadas e/ou plântulas não emergidas. Utilizando os dados obtidos com a escala de notas,

foi calculado o índice da doença pela expressão: $IDO = [\Sigma(\text{grau da escala} \times \text{freqüência}) / (\text{número total de unidades} \times \text{grau máximo da escala})] \times 100$ (Mckinney, 1923).

Atividade antifúngica de cinco subfrações dos óleos essenciais na inibição de *R. solani*

Para a realização do teste *in vitro* foram utilizadas as concentrações de 0,1; 0,3; 0,5 e 0,7 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de 1,8 cineol, timol, p-cymeno, β -cariofileno e γ -terpineno. Cada composto foi adicionado ao meio BDA fundente, seguindo a mesma metodologia descrita do teste *in vitro* com óleos essenciais. As placas foram mantidas à temperatura de 25 ± 2 °C, UR de 66% e fotoperíodo de 12 horas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro concentrações e quatro repetições. As avaliações foram realizadas conforme descrito no teste *in vitro* com óleos essenciais, durante três dias, calculando-se o PIC dos tratamentos em relação à testemunha. O constituinte químico que apresentou o melhor resultado na inibição *in vitro* de *R. solani* foi selecionado para os demais testes.

Efeito do timol na germinação de sementes de feijão-caupi

Foi utilizada a mesma metodologia descrita no teste de germinação de sementes com óleos essenciais. As sementes de feijão-caupi foram tratadas com o timol nas concentrações de 0,3; 0,5; 0,7; 0,9; 2; 4; 6 e 8 $\mu\text{L mL}^{-1}$. As caixas gerbox foram incubadas em BOD à temperatura de 26 °C sob fotoperíodo de 12 horas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. Para cada repetição foram utilizadas 12 sementes. A avaliação foi realizada cinco dias após o tratamento das sementes com o timol, através da observação de sementes germinadas e não germinadas.

Efeito do timol na severidade de *R. solani* em feijão-caupi

O preparo do inóculo de *R. solani* foi realizado segundo a metodologia descrita por Barbosa et al. (1995). Vasos de plásticos (1,5 L⁻¹ de capacidade) foram preenchidos com solo esterilizado e de mesma característica química utilizado no teste com óleos essenciais. Para a realização deste teste, foram utilizadas as concentrações de timol que não interferiram na germinação das sementes de feijão-caupi. Antes do tratamento das sementes, o timol foi solubilizado em ADE com adição de DMSO, até alcançar as concentrações 0,3; 0,5; 0,7; 0,9 e 2 µL mL⁻¹. O plantio do feijão-caupi foi realizado após infestação do solo com 0,10 g L⁻¹ de solo do arroz triturado e colonizado por *R. solani*. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, durante 14 dias, à temperatura de 35,5 ± 2°C e UR de 47%.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso com quatro plantas. A quantificação da severidade da doença foi avaliada conforme a metodologia descrita anteriormente.

Análises estatísticas

Os dados obtidos nos testes experimentais foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade (P=0,05). As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa computacional Sisvar.

Resultados e Discussão

Atividade antifúngica dos óleos essenciais na inibição de *Rhizoctonia solani*

Não houve interação significativa entre os fatores, óleos essenciais e concentrações. O crescimento micelial de *R. solani* foi inibido independente do óleo de *Lippia* utilizado. Uma inibição de 100% do crescimento micelial do patógeno foi observada a partir da concentração $0,3 \mu\text{L mL}^{-1}$ dos óleos essenciais de *L. sidoides* e *L. gracilis* (Tabela 1).

No presente trabalho, a atividade antifúngica exercida pelo óleo essencial de *L. sidoides* na inibição do crescimento micelial de *R. solani* (Tabela 1), provavelmente, ocorreu devida a presença do timol (42,33%) que se encontra em maior quantidade no óleo de *L. sidoides* e do carvacrol (4,56%). Este resultado concorda com o relatado por Gonçalves (2012), que obteve resultado semelhante utilizando o óleo essencial de *L. sidoides*. Segundo o autor, a concentração $400 \mu\text{g mL}^{-1}$ do óleo de *L. sidoides* apresentou efeito fungitóxico promovendo uma inibição de 100% do crescimento micelial de *R. solani* e *Sclerotium rolfsii* Sacc. Da mesma forma Oliveira et al. (2008) verificaram a eficiência dos óleos essenciais de *Lippia* spp. na inibição do crescimento micelial de fungos contaminantes, de maneira similar ao fungicida Carbendazin. Carvalho et al. (2013), avaliaram o efeito dos óleos de *L. sidoides* e *L. gracilis* na inibição *in vitro* de *Thielaviopsis paradoxa* (De Seynes) Höhn. e constataram que o óleo de *L. sidoides* inibiu o patógeno, em todas as concentrações (0,2; 0,5; 1,0 e $3,0 \mu\text{L mL}^{-1}$) testadas.

Em nosso estudo a inibição do crescimento micelial de *R. solani* pelo óleo de *L. gracilis* (Tabela 1), pode ser atribuída a presença do carvacrol (27,59%) seguido do timol (18,00%), os quais são conhecidos por apresentarem atividade microbiana sobre vários patógenos. Conforme Neto (2010), a atividade microbiana do óleo de *L. gracilis* tem sido atribuída à presença de compostos, tais como o carvacrol, terpinol, cineol, cimeno e timol.

Da mesma forma, Albuquerque et al. (2006) constataram a atividade antimicrobiana do óleo de *L. gracilis* sobre vários fungos contaminantes de laboratório. Segundo os autores, a concentração de 420 $\mu\text{L mL}^{-1}$ inibiu completamente todos os fungos, exceto para *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn e *Aspergillus niger* Tieg. No presente trabalho, pode-se concluir que os óleos de *L. sidoides* e *L. gracilis* foram eficientes na inibição do patógeno.

Efeito de óleos de *L. sidoides* e *L. gracilis* na germinação de sementes de feijão-caupi

O óleo de *L. sidoides* não afetou a germinação das sementes de feijão-caupi, independente das concentrações utilizadas. Por outro lado, o óleo de *L. gracilis* reduziu a porcentagem de germinação das sementes nas concentrações 0,7 e 0,9 $\mu\text{L mL}^{-1}$ (Tabela 2). A partir deste resultado, foram selecionadas as concentrações 0,3; 0,5; 0,7 e 0,9 $\mu\text{L mL}^{-1}$ dos óleos essenciais de *L. sidoides* e *L. gracilis* para teste em casa de vegetação.

No presente trabalho, foi observado que o óleo de *L. sidoides* não reduziu a porcentagem de germinação das sementes de feijão-caupi. Este resultado assemelha-se ao constatado por Lobato et al. (2007), que avaliaram o efeito do óleo essencial de pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.) sobre a germinação de sementes de feijão-caupi. Segundo os autores, a germinação das sementes não foi afetada, mesmo com as altas concentrações (0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0) do óleo. No entanto, Alves et al. (2004) avaliando o efeito de extratos voláteis de *L. sidoides* na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa*) obtiveram uma germinação de 95% nas concentrações 0,001 e 0,01% do óleo essencial. Quando a concentração do óleo foi aumentada para 0,1 e 1%, a germinação das sementes foi afetada. Para os autores, os efeitos alelopáticos dos extratos voláteis variaram conforme o aumento da concentração do óleo. Por outro lado, Nagao et al. (2012) avaliaram o efeito do contato direto e o efeito volátil do óleo de *L. sidoides* na germinação de sementes de alface e

verificaram que o óleo de *L. sidoides* inibiu a germinação das sementes independente das concentrações testadas.

A redução da germinação das sementes de feijão-caupi verificadas no presente estudo, a partir da concentração $0,7 \mu\text{L mL}^{-1}$ do óleo essencial de *L. gracilis*, pode está relacionada com a alta concentração de carvacrol (27,59%) e outros componentes químicos, como o timol e p-cimeno presentes no óleo de *L. gracilis*. Conforme Melhorança Filho et al. (2011), efeitos inibitórios sobre a germinação e crescimento de plantas são frequentemente associados à alelopatia. Os efeitos alelopáticos ocorrem através de compostos químicos (aleloquímico) que interferem no desenvolvimento de outra espécie. Dessa forma, um composto que se apresenta tóxico para uma espécie pode ser inócua a outra. Além disso, atividade alelolopática é complexa, atuando de várias maneiras dependendo de muitos fatores intrínsecos à planta ou fatores ambientais (Brito & Santos, 2012).

Efeito de óleos de *L. sidoides* e *L. gracilis* na severidade de *R. solani* em feijão-caupi

Não houve interação significativa entre os fatores, óleos essenciais e concentrações. A concentração $0,3 \mu\text{L mL}^{-1}$ apresentou uma média de eficiência de 37,5% na redução da severidade de *R. solani* em feijão-caupi independente do óleo de *Lippia* utilizado (Tabela 3).

No presente estudo, a redução da severidade da doença em feijão-caupi verificada na concentração $0,3 \mu\text{L mL}^{-1}$ dos óleos de *L. sidoides* e *L. gracilis*, pode está relacionada com a presença do timol e do carvacrol nos óleos essenciais avaliados. Segundo Oliveira et al. (2008), a atividade antimicrobiana de óleos essenciais do gênero *Lippia* é devida provavelmente, aos seus princípios ativos, tais como, o timol e o carvacrol.

Não foi encontrado relatos com óleos de *Lippia* controlando *R. solani* em casa de vegetação. No entanto, Mohamed et al. (2006) avaliando a eficácia de produtos naturais no manejo de doenças de plantas, verificaram que o tratamento de sementes com óleos essenciais

de cravo e capim-limão (*Cymbopogon citratus*) reduziram o tombamento de pré e pós-emergência causado por *R. solani*, *M. phaseolina*, *S. rolfsii* e *F. oxysporum*.

Da mesma forma, Abdel-Kader et al. (2011), avaliando o efeito de óleos essenciais na incidência da podridão radicular em feijão fava (*Vicia fabae*), verificaram que os óleos de craveiro (*Dianthus caryophyllus*), cominho (*Carum carvi*), tomilho (*Thymus vulgaris*), hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) e garânio (*Geranium viscosissimum*) reduziram a incidência da doença causada por *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *R. solani*, *S. rolfsii* e *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. Para Rodrigues, et al. (2006), o tratamento de sementes com extratos e óleos essenciais pode ser uma opção no controle de fitopatógenos.

Segundo Matos (1997), a utilização de subprodutos como óleos essenciais, extratos brutos e tinturas, oriundos de plantas medicinais têm sido estudados uma vez que apresentam na composição substâncias com propriedades fungicidas.

Atividade antifúngica de cinco subfrações dos óleos essenciais na inibição de *R. solani*

Dentre as cinco subfrações dos óleos essenciais avaliadas, a concentração $0,3 \mu\text{L mL}^{-1}$ de timol promoveu uma inibição de 100% do crescimento micelial de *R. solani*. As subfrações dos óleos de *Lippia* avaliadas (1,8 cineol, p-cymeno, β -cariofileno e γ -terpineno), não foram eficientes na inibição *in vitro* do patógeno (Tabela 4).

(Tabela 4), sendo o timol, selecionado para os demais testes. A eficácia do timol na inibição do crescimento micelial de *R. solani* verificada neste estudo, indica que este componente majoritário do óleo de *L. sidoides* possui atividade fungicida, pois conforme Matos et al. (2007), o timol é um constituinte químico encontrado no óleo de *L. sidoides* que possui atividade antimicrobiana e forte ação contra fungos e bactérias patogênicas.

Estes resultados estão de acordo os obtidos por Carvalho et al. (2013), que utilizaram diferentes compostos químicos na inibição de *T. paradoxa*. Conforme os autores, as

concentrações $0,3 \mu\text{L mL}^{-1}$ e $0,5 \mu\text{L mL}^{-1}$ de timol, inibiram completamente o crescimento micelial e a produção de conídios do patógeno. No entanto, os compostos químicos 1,8 cineol, p-cimeno, γ -terpineno e β -Cariofileno, não foram eficazes na inibição de *T. paradoxa* em todas as concentrações testadas.

Numpaque et al. (2011) investigaram a atividade antifúngica do timol e carvacrol na inibição do crescimento de *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds e *Botryodiplodia theobromae* Pat e observaram que a concentração de $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ inibiu completamente o crescimento dos fungos. Da mesma forma, Romero et al. (2013), avaliaram o efeito de monoterpenos naturais na inibição do crescimento de *Corynespora cassicola* (Berk. & M.A. Curtis) C.T. Wei, constataram que o timol inibiu completamente o crescimento micelial *in vitro* do patógeno em todas as concentrações avaliadas. De acordo com os autores, os óleos essenciais que possuem em sua composição o timol e/ou carvacrol apresentam atividade antimicrobiana contra um amplo espectro de microrganismos.

Efeito do timol na germinação de sementes de feijão-caupi

Houve uma redução significativa na porcentagem de germinação das sementes de feijão-caupi nas concentrações 4, 6 e $8 \mu\text{L mL}^{-1}$ de timol (Tabela 5). A partir deste resultado, as concentrações 0,3; 0,5; 0,7; 0,9 e $2 \mu\text{L mL}^{-1}$ de timol foram selecionadas para teste em casa de vegetação.

O efeito negativo das concentrações 4, 6 e $8 \mu\text{L mL}^{-1}$ de timol sobre a germinação das sementes de feijão-caupi no presente estudo (Tabela 5), pode ser atribuído aos efeitos alelopáticos do timol sobre as sementes avaliadas. É provável, que este monoterpeno por ser o principal constituinte do óleo de *L. sidoides*, tenha causado efeitos fitotóxicos nas sementes quando sua concentração foi aumentada. Conforme Marco et al. (2012), os terpenos voláteis, componentes dos óleos essenciais mostram uma importante ação alelopática. O efeito

alelopático negativo pode ser explicado pelo fato de que, no processo da germinação das espécies, juntamente com a água, ocorre a penetração de substâncias alelopáticas (timol) podendo inibir ou retardar o crescimento das células, além de retardar a germinação das sementes.

A alelopatia é um processo pelo qual produtos do metabolismo secundário de um determinado vegetal são liberados, impedindo a germinação das sementes e o desenvolvimento de outras plantas (Alves, et al., 2004). Conforme An et al. (1993), um dado aleloquímico possui dois atributos, inibitório ou estimulatório. Quando em baixa concentração os efeitos alelopáticos podem não ser inibitórios, podendo ocorrer efeitos estimulatórios em determinados casos.

Efeito do timol na severidade de *R. solani* em feijão-caupi

Houve diferença significativa entre os tratamentos avaliados. O timol reduziu a severidade da rizoctoniose em plântulas de feijão-caupi nas concentrações 0,9 e 2 $\mu\text{L mL}^{-1}$, que apresentaram uma eficiência de 50,878% e 45,614%, respectivamente (Tabela 5).

A redução da severidade da doença em feijão-caupi verificada nas concentrações 0,9 e 2 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de timol, pode estar relacionada com a atividade antimicrobiana do constituinte, pois conforme Romero et al. (2013), entre os constituintes dos óleos essenciais, os monoterpenos são relatados por suas atividades inibitórias contra várias bactérias e fungos.

Vários trabalhos vêm sendo realizados buscando demonstrar o potencial da utilização das plantas aromáticas no controle de fitopatógenos (Oliveira, et al., 2008). No entanto, não foi encontrado relatos com o uso do timol no controle *R. solani* em casa de vegetação. Pradhanang et al. (2003), o tratamento do solo com timol e óleos essenciais resultou numa redução da densidade populacional de *Ralstonia solanacearum* e na incidência da murcha bacteriana em plantas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.).

Botelho et al. (2007) avaliaram a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *L. sidoides* e de seus compostos majoritários (timol e carvacrol) no controle de bactérias do gênero *Streptococcus* e do fungo *Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout. Segundo os autores, o óleo de *L. sidoides*, o timol e o carvacrol exibiram uma potente atividade antimicrobiana contra os microrganismos testados.

Da mesma forma Romero et al. (2009), trabalhando com o óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgares*), constituído de 50% de timol, verificaram que o óleo apresentou atividade antifúngica sobre *Myrothecium verrucaria* (Alb. & Schwein.) Ditmar, *C. cassicola*, *Erwinia psidii*, *Sclerotinia minor* Jagger e *Colletotrichum musae* (Berk. & M.A. Curtis) Arx.

Algumas espécies do gênero *Lippia* são caracterizadas pela presença de óleos essenciais com atividade antimicrobiana, devido a presença de monoterpenos, como o timol e o carvacrol (Albuquerque et al., 2006).

Conclusões

1. A concentração $0,3 \mu\text{L mL}^{-1}$ dos óleos essenciais de *Lippia sidoides*, *L. gracilis* e do timol é eficiente no controle *in vitro* de *Rhizoctonia solani*.
2. Os óleos de *Lippia sidoides*, *L. gracilis* e o timol possuem atividade antimicrobiana na inibição de *R. solani*.

Agradecimentos

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela concessão de bolsa de estudo a Viviane Maria da Silva, à pesquisadora Rejane Rodrigues da Costa e Carvalho da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), por ter cedido os óleos essenciais para a realização da pesquisa.

Referências

- ABDEL-KADER, M.M; EL-MOUGY, N.S.; LASHIN, S.M. Essential oils and *Trichoderma harzianum* as an integrated control measure against faba bean root rot pathogens. **Journal of Plant Protection Research**, v.51, p.306-313, 2001.
- ALBUQUERQUE, C.C. de; CAMARA, T.R.; MARIANO, R.L.M.; WILLADINO, L.; MARCELINO JÚNIOR, C.; ULISSES, C. Antimicrobial action of the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.49, p.527-535, 2006.
- ALVES, M.C.S.; MEDEIROS FILHO, S.; INNECCO, R.; TORRES, S.B. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.1083-1086, 2004.
- AN, M, JOHNSON, I.R.; LOVETTE, J.V. Mathematical modeling of allelopathy: biological response to allelochemical and its interpretation. **Journal Chemical Ecology**, v.19, p.2379-2389, 1993.
- ATHAYDE SOBRINHO, C.; VIANA, F.M.P.; SANTOS, A.A. Doenças fúngicas e bacterianas. In: FREIRE FILHO, F.R.; ARAÚJO LIMA, J.A. de; RIBEIRO, V.Q. (Ed.). **Feijão-caupi: Avanços tecnológicos**, Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 461-484.
- BARBOSA, M.A.G. MICHEREFF, S.J.; MARIANO, R.L.R.; MARANHÃO, E. Biocontrole de *Rhizoctonia solani* em caupi pelo tratamento de sementes com *Pseudomonas* spp. *fluorescentes*. **Summa Phytopathologica**, v.21, p.151-157, 1995.

BRITO, I.C.C.; SANTOS, D.R. dos. Alelopatia de espécies arbóreas da caatinga na germinação e vigor de sementes de feijão-macacar. **Revista Verde**, v.7, p.129 -140, 2012.

BOTELHO, M.A.; NOGUEIRA, N.A.P.; BASTOS, G.M.; FONSECA, S.G.C.; LEMOS, T.L.G.; MATOS, F.J.A.; MONNEGRO, D.; HEUKELBACH, J.; RAO, V.S.; BRITO, G.A.C. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.40, p.349-356, 2007.

CARVALHO, R.R.C.; LARANJEIRA, D.; CARVALHO FILHO, J.L.S.; SOUZA, P.E.; BLANK, A.F.; ALVES, P.B.; JESUS, H.C.R.; WARWICK, D.R.N. *In vitro* activity of essential oils of *Lippia sidoides* and *L. gracilis* and their major chemical components against *Thielaviopsis paradoxa*, causal agent of stem bleeding in coconut palms. **Química Nova**, v.36, p.241-244, 2013.

FREIRE FILHO, F.R.; ARAÚJO LIMA, J.A.; RIBEIRO, V.Q. **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 519 p.

GONÇALVES, A. H. **Atividade fungitóxica dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* Cham. e de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf. no controle de fitopatógenos do feijoeiro comum.** 2012. 90p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Tocantins.

HUANG, X.; ZHANG, N.; YONG, X.; YANG, X.; SHEN, Q. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off disease in cucumber with *Bacillus pumilus* SQR-N4. **Microbiological Research**, v.167, p.135-143, 2012.

LOBATO, A.K.S.; SANTOS, D.G.C. dos; OLIVEIRA, F.C. de; GOUVEA, D.D.; TORRES, G.I.O.S.; LIMA JÚNIOR, J.A. de; OLIVEIRA NETO, C.F.; SILVA, M.H.L. da. Ação do óleo essencial de *Piper aduncum* L. utilizado como fungicida natural no tratamento de semente de *Vigna unguiculata* (L.). **Revista Brasileira de Biociência**, v.5, p.915-917, 2007.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: Nativas e exóticas**. Nova Odessa, 2002. 512p.

MARCO, C.A.; TEIXEIRA, E.; SIMPLÍCIO, A.; OLIVEIRA, C.; COSTA, J.; FEITOSA, J. Chemical composition and allelopathic activity of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v.72, p.157-160, 2012.

MATTOS, S.H.; INNECCO, R.; MARCO, C.A.; ARAÚJO, A.V. **Plantas medicinais e aromáticas cultivadas no Ceará: Tecnologia de Produção e óleos essenciais**. Fortaleza, Séries BNB Ciência e Tecnologia v2, 2007. 108p.

MATOS, F.J.A. **As plantas da farmácia viva**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceara, 1997. 57p.

MCKINNEY, H.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, v.26, p.195-218, 1923

MELHORANÇA FILHO, A.L.; OLIVEIRA, W.S.; OLIVEIRA JUNIOR, P.P.; ARAÚJO, M.L. Potencial alelopático de diferentes espécies de plantas daninhas sobre o desenvolvimento de plântulas de feijão. **Ensaios e Ciências**, v.15, p.31-40, 2011.

MOHAMED, A.I.; BAUIOMY, M.A.M.; IBRAHIM, A.S.A. Efficacy of Different Natural Products as Safe Management of Guar Damping-off Disease in Egypt. **Egyptian Journal of Phytopathology**, v.34, p.1-15, 2006.

NAGAO, E.O.; INNECCO, R.; MEDEIROS FILHO, S.; MATTOS, S.H. Efeito do óleo essencial de Alecrim-pimenta na germinação de alface. **Horticultura Brasileira**, v.20, p.1-4, 2002.

NETO, A.C.A.; ARAÚJO, P.C.; SOUZA, W.C.O.; MEDEIROS, J.G.F.; SANTOS, S.R.N. dos. Atividade antifúngica do óleo essencial de citronela em sementes de erva-doce (*Foeniculum vulgare* mill.). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.7, p.189-195, 2012.

NETO, R.M.; MATOS, F.J.A.; ANDRADE, V.S.; MELO, M.C.N. de.; CARVALHO, C.B.M.; GUIMARÃES, S.B.; PESSOA, O.D.L.; SILVA, S.L.; SILVA, S.F.R.; VASCONCELOS, P.R.L. The essential oil from *Lippia gracilis* Schauer, Verbenaceae, in diabetic rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.20, p.261-266, 2010.

NORONHA, M.A.; MICHEREFF, S.J.; MARIANO, R.L.R. Efeito do tratamento de sementes de caupi com *Bacillus subtilis* no controle de *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira**, v.20, p.174-178, 1995.

NUMPAQUE, M.A.; OVIEDO, L.A.; GIL, J.H.; GARCÍA, C.M.; DURANGO, D.L. Thymol and carvacrol: biotransformation and antifungal activity against the plant pathogenic fungi *Colletotrichum acutatum* and *Botryodiplodia theobromae*. **Tropical Plant Pathology**, v.36, p.3-13, 2011.

OLIVEIRA, O.R. de; TERAPO, D.; CARVALHO, A.C.P.P. de; INNECCO, R.; ALBUQUERQUE, C.C. de. Efeito de óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia* sobre fungos contaminantes encontrados na micropropagação de plantas. **Revista Ciência Agronômica**, v.39, p.94-100, 2008.

PIO-RIBEIRO, G, ASSIS FILHO, F.M.; ANDRADE, G.P. Doenças do caupi (*Vigna unguiculata*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**, 4nd ed., São Paulo: Agronômica Ceres, São Paulo, 2005. p.215-222.

PRADHANANG, PM.; MOMOL, M.T.; OLSON, S.M.; JONES, J.B. Effects of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* population density and bacterial wilt incidence in tomato. **Plant Disease**, v.87, p. 423-427, 2003.

REIS, E.M.; CASA, R.T.; HOFFMANN, L.L. Controle Cultural de Doenças Radiculares. Importância dos patógenos e das doenças radiculares em Solos Tropicais. In: MICHEREFF, S.J.; ANDRADE, D.E.G.T.; MENEZES, M. (Ed.). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2005. p. 279-301.

RODRIGUES, E.A.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; SCAPIM, C.A.; FIORI-TUTIDA, A,C,G. Potencial da planta medicinal *Ocimum gratissimum* no controle de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de trigo em sementes de trigo. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.28, p.13-220, 2006.

RODRIGUES, A.A.C, MENEZES, M. Detecção de fungos endofíticos em sementes de caupi provenientes de Serra Talhada e de Caruaru, Estado de Pernambuco. **Fitopatologia brasileira**, v.27, p.532-537, 2002.

ROMERO, D.L.; OLIVEIRA, R.R. de; ROMERO RB, ALMEIDA, A.L. de; DINIZ, S.P.S.S.; VIDA, J.B. Efeito de monoterpenos naturais no crescimento micelial e germinação de conídios de *Corynespora cassicola*. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v.18, p.3-7, 2013.

ROMERO, A.L.; SPECIAN, V.; OLIVEIRA, R.C. de; DINIZ, S.P.S.S. Activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) Essential oil against phytopathogenic fungi, **Revista Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v.11, p.15-8, 2009.

Anexos

Tabela 1. Inibição do crescimento micelial (PIC) de *Rhizoctonia solani* sob diferentes concentrações dos óleos de *Lippia sidoides* e *Lippia gracilis*.

Óleos essenciais	PIC (%) ⁽¹⁾	Concentração ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	PIC (%) ⁽¹⁾
<i>Lippia gracilis</i>	95,86 a ⁽²⁾	0,04	83,73 b ⁽⁴⁾
<i>Lippia sidoides</i>	96,07 a ⁽³⁾	0,06	92,78 a
Testemunha	0,00 c	0,08	94,03 a
- ⁽⁵⁾	-	0,10	97,22 a
-	-	0,30	100,00 a
-	-	0,50	100,00 a
-	-	0,70	100,00 a
-	-	0,90	100,00 a
-	-	Testemunha	0,00 c

⁽¹⁾Porcentagem de inibição do crescimento do patógeno. ⁽²⁾Médias originadas de todas as concentrações do óleo de *Lippia gracilis*. ⁽³⁾Médias originadas de todas as concentrações do óleo de *L. sidoides*. ⁽⁴⁾Médias originadas dos óleos de *L. sidoides* e *L. gracilis*. ⁽⁵⁾Não possui dados. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Avaliação da porcentagem de germinação de sementes de feijão-caupi tratadas com os óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *Lippia gracilis* sob diferentes concentrações.

Óleos essenciais	Concentração ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% Germinação de sementes de feijão-caupi
<i>Lippia sidoides</i>	0,08	96,875 a ⁽¹⁾
<i>Lippia sidoides</i>	0,1	96,876 a
<i>Lippia sidoides</i>	0,3	91,667 a
<i>Lippia sidoides</i>	0,5	91,666 a
<i>Lippia sidoides</i>	0,7	92,708 a
<i>Lippia sidoides</i>	0,9	82,292 a
<i>Lippia gracilis</i>	0,08	95,832 a
<i>Lippia gracilis</i>	0,1	92,710 a
<i>Lippia gracilis</i>	0,3	93,751 a
<i>Lippia gracilis</i>	0,5	90,626 a
<i>Lippia gracilis</i>	0,7	75,000 b
<i>Lippia gracilis</i>	0,9	60,416 c
Testemunha	0,0	96,875 a

⁽²⁾Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Eficiência de quatro concentrações dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *Lippia gracilis* na severidade da rizoctoniose em feijão-caupi.

Concentração ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	EFI (%) ⁽¹⁾
0,3 ⁽²⁾	37,50 a ⁽³⁾
0,5	10,00 b
0,7	11,00 b
0,9	10,00 b

⁽¹⁾Eficiência dos tratamentos.

⁽²⁾Média dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *L. gracilis*.

⁽³⁾Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Porcentagem de inibição do crescimento (PIC) de *Rhizoctonia solani* sob diferentes concentrações de cinco subfrações dos óleos essenciais de *Lippia* (timol, 1,8 cineol, p-cymeno, β -cariofileno e γ -terpineno).

Subfrações	Concentração ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	PIC% ⁽¹⁾
Timol	0,1	53,890 b ⁽²⁾
Timol	0,3	100,000 a
Timol	0,5	100,000 a
Timol	0,7	100,000 a
1,8 Cineol	0,1	0,000 c
1,8 Cineol	0,3	0,000 c
1,8 Cineol	0,5	2,777 c
1,8 Cineol	0,7	9,167 c
p- Cymeno	0,1	0,000 c
p- Cymeno	0,3	1,667 c
p- Cymeno	0,5	3,055 c
p- Cymeno	0,7	6,387 c
β -Cariofileno	0,1	0,000 c
β -Cariofileno	0,3	4,445 c
β -Cariofileno	0,5	7,777 c
β -Cariofileno	0,7	5,277 c
γ -Terpineno	0,1	0,000 c
γ -Terpineno	0,3	0,000 c
γ -Terpineno	0,5	1,390 c
γ -Terpineno	0,7	0,000 c
Testemunha	0,0	0,000 c

⁽¹⁾Porcentagem de inibição do crescimento do patógeno.

⁽²⁾Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 5. Efeito do timol na porcentagem de germinação de sementes de feijão-caupi e na eficiência do controle de *Rhizoctonia solani* em feijão-caupi.

Concentração de timol ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% Germinação ⁽¹⁾	EFI% ⁽²⁾
0,3	83,335 a ⁽⁴⁾	33,334 b ⁽⁴⁾
0,5	90,626 a	28,972 b
0,7	93,751 a	26,314 b
0,9	73,957 a	50,878 a
2,0	70,832 a	45,614 a
4,0	10,416 b	- ⁽³⁾
6,0	25,001 b	-
8,0	15,624 b	-
Testemunha	81,250 a	-

⁽¹⁾Porcentagem de germinação de sementes de feijão-caupi.

⁽²⁾Eficiência dos tratamentos.

⁽³⁾Concentrações de timol não avaliadas.

⁽⁴⁾Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES GERAIS

CONCLUSÕES GERAIS

- Os isolados de *Trichoderma asperellum* LCB 72, LCB 79, LCB47 e LCB 47TE apresentaram potencial antagônico a *Rhizoctonia solani* na cultura do feijão-caupi.
- Os períodos de inoculação de *Trichoderma* não interferiram no controle de *R. solani* em feijão-caupi.
- As idades dos inóculos de *Trichoderma* não influenciaram na eficiência do controle da rizoctoniose em feijão-caupi.
- A concentração de 6g de casca de arroz colonizada por isolados de *T. asperellum* foi mais eficaz na redução na severidade da doença em feijão-caupi na estação do verão.
- Os óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *L. gracilis* apresentam ação antimicrobiana contra *R. solani*.
- A concentração 0,3 $\mu\text{L mL}^{-1}$ dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *L. gracilis* é eficiente na inibição total do crescimento micelial de *R. solani in vitro*.
- O óleo essencial de *Lippia sidoides* não apresentou efeitos inibitórios na germinação de sementes de feijão-caupi.
- A concentração 0,3 $\mu\text{L mL}^{-1}$ dos óleos essenciais de *Lippia* reduziu a severidade da doença em plântulas de feijão-caupi.
- A concentração 0,3 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de timol é eficiente na inibição do crescimento micelial de *R. solani in vitro*.
- O timol possui atividade fungicida na redução da severidade da doença em plântulas de feijão-caupi.