

A quitosana como fungistático no crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* Kuhn

Chitosan as fungistatic mycelial growth of *Rhizoctonia solani* Kuhn

Álvaro Rodrigo Freddo^I Sérgio Miguel Mazaró^{II}
Eleanro José Brun^{II} Américo Wagner Júnior^{II}

– NOTA –

RESUMO

Rhizoctonia solani é um fungo causador de tombamento de plântulas em várias espécies vegetais. A quitosana é um polímero derivado do processo de desacetilação da quitina, a qual é encontrada em grande quantidade na carapaça de crustáceos, insetos e parede celular de fungos. A quitosana tem sido testada para diversos usos, inclusive no controle de fitopatógenos em agricultura, já que apresenta atividade antimicrobiana, para controle de patógenos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito fungistático de diferentes concentrações de quitosana (0; 0,25; 0,5; 1 e 2%) no crescimento micelial do fungo *R. solani* in vitro. Os resultados obtidos demonstraram efeito significativo de quitosana nas diferentes concentrações utilizadas, na redução do crescimento micelial de *R. solani*. Observou-se também aumento do efeito fungistático da quitosana conforme o aumento da dose.

Palavras-chave: tombamento de plântulas, fungo de solo, quitosana, efeito fungistático.

ABSTRACT

Rhizoctonia solani is a fungus that causes damping-off of seedlings in various plant species. Chitosan is a polymer derived from the process of desacetylation of chitin, which is found in large quantities in the exoskeleton of crustaceans, insects and fungal cell wall. Chitosan has been tested for various uses, including the control of plant pathogens in agriculture, since it presents antimicrobial activity to control pathogens. This study aimed to evaluate the fungistatic effect of different chitosan concentrations (0; 0.25; 0.5; 1 and 2%) in mycelial growth in vitro of the fungus *R. solani*. The results showed a significant effect of different concentrations of chitosan, in reducing the mycelial growth of *R. solani*. It was also observed increased fungistatic effect with increasing of the concentration.

Key words: damping-off, soil fungus, chitosan, fungistatic effect.

O fungo *Rhizoctonia solani* Kuhn é o anamorfo do Basidiomiceto *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk (CUBETA & VILGALYS, 1997), sendo considerado um parasita primitivo e não especializado, capaz de causar podridões de sementes e tombamentos de pré e pós-emergência em várias culturas, em condições ambientais muito amplas (MICHEREFF et al., 2005). De acordo com BEDENDO (2011), *R. solani* está entre os agentes causais mais comuns de tombamento de plântulas.

A quitosana é um amino polissacarídeo, derivado da desacetilação da quitina, a qual constitui a maior parte dos exoesqueletos dos insetos, crustáceos e parede celular dos fungos. É considerada, após a celulose, como o composto orgânico mais importante da natureza (AZEVEDO et al., 2007).

Por ser um produto natural, de baixo custo, renovável, abundante e atóxico, a quitosana tem sido proposta como um material potencialmente atraente para usos diversos, como na área alimentícia, biotecnologia, ciência dos materiais, tratamento de água, drogas e produtos farmacêuticos, agricultura, proteção ambiental e terapia genética (AZEVEDO et al., 2007), incluindo a propriedade de não ter quase nenhuma toxicidade ao homem (RAMOS BERGER et al., 2011). Na agricultura, seu emprego está tomando importância pela sua atividade antimicrobiana sobre uma grande variedade de fitopatógenos (EL GHOUTH et al., 1992; EL GHOUTH et al., 1997; BHASKARA REDDY et al., 2000; DEVLIEGHERE et al., 2004).

^IUnião de Ensino do Sudoeste do Paraná (UNISEP), 85660-000, Dois Vizinhos, PR, Brasil. E-mail: alvaro@unisep.edu.br. *Autor para correspondência.

^{II}Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Dois Vizinhos, PR, Brasil.

O objetivo do presente trabalho foi testar o efeito fungistático de diferentes concentrações de quitosana, em teste *in vitro*, no controle do patógeno *R. solani*.

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitossanidade da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos. O isolado de *R. solani* deste estudo foi obtido do Laboratório de Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Pato Branco, e isolado em placas de Petri de vidro, contendo meio BDA (batata, dextrose e ágar), sem uso de antibiótico e mantido incubado em B.O.D. a 25°C±1°C, com fotoperíodo de 12 horas.

As parcelas do experimento foram constituídas por placas de Petri® de vidro de 9cm de diâmetro. O experimento foi realizado em delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco tratamentos: quitosana a 0, 0,25, 0,5, 1 e 2% de concentração e cinco repetições.

Os meios de cultura tiveram a quitosana incorporada a eles através de pré-aquecimento em forno microondas a temperatura aproximada de 40°C, além da adição de ácido acético a 1%. Após, o meio de cultura recebeu a quitosana, em agitador eletromagnético para homogeneizar a mistura. Depois de homogeneizado, o pH dos meios de cultura foi corrigido para o valor de 5,5 com a utilização de hidróxido de sódio 0,1N.

A esterilização foi feita em banho-maria por uma hora à temperatura aproximada de 100°C. A seguir, foram vertidos 18mL de meio de cultura por placa de Petri em câmara de fluxo laminar. As placas sem tampa foram em seguida submetidas à luz-ultravioleta por 20 minutos em câmara de fluxo laminar.

Após a esterilização e solidificação do meio, as placas de Petri receberam discos de 10mm de diâmetro contendo micélio do fungo *R. solani* do isolado do Laboratório de Microbiologia, com 10 dias após a repicagem. Posteriormente, as placas foram tampadas e lacradas com papel filme, transferidas para incubadora e mantidas à temperatura de 25±1°C e fotoperíodo de 12 horas.

A avaliação do experimento foi feita às 48, 72 e 96 horas após a incubação em incubadora com a medição cruzada em centímetros de dois diâmetros pré-definidos na tampa de cada placa, antes do início do crescimento micelial do fungo.

A análise estatística do experimento foi realizada através de análise de variância e de regressão, a 5% de significância, com auxílio do software estatístico Assistat 7.5 BETA.

Os resultados observados demonstraram efeito significativo e inversamente proporcional das diferentes concentrações de quitosana sobre o crescimento micelial do fungo *R. solani* em cultivo *in vitro*, ou seja, havendo diminuição progressiva do crescimento micelial de acordo com o aumento da concentração de quitosana (Figura 1).

Na avaliação ocorrida às 48 horas, a DL50 (concentração de quitosana necessária à inibição de 50% do crescimento micelial do patógeno) foi de 1,93%, já nas demais avaliações, nenhuma concentração testada atingiu a DL50. MUNOZ et al. (2009) citam que, após 10 dias de incubação, a concentração de quitosana em meio BDA, que reduziu o crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. em 50% (DL50), em teste *in vitro*, foi de 2,28%.

Segundo LIU et al. (2007), houve inibição total do crescimento micelial de *Botrytis cinerea* a 5% de concentração a três dias de incubação, enquanto CAMILI et al. (2007) relataram inibição total de *B. cinerea* em cinco dias de incubação, nas concentrações de 0,5, 1, 1,5 e 2% de quitosana.

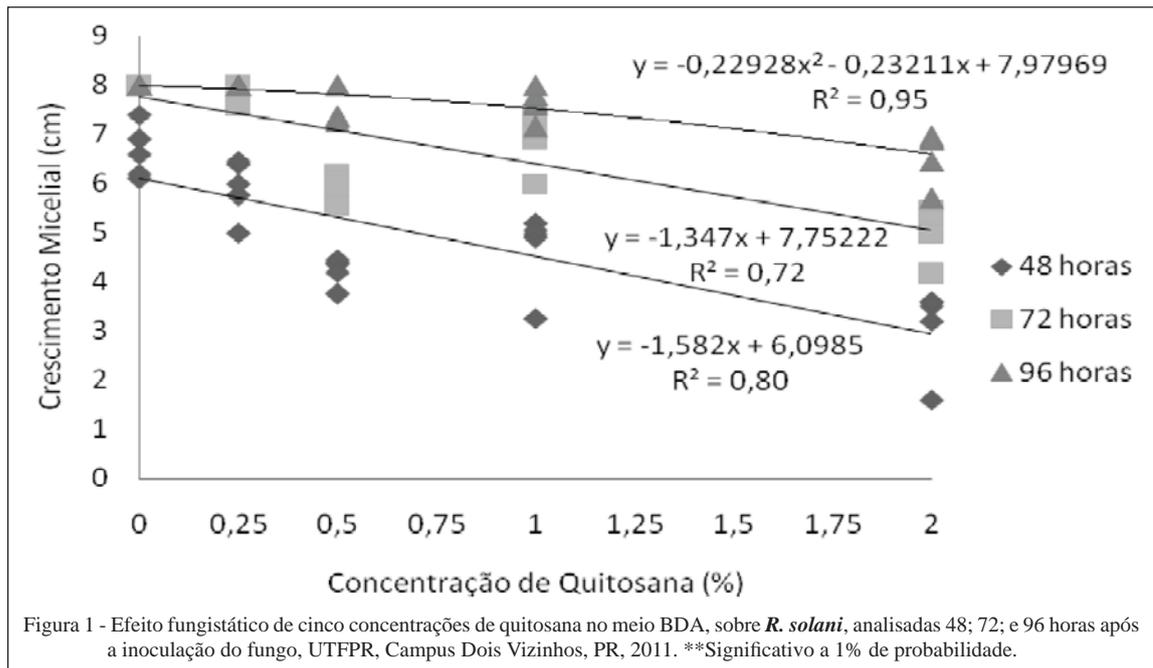
Já *Elsione ampelina* (De Bary) Shear, agente causal da antracnose da videira, teve seu crescimento micelial reduzido em 57%, utilizando concentração de quitosana de 0,016% (MAIA et al., 2010).

BOTELHO et al. (2010) estudaram o efeito *in vitro* de quitosana no crescimento micelial de *Penicillium* sp. e observaram que, aos seis dias após a incubação, a concentração de 0,016% reduziu o crescimento do fungo em 34,2%, comparado com a testemunha sem quitosana.

RIVERO GONZÁLES et al. (2009) citaram que a quitosana teve efeito fungistático na concentração de 0,1% sobre os fungos *Alternaria padwickii* e *Bipolaris orizae*, causadores da mancha de alternaria e mancha parda do arroz.

Possivelmente, o efeito fungistático da quitosana, observado neste trabalho, ocorra pela presença da quitina, que é seu principal ingrediente ativo, o qual causa mudanças morfológicas e estruturais, desorganizando as moléculas das células do fungo. Tais fatos são relatados por Hadwiger et al. (1986) apud PRAPAGDEE et al. (2007).

Os resultados obtidos demonstram que quitosana a 0,25, 0,5, 1 e 2% de concentração reduziram o crescimento micelial de *R. solani*. No entanto, estudos futuros serão necessários no sentido de se averiguar a eficácia da aplicação de quitosana no controle de *R. solani* em campo.



REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, V.V.C. et al. Quitina e quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.2, p.27-34, 2007. Disponível em: <<http://dema.ufcg.edu.br/revista/index.php/REMAP/article/viewArticle/46>>. Acesso em: 8 fev. 2012.
- BEDENDO, I.P. et al. **Manual de fitopatologia 1: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011. Cap.22, p.435-441.
- BHASKARA REDDY, M.V. et al. Effect of preharvest chitosan sprays in post-harvest infections by *Botrytis cinerea* and quality of strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.20, p.39-51, 2000. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092552140001083>>. Acesso em: 9 fev. 2012. doi: 10.1016/S0925-5214(00)00108-3.
- BOTELHO, R.V. et al. Quitosana no controle de *Penicillium* sp. na pós colheita de maçãs. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.5, p.200-206, 2010. Disponível em: <<http://www.aba-agroecologia.org.br/ojs2/index.php/rbagroecologia/article/view/9776>>. Acesso em: 9 fev. 2012.
- CAMILI, E.C. et al. Avaliação de quitosana, aplicada em pós-colheita, na proteção de uva 'Itália' contra *Botrytis cinerea*. **Summa Phytopathologica**, v.33, p.215-221, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/sp/v33n3/01.pdf>>. Acesso em: 12 fev. 2012. doi: 10.1590/S0100-54052007000300001.
- CUBETA, M.A.; VILGALYS, R. Population biology of the *Rhizoctonia solani* complex. **Phytopathology**, v.87, p.480-484, 1997. Disponível em: <<http://www.apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PHYTO.1997.87.4.480>>. Acesso em: 6 fev. 2012. doi: 10.1094/PHYTO.1997.87.4.480.
- DEVLIEGHERE, F. et al. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. **Food Microbiology**, v.21, p.703-714, 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002004000413>>. Acesso em: 15 fev. 2012. doi: 10.1016/j.fm.2004.02.008.
- EL GHAOUTH, A. et al. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. **Phytopathology**, v.82, p.398-402, 1992. Disponível em: <http://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1992Articles/Phyto82n04_398.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2012.
- EL GHAOUTH, A. et al. Biochemical and cytochemical aspects of the interaction of chitosan and *Botrytis cinerea* in bell pepper fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.12, p.183-194, 1997. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521497000562>>. Acesso em: 18 fev. 2012. doi: 10.1016/S0925-5214(97)00056-2.
- LIU, J. et al. Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.44, p.300-306, 2007. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521407000026>>. Acesso em: 7 fev. 2012. doi: 10.1016/j.postharvbio.2006.12.019.
- MAIA, A.J. et al. Ação de quitosana sobre o desenvolvimento de *Plasmopora viticola* e *Elsione ampelina*, *in vitro* e em videiras cv. 'Isabel'. **Summa Phytopathologica**, v.36, p.203-209, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052010000300003&lng=pt&nrm=iso&tng=pt>. Acesso em: 7 fev. 2012. doi: 10.1590/S0100-54052010000300003.
- MICHEREFF, S.J. et al. Importância dos patógenos e das doenças radiculares em solos tropicais. In: MICHEREFF, S.J. et al. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, 2005. Cap.1, p.1-18.

MUNOZ, Z. et al. Assessment of chitosan for inhibition of *Colletotrichum* sp. tomatoes and grapes. **Crop Protection**, v.28, p.36-40, 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219408001518>>. Acesso em: 18 fev. 2012. doi: 10.1016/j.cropro.2008.08.015.

PRAPAGDEE, B. et al. The role of chitosan in protection of soybean from sudden death syndrome caused by *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. **Bioresource Technology**, v.98, p.1353-1358, 2007. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852406002410>>. Acesso em: 6 fev. 2012. doi: 10.1016/j.biortech.2006.05.029.

RAMOS BERGER, L.R. et al. Perspectivas para o uso da quitosana na agricultura. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v.12, p.195-215, 2011. Disponível em: <<http://www.ehu.es/reviberpol/pdf/AGO11/ramos.pdf>>. Acesso em: 6 fev. 2012.

RIVERO GONZÁLES, D. et al. Actividad antifúngica *in vitro* de la quitosana sigma frente a hongos fitopatógenos causantes del manchado del grano en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.). **Fitossanidad**, v.13, p.101-107, 2009. Disponível em: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1562-30092009000200005&script=sci_arttext>. Acesso em: 6 fev. 2012.