

Efeito da adubação nitrogenada na severidade de *Rhizoctonia solani* em feijoeiro e na comunidade microbiana da rizosfera

Miguel Michereff FILHO¹, Sebastião Antunes SOBRINHO², Sami J. MICHEREFF³, Rosa L.R. MARIANO⁴

Avaliou-se o efeito de fontes e doses de nitrogênio incorporadas ao solo na atividade patogênica de *Rhizoctonia solani* em plântulas de feijoeiro e na comunidade microbiana da rizosfera. Em casa-de-vegetação, uma amostra de solo Aluvial Distrófico foi infestado com o isolado RS-2 de *R. solani* (40 mg de arroz colonizado/kg de solo) e após 3 dias, sulfato de amônio [(NH₄)₂SO₄] e nitrato de sódio (NaNO₃) nas dosagens de 12,5, 25 e 50 ppm de N foram incorporados ao solo, procedendo-se à semeadura da cultivar IPA-7. A avaliação foi realizada após 10 dias, através de uma escala de notas de 0 a 4, calculando-se o índice de severidade da doença. Posteriormente, amostras do solo da rizosfera foram coletadas e submetidas à análise microbiológica. Não houve diferença significativa na severidade da doença com relação ao tipo e a dose dos fertilizantes utilizados. A análise microbiológica demonstrou que a população fúngica foi favorecida pela adição de 50 ppm de N na forma de nitrato de sódio. A incorporação de N ao solo, principalmente na forma de sulfato de amônio, afetou negativamente a população bacteriana total, embora tenha aumentado a população do gênero *Bacillus*. Estudando-se ainda a influência da dose de nitrato de sódio (0, 25 e 50 ppm) e da densidade de inóculo de *R. solani* (50, 100 e 150 mg/kg de solo) na severidade da doença, observou-se que não houve diferença significativa das doses crescentes de N nas diferentes densidades de inóculo. O aumento da doença foi proporcional ao aumento da densidade de inóculo.

Palavras-chave: *Rhizoctonia solani*, Nitrogênio, feijoeiro, rizosfera, raiz-doença, feijão-doenças-fungo, adubos nitrogenados, Fitopatologia.

INTRODUÇÃO

A cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) apresenta importante papel sócio-econômico no Brasil, embora a ocorrência de um elevado número de doenças venha contribuir para o baixo rendimento. O fungo *Rhizoctonia solani* Kühn é um dos principais patógenos radiculares do feijoeiro, constituindo-se em fator limitante à produção desta leguminosa em várias regiões do país (Cardoso, 1990). Os danos causados ocorrem principalmente até três semanas após o plantio, tendo como sintomas característicos da doença as podridões de sementes e raízes, cancrios no hipocótilo e tombamento de plântulas em pré e pós-emergência (Bolkan, 1980; Cardoso, 1990).

Na exploração agrícola, diversas práticas culturais contribuem para a quebra do estado normal de equilíbrio do solo, exercendo forte pressão de seleção sobre o ecossistema e muitas vezes privilegiando certos grupos de fitopatógenos (Cardoso, 1991; Henis e Katan, 1975). Os fertilizantes químicos, além de atuarem sobre o estado nutricional da planta e conseqüentemente na resistência ou

suscetibilidade aos patógenos (Zambolim e Ventura, 1993), também podem interferir na incidência e severidade da doença através de seus efeitos diretos e indiretos sobre o solo e sua microbiota, alterando a relação patógeno-microrganismos antagonistas na rizosfera (Henis e Katan, 1975; Papavizas, 1970).

Doenças causadas por *R. solani* são influenciadas por fertilizantes nitrogenados (Baker e Martinson, 1970), com efeitos diferenciados entre as formas amoniacal (NH₄-N) e nítrica (NO₃-N) (Huber e Watson, 1974; Smiley, 1975). O controle das doenças causadas por *R. solani* com uma forma específica de nitrogênio pode resultar do incremento da resistência do hospedeiro, das alterações no metabolismo ou crescimento do patógeno, do controle biológico através de interações da microbiota do solo, ou na combinação desses fatores. Por outro lado, o incremento na atividade patogênica pode resultar de efeitos deletérios no hospedeiro e na microbiota do solo, bem como alterações no metabolismo do patógeno (Henis e Katan, 1975; Huber e Watson, 1974; Zambolim e Ventura, 1993).

¹ Bolsistas de Aperfeiçoamento do CNPq

² Estudante de Agronomia da UFRPE e Bolsista de Iniciação Científica do CNPq

³ Prof. Assistente do Depto. de Agronomia da UFRPE

⁴ Prof. Adjunto do Depto. de Agronomia da UFRPE

Apesar dos inúmeros estudos envolvendo o controle de doenças radiculares pelo manejo químico do solo, existem poucas informações disponíveis sobre fontes nitrogenadas aplicadas no solo influenciando simultaneamente o comportamento do patógeno, hospedeiro e microbiota. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de fontes e doses de nitrogênio incorporadas ao solo na atividade patogênica de *R. solani* em plântulas de feijoeiro e na comunidade microbiana da rizosfera.

MATERIAL E MÉTODO

Fertilizantes nitrogenados. Foram utilizados $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (20% N) e NaNO_3 (16% N) (Quimibras Indústrias Químicas S.A., Rio de Janeiro, RJ) como fontes nitrogenadas, com doses definidas pela quantidade de nitrogênio a ser aplicada no solo, conforme descrito por Oleynic (1980).

Fitopatógeno. Foi utilizado o isolado RS-2 de *R. solani*, pertencente ao grupo de anastomose 4 (AG-4), obtido de planta de feijão com sintomas de tombamento e cancro no hipocótilo. O inóculo foi preparado em substrato constituído de arroz descascado autoclavado, conforme procedimentos descritos por Noronha, Michereff e Mariano (1995).

Influência da fonte e da dose de nitrogênio na atividade patogênica de *Rhizoctonia solani* e na comunidade microbiana da rizosfera

Amostras de solo Aluvial Distrófico de textura arenosa (pH = 4,5; N Total = 0,07%; NH_4^+ = 0,05%; NO_3^- = 0,11%; C = 0,15%; Matéria Orgânica = 0,26%; Al^{+3} = 1,25 meq/100g; Na^+ = 0,17 meq/100g), não esterilizado, acondicionadas em vasos plásticos (3,5kg de capacidade), foram infestadas artificialmente com substrato colonizado por *R. solani* na densidade de 40 mg/kg de solo. Após três dias, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e NaNO_3 foram incorporados homogeneamente ao solo, nas concentrações de 12,5, 25 e 50ppm de nitrogênio, equivalendo a 25, 50 e 100 kg de N/ha (Oleynic, 1980). Em seguida, o solo foi umedecido e sementes de feijão (cv. IPA-7) foram plantadas a 2,5cm de profundidade. A testemunha relativa consistiu do plantio das sementes em solo infestado, enquanto a testemunha absoluta consistiu do plantio em solo não infestado, em ambos os

casos sem adubação nitrogenada. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso com oito sementes plantadas. A avaliação da severidade da doença foi efetuada aos 10 dias após o plantio, através de uma escala de notas variando de 0 a 4 (onde: 0 = ausência de sintomas; 1 = hipocótilo com pequenas lesões; 2 = hipocótilo com grandes lesões, sem constricção; 3 = hipocótilo totalmente constricto, mostrando tombamento; 4 = sementes não germinadas e/ou não emergidas) (Noronha, Michereff e Mariano, 1995). Com os dados obtidos foi calculado o índice de severidade da doença como proposto por Mckinney (1923).

Posteriormente, amostras de solo rizosférico foram retiradas de cada tratamento para análise microbiológica. Aliquotas de 1g de solo foram transferidas, individualmente, para tubos de ensaio com 9,0 ml de água de torneira esterilizada, submetendo-se a banho de ultrassom, por 10 min.. Da suspensão obtida foram efetuadas diluições em série, que foram plaqueadas nos meios ágar nutritivo e batata-dextrose-ágar (Dhingra e Sinclair, 1995) adicionado de tetraciclina (250 ppm), respectivamente para análise de bactérias e fungos totais no solo. Para os antagonistas potenciais, *Trichoderma* spp. e *Pseudomonas* spp. fluorescentes, as diluições foram plaqueadas nos meios Martin modificado (Homechin, 1987) e B de King (King, Ward e Raney, 1954), enquanto para *Bacillus* spp. as diluições foram submetidas à banho-maria de 80°C por 10min. (Sneath, 1986) e posteriormente plaqueadas em meio ágar nutritivo. As placas foram incubadas à temperatura de 19±2°C e umidade relativa de 70±2%. As populações bacterianas e fúngicas foram avaliadas respectivamente após um e cinco dias de incubação. Cada população resultou da média de seis placas, sendo expressa em unidades formadoras de colônia por grama de solo (ufc/g).

Influência da dose de NaNO_3 e densidade do inóculo de *Rhizoctonia solani* na severidade da doença em plântulas de feijoeiro

Utilizando o mesmo procedimento citado anteriormente, o solo foi infestado com substrato colonizado por *R. solani* nas densidades de 50, 100 e 150 mg/kg de solo. Após 3 dias, o fertilizante NaNO_3 foi incorporado homogeneamente ao solo, em

quantidades correspondentes a 25 e 50 ppm de nitrogênio. A testemunha consistiu do plantio das sementes em solo infestado, sem adubação. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, em arranjo fatorial de 3x3, com 5 repetições. A avaliação foi efetuada conforme descrito anteriormente.

Durante a execução dos experimentos a temperatura na casa-de-vegetação foi de $38 \pm 5^{\circ}\text{C}$ e a umidade relativa do ar de $72 \pm 2\%$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Doses crescentes de nitrogênio, incorporadas ao solo como fertilizantes $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e NaNO_3 , não influenciaram significativamente na severidade da doença (Figura 1).

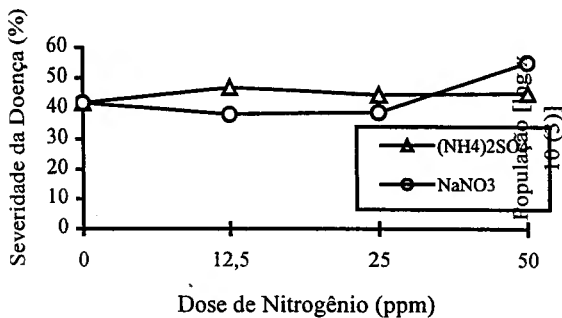


FIGURA 1 - Efeito da fonte e da dose de nitrogênio na atividade patogênica de *R. solani* em plântulas de feijoeiro.

Esses resultados assemelham-se às observações de Smiley (1975), que considera bastante variável e muitas vezes não detectável o efeito das diferentes formas de nitrogênio sobre *R. solani*. Por outro lado, os resultados contrastam com os relatos de vários pesquisadores (Davey e Papavizas, 1963; Papavizas, 1963; Papavizas, 1970; Weinhold, Dodman e Bowman, 1972; Henis e Katan, 1975; Kundu e Nandi, 1985; Kataria e Grover, 1987; Walia, Sunder e Grover, 1992; Zambolim e Ventura, 1993), pois na maioria das vezes a atividade patogênica de *R. solani* em hospedeiros como feijão, caupi, alface, batata, beterraba açucareira e trigo é reduzida com aplicações de $\text{NO}_3\text{-N}$ e aumentada com a utilização de $\text{NH}_4\text{-N}$.

Considerando a análise microbiológica do solo, a utilização de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e NaNO_3 afetou a comunidade microbiana na rizosfera do feijoeiro (Figura 2). A população de fungos totais foi favorecida pela adição de 50ppm de

nitrogênio na forma de NaNO_3 , enquanto $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ na mesma dose causou ao total de fungos e bactérias, embora sem diferir significativamente da testemunha. Por outro lado, a incorporação de nitrogênio ao solo afetou negativamente a população bacteriana, com destaque para $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Analisando qualitativamente a composição microbiológica da rizosfera, bactérias do gênero *Bacillus* foram influenciadas positivamente pela adição de nitrogênio, principalmente da fonte $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Quanto a *Trichoderma* spp. e *Pseudomonas* spp. fluorescentes, nenhuma população foi detectada no solo. O efeito diferenciado dos fertilizantes $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e NaNO_3 na comunidade microbiana da rizosfera assemelha-se às observações de Blair & Curl (1974) e Henis & Katan (1975).

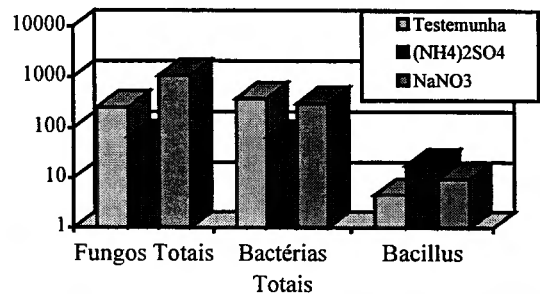


FIGURA 2 - Efeito da fonte nitrogenada (50ppm de N) na comunidade microbiana da rizosfera do feijoeiro.

Doses crescentes de nitrogênio na forma de NaNO_3 não influenciaram significativamente a severidade da doença em plântulas de feijoeiro cultivadas sob diferentes densidades de inóculo de *R. solani* no solo. O aumento da doença foi diretamente proporcional ao incremento na densidade de inóculo do fitopatógeno, apresentando diferença marcante a partir de 100mg de substrato colonizado por quilograma de solo. Os resultados sugerem que as mudanças na severidade da doença resultantes de adubações nitrogenadas podem variar em decorrência de condições específicas da interação hospedeiro-patógeno-ambiente. Nesse contexto, convém salientar que as doses de nitrogênio e o período de avaliação empregados podem ter influenciado sensivelmente os resultados. Davey e Papavizas (1963) constataram aumentos significativos na atividade de *R. solani* após uma semana da adubação com NH_4NO_3 somente em concentrações de nitrogênio iguais ou superiores a 400ppm, enquanto a três

semanas após a adubação, taxas de 50ppm incrementaram significativamente a atividade do patógeno. Entretanto, no presente estudo verificou-se que plântulas de feijoeiro apresentavam sintomas de fitotoxidez quando desenvolvidas em solo incorporado com 150ppm de N.

Embora as informações obtidas possibilitem esclarecer alguns aspectos do efeito da adubação nitrogenada na atividade patogênica de *R. solani* e na comunidade rizosférica do feijoeiro, para uma avaliação mais precisa sobre o assunto serão necessários estudos em condições de campo envolvendo diferentes tipos de solo, fertilizantes, épocas de adubação e isolados do fitopatógeno.

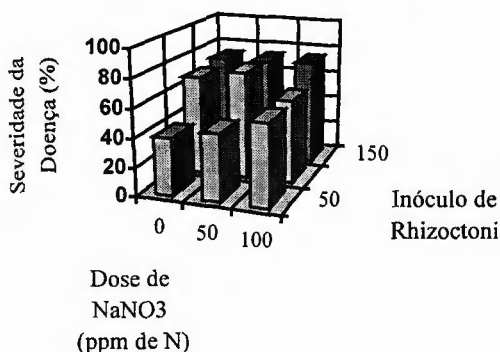


FIGURA 3 - Efeito da dose de NaNO₃ e da densidade de inóculo de *Rhizoctonia solani* na severidade da doença em plântulas de feijoeiro.

ABSTRACT

Studies were conducted to determine the effect of Nitrogen sources and dosages on the pathogenic ability of *Rhizoctonia solani* in bean plants and on the microbial community of bean rhizosphere. Under greenhouse conditions soil was infested with isolate R-2 of *R. solani* (40mg of colonized rice/Kg of soil), amended with ammonium sulfate and sodium nitrate (12.5, 25 and 50 ppm of N) after 3 days and sown with cultivar IPA-7. Evaluation was performed after 10 day by grading disease severity from 0 to 4 and calculating the disease severity index. Soil samples were microbiologically analyzed. Fungus population was increased when sodium nitrate was applied at 50 ppm dosage. The addition of nitrogen to the soil mainly in the ammonium sulfate form showed negative effect

on the total bacterial population although had increased *Bacillus* population. The influence of sodium nitrate dosage (0.25 and 50ppm) and *R. solani* inoculum density (50, 100 and 150mg/Kg of soil) on disease severity was also studied and no significant difference was observed. The disease increased proportionally to inoculum density.

Key words: *Rhizoctonia solani*, Nitrogen, bean, rhizosphere, root-disease, bean-disease-fungi, nitrogen amendment, Phytopathology.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01 BAKER, R.; MARTINSON, C.A. Epidemiology of diseases caused by *Rhizoctonia solani*. In: PARMETER JR., J.R. (Ed.) *Rhizoctonia solani: Biology and pathology*. Berkeley: University of California Press, 1970. p.172-188.
- 02 BOLKAN, H.A. Las podriciones radicales. In: SCHWARTZ, H.F.; GALVEZ, G.E. (Eds.) *Problemas de producción del frijol: Enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticas de Phaseolus vulgaris*. Cali: CIAT, 1980. p.66-76.
- 03 BLAIR, W.C.; CURL, E.A. Influence of fertilization regimes on the rhizosphere microflora and *Rhizoctonia* disease of cotton seedlings. *Proceedings of the American Phytopathological Society*, St. Paul, v.1, p.28-29, 1974.
- 04 CARDOSO, J.E. *Doenças do feijoeiro causadas por patógenos do solo*. Goiânia: EMBRAPA-CNPAP, 1990. 30p. (EMBRAPA-CNPAP, Documentos,30).
- 05 _____, Controle de patógenos de solo na cultura do feijão. In: SEMINÁRIO SOBRE PRAGAS E DOENÇAS DO FEIJOEIRO, 4., 1991, Campinas. Anais ... Campinas: Instituto Biológico, 1991. p. 45-50.
- 06 DAVEY, C.B.; DANIELSON, R.M. Soil chemical factors and biological activity. *Phytopathology*, St. Paul, v.58, v.10, p.900-908, 1968.
- 07 DAVEY, C.B.; PAPAIVAS, G.C. Saprophytic activity of *Rhizoctonia solani* as affected by carbon-nitrogen of certain organic soil amendments. *Soil Science Proceedings*, Madison, v.27, n.2, p.164-167, 1963.
- 08 DHINGRA, O.D.; SINCLAIR, J.D. *Basic plant pathology methods*. 2. ed. Boca Raton: Lewis Publishers, 1995. 434p.
- 09 HENIS, Y.; KATAN, J. Effect of inorganic amendments and soil reaction on soil-borne plant diseases. In: BRUEHL, G.H. (Ed.) *Biology*

- and control of soil-borne plant pathogens. St. Paul: American Phytopathological Society, 1975. p.100-106.
- 10
HOMECHIN, M. Potencial em emprego de isolados brasileiros de *Trichoderma harzianum* Rifai, para controle de patógenos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Piracicaba, 1987. 186p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queróz" da Universidade de São Paulo, 1987.
- 11
HUBER, D.M.; WATSON, R.D. Nitrogen form and plant disease. *Annual Review of Phytopatology*, Palo Alto, v.12, p.139-165, 1974.
- 12
KATARIA, H.R.; GROVER, R.K. Influence of soil factors, fertilizers and manures on pathogenicity of *Rhizoctonia solani* on *Vigna* species. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.103, n.1, p.57-66, 1987.
- 13
KING, E.O.; WARD, M. K.; RANEY, D.E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *Journal of Laboratory Clinical Medicine*, St. Louis, v.44, p. 301-307, 1954.
- 14
KUNDU, P.K.; NANDI, B. Control of *Rhizoctonia* disease of cauliflower by competitive inhibition of the pathogen using organic amendmets in soil. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.83, n.3, p.357-362, 1985.
- 15
MCKINNEY, H.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. *Journal of Agricultural Research*, Washington, v.26, n.3, p.195-218, 1923.
- 16
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*, Brasília, v.20, n.2, p.174-178, 1995.
- 17
OLEYNIC, J. *Manual de fertilização e correção dos solos*. Curitiba: EMATER/ACARPA, 1980. 90p.
- 18
PAPAVIZAS, G.C. Microbial antagonism in bean rhizosphere as affected by oat straw and supplemental nitrogen. *Phytopathology*, Palo Alto, v.53, n.12, p.1430-1435, 1963.
- 19
PAPAVIZAS, G.C. Colonization and growth of *Rhizoctonia solani* in soil. In: PARMETER JR., J.R., (Ed.) *Rhizoctonia solani: Biology and pathology*. Berkeley: University of California Press, 1970. p.108-122.
- 20
SMILEY, R.W. Forms of nitrogen and the pH in root zoone and thier importance to root infections. In: BRUEHL, G.H., (Ed.) *Biology and control of soil-borne plant pathogens*. St. Paul: American Phytopathological Society, 1975. p.55-62.
- 21
SNEATH, P.H. Endospore-forming gram-positive rods and cocci. In: SNEATH, P.H.; MAIR, N.S.; SHARPE, M.E. et al. (Eds.) *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Baltimore: Williams & Wickins, 1986. v.2, p. 1104-1207.
- 22
WALIA, G.S.; SUNDER, S.; GROVER, R.K. Influence of nutrients on pathogenic behaviour of *Rhizoctonia solani* on cowpea. *Indian Journal of Mycology and Plant Pathology*, Udaipur, v.22, n.2, p.170-177, 1992.
- 23
WEINHOLD, A.R.; DODMAN, R.L.; BOWMAN, T. Influence of exogenous nutrition on virulence of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, St. Paul, v.62, n.2, p.278-281, 1972.
- 24
ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J.A. Resistência a doenças induzida pela nutrição mineral das plantas. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, Passo Fundo, v.1, p.275-318, 1993.

Recebido para publicação em 01 de julho de 1996.