

O papel de *Rhizoctonia* spp. binucleadas na indução de resistência a mela da soja

Marco Antonio Basseto^{1*}, Walter Veriano Valério Filho², Elaine Costa Souza¹ e Paulo Cezar Ceresini^{1,3}

¹Departamento de Produção Vegetal/Defesa Fitossanitária, Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Rua José Barbosa de Barros, 1780, Cx. Postal 237, 18610-307, Botucatu, São Paulo, Brasil. ²Departamento de Matemática, Universidade Estadual Paulista, Campus de Ilha Solteira, Ilha Solteira, São Paulo, Brasil. ³Phytopathology Group, Swiss Federal Institute of Technology, Zurich, Switzerland. *Autor para correspondência. E-mail: mabplis@yahoo.com.br

RESUMO. O papel de *Rhizoctonia* spp. binucleadas (RBN), no biocontrole de doenças causadas por *R. solani* Kühn em várias culturas, tem sido relatado na literatura. No entanto, não há informação, no Brasil, sobre o potencial de RBN como agentes de biocontrole contra doenças causadas por *Rhizoctonia* na soja. A hipótese testada foi de que isolados de RBN podem induzir resistência na soja contra a mela, causada por *R. solani* do grupo de anastomose (AG) 1 IA. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar isolados de RBN, obtidos de amendoim, feijão e soja quanto à capacidade de induzir resistência na soja contra a mela, em condições de casa de vegetação. Esta pesquisa evidencia a ação de RBN na indução de resistência em plantas de soja contra a mela. Entretanto, a manifestação e a efetividade do fenômeno de indução de resistência são dependentes da época de cultivo da soja.

Palavras-chave: biocontrole, amendoim, feijão, *Rhizoctonia solani*, *Thanatephorus cucumeris*, *Glycine max* (L.) Merrill.

ABSTRACT. The role of binucleate *Rhizoctonia* spp. inducing resistance to the soybean foliar blight. The role of non-pathogenic binucleate *Rhizoctonia* spp. (BNR) on the biocontrol of diseases caused by *R. solani* on many crops has been reported in the literature. However, in Brazil, there is no information about the potential of BNR as biocontrol agents against *Rhizoctonia* diseases on soybean. On this research we tested the hypothesis that BNR can induce resistance on soybean against the foliar blight caused by *R. solani* anastomosis group (AG) 1 IA. Thus, the objective of this research was to evaluate BNR isolates isolated from peanuts, snapbeans and soybean according to their ability for inducing resistance on soybean against the foliar blight disease, under greenhouse conditions. This research evidenced the role of BNR inducing resistance on soybeans against the foliar blight. However, both the occurrence and effectiveness of the phenomenon of induced resistance are dependent on the soybean cultivation season.

Key words: biocontrol, peanuts, snapbeans, *Rhizoctonia solani*, *Thanatephorus cucumeris*, *Glycine max* (L.) Merrill.

Introdução

O papel de *Rhizoctonia* spp. binucleadas (RBN), no biocontrole de doenças causadas por *R. solani* Kühn em várias culturas, tanto em condições de ambiente controlado quanto em condições de campo, tem sido relatado exhaustivamente na literatura. Por meio do tratamento de sementes, de plântulas de várias culturas ou de substrato com isolados de RBN, é possível controlar doenças como *damping off*, podridões de raízes e outras doenças causadas por *R. solani* e *Pythium* spp (Cardoso e Echandi, 1987a; Cubeta e Echandi, 1991; Escande e Echandi, 1991a; Harris *et al.*, 1993; Villajuan-Abgona *et al.*, 1996).

No Brasil, RBN foram detectadas, pela primeira vez, na década de 90, em áreas agrícolas de São Paulo, cultivadas com amendoim, feijoeiro e soja (Ceresini *et al.*, 1996; Ceresini e Souza, 1997; Fenille, 2001; Fenille *et al.*, 2002). Foi demonstrado, também, que essas RBN poderiam ser utilizadas no biocontrole de podridões radiculares em amendoim e feijoeiro (Cassiolato *et al.*, 1997).

A natureza da associação entre RBN e as plantas e os mecanismos de biocontrole também têm sido estudado. Pesquisas com RBN, como agentes de biocontrole, têm sugerido que os mecanismos envolvidos podem ser tanto pela competição por nutrientes ou indução de resistência (Burpee e Goultly, 1984; Cardoso e Echandi, 1987b; Escande e Echandi,

1991b; Herr, 1995; Villajuan-Abgona et al., 1996).

Em feijoeiro, estudos demonstraram que o crescimento e germinação esclerodial de *R. solani* foram inibidos "in vitro", por exudatos de raízes de plântulas, com dez dias de idade, tratadas com *RBN*. A proteção contra *R. solani* foi mantida mesmo depois que as raízes e hipocótilos de feijão tiveram suas superfícies esterilizadas com hipoclorito de sódio ou etanol, para erradicar as *RBN* (Cardoso e Echandi, 1987a). Além disso, as *RBN* colonizaram o rizoplane e células da epiderme, mas não penetraram além das células epidérmicas.

Os mecanismos de biocontrole envolvidos na indução de resistência pelas *RBN* foram relacionados com alterações bioquímicas ocorridas nas células das plantas (Jabaji-Hare et al., 1994; Xue et al., 1998). Entre essas mudanças, destaca-se a produção de fitoalexinas, de enzimas como as quitinases, 1-3- β -glucanases e peroxidases (inibidores de fitopatógenos) e a biosíntese de glucoproteínas ricas em hidroxiprolinas. Estas últimas substâncias atuam no acúmulo de produtos como suberina, lignina e celulose, que fortalecem as paredes da célula (Mandell e Baker, 1991). Jabaji-Hare et al. (1994) e Xue et al. (1998) relataram maior atividade enzimática de peroxidases e 1-3- β -glucanases em plantas de feijão, tratadas com *RBN* em comparação com plantas não-tratadas, resultando em proteção contra podridão do colo de *R. solani* AG-4. Essas observações suportam a hipótese de que *RBN* controlam *R. solani* por indução de resistência ao hospedeiro.

Na soja, a associação de *RBN* com a planta e a interação com *R. solani* AG-2-2 e AG-4 (causadores de *damping off* e podridão de raiz) foram investigadas para elucidar o papel da indução de resistência como mecanismo de biocontrole desses patógenos pelas *RBN*. Interações entre hifas de *RBN* e *R. solani* foram examinadas, tanto "in vitro" quanto na superfície da planta, e analisadas por meio de microscopia de luz e eletrônica. Não houve evidências de morte, micoparasitismo, inibição de crescimento ou alguma outra forma de antagonismo entre *RBN* e *R. solani*. Isto sugere que a indução de resistência é, de fato, o mecanismo de biocontrole da *R. solani*, em soja, pelas *RBN* (Poromarto et al., 1998).

Há evidência suficiente, na literatura mundial, sobre o papel das *RBN* como indutores de resistência a doenças causadas por *Rhizoctonia*, em plantas Fabaceae. Entretanto, não há informação, no Brasil, sobre o potencial de *RBN* como agentes de biocontrole contra doenças causadas por *Rhizoctonia* na soja. Atualmente, pela ausência de medidas de controle, a mela da soja [causada por *R. solani* do grupo de anastomose (AG) 1 IA] é considerada uma

das doenças mais importantes, afetando a cultura da soja no norte do Brasil (Yorinori et al., 1993; Yorinori, 1998; Fenille, 2001; Meyer, 2001). Este patossistema é caracterizado basicamente por infecções foliares, via basidiósporos, produzidos por *Thanatephorus cucumeris*, a forma sexuada de *R. solani*. Este é um modelo de sistema muito apropriado para estudo de indução de resistência envolvendo *RBN*, uma vez que o agente de biocontrole estaria atuando no sistema radicular e protegendo contra a infecção de um patógeno que infecta a parte aérea.

Neste trabalho, testou-se a hipótese de que isolados de *RBN* podem induzir resistência na soja contra a mela. Assim, o objetivo foi avaliar isolados de *RBN*, obtidos de amendoim, feijão e soja quanto à capacidade de induzir resistência, na soja, contra a mela causada por *R. solani* AG-1 IA, em condições de casa de vegetação.

Material e métodos

Para estudar o papel de *RBN* na indução de resistência na soja contra a mela, três experimentos, em épocas diferentes, foram conduzidos, em condições de casa de vegetação no Campus da Unesp de Ilha Solteira (Unesp-CISA), Estado de São Paulo. O solo utilizado foi o Latossolo Vermelho distrófico típico argiloso, retirado de uma área não cultivada na Fazenda de Ensino e Pesquisa - FEP da Unesp-CISA, e posteriormente analisado quimicamente no Laboratório de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, também da Unesp-CISA. O solo utilizado no primeiro experimento foi submetido a um processo de tinalização, enquanto que o solo utilizado no segundo e terceiro experimentos foi tratado com brometo de metila. Estes tratamentos foram realizados com o objetivo de esterilizar o solo, eliminando os microrganismos que poderiam suprimir o desenvolvimento das *RBN* no solo.

Os isolados de *RBN*, testados quanto à indução de resistência, foram obtidos de amendoim, feijão e soja (Tabela 1), preservados em arroz parboilizado e acondicionados à temperatura de -20°C .

O inóculo das *RBN* foi preparado em arroz parboilizado esterilizado transferindo-se discos de cultura de *RBN* crescidas em BDA, por dois dias, a 27°C . Os isolados de *RBN* foram mantidos em crescimento no arroz, durante quatro-cinco dias. Para infestação do solo com os agentes de biocontrole, dez grãos de arroz colonizados pelas *RBN* foram transferidos para o solo e mantidos à mesma profundidade da sementeira. A sementeira da soja foi efetuada nos meses de dezembro, do ano de 2003, e abril e outubro do ano seguinte, utilizando-se 15 sementes vaso⁻¹ (desinfestadas superficialmente

com hipoclorito de sódio a 1% por um minuto). Sete dias após a semeadura, realizou-se desbaste deixando cinco plântulas por vaso.

Tabela 1. Isolados de *Rhizoctonia* binucleadas (*RBN*), testados como indutores de resistência em soja.

Isolados	Cultura	Origem	Data de isolamento	Classificação molecular*
AM 007.01	amendoim	Jaboticabal, SP	01/1993	AGG
AM 008.01	amendoim	Jaboticabal, SP	01/1993	AGA
AM 008.02	amendoim	Jaboticabal, SP	01/1993	AGA
FJ 031.4	feijão	Guaíra, SP	07/1993	AGA
FJ 036.1	feijão	Itaporanga, SP	07/1993	AGL
FJ 036.7.1	feijão	Itaporanga, SP	09/1993	AGK
FJ 063.12	feijão	Capão Bonito, SP	11/1993	AGA
SJ 008	soja	Taquarituba, SP	11/1997	AGA
SJ 010	soja	Taquarituba, SP	11/1997	AGA

*Dados obtidos pelo sequenciamento da região ITS do rDNA (E. E. Kuramae, informação pessoal).

O inóculo do patógeno foi preparado a partir de isolados de *R. solani* AG-1 IA de soja, preservados nas mesmas condições dos isolados de *RBN*. Foram utilizados os isolados SJ 50 (obtido de Lucas do Rio Verde, Mato Grosso, fornecido pelo Dr. R. C. Fenille) e o isolado SJ 132 (obtido de Campo Novo do Parecís, Mato Grosso, fornecido pelo Dr. M. C. Meyer). A preparação do inóculo e a inoculação foram efetuadas de acordo com a metodologia proposta por Meyer (2001) para avaliação da reação da soja à mela. Os isolados foram cultivados em meio de BDA, com a temperatura ajustada a 27°C, durante quatro dias no escuro, e triturados em liquidificador, por 30 segundos, com água destilada, na proporção de 100 mL placa⁻¹. A inoculação dos isolados patogênicos de *R. solani* AG-1 IA foi realizada, por meio de pulverização de suspensão de fragmentos de micélio e escleródios, com auxílio de um pulverizador manual, tão logo as plantas atingiram o estágio V6 de desenvolvimento (Yorinori *et al.*, 1993). A variedade de soja utilizada foi a IAC 18, suscetível à mela (Meyer, 2001).

O experimento foi desenvolvido com o delineamento em blocos casualizados, num esquema fatorial 10 x 3, com cinco repetições, representado pela interação *RBN* como indutores de resistência e isolados patogênicos. No componente, *RBN* como indutores de resistência, foram testados nove isolados de *Rhizoctonia* spp. (Tabela 1), enquanto que, para isolados patogênicos, foram testados dois isolados patogênicos, e as testemunhas foram compostas pelos tratamentos, sem infestação do solo por *RBN*, e plantas de soja sem inóculo de *R. solani*.

Para determinação do efeito das *RBN* na indução de resistência a mela da soja, foi avaliada a severidade da doença, cinco dias após a inoculação dos isolados patogênicos. Foi coletada, para análise, uma folha por planta (totalizando cinco folhas por parcela). As

folhas foram fotografadas digitalmente, utilizando-se uma câmara digital, e as análises do nível de infecção foram efetuadas em microcomputador, utilizando-se o programa UTHSCSA *ImageTool* (desenvolvido pelo "Health Science Center" da "University of Texas" em San Antonio, disponível na Internet por meio de FTP anônimo pelo site: ftp://maxrad6.uthscsa.edu) em que foi determinada a porcentagem de área foliar doente (AFD) de cada parcela.

Após serem retiradas do solo, as raízes foram submetidas ao reisolamento da *RBN*, realizado em meio semi-seletivo de KHMP, (1 g KH₂PO₄; 0,5 g MgSO₄.7H₂O; 0,5 g KCl; 0,01 g FeSO₄.7H₂O; 0,20 g NaNO₂; 0,05 g cloranfenicol; 20 g ágar; 0,05 g de sulfato de estreptomicina; 0,24 g metalaxyl; 0,05 g prochloraz) e 940 mL água destilada (Ko e Hora, 1971), com o objetivo de comprovar a presença deste fungo no sistema radicular das plantas.

Tanto a parte aérea das plantas como o sistema radicular foram submetidos à secagem em estufa, a 65°C, por 48 horas. Após a secagem, determinou-se o acúmulo de massa de matéria seca do sistema radicular e da parte aérea de cada parcela experimental. Baseando-se nos dados de área foliar doente (AFD) e massa da matéria seca (MS), foi determinado o acúmulo de tecido sadio (TECS), que representa o produto da área foliar sadia pela matéria seca, com o auxílio da fórmula: (1-AFD)*MSA.

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa SAS ("Statistical Analysis System") por meio de contrastes de médias.

Resultados e discussão

Inicialmente, foi proposta a esterilização do solo a partir do processo de tinalização. Em virtude de problemas com fitotoxidez nas plantas por causa do desbalanço de nutrientes no solo, resultante da alta temperatura (observado no primeiro experimento), optou-se por adotar, para o segundo e terceiro experimentos, o processo de fumigação com brometo de metila, quando, então, não foi constatado o problema.

Pela análise conjunta dos três experimentos que avaliam a época do experimento, foi observado diferença entre eles para a maioria das variáveis, com exceção da AFD (Tabela 2). O fato de os experimentos terem sido desenvolvidos em épocas distintas interfere no desenvolvimento fisiológico das plantas, especialmente no que diz respeito à resposta das plantas de soja ao fotoperíodo (Câmara, 1998). Assim, optou-se por discutir os resultados obtidos em cada experimento separadamente,

buscando, quando possível, uma associação entre eles.

Houve diferença significativa quanto à área foliar doente (AFD) das plantas para os diferentes inóculos (1, 2 e 3), em todos os experimentos (Tabela 2). No primeiro experimento, o Inoc. 2 de *R. solani* AG-1 IA (SJ 132) foi, em média, mais severo que o Inoc. 1 (SJ 50), e ambos diferiram do Inoc. 3 (testemunha não-inoculada). Já para o segundo experimento, observou-se diferença significativa apenas entre os inóculos 1 e 2, quando comparados com a testemunha não-inoculada, o que pôde ser comprovado também no terceiro experimento. Esta última observação, indicada no segundo e ratificada pelo terceiro experimento, denota um efeito semelhante entre os isolados patogênicos (SJ 50 e SJ 132) e comprova a diferença desses isolados com a testemunha não-inoculada, cujas plantas não apresentaram sintomas da doença em sua parte aérea (Tabela 3).

Para a variável matéria seca da parte aérea (MSA), no segundo experimento, observou-se diferença significativa (5%) entre inóculos. O acúmulo de MSA pelas plantas variou de acordo com a

intensidade de doença proporcionada pelos inóculos, dentro de cada experimento. Apesar de as plantas não-inoculadas (Inoc. 3) não terem diferido das plantas inoculadas (Inoc. 1 e 2) quanto ao acúmulo de MSA, pôde-se constatar diferença significativa entre elas, nos três experimentos, com relação ao acúmulo de tecido sadio (TECS) (Tabela 2), em que as plantas não-inoculadas apresentaram, em média, maior acúmulo de TECS quando comparadas às plantas inoculadas (Tabelas 3). No segundo e terceiro experimentos, verificou-se, também, diferença para TECS entre as plantas afetadas pelos dois isolados patogênicos de *R. solani* AG-1 IA (Inoc. 1 e 2). Estes se comportaram de maneira distinta dentro de cada experimento. É oportuno mencionar que a variável AFD apresentou alto coeficiente de variação (76,02, 69,01 e 67,65% para o primeiro, segundo e terceiro experimentos, respectivamente), em relação à variável TECS, que se mostrou mais adequada para a avaliação do efeito das *Rhizoctonia* spp. binucleadas induzindo, resistência à mela (Tabela 2).

Tabela 2. Análise de variância das variáveis avaliadas no primeiro, segundo e terceiro experimentos de indução de resistência à mela da soja por *Rhizoctonia* spp. binucleadas, em diferentes épocas (verão, outono e primavera), utilizando a cultivar suscetível IAC 18.

Fonte de Variação	Valores de F											
	AFD			MSA			TECS			MSR		
	1º EXP	2º EXP	3º EXP	1º EXP	2º EXP	3º EXP	1º EXP	2º EXP	3º EXP	1º EXP	2º EXP	3º EXP
Experimentos					27,43					15,30		14,29
Bloco	3,94 **	3,67 **	0,34	1,72	3,82 **	1,98	1,08	2,61 *	1,94	1,49	0,23	0,46
Inóculo	70,03 **	78,86 **	82,32 **	1,81	4,09 *	2,83	9,23 **	6,71 **	7,65 **	1,11	9,77 **	1,93
Biocontrole	1,21	1,22	0,83	2,87 **	1,85	3,38 **	2,83 **	2,17 *	2,97 **	4,61 **	3,85 **	5,92 **
Inoc*Bioc	1,18	0,74	1,06	0,82	1,49	1,60	0,88	1,49	1,63	2,42 **	0,99	0,83
C/Bioc vs S/Bioc	2,18	0,45	4,26 *	15,32 **	2,75	1,08	12,13 **	2,10	0,53	14,79 **	0,22	25,31 **
SJ vs AM,FJ	1,43	2,95	0,03	0,00	0,39	13,73 **	0,03	0,75	11,82 **	0,03	10,84 **	0,44
AM vs FJ	3,73	2,74	0,74	3,96	3,17	2,23	5,57 *	4,10 *	2,40	0,50	8,67 **	11,28 **
Inoc1,2 vs Inoc3	129,76 **	157,44 **	163,88 **	1,88	0,02	1,22	14,67 **	5,60 *	10,96 **	2,21	13,87 **	1,37
Inoc1 vs Inoc2	10,30 **	0,28	0,75	1,74	8,16 **	4,45 *	3,80	7,85 **	4,34 *	0,02	5,66 *	2,49
C.V. (%)	76,02	69,01	67,65	28,11	15,83	19,24	28,87	16,00	19,78	32,32	22,10	24,36

**Significativo a 1% de probabilidade; * Significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Médias das variáveis avaliadas no decorrer de três experimentos, para os grupos de agentes de biocontrole, realizados em épocas distintas (verão, outono e primavera), utilizando a cultivar suscetível IAC 18.

Experimentos	Grupos de Bioc. ¹	AFD (%)		TECS (g)		MSA (g)		MSR (g)	
		Inoc. ²	N-Inoc. ³	Inoc.	N-Inoc.	Inoc.	N-Inoc.	Inoc.	N-Inoc.
Primeiro Experimento	Feijão (FJ)	11,00	0,00	3,87	4,64	4,35	4,64	0,60	0,76
	Amendoim (AM)	13,31	0,00	3,46	4,29	4,00	4,29	0,67	0,56
	Soja (SJ)	10,39	0,00	4,05	4,43	4,43	4,43	0,73	0,79
	Testemunha (TEST)	8,11	0,00	2,31	4,12	2,51	4,12	0,42	0,46
	Média	10,70	0,00	3,42	4,37	3,82	4,37	0,61	0,64
Segundo Experimento	Feijão (FJ)	4,94	0,00	2,54	2,63	2,67	2,63	0,56	0,63
	Amendoim (AM)	6,27	0,00	2,34	2,56	2,49	2,56	0,54	0,64
	Soja (SJ)	6,96	0,00	2,40	2,49	2,57	2,49	0,65	0,71
	Testemunha (TEST)	6,58	0,00	2,50	2,94	2,78	2,94	0,56	0,74
	Média	6,19	0,00	2,45	2,66	2,63	2,66	0,58	0,68
Terceiro Experimento	Feijão (FJ)	6,46	0,00	3,13	3,43	3,34	3,43	0,41	0,42
	Amendoim (AM)	7,29	0,00	2,90	3,31	3,24	3,31	0,48	0,49
	Soja (SJ)	7,11	0,00	3,56	3,60	3,85	3,60	0,41	0,50
	Testemunha (TEST)	9,73	0,00	3,00	4,03	3,33	4,03	0,31	0,31
	Média	7,65	0,00	3,15	3,59	3,44	3,59	0,40	0,43

¹ Grupo de agentes de biocontrole; TEST = plantas cultivadas em solo, sem infestação com os agentes de biocontrole; ² médias das plantas inoculadas com os inóculos 1 (SJ 50) e 2 (SJ 132); ³ médias das plantas não-inoculadas; AFD – área foliar doente; TECS – tecido sadio; MSA – matéria seca da parte aérea; MSR – matéria seca do sistema radicular.

Com relação ao acúmulo de matéria seca no sistema radicular MSR, esta só apresentou efeito significativo para inóculo, no segundo experimento (Tabela 2), o que não se comprovou tanto no primeiro quanto no terceiro experimento, em que os inóculos utilizados na parte aérea não afetaram o desenvolvimento do sistema radicular das plantas.

Não houve diferença significativa entre os agentes de biocontrole (Bioc.), ou seja, isolados de *RBN* de amendoim, feijão e soja, no que diz respeito à AFD das plantas nos três experimentos. Isto demonstra que, aparentemente, não há efeito da origem dos agentes de biocontrole na indução de resistência às plantas de soja. No entanto, foi observado, no terceiro experimento, diferença entre as plantas com (C/Bioc.) e sem (S/Bioc.) agentes de biocontrole, em que as plantas S/Bioc. desenvolveram mais mela do que as plantas C/Bioc., demonstrando indução resistência nas plantas inoculadas pelas *RBN*, porém dependente da época de condução do experimento.

É importante mencionar que, no primeiro experimento, verificou-se diferença significativa entre os agentes de biocontrole, para as variáveis MSA e TECS, apresentando médias superiores à testemunha, o que indicou efeito positivo em relação ao desenvolvimento das plantas o que pode ser observado também para variável MSR, que apresentou efeito significativo dos agentes de biocontrole no terceiro experimento (Tabela 2). Este efeito positivo, no entanto, não se comprovou no segundo experimento, no qual embora se observasse diferença entre os agentes de biocontrole (*RBN* de amendoim, feijão e soja) para as variáveis TECS e MSR, não houve diferença significativa para nenhuma das variáveis entre as plantas submetidas aos agentes de biocontrole (C/Bioc) e sem os agentes de biocontrole (S/Bioc), o mesmo ocorrendo para o terceiro experimento no que diz respeito à MSA e TECS (Tabela 2).

Observando-se os grupos de agentes de biocontrole (amendoim, feijão e soja), o grupo de isolados de *RBN* do feijão proporcionou maior acúmulo de TECS das plantas de soja, quando comparado ao grupo do amendoim no primeiro e no segundo experimento (Tabela 3). Entretanto, não foi verificada diferença significativa, no primeiro e segundo experimentos (Tabela 2), entre estes dois grupos para as variáveis AFD e MSA. Houve diferença entre os grupos de isolados de *RBN* do feijão e do amendoim quanto à MSR das plantas de soja no segundo e terceiro experimentos. O contraste SJ vs. AM, FJ foi significativo a 1% para as variáveis MSA e TECS no terceiro experimento e MSR no segundo experimento (Tabela 2).

O grupo da soja, por sua vez, foi superior aos

demais grupos de *RBN*, ocasionando maior desenvolvimento do sistema radicular em praticamente todos os experimentos, o que demonstra maior afinidade das raízes de soja com seus próprios isolados de origem, à exceção do terceiro em que o grupo do amendoim se igualou estatisticamente ao grupo da soja (Tabela 3).

Foi constatada apenas uma interação significativa entre os agentes de biocontrole (Bioc.) e os inóculos de *R. solani* AG-1 IA (Inoc.), para a variável MSR, no primeiro experimento, o que demonstra que houve diferença, para essa variável, entre alguns isolados de Bioc dentro de cada inóculo.

Não foi observada nenhuma associação negativa dos isolados de *RBN* testados com as raízes da soja, ou seja, não foi detectada a presença de lesões no sistema radicular. Entretanto, a presença do fungo pode ser detectada por meio do reisolamento das *RBN* que colonizaram o sistema radicular das plantas de soja (Figura 1). Nenhuma redução no sistema radicular foi observada no sistema soja-*RBN*. Esta observação contrasta com o relatado para o sistema *RBN*-feijão no qual se observou redução no desenvolvimento do sistema radicular em condições de indução de resistência (Dalisay e Kuc, 1995). Os autores atribuem o fato da redução do sistema radicular do feijoeiro à combinação de sucessivas reações de defesa do hospedeiro.

Dessa forma, não se pode afirmar, de forma contundente, sobre o efeito destes organismos na soja e por fim a efetividade deste tipo de tratamento no controle desta doença. Um fator que deve ser destacado é o efeito do ambiente, neste trabalho, principalmente no que diz respeito ao fotoperíodo, haja vista que a soja é uma cultura muito sensível a esse fator ambiental (Câmara, 1998) e que o experimento foi conduzido em diferentes épocas do ano (verão, outono e primavera), com diferentes condições de fotoperíodo.

Os dados aqui obtidos servirão de base para outras pesquisas, visando ao controle da mela, em condições de campo, em áreas com condições climáticas favoráveis à doença, como no Estado do Tocantins. Além disso, a continuidade desta pesquisa, que busca os efeitos bioquímicos induzidos pelas *RBN* em soja, é de grande importância para elucidar o papel das *RBN* no controle da mela. A indução de resistência é um fenômeno multicomponente (Kuc e Stobel, 1992) e é necessário estudar, com mais profundidade, os mecanismos envolvidos. Em estudo sobre a indução de resistência por *RBN* em feijoeiro, espécies não-patogênicas de *RBN* foram indutoras de peroxidases, 1-3- β -glucanases e de certas quitinases, tanto localmente como sistemicamente (Xue *et al.*, 1998).

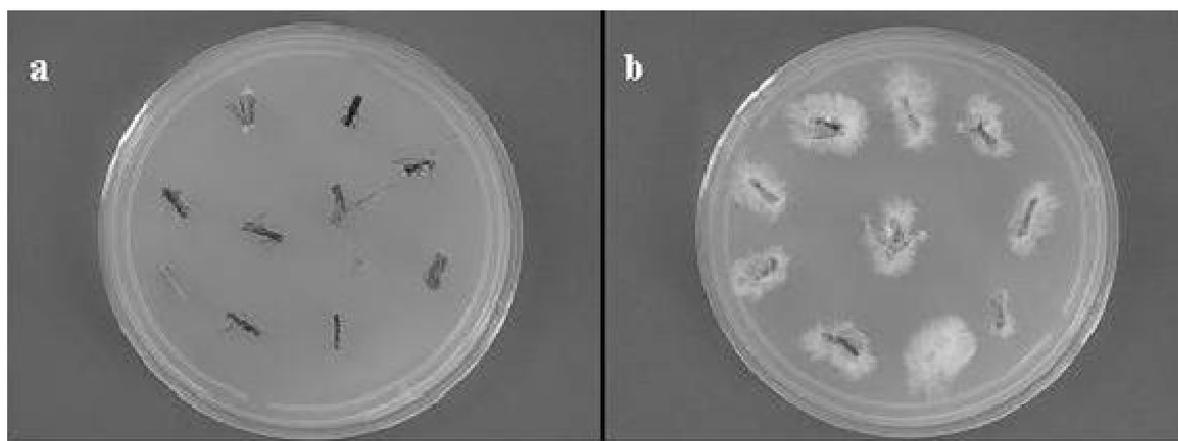


Figura 1. Reisolamento da RBN no sistema radicular da soja, cultivar IAC 18, em meio seletivo “KHMP”, com cinco dias de crescimento, sendo “a” (testemunha sem RBN) e “b” (testemunha com RBN).

Pretende-se, futuramente, abordar o fenômeno de indução de resistência por RBN com mais detalhes, propondo um estudo sobre os mecanismos bioquímicos envolvidos no fenômeno de indução, tais como a análise da expressão, em soja, de proteínas relacionadas com a resistência da planta a patógenos, como fitoalexinas, de enzimas como as chitinases, 1-3- β -glucanases e peroxidases (inibidores de fitopatógenos) e a biosíntese de glucoproteínas ricas em hidroxiprolinas (Mandell e Baker, 1991).

Conclusão

Apesar das várias evidências positivas neste trabalho e na literatura sobre a ação das RBN na indução de resistência em plantas contra a mela, ainda não se pode afirmar, de forma contundente, sobre o efeito destes organismos na soja e, por fim, a efetividade deste tipo de tratamento no controle desta doença.

Agradecimentos

Agradecemos à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), por financiar a pesquisa com recursos de auxílio e bolsa de Iniciação Científica (Processo 02/05002-7).

Referências

- BURPEE, L.L.; GOULTY, L.G. Suppression of brown patch disease of creeping bentgrass by isolates of nonpathogenic *Rhizoctonia* spp. *Phytopathology*, St. Paul, v. 44, n. 7, p. 692-694, 1984.
- CÂMARA, G.M.S. Ecofisiologia da soja e rendimento. In: CÂMARA, G.M.S. (Ed.). *Soja: tecnologia da produção*. Piracicaba: USP, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 1998. cap. 5, p. 256-275.
- CARDOSO, J.E.; ECHANDI, E. Biological control of

Rhizoctonia root rot of snap bean with binucleate *Rhizoctonia*-like fungi. *Plant Dis.*, St. Paul, v. 71, n. 2, p. 167-170, 1987a.

CARDOSO, J.E.; ECHANDI, E. Nature of protection of bean seedlings from *Rhizoctonia* root rot by binucleate *Rhizoctonia*-like fungus. *Phytopathology*, St. Paul, v. 77, n. 12, p. 1548-1551, 1987b.

CASSIOLATO, A.M.R. et al. Potential of *Rhizoctonia* spp. binucleate and *R. solani* hypovirulent as biocontrol agents against *R. solani* Kühn. In: APS ANNUAL MEETING, 1997, Rochester. *Abstract...* Rochester: American Phytopathological Society, 1997. v. 87. p. 15.

CERESINI, P.C. et al. Associação de *Rhizoctonia* spp. binucleadas e de *R. solani* GA-4 HGI a vagens de amendoimzeiro (*Arachis hypogaea* L.) no estado de São Paulo. *Summa Phytopathol.*, Jaboticabal, v. 22, n. 2, p. 145 - 156, 1996.

CERESINI, P.C., SOUZA, N.L. Associação de *Rhizoctonia* spp. binucleadas e de *R. solani* GA 4 HGI e GA 2-2 IIIB ao feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) no estado de São Paulo. *Summa Phytopathol.*, Jaboticabal, v. 23, n. 1, p. 14-24, 1997.

CUBETA, M.A.; ECHANDI, E. Biological control of *Rhizoctonia* and *Pythium* damping-off of cucumber: an integrated approach. *Biol. Control.*, Ithaca, v. 1, n. 3, p. 227-236, 1991.

DALISAY, R.F.; KUC, J.A. Persistence of induced penetration by *Colletotrichum lagenarium* into cucumber leaves with induced systemic resistance and its relation to enhanced peroxidase and chitinase activities. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, London, v. 47, n. 5, p. 329-338, 1995.

ESCANDE, A.R.; ECHANDI, E. Effect of growth media, storage environment, and soil on binucleate *Rhizoctonia* AG-G for protection of potato from *Rhizoctonia* canker. *Plant Pathol.*, Oxford, v. 40, n. 2, p. 190-196, 1991a.

ESCANDE, A. R.; ECHANDI, E. Protection of potato from *Rhizoctonia* canker by binucleate *Rhizoctonia* fungi. *Plant Pathol.*, Oxford, v. 40, n. 2, p. 197-202, 1991b.

FENILLE, R.C. *Caracterização citomorfológica, cultural, molecular e patogênica de *Rhizoctonia solani* Kühn associado à*

- soja no Brasil. 2001. Tese (Doutorado em Concentração em Proteção de Plantas)-Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.
- FENILLE, R.C. *et al.* Characterization of *Rhizoctonia solani* associated with soybean in Brazil. *Eur. J. Plant Pathol.*, Dordrecht, v. 108, n. 8, p. 783-792, 2002.
- HARRIS, A.R. *et al.* Binucleate *Rhizoctonia* isolates control damping-off caused by *Pythium ultimum* var. *sporangiferum*, and promote growth, in *Capsicum* and *Celosia* seedlings in pasteurized potting medium. *Soil Biol. Biochem.*, Elmsford, v. 25, n. 7, p. 909-914, 1993.
- HERR, L.J. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* by binucleate *Rhizoctonia* spp. and hypovirulent *R. solani* agents. *Crop Prot.*, Guildford, v. 14, n. 3, p. 179-186, 1995.
- JABAJI-HARE, S.H. *et al.* Cell wall alterations in bean seedlings protected from *Rhizoctonia* root rot by binucleate *Rhizoctonia* species. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 6., 1994, Montreal. *Proceedings...* Montreal: Canadian Phytopathological Society, 1994. p. 265.
- KO, W.; HORA, F.K.A selective medium for *Rhizoctonia solani* in soil. *Phytopathology*, St. Paul, v. 61, n. 6, p. 707-710, 1971.
- KUC, J.; STOBEL, N.E. Induced resistance using pathogens and non-pathogens. In: TJAMOS, E.C. *et al.* (Ed.). *Biological control of plant diseases: molecular biology and genetic improvement of biocontrol agents*. New York: Springer, 1992. p. 295-305.
- MANDELL, Q.; BAKER, R. Mechanisms involved in biological control of *Fusarium* wilt of cucumber with strains of nonpathogenic *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, St. Paul, v. 81, n. 5, p. 462-469, 1991.
- MEYER, M.C. *Caracterização de Rhizoctonia solani* KUHN, agente causal da mela da soja [*Glycine max* (L.) Merrill], seleção de genótipos e controle químico. 2001. Tese (Doutorado em Concentração em Proteção de Plantas)-Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.
- POROMARTO, S.R. *et al.* Association of binucleate *Rhizoctonia* with soybean and mechanism of biocontrol of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, St. Paul, v. 88, n. 10, p. 1056-1067, 1998.
- VILLAJUAN-ABGONA, R. *et al.* Biocontrol of *Rhizoctonia* damping-off of cucumber by non-pathogenic binucleate *Rhizoctonia*. *Eur. J. Plant Pathol.*, Dordrecht, v. 102, n. 3, p. 227-235, 1996.
- XUE, L. *et al.* Systemic induction of peroxidases, 1,3- β -glucanases, chitinases, and resistance in bean plants by binucleate *Rhizoctonia* species. *Phytopathology*, St. Paul, v. 88, n. 4, p. 359-365, 1998.
- YORINORI, J.T. Controle integrado das principais doenças da soja. In: CAMARA, G.M.S. (Ed.). *Soja: tecnologia de produção*. Piracicaba: Esalq/USP, 1998. p. 139-192.
- YORINORI, J.T. *et al.* Doenças da soja e seu controle. In: ARANTES, N.E.; SOUZA, P.I.M. (Ed.). *Cultura da soja nos cerrados*. Piracicaba: Potafós, 1993. p. 333-397.

Received on August 11, 2006.

Accepted on August 07, 2007.