

III. FITOPATOLOGIA

PATOGENICIDADE DE *RHIZOCTONIA SOLANI* EM MORANGUEIRO⁽¹⁾

MARIA APARECIDA DE SOUZA TANAKA^(2,4), MARGARIDA FUMIKO ITO^(2,4)
e FRANCISCO ANTONIO PASSOS^(3,5)

RESUMO

O fungo *Rhizoctonia solani* Kuhen tem sido isolado com maior frequência de mudas e plantas adultas de morangueiro com sintomas de subdesenvolvimento, declínio progressivo, avermelhamento ou arroxamento dos folíolos, pecíolos e estolhos, além do apodrecimento do ápice da coroa, estípulas e base dos pecíolos. As plantas doentes apresentavam, com frequência, raízes escuras ou com áreas necrosadas. *Fusarium* spp. e *Pythium* spp. também estavam, reiteradamente, associados às plantas doentes. Para determinar a causa dos sintomas descritos e verificar, isoladamente ou em mistura, possível interação entre os patógenos *R. solani*, *Fusarium* sp. e *Pythium* sp., testaram-nos quanto à patogenicidade, em mudas de morangueiro, em casa de vegetação. Observou-se que somente quando *R. solani* estava presente havia reprodução dos sintomas, de modo semelhante ao observado no campo, comprovando sua patogenicidade. *Fusarium* e *Pythium*, no entanto, foram reisolados de lesões radiculares, o que indica seu possível envolvimento no complexo da doença, aumentando os sintomas de declínio em condições de campo.

Termos de indexação: morangueiro, *Fragaria X ananassa* Duch., *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Pythium* spp., podridão do meristema apical, declínio.

ABSTRACT

PATHOGENICITY OF *RHIZOCTONIA SOLANI* TO STRAWBERRY

Rhizoctonia solani was consistently associated with strawberry plants in nurseries or in fruit production fields, with symptoms of progressive decline, stunt, reddening of leaflets, petioles and runners, besides dry rots of the crown apex, estipules and base of the petioles. These plants showed frequently roots with necrotic lesions.

⁽¹⁾ Recebido para publicação em 2 de janeiro e aceito em 27 de abril de 1995.

⁽²⁾ Seção de Fitopatologia, Instituto Agrônômico (IAC), Caixa Postal 28, 13001-970 Campinas (SP).

⁽³⁾ Seção de Hortaliças, IAC.

⁽⁴⁾ Com bolsa de pesquisa do CNPq.

⁽⁵⁾ Com bolsa da CAPES.

Fusarium spp. and *Pythium* spp. also were isolated from the diseased plants. This study was conducted to determine the role of each referred fungus on the disease and to investigate a possible interaction between them. For this purpose, *R. solani*, *Pythium* sp. and *Fusarium* sp., alone or combined one with other, were inoculated in strawberry plants, in the greenhouse. The results showed that only when *R. solani* was present, there was an identical reproduction of the symptoms observed in the field. *Fusarium* and *Pythium*, nevertheless, were reisolated from root lesions, indicating the possibility of its involvement with the disease, increasing the symptoms of decline under field conditions.

Index terms: strawberry, *Fragaria X ananassa* Duch., *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Pythium* spp., bud rot, decline.

1. INTRODUÇÃO

Rhizoctonia solani Kuhen tem sido associado a diversos tipos de sintomas em morangueiro (*Fragaria X ananassa* Duch.), causando-lhes severas perdas (Demaree, 1945; Cardoso, 1980; Maas, 1984).

As plantas doentes caracterizam-se por um declínio progressivo, ou na primavera, nos viveiros de produção de mudas, ou no final do outono-inverno, nos campos de produção de frutos.

Podridões do meristema apical, com destruição dos primórdios foliares, em qualquer estágio de desenvolvimento da planta, também são atribuídas a *R. solani*. O fungo causa podridões radiculares, principalmente na inserção das raízes com o rizoma. Associados a esses sintomas, observa-se, com frequência, avermelhamento dos pecíolos e estolhos, deformação de folhas novas, que se recurvam para cima e se tornam arroxeadas e disposição horizontal das folhas mais velhas.

As plantas doentes aparecem em grupos espalhados na cultura e se destacam pelo seu subdesenvolvimento, em contraste com as plantas sadias (Wilhelm, 1957; Drozdowski & Manning, 1986; Razik, 1989). A faixa de temperatura prevalecente determina o tipo de sintoma, ou seja, lesões radiculares são favorecidas a 2-18°C, enquanto podridões da coroa e da base dos pecíolos predominam, aparentemente, em temperaturas entre 18 e 32°C (Maas, 1984). Alta umidade, excesso de matéria orgânica e acúmulo de terra ao redor da coroa favorecem a doença (Cardoso, 1980).

Rhizoctonia solani, sendo um componente do complexo de fungos cosmopolitas habitantes naturais do solo, pode estar associado a outros patógenos dessa microbiota, causando a síndrome descrita. Fungos dos gêneros *Fusarium* e *Pythium* estão entre os mais frequentemente isolados das plantas doentes (Wilhelm, 1957; Nemeč, 1970; Nemeč & Sanders, 1970; Watanabe et al., 1977; Maas, 1984).

Em fevereiro/1992-abril/1994, *R. solani* estava presente em 75% das plantas com os sintomas descritos, coletadas em viveiros ou campos de produção de frutos, procedentes de 14 municípios paulistas. Em 21,5% das plantas, em adição a *R. solani*, houve associação dos sintomas com *Fusarium* spp. e 15,6%, com *Pythium* spp. (Tanaka et al., 1994). Neste trabalho, objetiva-se comprovar a patogenicidade de *R. solani* e sua possível interação com *Fusarium* e *Pythium* nos sintomas observados.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Isolamentos e obtenção de inóculo

Rhizoctonia solani, *Fusarium* sp. e *Pythium* sp. foram isolados de mudas e matrizes dos cultivares IAC-Campinas e AGF-80, coletados em viveiro do município de Pedra Bela (SP). As plantas amostradas apresentavam subdesenvolvimento e necroses na região apical, destacando-se das sadias. Os pecíolos e estolhos exibiam coloração arroxeadas ou avermelhada; as estípulas e a base dos pecíolos apresentavam lesões necróticas aprofundadas e escuras, de formato alongado e extensões variáveis.

As folhas novas possuíam, geralmente, pecíolos alongados e folíolos recurvados (Figura 1A). Ao ser arrancadas, as raízes exibiam lesões marrom-escuras, principalmente próximo à sua inserção com o rizoma.

Colocou-se uma parte das plantas amostradas em câmara úmida, dispendo-as em caixas gerbox forradas com papel-filtro umedecido com água destilada. As plantas destinadas ao isolamento foram primeiramente lavadas em água corrente e secções dos tecidos lesionados dos pecíolos, rizomas e raízes, submetidas à desinfestação superficial pela passagem em solução etanólica a 70% durante um minuto e, depois, em hipoclorito de sódio a 1%

por três minutos. Em seguida, efetuou-se o plaqueamento em meio de cultura BDA e a incubação a 28°C no escuro. Decorridos três a quatro dias, transferiram-se as colônias desenvolvidas para tubos de ensaio contendo BDA, incubando-as, durante cinco dias, nas mesmas condições, para identificação dos fungos.

Preparou-se o inóculo de *R. solani*, utilizando-se substrato constituído de sementes de trigo embebidas em água destilada durante 24 horas e autoclavadas por 30 minutos. Em cada frasco, contendo 200 mL do substrato, adicionaram-se dois blocos de micélio do fungo, de 5 mm de diâmetro, retirados das margens de colônias desenvolvidas du-

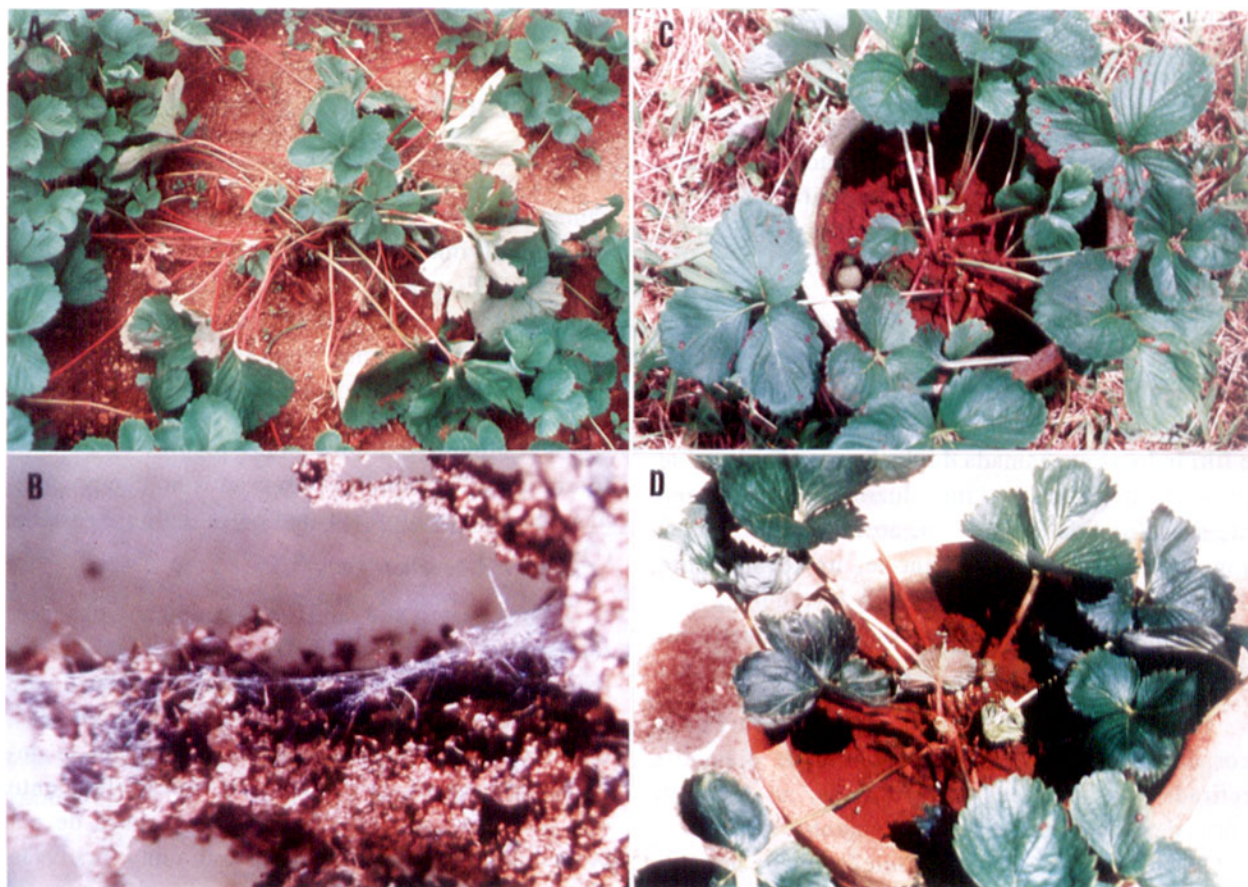


Figura 1. **A:** Detalhe de planta doente amostrada, exibindo avermelhamento dos pecíolos e estolhos e disposição horizontal das folhas mais velhas; **B:** Desenvolvimento de micélio de *Rhizoctonia solani* em plantas incubadas em câmara úmida, visto ao estereomicroscópio (aumento de 6x); **C:** Sintomas de necrose da gema apical e da base dos pecíolos, que se tornaram avermelhados, em plantas inoculadas, e **D:** Arroxamento da face inferior de folha nova, 21 dias após a inoculação.

rante 48 horas em placas com BDA, a 28°C. Mantiveram-se os frascos a 28°C, no escuro, durante dez dias, até que as sementes estivessem totalmente colonizadas. Tais sementes foram secas sobre papel absorvente, em ambiente de laboratório, durante 48 horas. Cultivaram-se *Fusarium* sp. e *Pythium* sp. em placas de Petri com BDA, durante oito dias, a 28°C, no escuro.

Provas de patogenicidade

Mudas de morangueiro do cultivar IAC-Campinas foram plantadas em vasos de 20 cm de diâmetro contendo 4 kg de solo autoclavado e mantidas em casa de vegetação. Em cada vaso, cultivaram-se duas plantas, nas quais, após o pegamento, inocularam-se os fungos a testar.

Para a inoculação de *R. solani*, removeu-se pequena porção de solo ao redor das plantas de cada vaso, depositando-se, aí, 1 g de sementes colonizadas pelo fungo, as quais foram recobertas com o solo anteriormente retirado. Como testemunha, as sementes colonizadas foram substituídas por sementes apenas autoclavadas e secas ao ar sobre papel absorvente.

Preparou-se o inóculo de *Fusarium* sp. na concentração de 10⁶ esporos/mL, adicionando-se água destilada esterilizada às placas, raspando a superfície das culturas com uma lâmina de microscopia e filtrando-as em camada dupla de gaze. Feriram-se, previamente, as raízes, introduzindo-se um estilete até a profundidade de 5 cm, ao redor das plantas. Em cada vaso, distribuíram-se, uniformemente, 15 mL do inóculo. O tratamento testemunha consistiu em depositar, em cada vaso, após o ferimento das raízes, 15 mL de água destilada esterilizada.

Inoculou-se *Pythium* sp., colocando-se três discos de micélio do fungo, de 7 mm de diâmetro, retirados das margens das colônias, ao redor da coroa de cada planta. Como testemunha, utilizaram-se discos de BDA, em substituição aos de micélio.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com quatro repetições, cada uma delas representada por um vaso com duas plantas, perfazendo um total de oito plantas. Cada tratamento constituiu-se da seguinte maneira: 1. *R. solani*; 2.

Fusarium sp.; 3. *Pythium* sp.; 4. *R. solani* + *Fusarium* sp.; 5. *R. solani* + *Pythium* sp.; 6. *Fusarium* sp. + *Pythium* sp.; 7. *R. solani* + *Fusarium* sp. + *Pythium* sp.; 8. Testemunha absoluta.

Após as inoculações, as plantas permaneceram em uma câmara, cuja cobertura plástica a tornava úmida, por 48 horas. Realizaram-se as avaliações aos 7, 14 e 21 dias após as inoculações. Na última, as plantas foram arrancadas e o seu sistema radicular, lavado em água corrente para verificar a presença de lesões.

Após as avaliações, efetuaram-se reisolamentos em plantas amostradas de todos os tratamentos. Prepararam-se câmaras úmidas para que se pudesse observar, também, o desenvolvimento dos patógenos diretamente sobre as lesões.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas plantas coletadas no campo e mantidas em câmara úmida por quatro dias, pôde-se observar o desenvolvimento de micélio vigoroso, típico de *R. solani* (Figura 1B), cuja identificação foi confirmada por exames em lâminas, ao microscópio composto. Em algumas plantas, detectou-se, também, a presença de *Fusarium* sp.

Os sintomas exibidos pelas plantas inoculadas foram idênticos àqueles observados no campo, apenas nos tratamentos em que se inoculou *R. solani* (Quadro 1).

Já no sétimo dia após a inoculação, observaram-se, nas estípulas e base dos pecíolos, que as lesões que atingiram, em média, a extensão de 1,5 cm, eram deprimidas e marrom-avermelhadas, lembrando lesões de antracnose. Detectaram-se sintomas de necrose da gema apical, avermelhamento dos pecíolos e posição horizontal da base de pecíolos, a partir do décimo quarto dia da inoculação (Figura 1C e Quadro 1).

O arroxamento das folhas mais novas, formadas após a inoculação e a morte de algumas plantas, só foram evidentes 21 dias depois da inoculação (Figura 1D e Quadro 1).

Poucas plantas morreram ao final do experimento (Quadro 1). Algumas, apesar da morte da gema apical, mostraram sinais de recuperação, emitindo brotações laterais, em decorrência do desenvolvimento de gemas latentes, de modo semelhante ao relatado por Brooks (1935), Demaree (1945) e Wilhelm (1957). Tal recuperação é apenas aparente, já que essas plantas, em geral, não produzem, ou, quando o fazem, é de forma insignificante e tardia. Embora aparentemente normais, podem ser portadoras do patógeno (Wilhelm, 1957; Maas, 1984).

No quadro 1, verifica-se que as lesões radiculares foram mais frequentes quando se inoculou *R.*

solani na presença de *Fusarium* sp., ou quando se utilizaram os três patógenos. Essas lesões eram semelhantes àquelas observadas nas plantas coletadas no campo.

Nas plantas inoculadas com *R. solani*, as lesões localizavam-se, com maior frequência, próximo à inserção com o rizoma, enquanto nas inoculações com *Fusarium* e *Pythium*, incidiam em qualquer ponto, ao longo das raízes.

As lesões radiculares não estavam relacionadas aos sintomas observados na parte aérea (Quadro 1). No entanto, é provável que sua presença aumente

Quadro 1. Sintomas observados nas plantas inoculadas com *R. solani*, *Fusarium* sp. e *Pythium* sp., em casa de vegetação. Número de plantas inoculadas por tratamento = 8

| Tratamentos | Necrose da gema apical | | | Lesões na base dos pecíolos e estípulas | | | Avermelhamento dos pecíolos | | | Folhas novas arroxeadas | | |
|--|------------------------|----|----|---|----|----|-----------------------------|----|----|-------------------------|----|----|
| | 7 ⁽¹⁾ | 14 | 21 | 7 | 14 | 21 | 7 | 14 | 21 | 7 | 14 | 21 |
| <i>R. solani</i> | 0 | 8 | 8 | 6 | 8 | 8 | 0 | 7 | 8 | 0 | 0 | 6 |
| <i>Fusarium</i> spp. | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Pythium</i> sp. | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Rhiz.</i> + <i>Fus.</i> | 0 | 6 | 8 | 8 | 8 | 8 | 0 | 6 | 8 | 0 | 0 | 7 |
| <i>Rhiz.</i> + <i>Pyt.</i> | 0 | 7 | 8 | 8 | 8 | 8 | 0 | 5 | 8 | 0 | 0 | 6 |
| <i>Fus.</i> + <i>Pyt.</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Rhiz.</i> + <i>Fus.</i> + <i>Pyt.</i> | 0 | 6 | 8 | 8 | 8 | 8 | 0 | 7 | 8 | 0 | 0 | 8 |
| Testemunhas | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

| Tratamentos | Folhas mais velhas na posição horizontal | | | Lesões radiculares ⁽²⁾ | | | Plantas mortas | | |
|--|--|----|----|-----------------------------------|----|----|----------------|----|----|
| | 7 | 14 | 21 | 7 | 14 | 21 | 7 | 14 | 21 |
| <i>R. solani</i> | 0 | 5 | 8 | - | - | 6 | 0 | 0 | 2 |
| <i>Fusarium</i> spp. | 0 | 0 | 0 | - | - | 3 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Pythium</i> sp. | 0 | 0 | 0 | - | - | 2 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Rhiz.</i> + <i>Fus.</i> | 0 | 3 | 8 | - | - | 8 | 0 | 0 | 3 |
| <i>Rhiz.</i> + <i>Pyt.</i> | 0 | 5 | 8 | - | - | 6 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Fus.</i> + <i>Pyt.</i> | 0 | 0 | 0 | - | - | 4 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Rhiz.</i> + <i>Fus.</i> + <i>Pyt.</i> | 0 | 6 | 8 | - | - | 8 | 0 | 0 | 3 |
| Testemunhas | 0 | 0 | 0 | - | - | 0 | 0 | 0 | 0 |

⁽¹⁾ Dias após inoculação. ⁽²⁾ Avaliação efetuada no 21.º dia após inoculação.

a severidade da doença e o declínio, conforme já evidenciado por Miller (1947), Watanabe et al. (1977), Maas (1984), Drozdowski & Manning (1986).

Rhizoctonia solani foi reisolado de todas as partes amostradas, mais freqüentemente das lesões da região apical, das estípulas e da base dos pecíolos. As colônias obtidas eram de cor castanha, crescimento vigoroso e formação abundante de microesclerócios, principalmente nas culturas mais velhas, à semelhança do isolado original. A presença de *Fusarium* e *Pythium*, por outro lado, foi mais freqüente nas lesões radiculares (Quadro 1).

Em plantas incubadas em câmara úmida, observou-se o desenvolvimento predominante de *R. solani* na região da coroa, de modo idêntico ao das plantas coletadas no campo.

É possível que essa síndrome venha sendo negligenciada, em função de outras doenças de natureza mais devastadora, como a antracnose, nas suas diferentes formas de manifestação. No entanto, a freqüência com que tem ocorrido e a constatação de sintomas severos em viveiros e campos de produção de frutos, evidenciam sua importância e as perdas que pode acarretar. A possibilidade de sua ocorrência simultânea com outras doenças e de os seus sintomas serem atribuídos a outras causas, pode levar à adoção de medidas de controle inadequadas, o que agrava as perdas.

4. CONCLUSÃO

Os resultados evidenciaram ser *R. solani* o principal patógeno causador dos sintomas descritos, podendo, no entanto, estar envolvidos outros fungos da microflora do solo, como espécies de *Fusarium* e *Pythium*, aumentando a intensidade dos danos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BROOKS, A.N. A *Rhizoctonia* bud rot of strawberry. *Phytopathology*, Lancaster, **25**:965-966, 1935.
- CARDOSO, C.O.N. Doenças do morangueiro. In: GALLI, F., ed. *Manual de Fitopatologia*, São Paulo, Agronômica Ceres, 1980. v.1, p.392-403.
- DEMAREE, J.B. *Rhizoctonia* bud rot of strawberry plants. *Phytopathology*, Lancaster, **35**:710-713, 1945.
- DROZDOWSKI, J.L. & MANNING, W.J. Association of *Rhizoctonia solani* and rhizoctonia-like fungi with strawberry roots in Massachusetts. *Phytopathology*, St. Paul, **76**:651, 1986.
- MAAS, J.L., ed. *Compendium of strawberry diseases*. St. Paul, 1984. 138p.
- MILLER, P.W. Fungi associated with root lesions of the strawberry in Oregon. *Plant Disease Reporter*, Beltsville, **31**:90-99, 1947.
- NEMEC, S. *Pythium sylvaticum* pathogenic on strawberry roots. *Plant Disease Reporter*, Beltsville, **54**:416-418, 1970.
- NEMEC, S. & SANDERS, H. *Pythium* species associated with strawberry root necrosis in Southern Illinois. *Plant Disease Reporter*, Beltsville, **54**:49-51, 1970.
- RAZIK, A.B. *Rhizoctonia* disease in propagation material and field grown strawberry. *Acta Horticulturae*, Wageningen, **265**:579-585, 1989.
- TANAKA, M.A.S.; ITO, M.F. & PASSOS, F.A. Patogenicidade de *Rhizoctonia solani* em morangueiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, **19**:307, 1994. (suplemento)
- WATANABE, T.; HASHIMOTO, K. & SATO, M. *Pythium* species associated with strawberry roots in Japan, and their role in the strawberry stunt disease. *Phytopathology*, St. Paul, **67**:1324-1332, 1977.
- WILHELM, S. *Rhizoctonia* bud rot of strawberry. *Plant Disease Reporter*, Beltsville, **41**:941-944, 1957.