

10087
CNPMA
2000

FL-10087

ISSN 1516-4675

Transferência de supressividade de solos a *Rhizoctonia solani* e efeito de metabolismos voláteis

Raquel Ghini

Embrapa

Transferência de

2000

FL - 10087

Meio Ambiente



37531-1

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL

Presidente: Fernando Henrique Cardoso

Ministro da Agricultura e do Abastecimento: Marcus Vinícius Pratini de Moraes

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa

Presidente: Alberto Duque Portugal

Diretores: Dante Daniel Giacomelli Scolari

José Roberto Rodrigues Peres

Elza Angela Battaglia Brito da Cunha

Embrapa Meio Ambiente

Chefe Geral: Bernardo van Raij

Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento: Deise M. Fontana Capalbo

Chefe Adjunto Administrativo: Vander Roberto Bisinoto

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Embrapa Meio Ambiente

Ministério da Agricultura e do Abastecimento

**Transferência de supressividade de
solos a *Rhizoctonia solani* e efeito
de metabolismos voláteis**

Raquel Ghini

*Jaguariúna, SP
2000*

EMBRAPA MEIO AMBIENTE – Boletim de Pesquisa 08.

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à:

Embrapa Meio Ambiente

Rodovia SP-340 - km 127,5 - Bairro Tanquinho Velho
Caixa Postal 69 13820-000 - Jaguariúna, SP
Fone: (19) 867-8700 Fax: (19) 867-8740
e-mail: sac@cnpma.embrapa.br

Comitê de Publicações: Aldemir Chaim, Célia M. M. de S. Silva, Franco Lucchini, Julio F. de Queiroz, Magda A. de Lima e Maria Cristina Tordin

Normalização: Maria Amélia de Toledo Leme

Produção Gráfica: Regina L. Siewert Rodrigues e Franco Ferreira de Moraes.

Tiragem: 500 exemplares

GHINI, R. Transferência de supressividade de solos a *Rhizoctonia solani* e efeito de metabolismos voláteis. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 15p. (Embrapa Meio Ambiente. Boletim de Pesquisa, 08).

CDD 632.3

SUMÁRIO

Resumo.....	05
Abstract.....	05
Introdução	06
1. Material e métodos	07
2. Resultados e discussão	10
3. Referências Bibliográficas.....	13
4. Agradecimentos.....	15

Transferência de supressividade de solos a *Rhizoctonia solani* e efeito de metabolismos voláteis

Raquel Ghini¹

Resumo

A possibilidade de transferência da supressividade a *R. solani* GA 4 foi testada através da mistura de um solo supressivo com um solo conducente nas concentrações de 0; 0,1; 0,5; 1; 5; 10 e 100%. O aumento da concentração do solo supressivo resultou numa redução do crescimento micelial do patógeno. Não houve transferência da supressividade após o tratamento biocida do solo (fumigação com clorofórmio), comprovando o efeito dos microrganismos na supressividade. A presença de metabólitos voláteis foi outro mecanismo de supressividade observado.

Abstract

Transferability of soil suppressiveness to *Rhizoctonia solani* and effect of volatile metabolics.

In order to evaluate the transferability of soil suppressiveness to *R. solani* GA 4, suppressive soil was blended with a conducive soil at various concentrations (0; 0,1; 0,5; 1; 5; 10; and 100%). The increased concentration of suppressive soil promoted a decrease in mycelial growth of the pathogen. There was no transference after a biocide treatment of the soil (chloroform fumigation), due the absence of microorganisms. The presence of volatile metabolics was observed as another mechanism of suppressiveness.

¹Engenheira Agrônoma, Ph.D., Embrapa Meio Ambiente, C.P. 69 CEP: 13820-000 Jaguariúna, SP

Introdução

Em alguns solos, definidos como supressivos por Baker & Cook (1974), o desenvolvimento de doenças é suprimido, mesmo se o patógeno é introduzido na presença do hospedeiro suscetível. Nesses solos, o patógeno: a) não se estabelece, b) se estabelece, mas não produz doença, ou c) se estabelece e causa doença por um determinado período, porém sofre um declínio com o tempo. Segundo Rodríguez-Kábana & Calvet (1994), vários exemplos de solos supressivos de ocorrência natural estão relatados em diversos tipos de solo e clima, sendo um fenômeno universal.

A supressividade pode ser resultante de fatores bióticos ou abióticos do solo, sendo diversos e complexos os mecanismos envolvidos (Hornby, 1983). De modo geral, a supressividade está diretamente relacionada com a atividade microbiana do solo no período crítico do ciclo do patógeno, por exemplo, durante a germinação de propágulos e crescimento na rizosfera da planta hospedeira (Rodríguez-Kábana & Calvet, 1994). Durante esse período, o patógeno está em competição direta com a microbiota ativa do solo, sendo o efeito supressivo aumentado por alguns grupos de microrganismos antagônicos ao patógeno. Parte da supressividade pode ser devida à competição entre os microrganismos do solo por fontes de carbono, ou ferro, por meio da produção de sideróforos.

Um dos mecanismos de fungistase dos solos supressivos é a liberação de compostos voláteis. Segundo Liebman & Epstein (1992), na maioria das vezes, tais compostos são de origem biológica e estão presentes em todos os solos, em maior ou menor teor.

Os fatores bióticos são os principais responsáveis pela supressividade de um solo. Uma evidência disso, segundo Schneider (1982), é o fato dessa característica poder ser transferida para solos conducentes (que não apresentam supressividade), sendo que o fenômeno não ocorre se o solo supressivo sofrer

uma esterilização.

Sendo *Rhizoctonia solani* um dos mais importantes fitopatógenos habitantes do solo, causando sérios prejuízos a diversas culturas, no presente trabalho, a possibilidade de transferência da supressividade a *R. solani* foi testada através da mistura de um solo conducente e um supressivo, em diferentes concentrações, com a finalidade de avaliar a importância dos microrganismos do solo na supressividade. Também foi avaliado o efeito de metabólitos voláteis de diferentes solos na supressividade ao patógeno.

Material e Métodos

O solo supressivo foi obtido em uma mata situada na Microbacia do Córrego do Taquara Branca (Sumaré, SP) e o conducente, em cultivo comercial de tomate, na mesma microbacia, sendo que a supressividade de ambos foi avaliada em testes preliminares pelo método do crescimento do patógeno nas amostras de solo (Ghini, dados não publicados), de forma semelhante ao teste utilizado no presente trabalho. As principais características dos solos estão apresentadas no Quadro 1.

Quadro 1. Características dos solos utilizados nos testes de transferência de supressividade à *Rhizoctonia solani*.

Características	Solo supressivo	Solo conducente
Classificação ^{1/}	LE1	LV1
pH (água)	6,3	6,0
Mat.orgânica (g/dm ³)	20	22
P (mg/dm ³)	31,4	12,1
K (mmol _c /dm ³)	3,4	1,9
Ca (mmol _c /dm ³)	49	30
Mg (mmol _c /dm ³)	11	9
Al (mmol _c /dm ³)	0	0
H (mmol _c /dm ³)	15	31
CTC (mmol _c /dm ³)	78	72
V (%)	80,9	56,9
S (ppm)	9,2	9,2
Na (ppm)	52,0	27,0
Fe (ppm)	47,6	115,0
Mn (ppm)	95,4	28,9
Cu (ppm)	0,5	24,8
Zn (ppm)	7,8	9,4
B (ppm)	0,2	0,2

^{1/} Segundo classificação de Menk & Miranda (1997).

A transferência da supressividade a *R. solani* GA 4 foi testada através da mistura do solo supressivo com o solo conducente, nas concentrações de 0; 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 e 10,0%. Também foi testado o efeito da fumigação com clorofórmio das misturas de solo, com a finalidade de verificar se, com a eliminação da população microbiana, ocorre a transferência da supressividade.

A fumigação foi realizada conforme o método utilizado por Brookes et al. (1982) para eliminação da microbiota do solo. O método consiste em acondicionando-se as misturas de solo, contidas em recipientes de vidro, em dessecadores (30cm de diâmetro), cujas paredes internas foram forradas com papel de filtro umedecido. Cada dessecador recebeu um Becker (50mL) contendo clorofórmio isento de etanol (20mL) e pérolas de vidro (3mm de diâmetro). A aplicação de vácuo (52cm Hg) foi realizada para volatilização do clorofórmio,

sendo que o dessecador permaneceu fechado por 72 horas. Depois da fumigação, os dessecadores permaneceram abertos por, aproximadamente, 2 horas, para a completa evaporação do clorofórmio.

Uma camada de solo, fumigado ou não, com a umidade corrigida para 70% da capacidade de campo, foi colocada nas placas de Petri (15cm de diâmetro; 50g/placa) e, a seguir, verteu-se uma fina camada de ágar-água sobre o solo. Discos contendo micélio de *R. solani* em pleno desenvolvimento (7mm de diâmetro) foram transferidos para o centro das placas, em 3 repetições, e a incubação foi realizada a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, no escuro. A testemunha foi constituída pelo crescimento do fungo em placas de Petri contendo ágar-água.

Diariamente, com auxílio de microscópio estereoscópico, a avaliação foi realizada através da determinação de dois diâmetros perpendiculares das colônias de *R. solani*, nas placas de Petri contendo as misturas de solo, fumigados ou não com clorofórmio.

Para a avaliação do efeito de metabólitos voláteis na supressividade, o método utilizado foi uma adaptação do descrito por Hora & Baker (1972). Para tanto, o patógeno foi multiplicado em meio de cultura líquido, contendo extrato de levedura (0,1%) e cloranfenicol (250 $\mu\text{g}/\text{mL}$), sob agitação constante de 180rpm, a 28°C . Após duas semanas de incubação, o inóculo foi homogeneizado com auxílio de um "mixer", filtrado em gaze e uma gota de 20 μL foi transferida para fundos de placas de Petri (5cm de diâmetro), contendo meio de cultura ágar-água acrescido de 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de cloranfenicol. Os conjuntos, constituídos por tais placas de Petri sem tampas e contendo inóculo do patógeno, foram cobertos por telas de nylon, fixadas com elásticos. A seguir, foram enterrados na profundidade de 10 cm, na posição vertical, em 3 repetições, em vasos contendo solos de mata, de tomate, de cana-de-açúcar e de pasto, obtidos na mesma microbacia. Um vaso sem solo recebeu os conjuntos e foi mantido nas mesmas condições, como testemunha. A umidade dos solos

foi corrigida para a capacidade de campo e os vasos foram envolvidos por sacos plásticos. A avaliação foi realizada através do diâmetro das colônias do patógeno.

Resultados e Discussão

No teste para avaliação da possibilidade de transferência da supressividade, foi observada uma redução no crescimento do patógeno, quando o solo supressivo não fumigado foi misturado ao solo conducente (Figura 1), isto é, houve transferência da supressividade. A redução, de modo geral, não ocorreu quando foi usado o solo fumigado, demonstrando a importância da microbiota na supressividade de solos a *R. solani*. Houve uma redução significativa no crescimento do patógeno somente com 100% de solo fumigado, que pode ser atribuída a fatores abióticos que contribuem para a supressividade. Porém, o diâmetro da colônia com 100% de solo supressivo fumigado foi maior do que o observado com solo não fumigado. O método de fumigação, usado por Brookes et al. (1982) para determinação da biomassa P do solo, se mostrou eficiente para o teste de transferência de supressividade, não interferindo com a presença de resíduos que pudesse inibir o crescimento do patógeno.

Utilizando um índice de condutividade que reflete a habilidade de *R. solani* crescer e causar tombamento de plântulas, Witejunga & Baker (1979) também verificaram que com o aumento da concentração de solo conducente em mistura com solo supressivo, ocorreu um aumento do índice, isto é, houve uma redução da supressividade.

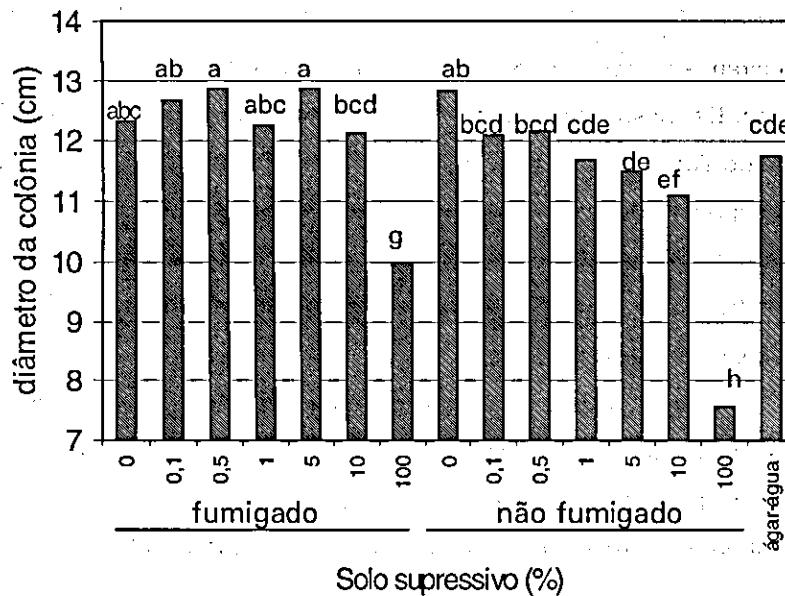


Figura 1. Transferência de supressividade a *Rhizoctonia solani* por meio da mistura de solo supressivo e conducente, com ou sem a fumigação da mistura de solos, avaliada pelo crescimento micelial do fungo em placa de Petri.

Como no presente trabalho, Nelson & Hoitink (1983) observaram que a supressividade a *R. solani* foi eliminada de substratos por meio de tratamento térmico e radiação gama. Além disso, a adição de pequenas quantidades de matéria orgânica supressiva ao substrato conducente desinfestado, conferiu supressividade ao material. A quantidade de matéria orgânica supressiva foi pequena o suficiente (10%) para sugerir que os microrganismos responsáveis pela supressividade se multiplicaram no solo conducente.

No Brasil, Rodrigues et al. (1996) observaram supressividade natural a *R. solani* em alguns solos sob vegetação de cerrado e verificaram correlação da supressividade com o caráter álico, associado à textura argilosa dos solos.

Além desses fatores, Pozzer & Cardoso (1990) e Michereff et al. (1996) relacionaram a supressividade a *R. solani* à comunidade microbiana presente nos solos. Da mesma forma, utilizando amostras de solo da microbacia do Córrego do Taquara Branca, Ghini et al. (1998) encontraram alta correlação entre a supressividade a *R. solani* e a atividade microbiana do solo, avaliada pela hidrólise de diacetato de fluoresceina (FDA). Os resultados obtidos no presente trabalho também evidenciam a importância dos microrganismos do solo na supressividade.

No teste para a avaliação do efeito de metabólitos voláteis na supressividade, houve uma redução significativa no crescimento do patógeno nos solos de mata e pasto em relação à testemunha (sem solo), evidenciando que também esse mecanismo está associado à supressividade a *R. solani* (Quadro 2).

A identidade dos metabólitos voláteis ainda é desconhecida. Segundo Liebman & Epstein (1992), alguns trabalhos foram realizados tentando relacionar o fenômeno com compostos altamente voláteis de baixo peso molecular. O etileno foi proposto como responsável pela fungistase de solos, mas outros trabalhos rejeitaram essa hipótese, assim como a acetona e o formaldeído também foram rejeitados como causadores de fungistase em solos em condições naturais (Pavlica et al., 1978). Ko et al. (1974) identificaram a amônia como sendo a substância volátil responsável pela fungistase em solos alcalinos. A elucidação de tais mecanismos pode trazer grandes contribuições ao controle da doença.

Quadro 2. Efeito de metabólitos voláteis de solos provenientes de diversas culturas na supressividade à *Rhizoctonia solani*, avaliado pelo crescimento micelial do fungo em placas de Petri.

Tratamento	Diâmetro da colônia (cm)
mata	1,13 b
pasto	1,20 b
cana-de-açúcar	2,28 ab
tomate	2,68 a
testemunha	2,17 ab

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si (Tukey 1%).
C.V. = 29,612 %

Referências Bibliográficas

- BAKER, R.; COOK, J. *Biological control of plant pathogens*. San Francisco: W.H. Freeman, 1974. 433p.
- BROOKES, P. C.; POWLSON, D. S.; JENKINSON, D. S. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, v.14, p.319-329, 1982.
- GHINI, R.; MENDES, M. D. L.; BETTIOL, W. Utilização do método de hidrólise de diacetato de fluoresceina (FDA) como indicador de atividade microbiana no solo e supressividade a *Rhizoctonia solani*. *Summa Phytopathologica*, v.24, n.3/4, p.239-242, 1998.
- HORA, T. S.; BAKER, R. Soil fungistasis: microflora producing a volatile inhibitor. *Transactions of the British Mycological Society*, v.59, p.491-500, 1972.
- HORNBY, D. Suppressive soils. *Annual Review of Phytopathology*, v.21, p.65-85, 1983.

- KO, W. H.; HORA, F. K.; HERLICKA, E. Isolation and identification of a volatile fungistatic substance from alkaline soil. *Phytopathology*, v.64, n.11, p.1398-1400, 1974.
- LIEBMAN, J. A.; EPSTEIN, L. Activity of fungistatic compounds from soils. *Phytopathology*, v.82, n.2, p.147-153, 1992.
- MENK, J.R.F.; MIRANDA, J.I. Levantamento pedológico e mapeamento do risco de erosão dos solos da microbacia do Córrego Taquara Branca, Sumaré, SP. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1997. 37p. (EMBRAPA-CNPMA. Documentos, 9).
- MICHEREFF FILHO, M.; MICHEREFF, S. J.; SILVA, E. B.; ANDRADE, D. E. G. T.; ANTUNES SOBRINHO, S.; MARIANO, R. L. R. Influência de tipos de solo do estado de Pernambuco na intensidade de doença induzida por *Rhizoctonia solani* em feijoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, v.21, n.1, p.19-25, 1996.
- NELSON, E. B.; HOITINK, H. A. J. The role of microorganisms in the suppression of *Rhizoctonia solani* in container media amended with composted hardwood bark. *Phytopathology*, v.73, n.2, p.274-278, 1983.
- PAVLICA, D. A.; HORA, T. S.; BRADSHAW, J. J.; SKOGERBOE, R. K.; BAKER, R. Volatiles from soil influencing activities of soil fungi. *Phytopathology*, v.68, n.5, p.758-765, 1978.
- POZZER, L.; CARDOSO, J. E. Supressividade natural de um latossolo vermelho-escuro a *Rhizoctonia solani*. *Fitopatologia Brasileira*, v.15, n.3, p.206-210, 1990.
- RODRIGUES, F. de A.; CORRÊA, G. F.; SANTOS, M. A. dos; BORGES FILHO, E. L. Fatores envolvidos na supressividade à *Rhizoctonia solani* em alguns solos tropicais sob vegetação natural. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DO SOLO, 13., 1996, Águas de Lindóia. *Solo-Suelo 96*. Campinas: SBCS; Piracicaba: ESALQ-USP, 1996. CD-ROM.
- RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. ; CALVET, C. Capacidad del suelo para controlar enfermedades de origen edafico. *Fitopatología Brasileira*, v.19, n.2, p.129-138, 1994.
- SCHNEIDER, R. W. *Suppressive soils and plant disease*. St. Paul: APS Press, 1982. 88p.
- WIJETUNGA, C.; BAKER, R. Modeling of phenomena associated with soil suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, v.69, n.12, p.1287-1293, 1979.

AGRADECIMENTOS

A autora expressa seus agradecimentos ao Prof. Dr. Paulo Cézar Cerezine pela classificação do isolado de *Rhizoctonia solani*; à Assistente de Operações Mara D. L. Mendes e ao Engenheiro Agrônomo José Abrahão H. Galvão pelo dedicação no preparo dos experimentos.



Meio Ambiente

