

ELIANE MAYUMI INOKUTI

**COMPARAÇÃO DE ISCAS PARA QUANTIFICAÇÃO DA
ATIVIDADE SAPROFÍTICA DE *RHIZOCTONIA* SPP. NO
SOLO E RELAÇÃO COM ATIVIDADE PATOGÊNICA**

**RECIFE-PE
JULHO – 2012**

ELIANE MAYUMI INOKUTI

**COMPARAÇÃO DE ISCAS PARA QUANTIFICAÇÃO DA
ATIVIDADE SAPROFÍTICA DE *RHIZOCTONIA* SPP. NO
SOLO E RELAÇÃO COM ATIVIDADE PATOGÊNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Prof. Dr. Sami Jorge Michereff (UFRPE) – Orientador

Profa. Dra. Érika Valente de Medeiros (UFRPE-UAG) – Co-orientadora

Prof. Dr. Cristiano Souza Lima (UFRPE-UAG) – Co-orientador

**RECIFE-PE
JULHO – 2012**

Ficha catalográfica

I58c Inokuti, Eliane Mayumi
 Comparação de iscas para quantificação da atividade
 saprófitica de *Rhizoctonia* ssp. no solo e relação com a
 atividade patogênica / Eliane Mayumi Inokuti. – Recife,
 2012.
 50 f. : il.

 Orientador: Sami Jorge Michereff.
 Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade
 Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia,
 Recife, 2012.
 Referências.

 1. Fungo habitante de solo 2. Colonização saprofítica
 3. Isca de palito de dente 4. Patogenicidade 5. Análise de
 risco de doença de planta I. Michereff, Sami Jorge II. Título

CDD 632

**COMPARAÇÃO DE ISCAS PARA QUANTIFICAÇÃO DA
ATIVIDADE SAPROFÍTICA DE *RHIZOCTONIA* SPP. NO
SOLO E RELAÇÃO COM ATIVIDADE PATOGÊNICA**

ELIANE MAYUMI INOKUTI

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 30/07/2012

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Sami Jorge Michereff (UFRPE)

EXAMINADORES:

Profa. Dra. Elineide Barbosa de Souza (UFRPE)

Profa. Dra. Elvira Maria Régis Pedrosa (UFRPE)

Dra. Rejane Rodrigues da Costa e Carvalho (UFRPE)

**RECIFE-PE
JULHO – 2012**

Aos meus pais Sacaé Saziki Inokuti e Geraldo Zenhitiro Inokuti, a minha irmã Tiemi, ao meu irmão Hideki, a minha tia Yumiko e meu tio Kyoshi e minhas primas pelo incentivo, amor e compreensão em todos os momentos.

DEDICO

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”. (Martin Luther King)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e pela força para superar mais essa etapa de minha vida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Pernambuco (FACEPE), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Sami Jorge Michereff, pela atenção, enorme paciência, amizade, incentivo e por todo o apoio oferecido durante a realização do curso.

À minha segunda família “Fitopatologista”, Alice, Ana Paula, Aricléia, Cristiane, Jackeline, João Victor, Kamila, Mariote, Matheus, Rômulo, Susan e Wilson, pela amizade, boas risadas e convivência.

Ao Prof. Robert W. Barreto e Dartanhã J. Soares, responsáveis pelo meu ingresso na carreira científica e na Fitopatologia, me fornecendo ensinamentos práticos, absolutamente úteis na continuidade de minha carreira.

Aos professores e funcionários, do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, em especial a Darci Martins e Sr. Luís Tavares, por todo o apoio.

Agradeço a toda equipe que compõe o Laboratório de Epidemiologia de Doenças de Planta, principalmente a Catarina, Marilya, Bárbara e Ewerton, pela valiosa ajuda em todos os momentos durante a execução deste trabalho.

A meus queridos amigos e colegas de turma, Alice, Ana Paula, Aricléia, Breno, Camila, Christtiano, Claudeana, Cristiane, Dyana, Jackeline, João Victor, Kamila, Kátia, Leilson, Leonardo, Litervaldo, Marcondes, Marília, Mariote, Matheus, Moara, Nelson, Neto, Rômulo, Susan, Wiler, Willie, Wilson e todos os demais alunos do Mestrado e Doutorado em Fitopatologia da UFRPE.

Um agradecimento especial a Ana Paula, pessoa fundamental não só na execução deste trabalho mas nos ensinamentos diários de convivência e de vida, não sei o que teria sido de mim sem sua ajuda e presteza.

Aos meus amigos Diego, Diogo e Hellen, que mesmo distantes sempre acreditam em mim.

Finalmente, a todos que de uma forma ou de outra, participaram de todos os momentos vividos nessa jornada, minha eterna gratidão.

Meu Muito Obrigado a Todos

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	vi
RESUMO GERAL	viii
GENERAL ABSTRACT	ix
CAPÍTULO I – Introdução Geral	10
Referências Bibliográficas	19
CAPÍTULO II – Comparação de iscas para quantificação da atividade saprófitica de <i>Rhizoctonia</i> spp. no solo e relação com atividade patogênica	26
Resumo	27
Abstract	28
Introdução	28
Materiais e métodos	30
Resultados	35
Discussão	39
Conclusão	43
Agradecimentos	43
Referências	44
CONCLUSÕES GERAIS	49

RESUMO GERAL

O fungo *Rhizoctonia* spp. é um importante fitopatógeno habitante do solo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de iscas para quantificação da atividade saprofítica de *Rhizoctonia* no solo e determinar a relação entre atividade saprofítica e atividade patogênica, visando ajustar uma equação de risco de atividade patogênica em áreas destinadas ao plantio de feijão-caupi e feijão-comum. Na avaliação das iscas, solos de três localidades foram acondicionados em bandejas e infestados com um isolado de *R. solani* (50 mg de substrato colonizado kg⁻¹ solo). Após sete dias, amostras dos solos foram transferidas para caixas gerbox e semeadas seis iscas: sementes de beterraba, feijão-caupi, milho e sorgo, segmentos de talos de feijão-caupi e segmentos de palito de dente. Após 48 h a 25 °C, as iscas foram transferidas para o meio de Ko & Hora modificado. A isca de palito de dente de madeira propiciou a detecção dos maiores níveis de atividade saprofítica em todos os solos. A isca de palito de dente foi avaliada em relação a oito isolados e seis densidades de inóculo de *R. solani*, demonstrando elevada eficácia em todas as situações. Na análise da relação entre as atividades saprofítica e patogênica, foram utilizados 12 solos coletados em áreas destinadas ao cultivo de feijão-caupi e feijão-comum. A atividade saprofítica foi avaliada com iscas de palito de dente e a atividade patogênica foi avaliada pela distribuição dos solos em bandejas, plantio de sementes de feijão-caupi e avaliação da severidade da rizoctoniose. Houve correlação positiva ($r = 0,7698$) significativa ($P \leq 0,05$) entre as atividades saprofítica (ATS) e patogênica (ATP). A equação de regressão $ATP = 1 / (0,5822 - 0,0056 \text{ ATS})$ foi estimada com elevada precisão ($R^2 = 0,9930$; $P \leq 0,05$), indicando que o risco de atividade patogênica de *Rhizoctonia* nos solos destinados ao cultivo de feijão-caupi e feijão-comum pode ser estimado a partir da análise da atividade saprofítica.

Palavras-chaves: fungo habitante do solo, colonização saprofítica, isca de palito de dente, patogenicidade, análise de risco de doença de planta.

GENERAL ABSTRACT

The fungi *Rhizoctonia* spp. is an important soilborne plant pathogen. The objective of this study was to evaluate the effectiveness of baits to quantify the saprophytic activity of *Rhizoctonia* in soil and determine the relationship between saprophytic and pathogenic activities in order to fit an equation of pathogenic activity risk in soils for cowpea and common bean planting. In the evaluation of baits, soils from three locations were packed in trays and infested with an isolate of *R. solani* (50 mg colonized substrate kg⁻¹ soil). After seven days, soil samples were transferred to gerboxes and sown six baits: beet, cowpea, maize and sorghum seeds, cowpea segment stalks and toothpick segments. After 48 h at 25 ° C, the baits were transferred to the Ko & Hora modified medium. The wood toothpick bait led to the detection of higher levels of saprophytic activity in all soils. The bait toothpick was evaluated against eight isolates and six inoculum densities of *R. solani*, demonstrating highly effective in all situations. In the analysis of the relationship between saprophytic and pathogenic activities, were used 12 soils collected in areas for cowpea and common bean planting. The saprophytic activity was evaluated using toothpick baits and the pathogenic activity was assessed by the distribution of soils in trays, planting of cowpea seeds and assessment of *Rhizoctonia* canker severity. There was a significant ($P \leq 0.05$) positive correlation ($r = 0.7698$) between the saprophytic (ATS) and pathogenic (ATP) activities. The regression equation $ATP = 1 / (0.5822 + 0.0056 \text{ ATS})$ was estimated with high precision ($R^2 = 0.9930$, $P \leq 0.05$), indicating that the risk of pathogenic activity of *Rhizoctonia* in soils for cowpea and common bean planting can be estimated from the analysis of saprophytic activity.

Keywords: soilborne fungi, saprophytic colonization, toothpick bait, pathogenicity, plant disease risk analysis.

Capítulo I

Introdução Geral

COMPARAÇÃO DE ISCAS PARA QUANTIFICAÇÃO DA ATIVIDADE SAPROFÍTICA DE *RHIZOCTONIA* SPP. NO SOLO E RELAÇÃO COM ATIVIDADE PATOGÊNICA

INTRODUÇÃO GERAL

O fungo do gênero *Rhizoctonia* foi primeiramente descrito por DeCandolle, em 1815, tendo como espécie tipo *Rhizoctonia crocorum* (Pers.). No entanto, o representante mais significativo da espécie, *Rhizoctonia solani*, foi descrita por Kühn em 1858 (SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991).

O gênero *Rhizoctonia* tem como características: ramificação observada próximo ao septo distal em hifas jovens; presença de um septo na ramificação da hifa próximo ao seu ponto de origem; presença de septos do tipo doliporo; ramificações de hifas que são concêntricas em sua extremidade basal; ausência de grampos de conexão; ausência de conídios; tecido esclerocial não diferenciado em membrana, córtex e medula e ausência de rizomorfos (MORDUE, 1974; PARMETER; WHITNEY, 1970; SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991). Os teleomorfos de *Rhizoctonia* pertencem à subdivisão Basidiomycota, classe Hymenomycetes. Os principais teleomorfos de *Rhizoctonia* são *Thanatephorus* Donk., *Ceratobasidium* Rogers, *Waitea* Warcup & Talbot e *Tulasnella* Schröter. Entre as espécies multinucleadas, *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk. é o teleomorfo de *R. solani*, enquanto *Waitea circinata* Warcup & Talbot é o teleomorfo de *R. zae* e *R. oryzae*. Entre as espécies binucleadas, *R. repens* e *R. oryzae-sativae*, associam-se a várias espécies de *Ceratobasidium* como: *C. cornigerum* (Bourdot) D.P. Rogers, *C. gramineum* (Ikata & T. Matsuura) Oniki et al. e *C. oryzae-sativae* P.S. Gunnell & R.K. Webster, ou ainda, a *Tulasnella* (CARLING; SUMNER, 1992; GONZÁLEZ-GARCÍA; ONCO; SUSAN, 2006; OGOSHI, 1987; SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991).

O gênero *Rhizoctonia* é formado por grupos de indivíduos relacionados, mas geneticamente isolados, os quais são agrupados com base nas suas características morfológicas, patológicas, fisiológicas, moleculares e em uma reação de compatibilidade vegetativa, baseada na anastomose de hifas ou incompatibilidade somática entre os indivíduos de grupos distintos (AGARWAL, 2010; GONZÁLEZ-GARCÍA; ONCO; SUSAN, 2006; OGOSHI, 1987; OGOSHI, 1996).

O conceito de grupo de anastomose (AG) é essencial para o gênero *Rhizoctonia*, pois representa um grupo de isolados relacionados capazes de auto reconhecimento através da

fusão das hifas (anastomose) (OGOSHI, 1987). A afinidade para a anastomose das hifas tem sido utilizada para caracterizar isolados de *R. solani*, *R. zaeae*, *R. oryzae*, *R. repens* e espécies binucleadas com *Ceratobasidium* como teleomorfo (AGARWAL, 2010; CARLING, 1996; SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991; YANG; LI, 2012).

Até o momento, são reconhecidos 14 grupos de anastomose em *R. solani*, denominados AG-1 a AG-13, e AG-BI que realiza anastomose com dois ou mais grupos (AGARWAL, 2010; GONZÁLEZ-GARCÍA; ONCO; SUSAN, 2006; LÜBECK, 2004; SHARON et al., 2006, 2008; YANG; LI, 2012). Alguns autores consideram o AG-BI como parte do AG-2 (CARLING, 1996; CARLING; KUNINAGA; BRAINARD, 2002).

Além de AG, o conceito de grupos intraespecíficos (ISG) baseado em evidências de reação de anastomose, propriedades morfológicas, de virulência, gamas de hospedeiros, requerimentos nutricionais, características sorológicas e moleculares, permitiu a diferenciação de ISGs dentro dos AGs de *R. solani* (CARLING, 1996; OGOSHI, 1987; SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991; OGOSHI, 1996). Atualmente, para *R. solani* são relatados seis ISGs dentro do AG-1, oito dentro do AG-2, dois dentro de AG-3, três dentro do AG-4 e cinco dentro de AG-6 (GODOY-LUTZ et al., 2008; SHARON et al., 2006, 2008; YANG; LI, 2012).

O fungo *R. solani* é cosmopolita, pois se encontra distribuído na maioria dos solos agrícolas do mundo, e tem sido isolado de solos virgens (MORDUE, 1974). A gama de hospedeiros é constituída de mais de 500 espécies de plantas, causando importantes doenças na maioria das plantas cultivadas em todo o mundo (AGARWAL, 2010; OGOSHI, 1996; YANG; LI, 2012). Como típico habitante do solo, *R. solani* comumente causa doenças nas raízes. No entanto, sob certas condições, como alta umidade relativa do ar, ataca partes aéreas de plantas. A infecção nos diversos hospedeiros ou órgãos pode resultar em diferentes sintomas como podridões e cancrios de caules e raízes, tombamentos de pré e pós-emergência, queima e morte de plantas, podridões em tubérculos, degeneração de frutos e grãos, além de manchas e queima das folhas e brotos, na parte aérea (AGARWAL, 2010; BAKER, 1970; OGOSHI, 1987).

Os propágulos de *Rhizoctonia* sobrevivem no solo por longos períodos na ausência de hospedeiros e condições favoráveis, na forma de hifas com paredes espessas associadas com restos culturais e outros detritos orgânicos, e na forma de esclerócios, principalmente na camada superficial do solo (SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991; VAN BRUGGEN; ARNESON, 1986). As especializações no modo de sobrevivência dos fungos fitopatogênicos habitantes do solo apresentam vantagens e desvantagens importantes. A ausência de especificidade de hospedeiro propicia a distribuição por muitas áreas, e a sobrevivência em

substrato morto representa uma estratégia evolutiva (GARRET, 1970). Essa estratégia de sobrevivência é denominada de colonização saprofítica (GARRET, 1970; OTTEN; GILLIGAN, 1998; YULIANTI; SIVASITHAMPARAM; TURNER, 2007). A habilidade saprofítica do fungo não depende apenas da taxa de crescimento, mas também da produção de antibióticos, toxinas ou enzimas, e outros micro determinantes do ecossistema do solo, como fatores bióticos e abióticos (GARRET, 1970; PAPAIVIZAS et al., 1975; YULIANTI; SIVASITHAMPARAM; TURNER, 2007). Desta forma, podemos considerar a habilidade saprofítica como um somatório de características fisiológicas que contribuem para o sucesso da colonização. A disponibilidade de nutrientes e os níveis de matéria orgânica disponíveis no solo afetam a colonização saprofítica e conseqüentemente o potencial de inóculo do patógeno (CHUNG et al., 1988; YULIANTI; SIVASITHAMPARAM; TURNER, 2007).

À medida que a matéria orgânica diminui ocorre a redução da atividade saprofítica, como observado em mudas de eucalipto (*Eucalyptus* spp.) (SANFUENTES et al., 2007) e na incorporação de adubos verde seguido do plantio de colza (*Brassica napus* L.) (YULIANTI; SIVASITHAMPARAM; TURNER, 2006), sugerindo a rápida absorção dos nutrientes e intenso safofitismo na fase inicial de colonização. (PAPAIVIZAS, 1970). Além da ausência de matéria orgânica interferindo na sobrevivência do inóculo com o passar do tempo de incubação, a habilidade de decomposição da celulose é outro importante mecanismo responsável pelo desenvolvimento da colonização saprofítica de *R. solani* (PAPAIVIZAS, 1970).

A atividade de *R. solani* geralmente está confinada aos 10 cm da camada superficial do solo, aparentemente, não tendo a capacidade de colonizar resíduos de plantas abaixo de 20-25 cm (PAPAIVIZAS et al., 1975). Os propágulos são freqüentemente agregados no solo, como resultado da colonização saprofítica ou patogênica das plantas e restos de matéria orgânica fresca (OTTEN; GILLIGAN, 1998).

Isolados de *R. solani* podem diferir na habilidade saprofítica, o que pode determinar diferenças na capacidade de colonização de substratos (BLAIR, 1943; PAPAIVIZAS, 1970; PAPAIVIZAS; DAVEY, 1962; OGOSHI, 1987; SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991). Em geral, na natureza, a fase saprofítica de *R. solani* é seguida de uma fase patogênica (YULIANTI; SIVASITHAMPARAM; TURNER, 2007), mas estudos demonstraram que o elevado potencial saprofítico de *R. solani* não se encontra, necessariamente, relacionado à capacidade patogênica (TRUTER, 2005).

A disseminação de *R. solani* em novas áreas de cultivo pode ocorrer pelo movimento de tecidos colonizados do hospedeiro, solos infestados, detritos colonizados carreados pela

água de irrigação, vento, animais ou sementes (ABAWI; PASTOR-CORRALES, 1990; BAKER; MARTINSON, 1970).

O controle da rizoctoniose é muito difícil, pois o patógeno possui elevada agressividade, combinada com grande habilidade de competição saprofítica, capacidade de sobrevivência no solo na ausência da planta hospedeira, transmissibilidade pelas sementes e ampla gama de hospedeiros (AGARWAL, 2010; CUBETA; VILGALYS, 2000; LEACH; GARBER, 1970; OGOSHI, 1987). Não existem cultivares/variedades comerciais de plantas cultivadas com níveis aceitáveis de resistência à rizoctoniose, a rotação de culturas é pouco eficiente e o controle químico é ineficiente, inviável economicamente e de elevado impacto ambiental (AGARWAL, 2010). Diante disso, para evitar a doença, os agricultores abandonam as áreas infestadas, gerando grandes perdas econômicas devido à desvalorização das áreas abandonadas (MICHEREFF et al., 2005).

Com o crescente interesse no manejo integrado da rizoctoniose, a escolha do local de plantio tem sido relatada como importante opção de controle, tanto para escapar do patógeno quanto das condições predisponentes à ocorrência de epidemias. Por ser o solo um sistema dinâmico, compreendendo uma vasta e diversificada comunidade de organismos, a estimativa da presença ou da densidade de inóculo de patógenos no solo pode determinar os riscos de infecção das plantas (DIJST et al., 1997; TU, 1987).

A quantificação do inóculo de patógenos radiculares em amostras de solo representa um grande desafio para a realização de pesquisas envolvendo fitopatógenos habitantes do solo (DAVET; ROUXEL, 2000; HORNBY, 1998; MILLER, 1996).

A mensuração da densidade de inóculo necessária para entender a presença e dispersão de patógenos no solo tem sido seguida pela mensuração de duas atividades biológicas: atividade saprofítica e atividade patogênica. Os esforços para quantificar e modelar as relações entre inóculo e doença tem propiciado a consolidação de vários conceitos e definido variáveis mensuráveis, como capacidade saprofítica, densidade de inóculo, potencial de inóculo e doença. Essas bases auxiliam no desenvolvimento de estudos epidemiológicos que permitem a previsão de doenças radiculares (BENSON, 1994; BOUHOT 1979).

Freqüentemente, grande parte dos custos e do tempo gasto em pesquisas com patógenos radiculares é utilizada para analisar o inóculo do solo, motivo pelo qual, o emprego adequado de técnicas e a melhoria nos métodos de quantificação podem reduzir os gastos e aumentar a precisão dos ensaios (BENSON, 1994).

Para estimar as populações de *R. solani* no solo podem ser distinguidas três categorias: (a) capacidade saprofítica competitiva, (b) densidade de inóculo, e (c) potencial de inóculo. Para

isolar os propágulos viáveis que ocorrem no solo de uma área específica, técnicas representativas de todas as três categorias devem ser usadas (TRUTER, 2005).

A capacidade saprofítica competitiva ou atividade saprofítica de *R. solani* no solo tem sido estimada com sucesso pelos métodos do tubo de imersão (MARTINSON, 1963; PAPAIVIZAS; DAVEY, 1962), fracionamento do solo e plaqueamento de partículas orgânicas (BOOSALIS; SCHAREN, 1959; TRUJILLO et al, 1987; VINCELLI; BEAUPRE, 1989; WEINHOLD, 1977) e iscas de segmentos de tecidos de plantas ou sementes (EL-KHADEM; ZAHRAN; EL-KAZZAZ, 1979; HUANG; KUHLMAN, 1989; MATSUMOTO, 2003; PAPAIVIZAS; DAVEY, 1959; PAPAIVIZAS; DAVEY, 1962; SANFORD, 1952; SANFUENTES et al., 2002, 2007; SNEH et al. 1966).

A densidade de inóculo pode ser determinada pelo fracionamento do solo e plaqueamento de peletes (HENIS et al., 1978) e pelo plaqueamento direto da suspensão do solo (KO; HORA 1971; WEINHOLD, 1977). Propágulos de *R. solani* são normalmente recuperados a partir do solo em números relativamente baixos (0,1-10 propágulos g de solo⁻¹) (CLARK; SASSER; BARKER, 1978; HENIS et al., 1978; KO; HORA, 1971; PAULITZ; SCHROEDER, 2005; WEINHOLD, 1977).

Uma das grandes limitações dos métodos baseados na atividade saprofítica e na densidade de inóculo é que esses métodos não permitem a distinção entre isolados patogênicos e não patogênicos de *Rhizoctonia* no solo, uma vez que são morfologicamente indistinguíveis (PAPAIVIZAS; DAVEY, 1962; PAPAIVIZAS, 1970; SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991).

O potencial de inóculo é uma medida da capacidade de um organismo habitante do solo para causar doença em um hospedeiro susceptível, resultante de quatro componentes: (1) densidade de inóculo; (2) energia exógena e endógena dos propágulos por unidade; (3) virulência dos propágulos; (4) fatores ambientais, bióticos e abióticos, determinantes da atividade do inóculo (LOCKWOOD, 1988). Estudos e técnicas de mensuração do potencial de inóculo de *R. solani* no solo em campo têm na realidade estimada apenas a população do fungo no solo, que compreende isolados saprófitas e patogênicos. Para mensurar o verdadeiro potencial de inóculo de *R. solani* em uma amostra de solo, é preciso verificar se os isolados do fungo na amostra são patogênicos (TRUTER, 2005). Isto é obtido pelo método do bioensaio com plantas indicadoras, no qual é efetuado o plantio de plantas hospedeiras suscetíveis nas amostras de solo e posteriormente estimada a intensidade da doença (BAKER, 1970; BOUHOT, 1979; CARLING; SUMNER, 1992; DAVEY; PAPAIVIZAS, 1962; MENZIES, 1963; MILLER, 1996; SINCLAIR, 1970; SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991; SNEH et al, 1966). O método do bioensaio com plantas indicadoras descreve o efeito integrado do

hospedeiro, do patógeno e das condições em que o mesmo foi realizado. Análises estatísticas podem ser aplicadas para ajustar os dados de intensidade de doença nas plantas e propiciar estimativas da densidade de inóculo (HORNBY, 1998). Uma estratégia importante na utilização do bioensaio com plantas para quantificação do potencial do inóculo de *Rhizoctonia* no solo é associá-lo a um método baseado na atividade saprofítica, como a utilização de iscas (BOUHOT, 1979).

A maioria dos métodos baseados na atividade saprofítica e na densidade do inóculo é eficaz na detecção e quantificação de *R. solani* no solo, mas exigem trabalho intensivo, motivo pelo qual outras alternativas têm sido estudadas, com destaque para métodos bioquímicos, sorológicos e moleculares (AGARWAL, 2010; BOUNOU et al., 1999; BUDGE et al., 2009; EDEL-HERMANN et al., 2009; LEES et al., 2002; MACDONALD; STITES; KABASHIMA, 1990; MATSUMOTO, 2003; NEATE; SCHNEIDER, 1996; OKUBARA; SCHROEDER; PAULITZ, 2008; THORNTON; DEWEY; GILLIGAN, 1993; TRUTER, 2005; WEERASENA et al., 2004). As técnicas moleculares têm as vantagens que o grau de especificidade pode ser escolhido, as técnicas podem ser rápidas e podem detectar AGs específicos e subgrupos (ISGs) de forma mais precisa que os métodos bioquímicos, sorológicos ou convencionais (BUDGE et al., 2009; NEATE; SCHNEIDER, 1996; OKUBARA; SCHROEDER; PAULITZ, 2008).

Avanços na compreensão das doenças radiculares dependem da quantificação do inóculo no solo. Métodos tradicionais que envolvem meios seletivos e semi-seletivos, assim como iscas e bioensaios, continuarão sendo importantes no futuro, mas o desenvolvimento de técnicas sorológicas e moleculares para quantificar o inóculo pode melhorar a precisão das estimativas e ao mesmo tempo reduzir o custo da amostragem. Para todos os métodos, o custo e os padrões rigorosos de amostragem são requeridos e todos os métodos necessitam de uma avaliação cuidadosa para estabelecer a relevância dos resultados para o campo e os limiares dos níveis de inóculo (MICHEREFF; ANDRADE; PERUCH, 2005).

O método de iscas, como depende da habilidade de competição saprofítica do organismo alvo, é muito apropriado para detecção de *Rhizoctonia* no solo (AGARWAL, 2010; BOUHOT 1979; CARLING; SUMNER, 1992; GARRETT, 1970; PAPAVIDAS, 1970; PAPAVIDAS; DAVEY 1961; SANFUENTES et al., 2002). Iscas de tecidos de plantas e sementes têm sido utilizadas com sucesso em estudos epidemiológicos (PAPAVIDAS et al., 1975; SANFUENTES et al., 2007), populacionais (MATSUMOTO, 2003; SANFUENTES et al., 2002; SANFUENTES et al., 2007; SCHISLER; NEATE; MASUHARA, 1994; VILLAJUAN-ABGONA et al., 1996) e na avaliação de métodos para supressão da atividade

desse fungo no solo (EL-KHADEM; ZAHRAN; EL-KAZAZ, 1979; LEWIS; PAPAVIDAS, 1985; LEWIS; PAPAVIDAS, 1987; LEWIS; LUMSDEN; LOCKE, 1996; LEWIS; LARKIN; ROGERS, 1998; NEUBAUER; AVIZOHAR-HERSHENSON, 1973; YULIANTI; SIVASITHAMPARAM; TURNER, 2006, 2007).

Muitos tipos de iscas já foram utilizados para detecção e quantificação da atividade saprofítica de *Rhizoctonia* no solo, incluindo segmentos de caule de amendoim (*Arachis hypogaea* L.), alfafa (*Medicago sativa* L.), algodão (*Gossypium hirsutum* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), aveia (*Avena sativa* L.), batata (*Solanum tuberosum* L.), centeio (*Secale cereale* M. Bieb.), cevada (*Hordeum vulgare* L.), *Chocorus olirotius* L., eucalipto, *Fagopyrum esculentum* Moench., *Juncus effusus* L., feijão-caupi, feijão-comum, feijão-lima (*Phaseolus limensis* Macfad.), pepino (*Cucumis sativus* L.), pinus (*Pinus elliottii* var. *elliottii* Engelm.), soja [*Glycine max* (L.) Merrill], tomate (*Lycopersicon esculentum* L.), tremoço (*Lupinus* spp.), trigo (*Triticum aestivum* L.), parênquimas de cenoura (*Daucus carota* L.) e batata, e sementes de algodão, aveia, beterraba (*Beta vulgaris* L.), centeio, cevada, feijão-comum, milho (*Zea mays* L.) e sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] (CARLING; SUMNER, 1992; DHINGRA; SINCLAIR, 1995; HUANG; KUHLMAN, 1989; LUZ, 2010; MATSUMOTO, 2003; NEATE; SCHNEIDER, 1996; PAPAVIDAS, 1970; PAPAVIDAS; DAVEY, 1962; SINCLAIR, 1970; SANFUENTES et al., 2002; SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991). Além destas, iscas de palito de dente de madeira têm sido utilizadas com sucesso na quantificação de *R. solani* em solos cultivados com cereais (BABIKER et al., 2011; PAULITZ; SCHROEDER, 2005; SCHROEDER; PAULITZ, 2008) e colza (YULLIANTI; SIVASITHAMPARAM; TURNER, 2006).

A análise prévia ao plantio dos riscos de infecção por determinado patógeno radicular é uma estratégia fundamental para o manejo de doenças radiculares (MICHEREFF; PERUCH; ANDRADE, 2005). Para fungos parasitas não especializados, como *Rhizoctonia*, é freqüente uma elevada correlação entre severidade da doença e atividade saprofítica no solo, motivo pelo qual a atividade saprofítica pode servir como indicadora de riscos de epidemia de rizoctoniose (GEYPENS, 1974; SNEH et al., 1966). Nesse contexto, o método de iscas, além de ter custo muito baixo para execução, quando associado ao método do bioensaio com plantas indicadoras tem grande potencial como sistema de análise de risco de doenças radiculares baseado no inóculo inicial do patógeno (TU, 1987).

Até o momento, inexistente um sistema de análise de risco de atividade patogênica de *Rhizoctonia* adaptado às condições brasileiras, considerada estratégia de manejo de doenças de alta sustentabilidade. Nesse contexto, a presente dissertação teve como objetivos: a) avaliar

a eficácia de iscas para quantificação da atividade saprofítica de *Rhizoctonia* no solo; e b) determinar a relação entre atividade saprofítica e atividade patogênica, visando ajustar uma equação de risco de atividade patogênica em áreas destinadas ao plantio de feijão-caupi e feijão-comum.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAWI, G. S.; PASTOR-CORRALES, M. A. **Root rots of beans in Latin America and Africa**: diagnosis, research methodologies, and management strategies. Cali: CIAT, 1990. 114 p.
- AGARWAL, D. K. *Rhizoctonia* D.C.: taxonomy, ecology and management. In: MUKERJI, K. G.; MANOHARACHARY, C. (Eds.). **Taxonomy and ecology of Indian fungi**. New Delhi: I. K. International Publishing House, 2010. p. 19-50.
- BABIKER, E. M.; HULBERT, S. H.; SCHROEDER, K. L.; PAULITZ, T. C. Optimum timing of preplant applications of glyphosate to manage *Rhizoctonia* root rot in barley. **Plant Disease**, St. Paul, v. 95, n. 3, p. 304-310, 2011.
- BAKER, K. F. Types of *Rhizoctonia* diseases and their occurrence. In: PARMETER JR., J. R. (Ed.). ***Rhizoctonia solani*: biology and pathology**. Berkeley: The University of California Press, 1970. p. 125-148.
- BAKER, R.; MARTINSON, C. A. Epidemiology of diseases caused by *Rhizoctonia solani*. In: PARMETER JR., J. R. (Ed.). ***Rhizoctonia solani*: biology and pathology**. Berkeley: The University of California Press, 1970. p. 172-188.
- BENSON, D. M. Inoculum. In: CAMPBELL, C. L.; BENSON, D. M. (Eds.). **Epidemiology and management of root diseases**. Heidelberg: Springer-Verlag, 1994. p.1-33.
- BLAIR, I. D. Behaviour of the fungus *Rhizoctonia solani* Kühn in the soil. **Annals of Applied Biology**, London, v. 30, n. 2, p. 118-127, 1943.
- BOOSALIS, M. G.; SCHAREN, A. L. Methods for microscopic detection of *Aphanomyces euteiches* and *Rhizoctonia solani* and for isolation of *Rhizoctonia solani* associated with plant debris. **Phytopathology**, Lancaster, v. 49, n. 1, p. 192-198, 1959.
- BOUHOT, D. Estimation of inoculum density and inoculum potential: techniques and their value for disease prediction. In: SCHIPPERS, B.; GAMS, W. (Eds.). **Soilborne plant pathogens**. New York: Academic Press, 1979. p. 379-390.
- BOUNOU, S.; JABAJI-HARE, S. H.; HOUGUE, R.; CHAREST, P. M. Polymerase chain reaction-based assay for specific detection of *Rhizoctonia solani* AG-3 isolates. **Mycological Research**, Cambridge, v. 103, n. 1, p. 1-8, 1999.
- BUDGE, G. E.; SHAW, M. W.; COLYER, A.; PIETRAVALLE, S.; BOONHAM, N. Molecular tools to investigate *Rhizoctonia solani* distribution in soil. **Plant Pathology**, London, v. 58, n. 6, p. 1071-1080, 2009.
- CARLING, D. E. Grouping in *Rhizoctonia solani* by hyphal anastomosis reaction. In: SNEH, B.; JABAJI-HARE, S.; NEATE, S.; DIJST, G. (Eds.). ***Rhizoctonia* species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control**. Dordrecht: Kluwer, 1996. p. 37-47.
- CARLING, D. E.; KUNINAGA, S.; BRAINARD, K. A. Hyphal anastomosis reactions, rDNA-internal transcribed spacer sequences, and virulence levels among subsets of

- Rhizoctonia solani* anastomosis group-2 (AG-2) and AG-BI. **Phytopathology**, St. Paul, v. 92, n. 1, p. 43-50, 2002.
- CARLING, D. E.; SUMNER, D. R. *Rhizoctonia*. In: SINGLETON, L. L.; MIHAIL, J. D.; RUSH, C. M. (Eds.). **Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi**. St. Paul: APS Press, 1992. p. 157-165.
- CHUNG, Y. R.; HOITINK, H. A. J.; DICK, W. A.; HERR, L. J. Effects of organic matter decomposition level and cellulose amendment on the inoculum potential of *Rhizoctonia solani* in hardwood bark media. **Plant Disease**, St. Paul, v. 78, n. 6, p. 836-840, 1988.
- CLARK, C. A.; SASSER, J. N.; BARKER, K. R. Elutriation procedures for quantitative assay of soils for *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 68, n. 12, p. 1234-1236, 1978.
- CUBETA, M. A.; VILGALYS, R. *Rhizoctonia*. In: LEDERBERG J. J. (Ed.). **Encyclopedia of microbiology**. San Diego: Academic Press, 2000. v. 4, p. 109-116.
- DAVET, P.; ROUXEL, F. **Detection and isolation of soil fungi**. Enfield: Science Publishers, 2000. 188 p.
- DAVEY, C. B.; PAPAVIDAS, G. C. comparison of methods for isolating *Rhizoctonia* from soil. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 8, n. 6, p. 847-853, 1962.
- DHINGRA, O.D.; SINCLAIR, J.B. **Basic plant pathology methods**. 2. ed. Boca Raton: Lewis Publishers, 1995. 442 p.
- DIJST, G.; OYARZUN, P. J.; ZOON, F. C.; KOK, C. J.; GERLAGH, M.; MAAS, P. W. TH.; FOKKEMA, N. J. Risk assessment through quantitative detection of soil suppressiveness against plant diseases caused by *Rhizoctonia solani* AG 2-1, AG 2-t and AG 4, *Fusarium solani* f.sp. *pisi*, *Thielaviopsis basicola*, *Aphanomyces euteiches*, trichodorid nematodes *Meloidogyne hapla*. In: DEHNE, H. W.; ADAM, G.; DIEKMANN, M.; FRAHM, J. (Eds.). **Diagnosis and identification of plant pathogens**. Dordrecht: Kluwer, 1997. p. 247-251.
- EDEL-HERMANN, V.; JOBARD, M.; GAUTHERON, N.; FRIBERG, H.; STEINBERG, C. Real-time PCR assay for identification and quantification of *Rhizoctonia solani* AG-2-2 in soil. **IOBC/WPRS Bulletin**, Paris, v. 42, p. 41-46, 2009.
- EL-KHADEM, M.; ZAHRAN, M.; EL-KAZZAZ, M. K. Effect of the herbicides trifluralin, dinitramine and fluometuron on *Rhizoctonia* disease in cotton. **Plant and Soil**, The Hague, v. 51, n. 4, p. 463-470, 1979.
- GARRET, S. D. **Pathogenic root- infecting fungi**. London: Cambridge University Press, 1970. 328 p.
- GEYPENS, M. Inoculum potential of soil-borne plant pathogenic fungi: problems encountered in analysis and significance in epidemiology. **Agro-Ecosystems**, Amsterdam, v. 1, n. 1, p. 177-192, 1974.
- GODOY-LUTZ, G.; KUNINAGA, S.; STEADMAN, J. R.; POWERS, K. Phylogenetic analysis of *Rhizoctonia solani* subgroups associated with web blight symptoms on common bean based on ITS-5.8S rDNA. **Journal of General Plant Pathology**, Tokyo, v. 74, p. 32-40, 2008.

- GONZÁLEZ-GARCÍA, V. G.; ONCO, M. A. P.; SUSAN, V. B. Biology and systematics of the form genus *Rhizoctonia*. **Spanish Journal of Agricultural Research**, Madrid, v. 4, p. 55-79, 2006.
- HENIS, Y.; GHAFAR, A.; BAKER, R.; GILLESPIE, S. L. A new pellet soilsampler and its use for the study of population dynamics of *Rhizoctonia solani* in soil. **Phytopathology**, St. Paul, v. 68, n. 3, p. 371-376, 1978.
- HORNBY, D. Diseases caused by soilborne pathogens. In: JONES, D. G. (Ed.). **The epidemiology of plant diseases**. Dordrecht: Kluwer, 1998. p. 308-322.
- HUANG, J. W.; KUHLMAN, E. G. Recovery and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia*-like fungi in forest nurseries. **Plant Disease**, St. Paul, v. 73, n. 9, p. 968-972, 1989.
- KO, W-S; HORA, F. K. A selective media for the quantitative determination of *Rhizoctonia solani* in soil. **Phytopathology**, Lancaster, v. 61, n. 7, p. 707-712, 1971.
- LEACH, L. D.; GARBER, R. H. Control of *Rhizoctonia*. In: PARMETER JR., J. R. (Ed.). ***Rhizoctonia solani*: biology and pathology**. Berkeley: The University of California Press, 1970. p. 189-199.
- LEES, A. K.; CULLEN, D. W.; SULLIVAN, L.; NICOLSON, M. J. Development of conventional and qualitative real-time PCR assays for the detection and identification of *Rhizoctonia solani* AG-3 in potato and soil. **Plant Pathology**, London, v. 51, n. 2, p. 293-302, 2002.
- LEWIS, J. A.; LARKIN, R. P.; ROGERS, D. L. A formulation of *Trichoderma* and *Gliocladium* to reduce damping-off caused by *Rhizoctonia solani* and saprophytic growth of the pathogen in soilless mix. **Plant Disease**, St. Paul, v. 82, n. 5, p. 501-506, 1998.
- LEWIS, J. A.; LUMSDEN, R. D.; LOCKE, J. C. Biocontrol of damping-off diseases caused by *Rhizoctonia solani* and *Pythium ultimum* with alginate prills of *Gliocladium virens*, *Trichoderma hamatum* and various food bases. **Biocontrol Science and Technology**, Bethesda, v. 6, n. 2, p. 163-173, 1996.
- LEWIS, J. A.; PAPAVIDAS, G. C. Characteristics of alginate pellets formulated with *Trichoderma* and *Gliocladium* and their effect on the proliferation of the fungi in soil. **Plant Pathology**, London, v. 34, n. 5, p. 571-577, 1985.
- LEWIS, J. A.; PAPAVIDAS, G. C. Reduction of inoculum of *Rhizoctonia solani* in soil by germlings of *Trichoderma hamatum*. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 19, n. 2, p. 195-201, 1987.
- LOCKWOOD, J. L. Evolution of concepts associated with soilborne plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 26, p. 93-121, 1988.
- LÜBECK, M. Molecular characterization of *Rhizoctonia solani*. In: ARORA, D. K.; KHACHATOURIANS, G. G. (Eds.). **Applied mycology and biotechnology**. Amsterdam: Elsevier, 2004. p. 205-224.

- LUZ, C. M. **Atividade saprofítica de *Rhizoctonia solani* em solos do Nordeste brasileiro**. 2010. 55 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- MACDONALD, J. D.; STITES, J.; KABASHIMA, J. Comparison of serological and culture plate methods for detecting species of *Phytophthora*, *Pythium* and *Rhizoctonia* in ornamental plants. **Plant Disease**, St. Paul, v. 74, n. 6, p. 655-659, 1990.
- MARTINSON, C. A. Inoculum potential relationships of *Rhizoctonia solani* measured with soil microbiological sampling tubes. **Phytopathology**, Lancaster, v. 53, n. 7, p. 634-638, 1963.
- MATSUMOTO, M. A qualitative baiting technique for selective isolation and DNA diagnosis of *Rhizoctonia* spp., causal agents of rice sheath diseases, from soil. **Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University**, Fukuoka, v. 48, n. 1-2, p. 13-20, 2003.
- MENZIES, J. D. The direct assay of plant pathogen populations in soil. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 1, p. 127-142, 1963.
- MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; PERUCH, L. A. Inoculo de patógenos radiculares. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Eds.). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco - Imprensa Universitária, 2005. p. 93-124..
- MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; PERUCH, L. A.; MENEZES, M. Importância dos patógenos e das doenças radiculares em solos tropicais. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Eds.). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco - Imprensa Universitária, 2005. p. 1-18.
- MICHEREFF, S. J.; PERUCH, L. A.; ANDRADE, D. E. G. T. Manejo integrado de doenças radiculares. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Eds.). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco - Imprensa Universitária, 2005. p. 367-388.
- MILLER, S. A. Detecting propagules of plant pathogenic fungi. **Advances in Botanical Research**, London, v. 23, p. 73-102, 1996.
- MORDUE, J. E. M. *Thanatephorus cucumeris*. Eghan: Commonwealth Mycological Institute, 1974. 2 p. (CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, 406).
- NEATE, S. M.; SCHNEIDER, H. M. 1996. Sampling and quantification of *Rhizoctonia solani* in soil. In: SNEH, B.; JABAJI-HARE, S.; NEATE, S.; DIJST, G. (Eds.). **Rhizoctonia species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control**. Dordrecht: Kluwer, 1996. p. 185-195.
- NEUBAUER, R.; AVIZOHAR-HERSHENSON, Z. Effect of the herbicide, trifluralin, on *Rhizoctonia* disease in cotton. **Phytopathology**, Beltsville, v. 63, n. 6, p. 651-652, 1973.
- OGOSHI, A. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 25, p. 125-143, 1987.

- OGOSHI, A. Introduction - the genus *Rhizoctonia*. In: SNEH, B.; JABAJI-HARE, S.; NEATE, S.; DIJST, G. (Eds.). ***Rhizoctonia* species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control**. Dordrecht: Kluwer, 1996. p. 1-9.
- OKUBARA, P. A.; SCHROEDER, K. L.; PAULITZ, T. C. Identification and quantification of *Rhizoctonia solani* and *R. oryzae* using real-time polymerase chain reaction. **Phytopathology**, St. Paul, v. 98, n. 7, p. 837-847, 2008.
- OTTEN, W.; GILLIGAN, C. A. Effect of physical conditions on the spatial and temporal dynamics of the soil-borne fungal pathogen *Rhizoctonia solani*. **New Phytologist**, Cambridge, v. 138, n. 6, p. 629-637, 1998.
- PAPAVIZAS, G. C. Colonization and growth of *Rhizoctonia solani* in soil. In: PARMETER JR., J. R. ***Rhizoctonia solani*: biology and pathology**. Berkeley: University of California Press, 1970. p. 108-122.
- PAPAVIZAS, G. C.; ADAMS, P. B.; LUMSDEN, R. D.; LEWIS, J. A.; DOW, R. L.; AYERS, W. A.; KANTZES, J. G. Ecology and epidemiology of *Rhizoctonia solani* in field soil. **Phytopathology**, Lancaster, v. 65, n. 8, p. 871-877, 1975.
- PAPAVIZAS, G. C.; DAVEY, C. B. Isolation of *Rhizoctonia solani* Kuhn from naturally infested and artificially inoculated soils. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 43, n. 5, p. 404-410, 1959.
- PAPAVIZAS, G. C.; DAVEY, C. B. Saprophytic behavior of *Rhizoctonia* in soil. **Phytopathology**, Lancaster, v. 51, n. 7, p. 693-699, 1961.
- PAPAVIZAS, G. C.; DAVEY, C. B. Isolation and pathogenicity of *Rhizoctonia* saprophytically existing in soil. **Phytopathology**, Lancaster, v. 52, n. 9, p. 834-840, 1962.
- PARMETER JR., J. R.; WHITNEY, H. S. Taxonomy and nomenclature of the imperfect state. In: PARMETER JR., J. R. (Ed.). ***Rhizoctonia solani*: biology and pathology**. Berkeley: University of California Press, 1970. p. 8-19.
- PAULITZ, T. C.; SCHROEDER, K. L. A new method for the quantification of *Rhizoctonia solani* and *R. oryzae* from soil. **Plant Disease**, St. Paul, v. 89, n. 7, p. 767-772, 2005.
- SANFORD, G. B. Persistence of *Rhizoctonia solani* Kühn in soil. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 30, n. 6, p. 652-664, 1952.
- SANFUENTES, E.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A.; SILVEIRA, S. F. Comparison of baits to quantify inoculum density of *Rhizoctonia* spp. in *Eucalyptus* clonal garden soils. **Australian Plant Pathology**, Englewood, v. 31, n. 2, p. 177-183, 2002.
- SANFUENTES, E.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A.; MAFFIA, R. G. Flutuação populacional de *Rhizoctonia* spp. em jardim clonal de *Eucalyptus* spp. **Fitopatologia Brasileira**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 114-120, 2007.
- SCHISLER, D. A.; NEATE, S. M.; MASUHARA, G. The occurrence and pathogenicity of *Rhizoctonia* fungi in South Australian plant nurseries. **Mycological Research**, Cambridge, v. 98, n. 1, p. 77-82, 1994.

- SCHROEDER, K. L.; PAULITZ, T. C. Effect of inoculum density and soil tillage on the development and severity of *Rhizoctonia* root rot. **Phytopathology**, St. Paul, v. 98, n. 3, p. 304-314, 2008.
- SHARON, M., KUNINAGA, S.; HYAKUMACHI, M.; NAITO, S.; SNEH, B. Classification of *Rhizoctonia* spp. using rDNA-ITS sequence analysis supports the genetic basis of the classical anastomosis grouping. **Mycoscience**, Tokyo, v. 49, n. 1, p. 93-114, 2008.
- SHARON, M.; KUNINAGA, S.; HYAKUMACHI, M.; SNEH, B. The advancing identification and classification of *Rhizoctonia* spp. using molecular and biotechnological methods compared with the classical anastomosis grouping. **Mycoscience**, Tokyo, v.47, n. 3, p. 299-316, 2006.
- SINCLAIR, J. B. *Rhizoctonia solani*: special methods of study. In: PARMETER JR., J. R. (Ed.). *Rhizoctonia solani*: biology and pathology. Berkeley: The University of California Press, 1970. p. 199-217.
- SNEH, B.; BURPEE, L.; OGOSHI, A. **Identification of *Rhizoctonia* species**. St. Paul: APS Press, 1991, 133 p.
- SNEH, B.; KATAN, J.; HENIS, Y.; WAHL, I. Methods for evaluating inoculum density of *Rhizoctonia* in naturally infested soil. **Phytopathology**, Lancaster, v. 56, n. 1, p. 74-78, 1966.
- THORNTON, C. R.; DEWEY, F. M.; GILLIGAN, C. A. Development of monoclonal antibody-based immunological assays for the detection of live propagules of *Rhizoctonia solani* in soil. **Plant Pathology**, London, v. 42, n. 5, p. 763-773, 1993.
- TRUJILLO, E.E.; CAVIN, C. A.; ARAGAKI, M.; YOSHIMURA, M. A. Ethanol-potassium nitrate medium for enumerating *Rhizoctonia*-like fungi from soil. **Plant Disease**, St. Paul, v. 71, n.10. p. 1098-1100, 1987.
- TRUTER, M. **Etiology and alternative control of potato rhizoctoniasis in South Africa**. 2005. 118 f. Thesis (Master in Plant Pathology) - University of Pretoria, Pretoria.
- TU, J. C. Integrated control of the pea root rot disease complex in Ontario. **Plant Disease**, St. Paul, v. 71, n. 1, p. 9-13, 1987.
- VAN BRUGGEN, A. H. C.; ARNESON, P. A. Quantitative recovery of *Rhizoctonia solani* from soil. **Plant Pathology**, London, v. 70, n. 4, p. 320-323, 1986.
- VILLAJUAN-ABGONA, R.; KATSUNO, N.; KAGEYAMA, K.; HYAKUMACHI. Isolation and identification of hypovirulent *Rhizoctonia* spp. from soil. **Plant Pathology**, London, v. 45, n. 6, p. 896-904, 1996.
- VINCELLI, P.C.; BEAUPRÉ, C. M-S. Comparison of media for isolating *Rhizoctonia solani* from soil. **Plant Disease**, St. Paul, v. 73, n. 12, p. 1014-1017, 1989.
- WEERASENA, O. V. D. S. J.; CHANDRASEKHARAN, N. V.; WIJESUNDERA, R. L. C.; KARUNANAYAKE, E. H. Development of a DNA probe and a PCR based diagnostic assay for *Rhizoctonia solani* using a repetitive DNA sequence cloned from a Sri Lankan isolate. **Mycological Research**, London, v. 108, n. 6, p. 649-653, 2004.

WEINHOLD, A. R. Population of *Rhizoctonia solani* in agricultural soils determined by a screening procedure. **Phytopathology**, St. Paul, v. 67, n. 5, p. 566-569, 1977.

YANG, G.; LI, C. General description of *Rhizoctonia* species complex. In: CUMAGUN, C. J. R. (Ed.). **Plan pathology**. Rijeka: Intech, 2012. p. 41-52.

YULIANTI, T.; SIVASITHAMPARAM, K.; TURNER D. W. Saprophytic growth of *Rhizoctonia solani* Kühn AG2-1 (ZG5) in soil amended with fresh green manures affects the severity of damping-off in canola. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 38, n. 9, p. 923-930, 2006.

YULIANTI, T.; SIVASITHAMPARAM, K.; TURNER D. W. Saprophytic and pathogenic behavior of *R. solani* AG2-1(ZG-5) in a soil amended with *Diplotaxis tenuifolia* or *Brassica nigra* manures and incubated at different temperatures and soil water content. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 294, n. 2, p.277-289, 2007.

Capítulo II

Comparação de iscas para quantificação da atividade saprofítica de *Rhizoctonia* spp. no solo e relação com atividade patogênica

Submissão: **Acta Scientiarum. Agronomy**

Maringá, PR, Brasil

Qualis CAPES = A2

Comparação de iscas para quantificação da atividade saprofítica de *Rhizoctonia* spp. no solo e relação com atividade patogênica

Eliane Mayumi Inokuti¹, Ana Paula Oliveira de Barros¹, Marcondes Araújo da Silva¹, Cristiano Souza Lima², e Sami Jorge Michereff^{1*}

¹Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900 Recife, Pernambuco, Brasil. ²Unidade Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 55292-270 Garanhuns, Pernambuco, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: sami@depa.ufrpe.br

RESUMO. O fungo *Rhizoctonia* spp. é um importante fitopatógeno habitante do solo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de iscas para quantificação da atividade saprofítica de *Rhizoctonia* no solo e determinar a relação entre atividade saprofítica e atividade patogênica, visando ajustar uma equação de risco de atividade patogênica em áreas destinadas ao plantio de feijão-caupi e feijão-comum. Na avaliação das iscas, solos de três localidades foram acondicionados em bandejas e infestados com um isolado de *R. solani* (50 mg de substrato colonizado kg⁻¹ solo). Após sete dias, amostras dos solos foram transferidas para caixas gerbox e semeadas seis iscas: sementes de beterraba, feijão-caupi, milho e sorgo, segmentos de talos de feijão-caupi e segmentos de palito de dente. Após 48 h a 25 °C, as iscas foram transferidas para o meio de Ko & Hora modificado. A isca de palito de dente de madeira propiciou a detecção dos maiores níveis de atividade saprofítica em todos os solos. A isca de palito de dente foi avaliada em relação a oito isolados e seis densidades de inóculo de *R. solani*, demonstrando elevada eficácia em todas as situações. Na análise da relação entre as atividades saprofítica e patogênica, foram utilizados 12 solos coletados em áreas destinadas ao cultivo de feijão-caupi e feijão-comum. A atividade saprofítica foi avaliada com iscas de palito de dente e a atividade patogênica foi avaliada pela distribuição dos solos em bandejas, plantio de sementes de feijão-caupi e avaliação da severidade da rizoctoniose. Houve correlação positiva ($r = 0,7698$) significativa ($P \leq 0,05$) entre as atividades saprofítica (ATS) e patogênica (ATP). A equação de regressão $ATP = 1 / (0,5822 - 0,0056 \text{ ATS})$ foi estimada com elevada precisão ($R^2 = 0,9930$; $P \leq 0,05$), indicando que o risco de atividade patogênica de *Rhizoctonia* nos solos destinados ao cultivo de feijão-caupi e feijão-comum pode ser estimado a partir da análise da atividade saprofítica.

Palavras-chave: fungo habitante do solo, colonização saprofitica, isca de palito de dente, patogenicidade, análise de risco de doença de planta.

ABSTRACT. Comparison of baits for quantification of saprophytic activity of *Rhizoctonia* spp. in soil and relationship with pathogenic activity. The fungi *Rhizoctonia* spp. is an important soilborne plant pathogen. The objective of this study was to evaluate the effectiveness of baits to quantify the saprophytic activity of *Rhizoctonia* in soil and determine the relationship between saprophytic and pathogenic activities in order to fit an equation of pathogenic activity risk in soils for cowpea and common bean planting. In the evaluation of baits, soils from three locations were packed in trays and infested with an isolate of *R. solani* (50 mg colonized substrate kg⁻¹ soil). After seven days, soil samples were transferred to gerboxes and sown six baits: beet, cowpea, maize and sorghum seeds, cowpea segment stalks and toothpick segments. After 48 h at 25 °C, the baits were transferred to the Ko & Hora modified medium. The wood toothpick bait led to the detection of higher levels of saprophytic activity in all soils. The bait toothpick was evaluated against eight isolates and six inoculum densities of *R. solani*, demonstrating highly effective in all situations. In the analysis of the relationship between saprophytic and pathogenic activities, were used 12 soils collected in areas for cowpea and common bean planting. The saprophytic activity was evaluated using toothpick baits and the pathogenic activity was assessed by the distribution of soils in trays, planting of cowpea seeds and assessment of *Rhizoctonia* canker severity. There was a significant ($P \leq 0.05$) positive correlation ($r = 0.7698$) between the saprophytic (ATS) and pathogenic (ATP) activities. The regression equation $ATP = 1 / (0.5822 + 0.0056 \text{ ATS})$ was estimated with high precision ($R^2 = 0.9930$; $P \leq 0.05$), indicating that the risk of pathogenic activity of *Rhizoctonia* in soils for cowpea and common bean planting can be estimated from the analysis of saprophytic activity.

Keywords: soilborne fungi, saprophytic colonization, toothpick bait, pathogenicity, plant disease risk analysis.

Introdução

O fungo do gênero *Rhizoctonia* De Candolle se encontra distribuído na maioria dos solos agrícolas do mundo (MORDUE, 1974) e possui uma gama de hospedeiros superior a 500

espécies de plantas, causando importantes doenças na maioria das plantas cultivadas (AGARWAL, 2010; OGOSHI, 1996; YANG; LI, 2012). Como típico habitante do solo, *Rhizoctonia* comumente causa doenças no colo e nas raízes. No entanto, sob certas condições, como alta umidade relativa do ar, ataca a parte aérea das plantas (AGARWAL, 2010; BAKER, 1970; OGOSHI, 1987). Os propágulos desse fungo sobrevivem no solo por longos períodos na ausência de hospedeiros e condições favoráveis, na forma de hifas com paredes espessas associadas com restos culturais e outros detritos orgânicos, e na forma de esclerócios, principalmente na camada superficial do solo (SNEH et al., 1991; VAN BRUGGEN; ARNESON, 1986).

O controle das doenças causadas por *Rhizoctonia* é muito difícil, pois o patógeno possui elevada agressividade, combinada com grande habilidade de competição saprofítica, capacidade de sobrevivência no solo na ausência da planta hospedeira, transmissibilidade pelas sementes e ampla gama de hospedeiros (AGARWAL, 2010; CUBETA; VILGALYS, 2000; LEACH; GARBER, 1970; OGOSHI, 1987). Com o crescente interesse no manejo integrado de doenças radiculares, a escolha do local de plantio tem sido relatada como importante opção de controle, tanto para escapar do patógeno quanto das condições predisponentes à ocorrência de epidemias (MICHEREFF et al., 2005b).

Por ser o solo um sistema dinâmico, compreendendo uma vasta e diversificada comunidade de organismos, a estimativa da presença ou da densidade de inóculo de patógenos no solo pode determinar os riscos de infecção das plantas (DIJST et al., 1997; TU, 1987). Frequentemente, grande parte dos custos e do tempo gasto em pesquisas com patógenos radiculares é utilizada para analisar o inóculo do solo, motivo pelo qual, o emprego adequado de técnicas e a melhoria nos métodos de quantificação podem reduzir os gastos e aumentar a precisão dos ensaios (BENSON, 1994).

A quantificação do inóculo de *Rhizoctonia* nos solos tem sido estudada exaustivamente nos últimos 50 anos, usando métodos que variam da quantificação direta de propágulos no solo a técnicas moleculares. Alguns desses métodos são baseados na habilidade saprofítica competitiva do organismo, como uso do tubo de imersão (MARTINSON, 1963; PAPAVIDAS; DAVEY 1962), fracionamento do solo e plaqueamento das partículas orgânicas (BOOSALIS; SCHAREN, 1959; WEINHOLD, 1977) e iscas de segmentos de tecidos de plantas ou sementes (HUANG; KUHLMAN, 1989; MATSUMOTO, 2003; PAPAVIDAS; DAVEY, 1959, 1962; SANFUENTES et al., 2002, 2007; SNEH et al. 1966).

Muitos tipos de iscas já foram utilizados para detecção e quantificação da atividade saprofítica de *Rhizoctonia* no solo em estudos epidemiológicos (PAPAVIDAS et al., 1975;

SANFUENTES et al., 2007; SCHROEDER; PAULITZ, 2008), populacionais (HUANG; KUHLMAN, 1989; MATSUMOTO, 2003; SANFUENTES et al., 2002; SCHISLER et al., 1994; VILLAJUAN-ABGONA et al., 1996; WEINHOLD, 1977) e na avaliação de métodos para supressão da atividade desse fungo no solo (BABIKER et al., 2011; EL-KHADEM et al., 1979; LEWIS et al., 1998; YULIANTI et al., 2006, 2007).

Em geral, na natureza, a fase saprofítica de *Rhizoctonia* é seguida de uma fase patogênica (YULIANTI et al., 2007), mas estudos demonstraram que o elevado potencial saprofítico de *Rhizoctonia* não se encontra, necessariamente, relacionado à capacidade patogênica (TRUTER, 2005). Portanto, para mensurar os riscos de epidemia de doenças radiculares, é necessário associar um método baseado na atividade saprofítica a um método baseado na atividade patogênica, em que se destaca o bioensaio com plantas indicadoras, pois descreve o efeito integrado do hospedeiro, do patógeno e das condições em que o mesmo foi realizado, ou seja, o potencial de inóculo (BOUHOT, 1979).

Até o momento, inexistente um sistema de análise de risco de atividade patogênica de *Rhizoctonia* adaptado às condições brasileiras, considerada estratégia de manejo de doenças de alta sustentabilidade. Nesse contexto, os objetivos desse trabalho foram avaliar a eficácia de iscas para quantificação da atividade saprofítica de *Rhizoctonia* no solo e determinar a relação entre atividade saprofítica e atividade patogênica, visando ajustar uma equação de risco de atividade patogênica em áreas destinadas ao plantio de feijão-caupi e feijão-comum.

Materiais e métodos

Comparação de iscas para quantificação da atividade saprofítica de *Rhizoctonia solani* no solo

Amostras de solo foram coletadas em três áreas sem cultivo prévio com leguminosas e sem histórico de ocorrência de doenças radiculares, nos municípios de Camaragibe, Goiana e Moreno, no estado de Pernambuco. As amostras foram armazenadas à 25 °C e processadas no máximo em duas semanas. As principais características dos solos são mostradas na Tabela 1. As amostras de solo foram peneiradas em malha de 5 mm e acondicionadas em bandejas plásticas (30x25x4 cm, 3 kg de capacidade). Para comparação das iscas na quantificação da atividade saprofítica, as amostras de solo foram infestadas com um isolado de *R. solani* (CMM-2656), cedido pela Coleção de Culturas de Fungos Fitopatogênicos “Prof. Maria Menezes” (CMM) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Recife, PE). O referido

isolado pertence ao grupo de anastomose 4 (AG-4 HG-I) e foi obtido de planta de feijão-caupi com sintoma de cancro no hipocótilo coletada em São João (PE). O inóculo de *R. solani* foi preparado em frascos Erlenmeyer contendo substrato constituído de 250 g de arroz descascado e 50 mL de água destilada. Após a esterilização em autoclave (120 °C, 1 atm, 30 min) e resfriamento, em cada frasco foram colocados cinco discos de 5 mm de diâmetro de cultura do fungo, previamente cultivado em meio de batata-dextrose-ágar (BDA) durante sete dias. Os frascos foram incubados a 25 °C e fotoperíodo de 12 h, sendo agitados diariamente para distribuição uniforme dos propágulos do fungo no substrato. Após 10 dias, o substrato colonizado foi retirado dos frascos e acondicionado em sacos de papel para secagem a 35 °C por 48 h. Posteriormente, foi triturado em liquidificador durante 3 min, peneirado em malha de 1 mm e pesado.

Tabela 1. Características dos solos do estado de Pernambuco utilizados no estudo.

Código (cidade)	Cobertura ^a	Características do solo ^b						
		Areia (%)	Silte (%)	Argila (%)	pH	Matéria orgânica (g kg ⁻¹)	P (mg dm ⁻³)	Ca+Mg (cmol ^c dm ⁻³)
Camargibe	mata secundária	91	4	5	5,5	28,4	33,6	3,8
Goiana	braquiária	98	1	1	5,0	14,1	7,9	2,4
Moreno	cana-de-açúcar	67	9	24	5,2	18,7	2,1	1,4

^a Cobertura do solo no momento da coleta.

^b Analisadas conforme Embrapa (1997).

Os solos acondicionados nas bandejas foram infestados pela adição do substrato colonizado por *R. solani* na densidade de 50 mg de substrato kg⁻¹ de solo, enquanto nas testemunhas foi efetuada a distribuição de substrato não colonizado pelo patógeno. Em todas as situações, o substrato foi distribuído na superfície do solo e homogeneizado manualmente pelo revolvimento do solo com o auxílio de uma espátula flambada. Após uma semana de incubação em casa de vegetação (temperatura de 27±3,2 °C e umidade relativa de 72±8,5%), as amostras de solo nas bandejas foram transferidas para recipientes plásticos do tipo gerbox (13x13x4 cm). Em cada gerbox foram distribuídas 250 g de solo e, em seguida, 50 mL de água destilada esterilizada.

Sementes de beterraba, feijão-caupi, milho e sorgo, segmentos cilíndricos de caules de feijão-caupi (1 cm x 30 mm) e segmentos de palito de dente de madeira (1 cm) foram testados como iscas para detecção da atividade saprofítica de *Rhizoctonia* spp. no solo. Todas as iscas

foram esterilizadas em autoclave (120 °C, 1 atm, 30 min) e depois imersas em suspensão de tetraciclina (250 ppm) por 2 min. Após secagem por 30 min em câmara asséptica, 16 unidades de cada isca foram semeadas em cada gerbox à profundidade de 1 cm da superfície do solo. As testemunhas consistiram do semeio das iscas nos solos não infestados. Foram utilizadas 30 gerbox por tipo de isca e amostra de solo. Após 48 h de incubação a 27 °C no escuro, as iscas foram recuperados pela passagem do solo em peneira com malha de 1,7 mm, lavados em água corrente, desinfestados em solução de NaClO a 1,5% por 1 min e lavados em água destilada esterilizada. Após secagem por 30 min em papel de filtro esterilizado, oito iscas foram transferidas para cada placa de Petri contendo o meio de Ko e Hora (KH) (KO; HORA, 1971), modificado pela retirada do fungicida fenaminosulf (Dexon) e inclusão de 1 ppm do fungicida benomyl (Benlate). Decorridas 24 h de incubação a 27 °C no escuro, foi analisada a presença de colônias de *Rhizoctonia* crescendo no meio de cultura a partir das iscas, com auxílio de microscópio estereoscópico. No caso de dúvida, foram efetuadas preparações microscópicas em lâminas de vidro, coradas com Safranina-O e cobertos com lamínula de vidro, sendo visualizadas em microscópio ótico com aumento de 200x e 400x, para observação das características utilizadas na identificação de *Rhizoctonia* (SNEH et al., 1991). Os resultados foram expressos como porcentagem de iscas colonizadas por *Rhizoctonia*, indicadora da atividade saprofítica no solo. Os solos foram testados separadamente, sendo utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado para cada solo, com 30 repetições, sendo cada repetição constituída por um gerbox com 16 iscas. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para verificar a existência de diferença entre as iscas quanto aos níveis de atividade saprofítica detectados em cada solo e as médias foram comparadas pelo teste da diferença mínima significativa de Fisher (LSD), ao nível de 5% de probabilidade. Para examinar a relação entre os solos quanto aos níveis de atividade saprofítica detectados pelas diferentes iscas, foi efetuada a análise de correlação de Pearson, ao nível de 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas com o programa Statistix v. 9.0 (Analytical Software, Tallahassee, FL, USA).

Eficácia da isca de palito de dente na quantificação da atividade saprofítica de diferentes isolados de *Rhizoctonia solani*

A eficácia da isca de palito de dente, que propiciou a detecção dos maiores níveis de atividade saprofítica em todos os solos, foi avaliada em relação a oito isolados de *R. solani*

(CMM-1062, CMM-2648, CMM-2651, CMM-2666, CMM-2675, CMM-2680, CMM-2682 e CMM-3006), cedidos pela Coleção de Culturas de Fungos Fitopatogênicos “Prof. Maria Menezes”. Esses isolados pertencem ao grupo de anastomose 4 (AG-4 HG-I) e obtidos de plantas de feijão-caupi com sintomas de tombamento e cancro do hipocótilo coletadas em Pernambuco. Foi utilizado o solo de Goiana (Tabela 1) e a densidade de inóculo de 50 mg de substrato colonizado kg^{-1} de solo. Os procedimentos de produção do inóculo, infestação do solo, utilização da isca de palito de dente, incubação das amostras e avaliação da colonização saprofítica foram realizados como descrito no ensaio de comparação de iscas. A testemunha consistiu da utilização de solo não infestado. Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 30 repetições, sendo cada repetição constituída por um gerbox com 16 iscas. Os dados foram submetidos à ANOVA para verificar a existência de diferença entre os isolados quanto aos níveis de atividade saprofítica detectados pela isca de palito de dente e as médias foram comparadas pelo teste da diferença mínima significativa de Fisher (LSD) ao nível de 5% de probabilidade, com auxílio do programa Statistix v. 9.0.

Eficácia da isca de palito de dente na quantificação da atividade saprofítica sob diferentes densidades de inóculo de *Rhizoctonia solani*

A eficácia da isca de palito de dente foi avaliada em relação a seis densidades de inóculo de *R. solani*: 5, 10, 25, 50, 75 e 100 mg kg^{-1} de solo. Foi utilizado o solo de Goiana e o isolado CMM-2656. Os procedimentos de produção do inóculo, infestação do solo, utilização da isca de palito de dente, incubação das amostras e avaliação da colonização saprofítica foram realizados como descrito no ensaio de comparação de iscas. A testemunha consistiu da utilização de solo não infestado. Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 30 repetições, sendo cada repetição constituída por um gerbox com 16 iscas. Para verificar a relação entre densidades de inóculo de *R. solani* e intensidade da atividade saprofítica, os dados foram submetidos à análise de regressão pelo ajuste de modelos lineares e não-lineares com o auxílio do programa TableCurve™ 2D v. 5.01 (SYSTAT Software Inc., Chicago, IL, USA). O melhor ajuste foi selecionado com base no coeficiente de determinação (R^2), no quadrado médio do resíduo e na simplicidade do modelo. As significâncias das regressões e de seus parâmetros foram avaliadas pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade.

Relação entre atividade saprofítica e atividade patogênica de *Rhizoctonia* spp. em diferentes solos

A relação entre atividade saprofítica e atividade patogênica de *Rhizoctonia* foi investigada em amostras de solos coletadas em 12 áreas destinadas ao cultivo de feijão-caupi e feijão-comum, no Agreste Meridional de Pernambuco. As coletas foram realizadas de agosto a outubro de 2011. Em cada área foi delimitada uma sub-área de aproximadamente 0,5 ha e utilizando o caminhamento em “W” foram coletadas 12 amostras (3 amostras por linha) de 2 kg de solo a uma profundidade de 0-15 cm, constituindo uma amostra composta de 24 kg de solo por área.

Na determinação da atividade saprofítica, as amostras de solo foram peneiradas em malha de 5 mm e distribuídas em gerbox (250 g). Em seguida, 16 iscas de palito de dente foram semeadas em cada gerbox e o solo umedecido com 50 mL de água destilada esterilizada. Foram utilizados 10 gerbox por amostra de solo. Os procedimentos de incubação das amostras, recuperação das iscas e avaliação da colonização saprofítica foram realizados como descrito no ensaio de comparação de iscas.

Na determinação da atividade patogênica, foi utilizado o método do bioensaio com plantas indicadoras. Sementes de feijão-caupi (cv. IPA-206) foram desinfestadas em solução de NaClO a 1,5% por 2 min e lavadas em água destilada esterilizada. Após secagem por 30 min em câmara asséptica, as sementes foram plantadas em bandejas plásticas (30x25x4 cm) contendo 2 kg de cada amostra de solo. Em cada bandeja foram plantadas 20 sementes, sendo utilizadas cinco repetições (bandejas) por amostra de solo. As bandejas foram mantidas em casa de vegetação com temperatura de $29 \pm 3,5$ °C e umidade relativa de $78 \pm 7,1$ %. A severidade da rizoctoniose nas plantas de feijão-caupi foi avaliada aos 12 dias após o plantio, com o auxílio de escala de notas variando de 0 a 4 (NORONHA et al., 1995), onde: 0 = sem sintomas; 1 = hipocótilo com pequenas lesões; 2 = hipocótilo com grandes lesões, sem constrição; 3 = hipocótilo totalmente constricto, mostrando tombamento; e 4 = sementes não germinadas e/ou plântulas não emergidas. Com os dados da avaliação foi calculado o índice da intensidade da atividade patogênica de *Rhizoctonia* (ATP), pela expressão: $ATP = [\sum(\text{grau da escala} \times \text{frequência}) / (\text{número total de unidades} \times \text{grau máximo da escala})] \times 100$ (MCKINNEY, 1923). Para verificar a relação entre atividade saprofítica e atividade patogênica, inicialmente foi efetuada a análise de correlação de Pearson, ao nível de 5% de probabilidade. Em seguida, os dados foram submetidos à análise de regressão pelo ajuste de

modelos lineares e não-lineares com o auxílio do programa TableCurve™ 2D v. 5.01. A seleção do melhor ajuste e as significâncias das regressões e de seus parâmetros foram testados como descrito anteriormente.

Resultados

Comparação de iscas para quantificação da atividade saprofítica de *Rhizoctonia solani* no solo

Não foi detectada atividade saprofítica de *Rhizoctonia* nos solos não infestados por *R. solani* (testemunhas). Os níveis de colonização saprofítica detectados nos três solos infestados artificialmente com um isolado de *R. solani* (CMM-2656) variaram de 26,3% a 99,6% e foram influenciados significativamente ($P \leq 0,05$) pelo tipo de isca utilizada em cada solo. A isca de palito de dente propiciou a detecção dos maiores níveis de atividade saprofítica em todos os solos, variando de 73,5% no solo de Goiana a 99,6% no solo de Camaragibe (Tabela 2). A maior atividade saprofítica detectada neste último solo pode ser devido ao maior teor de matéria orgânica quando comparado aos outros dois solos (Tabela 1), pois à medida que a matéria orgânica diminui ocorre a redução da atividade saprofítica de *R. solani* (PAPAVIZAS, 1970; SANFUENTES et al., 2007; YULIANTI et al., 2006).

Tabela 2. Eficácia de diferentes iscas na quantificação da atividade (colonização) saprofítica de *Rhizoctonia solani* em solos infestados artificialmente.

Isca	Solo / Colonização (%)		
	Camaragibe	Goiana	Moreno
Semente de beterraba	63,3 c*	26,3 d	51,9 d
Semente de feijão-caupi	71,5 c	55,0 b	57,5 c
Semente de milho	70,4 c	43,5 bc	42,7 d
Semente de sorgo	67,5 c	35,0 cd	75,8 b
Palito de dente	99,6 a	73,5 a	94,4 a
Talo de feijão-caupi	82,5 b	50,0 b	83,7 b

* Médias de 30 repetições. Valores seguidos por diferentes letras na coluna diferem significativamente entre si pelo teste LSD de Fisher ($P \leq 0,05$).

Com exceção das iscas de palito de dente e talo de feijão-caupi, as demais iscas apresentaram desempenho variável conforme o solo. No solo de Camaragibe, as iscas de sementes de beterraba, feijão-caupi, milho e sorgo apresentaram eficácia inferior às outras na quantificação da atividade saprofítica. No solo de Goiana os piores desempenhos foram das iscas de sementes de beterraba e sorgo, enquanto no solo de Moreno as iscas de sementes de milho e beterraba foram as menos eficazes. A isca de talo de feijão-caupi propiciou bons níveis de detecção nos três solos, embora significativamente inferiores aos obtidos com a isca de palito de dente (Tabela 2). Outro aspecto importante a destacar é a colonização das iscas por outros fungos saprófitas, uma vez que a isca de palito de dente foi pouco colonizada por esses fungos, mas as iscas de talos e sementes de feijão-caupi, bem como sementes de beterraba e milho, foram intensivamente colonizadas por vários gêneros fúngicos, principalmente *Fusarium*, *Trichoderma* e *Rhizopus*.

Eficácia da isca de palito de dente na quantificação da atividade saprofítica de diferentes isolados de *Rhizoctonia solani*

Não foi detectada atividade saprofítica de *Rhizoctonia* no solo de Goiana sem infestação artificial. Quando o solo foi infestado com oito isolados de *R. solani* na densidade de inóculo de 50 mg de substrato colonizado kg⁻¹ de solo, os níveis de atividade saprofítica detectados com a isca de palito de dente variaram de 10,0% a 78,5%. Esses níveis foram apresentados respectivamente pelos isolados CMM-3006 e CMM-2651, que diferiram significativamente entre si e dos demais. Os outros isolados apresentaram atividade saprofítica variando de 33,7% (CMM-2675) a 57,5% (CMM-2648), com diferença significativa entre esses extremos (Figura 1).

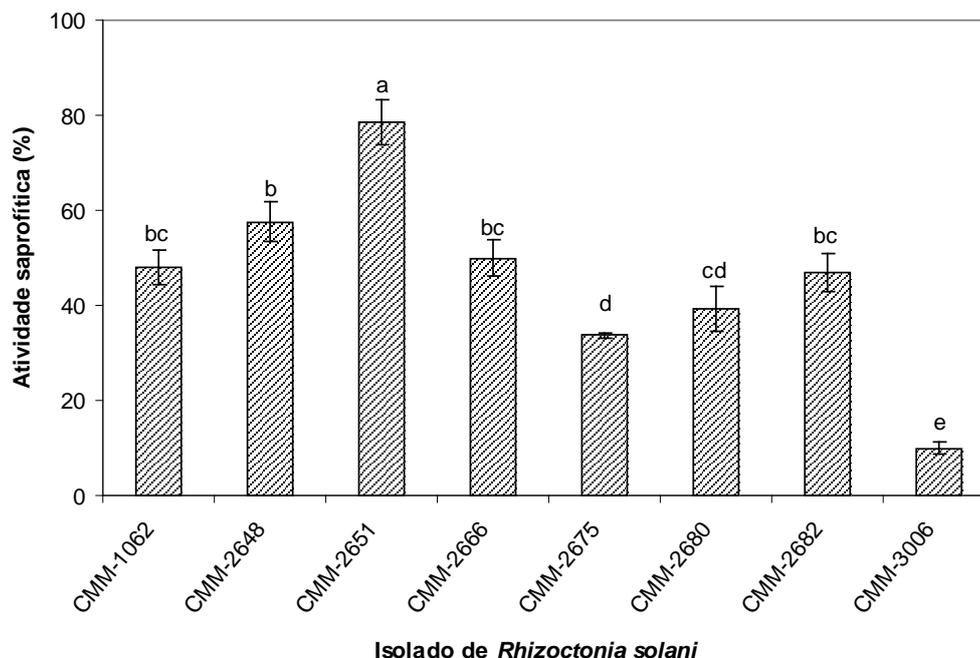


Figura 1. Atividade saprofítica de isolados de *Rhizoctonia solani* no solo quantificada pela isca de palito de dente. Cada coluna indica a média de 10 repetições e as barras os desvios padrões. Colunas com diferentes letras diferem significativamente entre si pelo teste LSD de Fisher ($P \leq 0,05$).

Eficácia da isca de palito de dente na quantificação da atividade saprofítica sob diferentes densidades de inóculo de *Rhizoctonia solani*

Não foi detectada atividade saprofítica de *Rhizoctonia* no solo de Goiana sem infestação artificial. Quando esse solo foi infestado com seis densidades de inóculo de um isolado de *R. solani* (CMM-2656) e a atividade saprofítica quantificada com a isca de palito de dente, houve aumento proporcional da detecção da atividade saprofítica com o incremento da densidade do inóculo (Figura 2). Na menor densidade de inóculo (5 mg kg^{-1} de solo), a atividade saprofítica detectada com a isca de palito de dente atingiu 36,9%, enquanto na maior densidade de inóculo (100 mg kg^{-1} de solo) a atividade saprofítica foi de 90,6%. Houve elevada correlação ($r = 0,9888$; $P \leq 0,05$) entre densidade de inóculo (DI) e nível de atividade saprofítica (ATS) detectada pela isca de palito de dente. O modelo de regressão linear simples ($y = a + b \cdot x$) propiciou excelente ajuste da curva de detecção da atividade saprofítica em função da densidade do inóculo de *R. solani* ($ATS = 33,6872 + 0,5874 \text{ DI}$), com coeficiente de determinação (R^2) de 0,9776 (Figura 2).

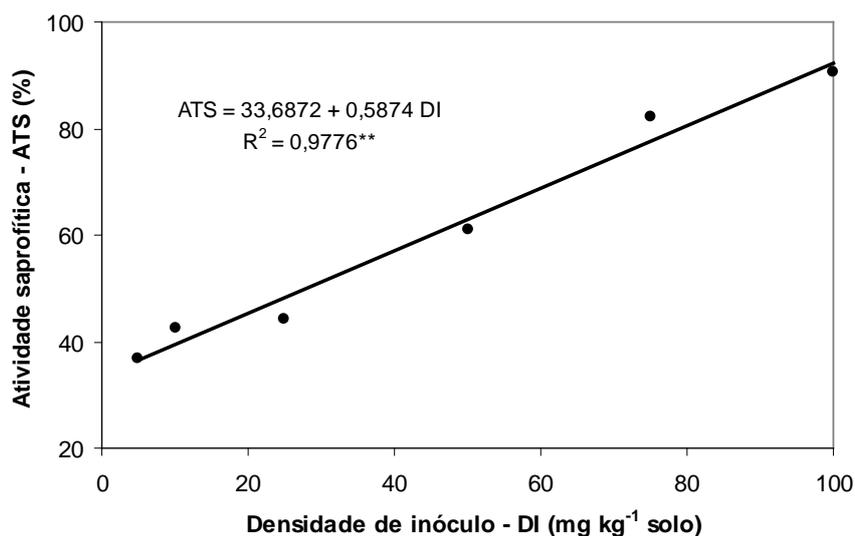


Figura 2. Relação entre densidade de inóculo de *Rhizoctonia solani* no solo e atividade saprofítica quantificada pela isca de palito de dente.

Relação entre atividade saprofítica e atividade patogênica de *Rhizoctonia* spp. em diferentes solos

Nas amostras de solos coletadas em 12 áreas destinadas ao cultivo de feijão-caupi e feijão-comum em Pernambuco, a atividade saprofítica variou de 29,1% a 100%, sendo superior a 75% em oito áreas (66,7%). A atividade patogênica variou de 1,3% a 42,8%, sendo superior a 15% em somente quatro áreas (33,3%) (Figura 3). Houve aumento da detecção da atividade patogênica com o incremento da atividade saprofítica, sendo constatada correlação significativa ($r = 0,7698$; $P \leq 0,05$) entre essas atividades. No entanto, a relação entre os níveis de atividade patogênica e atividade saprofítica não foi linear (Figura 3). Até 80% de atividade saprofítica a atividade patogênica se manteve a níveis inferiores a 10%, sendo constatado um pico significativo no crescimento da atividade patogênica somente com níveis de atividade saprofítica superiores a 90%. O modelo recíproco de regressão não linear [$y = 1/(a+b*x)$] propiciou excelente ajuste da curva de detecção da atividade patogênica (ATP) em função da atividade saprofítica (ATS) de *Rhizoctonia* [$ATP = 1 / (0,5822 - 0,0056 \text{ ATS})$], com $R^2 = 0,9930$ (Figura 3).

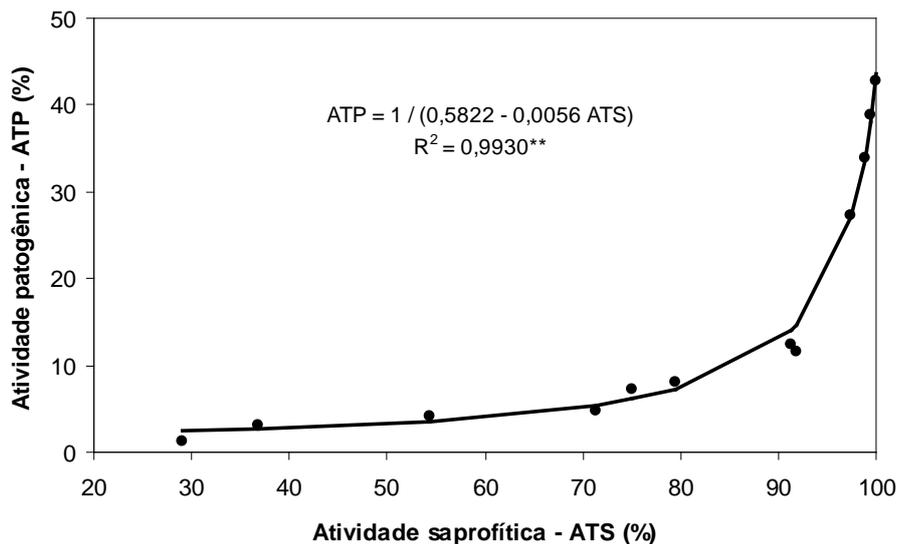


Figura 3. Relação entre atividade saprofítica quantificada pela isca de palito de dente e atividade patogênica de *Rhizoctonia* spp. quantificada pelo bioensaio com plantas de feijão-caupi em amostras de 12 solos.

Discussão

Neste estudo, seis iscas foram comparadas visando o desenvolvimento de um ensaio quantitativo da atividade saprofítica de *Rhizoctonia* spp. no solo. A isca de palito de dente de madeira propiciou a detecção dos maiores níveis de colonização saprofítica nos solos infestados artificialmente, confirmando observações anteriores sobre a eficácia dessa isca na quantificação da atividade saprofítica de *R. solani* em solos cultivados com cereais (BABIKER et al., 2011; PAULITZ; SCHROEDER, 2005; SCHROEDER; PAULITZ, 2008) e colza (YULLIANTI et al., 2006). A isca com palito de dente é um método de baixo custo operacional e que pode ser executado sem depender do plantio de culturas para coleta dos tecidos, como no caso de segmentos de talos de feijão-caupi e outros.

A eficácia demonstrada pela isca de palito de dente nesse estudo descarta a hipótese de Sanfuentes et al. (2002) de que a eficácia de iscas na quantificação da atividade saprofítica seria resultado de certo grau de especificidade dos isolados de *Rhizoctonia* devido à pressão de seleção exercida pela cultura predominante na área. Ou seja, essa especificidade determinaria a prevalência de isolados fúngicos com grande habilidade para colonizar os restos culturais remanescente no solo da cultura predominante. Alguns estudos verificaram que o tipo de material vegetal utilizado como isca influenciou significativamente a eficácia do

isolamento de *Rhizoctonia* e que maior eficácia pode ser esperada de iscas obtidas de plantas cultivadas no mesmo local no qual a amostra de solo foi coletada (HUANG; KUHLMAN, 1989; PAPAIVIZAS; DAVEY, 1962; SNEH et al., 1966).

A menor contaminação da isca de palito de dente com fungos de rápido crescimento saprofítico, como *Fusarium*, *Trichoderma* e *Rhizopus*, é um aspecto muito positivo, pois esses microrganismos provavelmente interferiram na colonização das outras iscas e no posterior crescimento de *Rhizoctonia* no meio de cultura, diminuindo a eficácia das mesmas, como registrado em relação às iscas de talos e sementes de feijão-caupi e sementes de beterraba e milho. A reduzida contaminação da isca de palito de dente pode ser explicada pelo que Garrett (1970) chamou de “resistência residual” do material utilizado como isca, permitindo a seleção de *Rhizoctonia* entre os outros fungos estritamente saprófitas. Esta resistência residual pode resultar em maior eficácia da isca de palito de dente na recuperação do fungo.

Outra importante característica para seleção de iscas visando a quantificação da atividade saprofítica de *Rhizoctonia* é a consistência das mesmas após a incubação no solo (PAPAIVIZAS; DAVEY, 1962). A isca de palito de dente manteve a consistência inalterada após a incubação no solo, diferentemente das demais iscas, que sofreram processos de maceração por microrganismos e perderam a consistência dos tecidos, em muitas vezes, dificultando a recuperação do solo.

A relação C/N do tecido da isca pode interferir na colonização saprofítica de *Rhizoctonia*. Substratos ricos em nitrogênio tendem a favorecer a atividade saprofítica e sobrevivência de *R. solani* no solo, em virtude da baixa habilidade competitiva deste fungo para esse nutriente quando comparado a outros microrganismos (PAPAIVIZAS, 1970). No entanto, no presente estudo o efeito da relação C/N parece não ter exercido grande influência na colonização das iscas, pois a isca de palito de dente possui uma relação C/N muito mais elevada que as iscas de segmentos de talos e sementes. Uma provável causa da inexistência de influência da relação C/N das iscas na colonização por *Rhizoctonia* é o reduzido tempo de incubação (24 h) das iscas no solo. Dessa maneira, provavelmente não deve ter havido nenhuma mudança significativa na composição e quantidade de microrganismos no solo próximo à isca, o que poderia interferir na colonização.

Como *Rhizoctonia* pode crescer rápida e extensivamente no solo a partir de uma base alimentar (GARRETT, 1970), com as hifas crescendo através dos poros e ao longo da superfície do solo (HARRIS et al., 2003), é possível que tenha produzido uma rede de hifas que encontrou o segmento de palito de dente, ao qual foi atraído tigmotroficamente, crescendo posteriormente sobre a superfície da madeira (PAULITZ; SCHROEDER, 2005). É

improvável que *Rhizoctonia* tenha sido atraída quimiotróficamente pelo palito, mas esse fungo pode decompor celulose (GARRETT, 1962; PAPAVIDAS, 1970), que está presente no palito. As hifas sobre a superfície do palito podem ter utilizado os nutrientes transportados a partir de uma base alimentar adjacente (PAULITZ; SCHROEDER, 2005).

Quando a isca de palito de dente foi avaliada em relação a diferentes isolados de *R. solani*, foi constatado que diferentes isolados na mesma concentração de inóculo no solo podem apresentar diferentes respostas de colonização saprofítica. Esses resultados confirmam as observações de que isolados de *R. solani* podem diferir na habilidade saprofítica, o que determina diferenças na capacidade de colonização de substratos e, conseqüentemente, nos valores da atividade saprofítica (NEATE; SCHNEIDER, 1996; PAPAVIDAS, 1970; PAPAVIDAS; DAVEY, 1962).

Como o método de colonização de iscas pode agir seletivamente no isolamento de clones de *Rhizoctonia* com elevada habilidade saprofítica competitiva (PAPAVIDAS; DAVEY, 1961), a possibilidade da isca de palito de dente ter selecionado e quantificado preferencialmente isolados de *Rhizoctonia* com essas características não pode ser descartada. No entanto, a habilidade saprofítica de um fungo não depende apenas da taxa de crescimento, mas também da produção de antibióticos, toxinas ou enzimas, e outros micro determinantes do ecossistema do solo, como fatores bióticos e abióticos (GARRETT, 1970; PAPAVIDAS et al., 1975; YULIANTI et al., 2007).

Ficou demonstrada a eficácia da isca de palito de dente na quantificação da atividade saprofítica sob diferentes densidades de inóculo de *R. solani*, representada pela alta correlação ($r = 0,9888$) observada entre porcentagem de colonização da isca e densidade do inóculo no solo. Os resultados assemelham-se aos constatados quando foram utilizadas iscas de talos de algodão e feijão-comum (SNEH et al., 1966; WEINHOLD, 1977) e de ramos de eucalipto (SANFUENTES et al., 2002).

A isca de palito de dente teve sensibilidade para detectar o fungo em reduzida densidade de inóculo, o que é um atributo chave para utilização na análise de risco de epidemias de rizoctoniose. Essa eficácia é muito importante em condições de infestação natural do solo pelo patógeno, pois níveis variados de inóculo podem estar presentes dentro de uma mesma área de cultivo ou em áreas diferentes (MICHEREFF et al., 2005a). O excelente ajuste da curva de crescimento da atividade saprofítica em função da densidade de inóculo, representado pelo elevado coeficiente de determinação da equação de regressão ($R^2 = 0,9776$), indica a confiabilidade do método para estimar a densidade do inóculo de

Rhizoctonia no solo, uma vez que as hifas oriundas da colonização saprofítica iniciam o processo infeccioso na planta hospedeira (PAULITZ; SCHROEDER, 2005).

Os propágulos de *Rhizoctonia* sobrevivem no solo por longos períodos na forma de hifas com paredes espessas associadas com restos culturais e outros detritos orgânicos, e na forma de esclerócios (PAPAVIZAS, 1970; SNEH et al., 1991). Como o método da isca de palito de dente detecta somente o crescimento ativo de hifas de *Rhizoctonia*, não pode ser utilizado para quantificação do inóculo total no solo, pois os esclerócios não poderão ser detectados até que tenham germinado (PAULITZ; SCHROEDER, 2005).

Uma das grandes limitações dos métodos baseados na atividade saprofítica, como a utilização de iscas, é que esses métodos não permitem a distinção entre isolados patogênicos e não patogênicos de *Rhizoctonia* no solo, uma vez que são morfológicamente indistinguíveis (PAPAVIZAS; DAVEY, 1962; PAPAVIZAS, 1970; SNEH et al., 1991). Por isso é importante a associação de um método baseado na atividade saprofítica a um método baseado na atividade patogênica para determinação dos riscos de epidemias de doenças radiculares. Nesse contexto, o método do bioensaio com plantas indicadoras descreve o efeito integrado do hospedeiro, do patógeno e das condições em que o mesmo foi realizado, ou seja, o potencial de inóculo (BOUHOT, 1979). O potencial de inóculo é uma medida da capacidade de um organismo habitante do solo para causar doença em um hospedeiro susceptível, resultante de quatro componentes: densidade de inóculo; energia exógena e endógena dos propágulos por unidade; virulência dos propágulos; fatores ambientais, bióticos e abióticos, determinantes da atividade do inóculo (LOCKWOOD, 1988). Como a intensidade de doenças radiculares é resultante do potencial de inóculo, do qual a densidade do inóculo é apenas um dos componentes envolvidos, a quantificação dessa variável não garante o estabelecimento de relações seguras com a intensidade de doença (MICHEREFF et al., 2005a). Uma estratégia importante na utilização do bioensaio com plantas para quantificação do potencial do inóculo de *Rhizoctonia* no solo é associá-lo a um método baseado na atividade saprofítica, como a utilização de iscas (BOUHOT, 1979; GEYPENS, 1974).

Os 12 solos amostrados no presente estudo, destinados ao cultivo de feijão-caupi e feijão-comum, apresentaram algum nível de atividade saprofítica e atividade patogênica de *Rhizoctonia*, quantificadas pela isca de palito de dente e pelo bioensaio com plantas de feijão-caupi, respectivamente. As variações nos níveis detectados são comuns em solos naturalmente infestados, sendo resultantes das diferenças nos tipos, características intrínsecas e densidades do inóculo, bem como da influência de fatores bióticos e abióticos do solo (PAPAVIZAS; DAVEY, 1962; PAPAVIZAS, 1970; WEINHOLD, 1977).

A correlação observada entre atividade saprofítica e atividade patogênica de *Rhizoctonia* nos solos ($r = 0,7698$) foi inferior ao constatado em outros estudos utilizando diferentes iscas de tecidos de plantas (MARTINSON, 1963; PAPAVIDAS; AYERS, 1965; SNEH et al., 1966; GEYPENS, 1974). Alguns estudos têm constatado que a colonização de um substrato não é necessariamente correlacionada com a patogenicidade, pois isolados de *Rhizoctonia* obtidos de iscas variaram de não patogênicos a extremamente virulentos (PAPAVIDAS; DAVEY, 1962; HUANG; KUHLMAN, 1989).

A relação entre atividade patogênica e atividade saprofítica de *Rhizoctonia* nos solos analisados não foi linear. Conforme Geypens (1974), quando a densidade de inóculo e/ou a atividade saprofítica é baixa, existe uma relação simples com a atividade patogênica. No entanto, quando o inóculo e/ou a atividade saprofítica é abundante, a relação com a atividade patogênica não é linear, pois uma planta pode ser invadida várias vezes por um patógeno e ser quantificada como sintomática somente uma vez.

A relação não linear entre a atividade saprofítica e a atividade patogênica foi representada com elevada precisão ($R^2 = 0,9930$) pelo modelo recíproco de regressão. A equação gerada pode ser utilizada na previsão dos riscos de atividade patogênica de *Rhizoctonia* nos solos destinados ao cultivo de feijão-caupi e feijão-comum, a partir da análise da atividade saprofítica. Como exemplo, caso seja detectada uma atividade saprofítica de 35% no solo, a previsão de atividade patogênica, ou seja, de severidade da doença, será de 2,6%. Se for detectada uma atividade saprofítica de 80%, a previsão da atividade patogênica será de 7,6%. Em ambas as situações, as estimativas serão realizadas com 99,3% de precisão.

Conclusão

A isca de palito de dente de madeira é eficaz na quantificação da atividade saprofítica de *Rhizoctonia* no solo, mesmo em baixas densidades de inóculo.

A atividade saprofítica de *Rhizoctonia* detectada pela isca de palito de dente pode ser utilizada com elevada precisão na análise de risco da atividade patogênica em áreas destinadas ao plantio de feijão-caupi e feijão-comum.

Agradecimentos

Os autores expressam seus agradecimentos à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico

e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro à pesquisa e pela concessão das bolsas de estudo (E.M. Ynokuti, A.P.O. Barros e M.A. Silva) e de pesquisa (C.S. Lima e S.J. Michereff).

Referências

AGARWAL, D. K. *Rhizoctonia* D.C.: taxonomy, ecology and management. In: MUKERJI, K. G.; MANOHARACHARY, C. (Eds.). **Taxonomy and ecology of Indian fungi**. New Delhi: I. K. International Publishing House, 2010. p. 19-50.

BABIKER, E. M.; HULBERT, S. H.; SCHROEDER, K. L.; PAULITZ, T. C. Optimum timing of preplant applications of glyphosate to manage *Rhizoctonia* root rot in barley. **Plant Disease**, v. 95, n. 3, p. 304-310, 2011.

BAKER, K. F. Types of *Rhizoctonia* diseases and their occurrence. In: PARMETER JR., J. R. (Ed.). *Rhizoctonia solani*: biology and pathology. Berkeley: The University of California Press, 1970. p. 125-148.

BENSON, D. M. Inoculum. In: CAMPBELL, C. L.; BENSON, D. M. (Eds.). **Epidemiology and management of root diseases**. Heidelberg: Springer-Verlag, 1994. p.1-33.

BOOSALIS, M. G.; SCHAREN, A. L. Methods for microscopic detection of *Aphanomyces euteiches* and *Rhizoctonia solani* and for isolation of *Rhizoctonia solani* associated with plant debris. **Phytopathology**, v. 49, n. 1, p. 192-198, 1959.

BOUHOT, D. Estimation of inoculum density and inoculum potential: techniques and their value for disease prediction. In: SCHIPPERS, B.; GAMS, W. (Eds.). **Soilborne plant pathogens**. New York: Academic Press, 1979. p. 379-390.

CUBETA, M. A.; VILGALYS, R. *Rhizoctonia*. In: LEDERBERG J. J. (Ed.). **Encyclopedia of microbiology**. San Diego: Academic Press, 2000. v. 4, p. 109-116.

DIJST, G.; OYARZUN, P. J.; ZOON, F. C.; KOK, C. J.; GERLAGH, M.; MAAS, P. W. TH.; FOKKEMA, N. J. Risk assessment through quantitative detection of soil suppressiveness against plant diseases caused by *Rhizoctonia solani* AG 2-1, AG 2-t and AG 4, *Fusarium solani* f.sp. *pisi*, *Thielaviopsis basicola*, *Aphanomyces euteiches*, trichodorid nematodes *Meloidogyne hapla*. In: DEHNE, H. W; ADAM, G.; DIEKMANN, M.; FRAHM, J. (Eds.). **Diagnosis and identification of plant pathogens**. Dordrecht: Kluwer, 1997. p. 247-251.

EL-KHADEM, M.; ZAHARAN, M.; EL-KAZAZ, M. K. Effect of the herbicides trifluralin, dinitramine and fluometuron on *Rhizoctonia* disease in cotton. **Plant and Soil**, v. 51, n. 4, p. 463-470, 1979.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análises de solo**. 2nd ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPS, 1997. 212 p.

GARRETT, S. D. Decomposition of cellulose in soil by *Rhizoctonia solani* Kühn. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 45, n. 1, p. 115-120, 1962.

GARRETT, S. D. **Pathogenic root-infecting fungi**. London: Cambridge University Press, 1970. 328 p.

GEYPENS, M. Inoculum potential of soil-borne plant pathogenic fungi: problems encountered in analysis and significance in epidemiology. **Agro-Ecosystems**, v. 1, n. 1, p. 177-192, 1974

HARRIS, K.; YOUNG, I. M.; GILLIGAN, C. A.; OTTEN, W.; RITZ, K. Effect of bulk density on the spatial organisation of the fungus *Rhizoctonia solani* in soil. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 44, n. 1, p. 45-56, 2003.

HUANG, J. W.; KUHLMAN, E. G. Recovery and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia*-like fungi in forest nurseries. **Plant Disease**, v. 73, n. 9, p. 968-972, 1989.

KO, W-S; HORA, F. K. A selective media for the quantitative determination of *Rhizoctonia solani* in soil. **Phytopathology**, v. 61, n. 7, p. 707-712, 1971.

LEACH, L. D.; GARBER, R. H. Control of *Rhizoctonia*. In: PARMETER JR., J. R. (Ed.). ***Rhizoctonia solani*: biology and pathology**. Berkeley: The University of California Press, 1970. p. 189-199.

LEWIS, J. A.; LARKIN, R. P.; ROGERS, D. L. A formulation of *Trichoderma* and *Gliocladium* to reduce damping-off caused by *Rhizoctonia solani* and saprophytic growth of the pathogen in soilless mix. **Plant Disease**, v. 82, n. 5, p. 501-506, 1998.

LOCKWOOD, J. L. Evolution of concepts associated with soilborne plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v. 26, p. 93-121, 1988.

MARTINSON, C. A. Inoculum potential relationships of *Rhizoctonia solani* measured with soil microbiological sampling tubes. **Phytopathology**, v. 53, n. 7, p. 634-638, 1963.

MATSUMOTO, M. A qualitative baiting technique for selective isolation and DNA diagnosis of *Rhizoctonia* spp., causal agents of rice sheath diseases, from soil. **Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University**, v. 48, n. 1-2, p. 13-20, 2003.

MCKINNEY, H. H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, v. 26, n. 2, p. 195-218, 1923.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; PERUCH, L. A. Inóculo de patógenos radiculares. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Eds.). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco - Imprensa Universitária, 2005a. p. 93-124.

MICHEREFF, S. J.; PERUCH, L. A.; ANDRADE, D. E. G. T. Manejo integrado de doenças radiculares. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Eds.). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco - Imprensa Universitária, 2005b. p. 367-388.

MORDUE, J. E. M. *Thanatephorus cucumeris*. Eghan: Commonwealth Mycological Institute, 1974. 2 p. (CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, 406).

NEATE, S. M.; SCHNEIDER, H. M. 1996. Sampling and quantification of *Rhizoctonia solani* in soil. In: SNEH, B.; JABAJI-HARE, S.; NEATE, S.; DIJST, G. (Eds.). **Rhizoctonia species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control**. Dordrecht: Kluwer, 1996. p. 185-195.

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**, v. 20, n. 2, p. 174-178, 1995.

OGOSHI, A. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. **Annual Review of Phytopathology**, v. 25, p. 125-143, 1987.

OGOSHI, A. Introduction - the genus *Rhizoctonia*. In: SNEH, B.; JABAJI-HARE, S.; NEATE, S.; DIJST, G. (Eds.). **Rhizoctonia species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control**. Dordrecht: Kluwer, 1996. p. 1-9.

PAPAVIZAS, G. C. Colonization and growth of *Rhizoctonia solani* in soil. In: PARMETER JR., J. R. **Rhizoctonia solani: biology and pathology**. Berkeley: University of California Press, 1970. p. 108-122.

PAPAVIZAS, G. C.; ADAMS, P. B.; LUMSDEN, R. D.; LEWIS, J. A.; DOW, R. L.; AYERS, W. A.; KANTZES, J. G. Ecology and epidemiology of *Rhizoctonia solani* in field soil. **Phytopathology**, v. 65, n. 8, p. 871-877, 1975. PAPAVIZAS, G. C.; AYERS, W. A. Virulence, host range, and pectolytic enzymes of single-basidiospore isolates of *Rhizoctonia praticola* and *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, v. 55, n. 1, 111-116, 1965.

PAPAVIZAS, G. C.; DAVEY, C. B. Isolation of *Rhizoctonia solani* Kuhn from naturally infested and artificially inoculated soils. **Plant Disease Reporter**, v. 43, n. 5, p. 404-410, 1959.

PAPAVIZAS, G. C.; DAVEY, C. B. Isolation and pathogenicity of *Rhizoctonia* saprophytically existing in soil. **Phytopathology**, v. 52, n. 9, p. 834-840, 1962.

PAPAVIZAS, G. C.; DAVEY, C. B. Saprophytic behavior of *Rhizoctonia* in soil. **Phytopathology**, v. 51, n. 7, p. 693-699, 1961.

PAULITZ, T. C.; SCHROEDER, K. L. A new method for the quantification of *Rhizoctonia solani* and *R. oryzae* from soil. **Plant Disease**, v. 89, n. 7, p. 767-772, 2005.

SANFUENTES, E.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A.; MAFFIA, R. G. Flutuação populacional de *Rhizoctonia* spp. em jardim clonal de *Eucalyptus* spp. **Fitopatologia Brasileira**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 114-120, 2007.

SANFUENTES, E.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A.; SILVEIRA, S. F. Comparison of baits to quantify inoculum density of *Rhizoctonia* spp. in *Eucalyptus* clonal garden soils. **Australian Plant Pathology**, v. 31, n. 2, p.177-183, 2002.

SCHISLER, D. A.; NEATE, S. M.; MASUHARA, G. The occurrence and pathogenicity of *Rhizoctonia* fungi in South Australian plant nurseries. **Mycological Research**, v. 98, n. 1, p. 77-82, 1994.

SCHROEDER, K. L.; PAULITZ, T. C. Effect of inoculum density and soil tillage on the development and severity of *Rhizoctonia* root rot. **Phytopathology**, v. 98, n. 3, p. 304-314, 2008.

SNEH, B.; BURPEE, L.; OGOSHI, A. **Identification of *Rhizoctonia* species**. St. Paul: APS Press, 1991, 133 p.

SNEH, B.; KATAN, J.; HENIS, Y.; WAHL, I. Methods for evaluating inoculum density of *Rhizoctonia* in naturally infested soil. **Phytopathology**, v. 56, n. 1, p. 74-78, 1966.

TRUTER, M. **Etiology and alternative control of potato rhizoctoniasis in South Africa.** 2005. 118 f. Thesis (Master in Plant Pathology) - University of Pretoria, Pretoria.

TU, J. C. Integrated control of the pea root rot disease complex in Ontario. **Plant Disease**, v. 71, n. 1, p. 9-13, 1987.

VAN BRUGGEN, A. H. C.; ARNESON, P. A. Quantitative recovery of *Rhizoctonia solani* from soil. **Plant Pathology**, v. 70, n. 4, p. 320-323, 1986.

VILLAJUAN-ABGONA, R.; KATSUNO, N.; KAGEYAMA, K.; HYAKUMACHI. Isolation and identification of hypovirulent *Rhizoctonia* spp. from soil. **Plant Pathology**, v. 45, n. 6, p. 896-904, 1996.

WEINHOLD, A. R. Population of *Rhizoctonia solani* in agricultural soils determined by a screening procedure. **Phytopathology**, v. 67, n. 5, p. 566-569, 1977.

YANG, G.; LI, C. General description of *Rhizoctonia* species complex. In: CUMAGUN, C. J. R. (Ed.). **Plant pathology**. Rijeka: Intech, 2012. p. 41-52.

YULIANTI, T.; SIVASITHAMPARAM, K.; TURNER D. W. Saprophytic growth of *Rhizoctonia solani* Kühn AG2-1 (ZG5) in soil amended with fresh green manures affects the severity of damping-off in canola. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, n. 9, p. 923-930, 2006.

YULIANTI, T.; SIVASITHAMPARAM, K.; TURNER D. W. Saprophytic and pathogenic behavior of *R. solani* AG2-1(ZG-5) in a soil amended with *Diplotaxis tenuifolia* or *Brassica nigra* manures and incubated at different temperatures and soil water content. **Plant and Soil**, v. 294, n. 2, p.277-289, 2007.

Conclusões Gerais

CONCLUSÕES GERAIS

1. A isca de palito de dente de madeira é eficaz na quantificação da atividade saprofítica de *Rhizoctonia* no solo, mesmo em baixas densidades de inóculo;
2. A atividade saprofítica de *Rhizoctonia* detectada pela isca de palito de dente pode ser utilizada com elevada precisão na análise de risco da atividade patogênica em áreas destinadas ao plantio de feijão-caupi e feijão-comum.