



## Caracterização de isolados de *Rhizoctonia* associados à queima foliar em Roraima<sup>1</sup>

### *Characterization of Rhizoctonia isolates associated with foliar blight in Roraima*

Dayane Rodrigues Youssef<sup>2</sup>, Giovanni Ribeiro de Souza<sup>3</sup>, Kátia de Lima Nechet<sup>4\*</sup>,  
Bernardo de Almeida Halfeld-Vieira<sup>5</sup>

**Resumo** - O objetivo desse trabalho foi caracterizar isolados do fungo *Rhizoctonia* associados à queima foliar, obtidos de hospedeiros de importância econômica no estado de Roraima. Os isolados foram obtidos de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), soja (*Glycine max*), seringueira (*Hevea brasiliensis*), melancia (*Citrullus lanatus*), alface (*Lactuca sativa*) e feijão-guandu (*Cajanus cajan*). Os parâmetros utilizados foram números de núcleos, grupo de anastomose e as características culturais da colônia, taxa de crescimento micelial e a formação de escleródios nos meios de cultura: batata dextrose agar (BDA), BDA+asparagina, BDA+extrato de levedura, Czapek Agar, maltose-peptona-agar, soil extract agar, sacarose-yeast-asparagina e V-8. Todos os 10 isolados estudados foram caracterizados como multinucleados e pertencentes à espécie *Rhizoctonia solani*. Três isolados de feijão-caupi, um de soja e o isolado de melancia foram identificados como AGI-1A e um isolado de feijão-caupi, um de soja e o isolado de feijão-guandu como AGI-1B. O isolado de seringueira não foi identificado como nenhum dos padrões de anastomose utilizado. Para a maioria dos isolados as maiores taxas de crescimento micelial foram obtidas no meio de cultura Soil Extract Agar. Dois tipos de escleródios, característicos do grupo AGI, foram observados: formação de 2-20 tufo placa<sup>-1</sup> coloração variável, 1-2 mm e formação de 38-611 microescleródios placa<sup>-1</sup>, de coloração marrom, medindo 100 µm. A produção e o tipo de escleródio variaram com o isolado e o meio de cultura utilizado.

**Palavras-chave** - *Rhizoctonia solani*. *Thanatephorus cucumeris*. Grupos de anastomose. Escleródio.

**Abstract**- The aim of this work was to characterize *Rhizoctonia* isolates associated with foliar blight symptom from hosts with economic importance at Roraima state. The isolates were recovered from cowpea (*Vigna unguiculata*), soybean (*Glycine max*), rubber tree (*Hevea brasiliensis*), watermelon (*Citrullus lanatus*), lettuce (*Lactuca sativa*) and pigeonpea (*Cajanus cajan*). The evaluated characteristics were nuclear number, anastomosis group (AG) and cultural characteristics, radial growth rate and the presence and morphology of sclerotia on the following media: potato dextrose agar (PDA), PDA+asparagine, PDA+yeast extract, Czapek Agar, maltose-peptone-agar, soil extract agar, sucrose-yeast-asparagine and V-8. All the 10 isolates evaluated were multinucleate and identified as *Rhizoctonia solani*. Three cowpea isolates, one soybean isolate and the watermelon isolate anastomosed with AGI-1A and one cowpea isolates, one soybean isolate and the pigeonpea isolate with AGI-1B. The rubber tree isolate was not identified with no anastomosis groups used in this study. Biggest radial growth rates were observed on the medium Soil Extract for most of the isolates. Two types of sclerotia, AGI typic were differentiated: one type of 2-20 flat sclerotia. Petri dish<sup>-1</sup>, variable colors, 1 to 2 mm in diameter and another type of 38-611 microsclerotia. Petri dish<sup>-1</sup>, brown color, 100 µm in diameter. The number and sclerotia type were variable with the isolate and the media used.

**Key words** - *Rhizoctonia solani*. *Thanatephorus cucumeris*. Anastomosis groups. Sclerotia.

\* Autor para correspondência

<sup>1</sup> Enviado para publicação em 27/07/2012 e aprovado em 26/08/2012

Trabalho de conclusão do curso de Biologia das Faculdades Cathedral de Ensino Superior

<sup>2</sup> Professora da rede de ensino do estado de Roraima, dayaneyoussef@hotmail.com

<sup>3</sup> Graduando da Universidade Federal de Roraima, giovanni@cpafrr.embrapa.br

<sup>4</sup> Pesquisadora da Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, km 127,5, Jaguariúna-SP, nechet@cnpm.embrapa.br

<sup>5</sup> Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, halfeld@cnpm.embrapa.br

## Introdução

O fungo *Rhizoctonia solani* Kühn [teleomorfo basidiomiceto *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk] representa um grupo complexo e economicamente importante de patógeno veiculado pelo solo com uma ampla gama de hospedeiros e de ocorrência mundial (CUBETA; VILGALYS, 1997). Apresenta grande capacidade competitiva saprofítica no solo e produz estruturas de resistência, chamadas de escleródios que permitem o fungo sobreviver por longos períodos em uma determinada área (PAPAVIZAS; DAVEY, 1961).

Os sintomas causados por *R. solani* variam de podridão de sementes, tombamento, podridão radicular e de frutos e queima foliar e de bainha (SNEH *et al.*, 1995). Queima foliar causada por patógeno veiculado pelo solo é um sintoma associado a condições ambientais de temperatura e umidade relativa elevadas. Na região Amazônica doenças foliares causadas por *R. solani* são comumente descritas em hospedeiros de importância econômica e como limitantes à produção agrícola (DESLANDES, 1944; DUARTE; ALBUQUERQUE, 1999; GASPAROTTO *et al.*, 2001; GASPAROTTO *et al.*, 2001; POLTRONIERI *et al.*, 1999; TRINDADE *et al.*, 1997; NECHET *et al.*, 2008; NECHET *et al.*, 2009). Alguns desses relatos são de ocorrências inéditas (NECHET; HALFELD-VIEIRA, 2006a; NECHET; HALFELD-VIEIRA, 2007; POLTRONIERI *et al.*, 2008; GONÇALVES *et al.*, 2009) e confirmam as condições ambientais propícias da região para o desenvolvimento da queima foliar.

A dificuldade de controle de *R. solani* está relacionada à não homogeneidade da espécie que apresenta grande diversidade na sua morfologia, patogenicidade e fisiologia. Em função disso seu sistema de classificação está baseado em grupos de anastomose (GA) que é composto por isolados que apresentam fusão de hifas entre si (PARMETER *et al.*, 1969; OGOSHI, 1987; SNEH *et al.*, 1994). Atualmente, 14 grupos de anastomose, AG1 a AG13 e AG-B1 são descritos para *R. solani* (CARLING, 1995; CARLING *et al.*, 1999; CARLING *et al.*, 2002). Recentemente, um novo AG (provavelmente AG 14) distinto dos demais relatados no mundo foi proposto por Gaino *et al.*, 2010 ocorrendo em citrus no Acre.

Em recente caracterização do perfil de ocorrência de doenças de plantas no estado de Roraima, Halfeld-Vieira *et al.* 2011 verificaram que *Rhizoctonia solani* foi o patógeno mais frequentemente registrado. Assim em função da escassez de informações sobre as características do patógeno associado à queima foliar em hospedeiros de importância econômica no Estado, objetivou-se com este trabalho caracterizar isolados de *Rhizoctonia* obtidos de

plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), soja (*Glycine max*), seringueira (*Hevea brasiliensis*), melancia (*Citrullus lanatus*), alface (*Lactuca sativa*) e feijão-guandu (*Cajanus cajan*) com sintomas da doença, coletados no estado de Roraima, utilizando como parâmetros números de núcleos, grupo de anastomose e as características culturais da colônia, taxa de crescimento micelial e a formação de escleródios em oito meios de cultura.

## Material e métodos

### Obtenção dos isolados:

Plantas com sintomas de queima foliar associados a diferentes hospedeiros foram coletadas nos municípios de Boa Vista, Cantá, Mucajá, Alto Alegre, Caracará no estado de Roraima catalogadas e herborizadas em coleção no laboratório de Fitopatologia da Embrapa Roraima (Tabela 1). As plantas foram levadas ao laboratório de fitopatologia para realização da técnica de isolamento indireto em meio de Batata Dextrose Agar (BDA) para se obter colônias de *Rhizoctonia* spp. Fragmentos dos tecidos vegetais foram cortados em pedaços de 5 cm e lavados em água corrente para eliminar qualquer resíduo orgânico. Em seguida, os fragmentos foram colocados em uma solução de álcool 70% por 30 segundos, transferidos para uma solução de hipoclorito de sódio 1% por um minuto e, em seguida lavados em água destilada esterilizada e secos em papel filtro esterilizado. Após esse processo, os fragmentos foram depositados em placa de Petri contendo meio de cultura BDA. As placas foram mantidas em incubadora tipo BOD a 25°, fotoperíodo de 12 horas até a observação do crescimento micelial típico de *Rhizoctonia* spp. Após confirmação da identificação, os isolados foram conservados *in vitro* pelo método de preservação em sílica-gel (DHINGRA; SINCLAIR, 1995). Dez isolados foram obtidos das coletas, sendo quatro isolados de feijão-caupi, dois de soja, um de seringueira, um de melancia, um de alface e um de feijão-guandu (Tabela 1).

### Determinação do número de núcleos:

Amostras de hifas, obtidas da periferia de colônias crescidas em placas de Petri contendo meio BDA a 25 °C no escuro por 24 horas foram removidas e colocadas em lâmina de microscopia contendo uma solução de safranina alcalina (0,5 % de safranina, 10 mL de KOH 3%, 5 mL glicerina e 79 mL de água destilada) e cobertas com lamínulas (SNEH *et al.*, 1994). Em microscópio ótico foi contado o número de núcleos de 20 células de cada isolado. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dez tratamentos (isolados) e cinco repetições, cada repetição foi constituída por uma placa de Petri.

**Tabela 1-** Código, hospedeiro e município de coleta dos isolados de *Rhizoctonia* utilizados nos ensaios

Código do Isolado*	Hospedeiro	Município de Coleta
389C	Feijão-caupi	Boa Vista
392A	Feijão-caupi	Cantá
398C	Feijão-caupi	Mucajaí
399F	Feijão-caupi	Alto Alegre
354A	Soja	Boa Vista
355	Soja	Boa Vista
423	Seringueira	Caracarái
203	Melancia	Mucajaí
417	Alface	Boa Vista
291	Feijão-guandu	Mucajaí

\* Código utilizado na coleção de microrganismos do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Roraima.

#### Determinação do grupo de anastomose:

A determinação do grupo de anastomose foi feita utilizando-se a técnica da lâmina de vidro para microscopia (CERESINI *et al.*, 1996). Os isolados padrões utilizados foram GA1-IA; GA1-IB; GA-2 IIIB; GA3 ST9; GA3 ST11-6; GA4 AHI; GA4 140; GA7-H0; GA-BI TS-2-4. Um disco de micélio, tanto os isolados padrões como os isolados de *Rhizoctonia* spp., foi depositado em placas de Petri contendo meio BDA por 48 horas a 25 °C no escuro. Após este período, um disco de micélio de cada isolado a ser identificado foi transferido assepticamente para a extremidade de uma lâmina de vidro esterilizada contendo uma fina camada de agar-água. Na outra extremidade foi depositado um disco de micélio do isolado padrão. As lâminas foram mantidas em placas de Petri a 25 °C no escuro. Quando se observou o encontro das hifas foi adicionado ao centro da lâmina, uma gota da solução de azul de algodão 0,5% e a anastomose observada em microscópio óptico. A reação de anastomose foi considerada positiva quando se observou o contato de hifas, fusão da parede celular e morte de células adjacentes (PARMETER *et al.*, 1969). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial de dez isolados, nove grupos de anastomose e cinco repetições, cada repetição constituída de uma lâmina de vidro.

#### Características culturais da colônia, taxa de crescimento micelial e formação de escleródios em cinco meios de cultura:

Os meios de cultura utilizados no ensaio são descritos na tabela 2.

**Tabela 2 -** Nome, sigla utilizada e descrição dos meios de cultura utilizados no ensaio

Meio de Cultura	Sigla utilizada	Descrição do Meio de Cultura
Batata Dextrose Agar	BDA	Caldo resultante do cozimento de 200g de batata + 20g dextrose + 15g agar por litro de água
BDA+ extrato de levedura	BDAE	BDA+ 1g de extrato de levedura
BDA+ asparagina	BDAA	BDA+ asparagina 0,75%
Czapek Agar	CA	2g NaNO <sub>3</sub> , 1g K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 0,5g MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O, 0,5g KCl, 0,01 g FeSO <sub>4</sub> , 30g sacarose, 20g agar por litro de água
Maltose-Peptona-Agar	MPA	3g maltose, 1g peptona, 20g Agar, por litro de água
Soil Extract Agar	SA	sobrenadante de 1kg de solo seco em 1 litro de água + 1g dextrose + 0,1g extrato de levedura + 0,2g KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> + 20g agar
Sacarose-Yeast-Asparagina	SYA	10g sacarose, 2g extrato de levedura, 2g l-asparagina, 1g KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , 0,1g MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O, 0,44mg ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O, 0,48mg FeCl <sub>3</sub> , 0,36mg MnCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O, 20g agar, por litro de água e ajuste do pH para 5,3 com NaOH, 0,1N
V8	V8	200 mL de suco V8 <sup>R</sup> , 3g CaCO <sub>3</sub> , 15g agar, por litro de água

Um disco de micélio de cada isolado foi depositado em placas de Petri contendo o meio de cultura BDA. As placas foram mantidas por três dias a 25 °C no escuro. Para a medição da taxa de crescimento micelial, um disco de micélio proveniente destas placas foi transferido para cinco placas de Petri contendo o meio de cultura a ser testado. As placas foram mantidas a 25 °C no escuro e a medição ortogonal do diâmetro da colônia foi feita diariamente até o crescimento máximo da colônia. Após o

término dessa avaliação, observaram-se a presença ou não de escleródios, tipo de escleródio, número de escleródios/placa de Petri e tamanho dos escleródios. Os escleródios foram mensurados de duas maneiras: para escleródio do tipo tufo, foi utilizada uma régua milimetrada e a medição ortogonal de cada tufo feito pelo verso da colônia; escleródios do tipo microescleródio foram removidos da colônia e depositados em lâmina de microscopia contendo uma alíquota de água e cobertas com lamínula para a medição ortogonal em microscópio ótico na objetiva de 40X.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado para cada isolado com oito tratamentos (meios de cultura) e cinco repetições, cada repetição constituída por uma placa de Petri. Com as medições ortogonais das colônias foi obtida a taxa de crescimento micelial (TCM) dos isolados estimada pelo parâmetro “b” da equação de regressão. Os dados de TCM foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade usando o procedimento GLM do software SAS versão 9 (SAS Institute Inc., Cary, USA).

## Resultados e discussão

Todos os isolados foram identificados como multinucleados, apresentando em média de 4 a 15 núcleos por célula, classificando-os como pertencentes à espécie *Rhizoctonia solani*. Dois isolados de feijão-caupi (392 e 398), o isolado de melancia (203) e o isolado de feijão-guandú (291) apresentaram 4 núcleos/célula. Os isolados 389 e 399 de feijão-caupi, os de soja (354 e 355) e o de alface (417) apresentaram 5 núcleos/célula. Apenas o isolado 423 obtido de seringueira apresentou 15 núcleos/célula (Tabela 3).

Nove isolados foram identificados como pertencentes aos grupamentos de anastomose AGI-1A e AGI-1B (Tabela 3). Segundo o critério de MacNish *et al.* (1993) a reação foi caracterizada como C2, onde se observou morte das células em anastomose e das células adjacentes. Três isolados de feijão-caupi (389, 392 e 398), um de soja (354) e o de melancia (203) foram identificados como AGI-1A. Os isolados de feijão-guandú (291), alface (417) e um de feijão-caupi (399) e um de soja (355) foram identificados como AGI-1B. Apenas o isolado de seringueira (423) não foi identificado e sua reação com os padrões de *R. solani* foi caracterizada como C0, em que as hifas cresceram por cima uma das outras, não havendo reconhecimento entre os isolados pareados.

A taxa de crescimento micelial e o número de escleródios produzidos nos diferentes meios de cultura pelos isolados são apresentados nas Tabelas 4, 5 e 6.

**Tabela 3** - Número de núcleos e grupamento de anastomose dos isolados de *Rhizoctonia* utilizados no trabalho

Isolado	Número de núcleos	Grupamento de Anastomose
389C- Feijão-caupi	05	AGI 1A
392A- Feijão-caupi	04	AGI 1A
398C - Feijão-caupi	04	AGI 1A
399F - Feijão-caupi	05	AGI 1B
354A- Soja	05	AGI 1A
355- Soja	05	AGI 1B
423- Seringueira	15	Não identificado
203- Melancia	04	AGI 1A
417 - Alface	05	AGI 1B
291- Feijão-guandú	04	AGI 1B

Observou-se diferença significativa na taxa de crescimento micelial dos isolados nos meios de cultura avaliados. O isolado de feijão-caupi 398 apresentou maior taxa de crescimento micelial nos meios MPA (4,40 cm dia<sup>-1</sup>), CA (4,40 cm dia<sup>-1</sup>) e SA (3,94 cm dia<sup>-1</sup>). Para o isolado 392 a taxa de crescimento micelial variou de 3,04 a 3,24 cm dia<sup>-1</sup> e apenas observou-se diferença entre esses valores e a taxa de crescimento micelial observada no meio SYA (0,58 cm dia<sup>-1</sup>). Para o isolado 399 no meios de cultura SA e V-8 foi obtido o maior valor de taxa de crescimento micelial (4,40 cm dia<sup>-1</sup>) (Tabela 4). A formação de escleródios foi bastante variável tanto quanto ao tipo de escleródio quanto ao número produzido em cada meio de cultura. Dois tipos de escleródios foram observados: formação de 2-20 tufos. placa<sup>-1</sup>, variando de acordo com a coloração da colônia e de 1-2 mm e formação de 38-611 microescleródios placa<sup>-1</sup>, de coloração marrom, medindo 100 µm (média de 38 microescleródios). As principais diferenças entre os tipos de escleródios são o tamanho e a aparência, enquanto os tufos não são destacados da colônia em que são formados e os microescleródios são facilmente removidos da colônia. A maior produção de escleródios (611) foi observada para o isolado 399 no meio de cultura SA. Entretanto, para os outros isolados de feijão-caupi a produção de escleródios nesse meio de cultura foi bastante variável. O isolado 398 não produziu escleródios e os isolados 389 e 392 produziram 230 e 10 escleródios, respectivamente. No meio de cultura BDA, esses três isolados tiveram sua máxima produção (Tabela 4).

A maior taxa de crescimento micelial dos isolados de soja foi observada no meio SA para o isolado 354 (4,40 cm dia<sup>-1</sup>) e no meio V8 para o isolado 355 (3,71 cm dia<sup>-1</sup>) (Tabela 5). Outra diferença observada entre os isolados de soja foi a formação de escleródios. O isolado 355 produziu apenas um tipo de escleródios, microescleródio, em todos

**Tabela 4** - Taxa de crescimento micelial (cm) e número de escleródios produzidos em oito meios de cultura por isolados de *Rhizoctonia solani* associados ao feijão-caupi (*Vigna unguiculata*)

Meios <sup>1</sup>	Isolados de Feijão-Caupi							
	389		392		398		399	
	TCM <sup>2</sup>	Escl. <sup>3</sup>	TCM	Escl.	TCM	Escl.	TCM	Escl.
BDA	3,20 B	Micro (355)	3,11 A	Micro (254)	3,08 A	Micro (154)	3,02 B	Micro (125)
BDAE	3,02 B	Micro (91) e tufos	3,11 A	Micro (250)	3,07 A	Micro (96)	3,02 B	Micro (159)
BDAA	3,17B	Micro(217)	3,09 A	Micro (210)	3,08 A	Micro (101)	3,02 B	Ausente
CA	3,10 B	Tufos	3,04 A	Ausente	3,00 A	Ausente	3,00 B	Tufos
MPA	4,40 A	Tufos	3,18 A	Ausente	3,10 A	Micro (38)	3,07 B	Micro (81)
SA	4,40 A	Micro (230)	3,24 A	Micro (10)	3,15 A	Ausente	4,40 A	Micro (611)
V8	3,94 A	Tufos	3,14 A	Micro (42)	3,19 A	Micro (52)	4,40 A	Micro (172)
SYA	1,06 C	Ausente	0,58 B	Ausente	0,75 B	Ausente	0,86 C	Ausente

<sup>1</sup> Meios de cultura: BDA (Batata Dextrose Agar); BDAE (BDA + extrato de levedura); BDAA (BDA+asparagina); CA (Czapek Agar); MPA (Maltose-Peptona-Agar), SA (Soil Extract Agar), V-8 (V-8<sup>®</sup>+ CaCO<sub>3</sub>); SYA (Sacarose-Yeast-Asparagina). <sup>2</sup>Taxa de Crescimento micelial (cm.dia<sup>-1</sup>). <sup>3</sup> Escleródios: tufos e microescleródios. O número em parênteses representa a média de microescleródios.placa<sup>-1</sup>. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%.

os meios de cultura, com exceção do meio SYA, onde não houve produção. O número de escleródios variou de 88 a 775 microescleródios placa<sup>-1</sup>. O isolado 354 apresentou a formação de tufos na maioria dos meios de cultura testados. Nos meios SYA não houve produção de escleródios e no meio SA observou-se a formação dos dois tipos de escleródios (Tabela 5). O isolado de feijão-guandu (291) apresentou a maior taxa de crescimento micelial nos meios MPA (4,14 cm dia<sup>-1</sup>), SA (4,40 cm dia<sup>-1</sup>) e V-8 (3,94 cm dia<sup>-1</sup>) e, em todos os meios de cultura, apresentou apenas a formação de tufos, com exceção do meio V8 em que observou-se a formação de 267 microescleródios placa<sup>-1</sup>.

O isolado de seringueira (423) apresentou maior taxa de crescimento micelial no meio BDAE (1,51 cm dia<sup>-1</sup>) e produziu apenas tufo como tipo de escleródios nos meios BDA, BDAE, BDAA e MPA. Nos demais meios de cultura não houve produção de escleródios (Tabela 6). O isolado de alface (417) também apresentou a formação de apenas tufos como escleródios e em apenas três meios de cultura (BDA, BDAE e MPA). Nos demais meios não se observou formação de escleródios. Para esse isolado os maiores valores de taxa de crescimento micelial foram observados nos meios CA (2,75 cm dia<sup>-1</sup>), MPA (2,73 cm dia<sup>-1</sup>), SA (3,05 cm dia<sup>-1</sup>) e V-8 (3,06 cm dia<sup>-1</sup>) (Tabela 6). Para o isolado de melancia (203) os maiores valores de taxa de crescimento micelial foram obtidas nos meios MPA e SA (4,40 cm dia<sup>-1</sup>). A produção de escleródios para esse isolado foi bastante variável. Nos meios BDAA, CA e SYA não foram observadas a formação de escleródios. O escleródio do tipo tufo foi observado no meio V-8 e do tipo microescleródio nos meios BDA, MPA e SA. No

meio BDAE observou-se a formação de ambos os tipos de escleródios (Tabela 6).

Os resultados desse trabalho mostraram que os isolados de *Rhizoctonia* associados à queima foliar nos hospedeiros estudados são multinucleados e, portanto foram identificados como *Rhizoctonia solani*. O grupamento de anastomose predominante foi o AGI com isolados pertencentes aos subgrupos AGI-1A (feijão-caupi, soja e melancia) e AGI-1B (feijão-caupi, soja, alface e feijão-guandu). Há vários relatos na literatura que isolados de *R. solani* associada a doenças com sintoma de queima foliar em várias culturas pertencem ao grupo de anastomose AGI (PASCUAL *et al.*, 2000; SHARMA *et al.*, 2005). No Brasil, o subgrupo AGI-1A foi identificado em várias associações de isolados de *R. solani* e queima foliar em hospedeiros como a soja (FENILLE *et al.*, 2003), feijão-caupi (NECHET; HALFELD-VIEIRA, 2006b), melancia (NECHET; HALFELD-VIEIRA, 2006a), pastagem (GONÇALVES *et al.*, 2009) e arroz (SOUZA *et al.*, 2007). Nesse estudo identificou-se pela primeira vez um isolado de *R. solani* associado à mela do feijão-caupi como pertencente ao subgrupo AGI-1B e os subgrupos dos isolados obtidos de feijão-guandú e de alface, também pertencentes ao subgrupo AGI-1B.

Além de infectar vários hospedeiros, os isolados de *R. solani* pertencentes ao grupo AGI apresentam uma diversidade de características culturais (GARCÍA *et al.*, 2006). O crescimento micelial e a formação de escleródios foram bastante variáveis de acordo com o isolado e o meio de cultura testado. Os tipos de escleródios observados foram característicos do grupo AGI, com a presença de

**Tabela 5** - Taxa de crescimento micelial (cm) e número de escleródios produzidos em oito meios de cultura por isolados de *Rhizoctonia solani* associados à soja (*Glycine max*) e ao feijão-guandu (*Cajanus cajan*)

Meios <sup>1</sup>	Isolados de Soja				Isolado de Feijão-guandu	
	354		355		291	
	TCM <sup>2</sup>	Escl. <sup>3</sup>	TCM	Escl.	TCM	Escl.
BDA	3,06 B	Tufos	2,95 B	Micro (126)	3,06 B	Tufos
BDAE	3,07 B	Tufos	3,00 B	Micro (88)	2,99 B	Tufos
BDAA	3,03 B	Tufos	3,00 B	Micro (114)	2,97 B	Tufos
CA	3,04 B	Tufos	2,98 B	Micro (122)	3,01 B	Tufos
MPA	3,20 B	Tufos	3,04 B	Micro (200)	4,14 A	Tufos
SA	4,40 A	Micro (74) e tufos	3,42 AB	Micro (775)	4,40 A	Tufos
V8	3,27 B	Tufos	3,71 A	Micro (199)	3,94A	Micro (267)
SYA	1,46 C	Ausente	0,29 C	Ausente	0,73 C	Tufos

<sup>1</sup> Meios de cultura: BDA (Batata Dextrose Agar); BDAE (BDA + Extrato de Levedura); BDAA (BDA+asparagina); CA (Czapek Agar); MPA (Maltose-peptona-agar), SA (Soil Extract Agar), V-8 (V-8®+ CaCO<sub>3</sub>); SYA (Sacarose-Yeast-Asparagina). <sup>2</sup>Taxa de Crescimento micelial (cm.dia<sup>-1</sup>). <sup>3</sup> Escleródios: tufos e microescleródios. O número em parênteses representa a média de microescleródios.placa<sup>-1</sup>. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%

**Tabela 6** - Taxa de crescimento micelial (cm) e número de escleródios produzidos em oito meios de cultura por isolados de *Rhizoctonia solani* associados à seringueira (*Hevea brasiliensis*), alface (*Lactuca sativa*) e a melancia (*Citrullus lanatus*)

Meios <sup>1</sup>	Isolado de Seringueira		Isolado de Alface		Isolado de Melancia	
	423		417		203	
	TCM <sup>2</sup>	Escleródio <sup>3</sup>	TCM	Escleródio	TCM	Escleródio
BDA	1,07 B	Tufo	1,86 B	Tufo	3,12 BC	Micro (212)
BDAE	1,51 A	Tufo	1,97 B	Tufo	3,10 BC	Tufo e Micro (30)
BDAA	1,00 B	Tufo	1,78 B	Ausente	2,99 C	Ausente
CA	0,98 B	Ausente	2,75 A	Ausente	3,11 BC	Ausente
MPA	1,14 B	Tufo	2,73 A	Tufo	4,40 A	Micro (65)
SA	0,88 B	Ausente	3,05 A	Ausente	4,40 A	Micro (437)
V8	0,94 B	Ausente	3,06 A	Ausente	3,50 B	Tufo
SYA	0,50 C	Ausente	0,06 C	Ausente	0,26 C	Ausente

<sup>1</sup> Meios de cultura: BDA (Batata Dextrose Agar); BDAE (BDA + extrato de levedura); BDAA (BDA+asparagina); CA (Czapek Agar); MPA (Maltose-Peptona-Agar), SA (Soil Extract Agar), V-8 (V-8®+ CaCO<sub>3</sub>); SYA (Sacarose-Yeast-Asparagina). <sup>2</sup>Taxa de Crescimento micelial (cm.dia<sup>-1</sup>). <sup>3</sup>Escleródios: tufos e microescleródios. O número em parênteses representa a média de microescleródios.placa<sup>-1</sup>. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%.

microescleródios e de tufos que representam os escleródios do tipo “sasakii” (YANG *et al.*, 1989). Em cultivo *in vitro* a indução da formação do escleródio é influenciada por vários fatores como luminosidade e condições nutricionais do meio de cultura (SUMNER, 1994). Portanto, o uso de diferentes meios de cultura é importante para caracterizar as condições de crescimento micelial e formação de escleródios de isolados de *R. solani* e assim selecionar meios de cultura em que os isolados apresentem maior crescimento e produção de escleródios.

## Conclusões

Os isolados estudados associados à queima foliar em Roraima foram caracterizados como multinucleados e pertencentes à espécie *Rhizoctonia solani*.

Os isolados foram identificados com os grupos de anastomose AGI 1A e AGI 1B.

Para a maioria dos isolados as maiores taxas de crescimento micelial foram obtidas no meio de cultura Soil Extract Agar-SA.

Os escleródios produzidos foram característicos do grupo AGI e o número e o tipo de escleródios produzidos variaram com o isolado e o meio de cultura utilizado.

## Literatura científica citada

- CARLING, D. E. Grouping in *Rhizoctonia solani* by hyphal anastomosis reaction. In: SNEH, B.; JABAJI-HARE, S.; NEATLE, S.; DIJST, G. ***Rhizoctonia* species: taxonomy, molecular, biology, ecology, pathology and disease control**. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 1995. p. 37-47.
- CARLING, D. E.; BAIRD, R. E.; GITAITIS, R. D.; BRAINARD, K. A.; KUNINAGA, S. Characterization of AG-13, a newly reported anastomosis group of *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, v. 92, p. 893-899, 2002.
- CARLING, D. E.; POPE, E. J.; BRAINARD, K. A.; CARTER, D. A. Characterization of mycorrhizal isolates of *Rhizoctonia solani* from an orchid, including AG-12, a new anastomosis group. **Phytopathology**, v. 89, p. 942-946, 1999.
- CUBETA, M. A.; VILGALYS, R. Population Biology of the *Rhizoctonia solani* Complex. **Phytopathology**, v. 87, p. 480-484, 1997.
- DESLANDES, J. A. Observações fitopatológicas na Amazônia. **Boletim Fitossanitário**, v. 1, p. 197-244, 1944.
- DUARTE, M. L. R.; ALBUQUERQUE, F. C. Doenças da cultura da pimenta-do-reino. In: DUARTE, M. L. R. **Doenças de plantas no trópico úmido brasileiro**. I. Plantas industriais. Belém., Pará: Embrapa Amazônia Oriental, 1999. p. 159-208.
- GAINO, A. P. S. C.; BASSETO, M. A.; GASPAROTTO, L.; POLTRONIEIRI, L. S.; CERESINI, P. C. Inferência filogenética revela a complexa etiologia das manchas areolada e foliar em seringueira e em outras espécies cultivadas na Amazônia. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 32, p. 385-395, 2010.
- CERESINI, P. C.; FENILLE, R. C.; SOUZA, N. L. Associação de *Rhizoctonia* spp. binucleadas e de *R. solani* Kühn GA 4 HGI a vagens de amendoimzeiro (*Arachis hypogaea*) no estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, v. 22, p. 145-156, 1996.
- DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic Plant Pathology Methods**. New York: CRC Press, 1995. 434 p.
- FENILLE, R. C.; CIAMPI, M. B.; KURAMAE, E. E.; SOUZA, N. L. Identification of *Rhizoctonia solani* Associated with Soybean in Brazil by rDNA-ITS Sequences. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 413-419, 2003.
- GARCÍA, V. G.; ONCO, M. A. P.; SUSAN, V. R. Review. Biology and Systematics of the form genus *Rhizoctonia*. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 4, p. 55-79, 2006.
- GASPAROTTO, L.; HANADA, R. E.; ALBUQUERQUE, F. C.; DUARTE, M. L. R. Mancha areolada causada por *Thanatephorus cucumeris* em mogno africano. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 660-661, 2001.
- GONÇALVES, R. C.; HALFELD-VIEIRA, B. A.; NECHET, K. L. Primeiro registro da queima foliar de *Cynodon nlemfuensis* var. *nlemfuensis* causada por *Rhizoctonia solani* em Rio Branco, Acre. **Amazônia**, v. 4, p. 183-188, 2009.
- HALFELD-VIEIRA, B. A.; NECHET, K. L.; SOUZA, G. R. Caracterização do perfil de ocorrência de doenças de plantas no estado de Roraima. **Revista Agro@ambiente On-line**, v. 5, p. 220-226, 2011.
- MacNISH, G. C.; CARLING, D. E.; BRAINARD, K. A. Characterization of *Rhizoctonia solani* AG-8 from bare patches by pectic isozyme (zymogram) and anastomosis techniques. **Phytopathology**, v. 83, p. 922-927, 1993.
- NECHET, K. L.; HALFELD-VIEIRA, B. A. First report of *Rhizoctonia solani* causing web blight on pigeonpea in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 32, p. 358, 2007.
- NECHET, K. L.; HALFELD-VIEIRA, B. A. Mela em melancia causada por *Rhizoctonia solani* AG1-IA em Roraima. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 103, 2006a.
- NECHET, K. L.; HALFELD-VIEIRA, B. A. Caracterização de isolados de *Rhizoctonia* spp., associados à mela do feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), coletados em Roraima. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 505-508, 2006b.
- NECHET, K. L.; HALFELD-VIEIRA, B. A.; BOARI, A. J.; NASCIMENTO, J. F. Doenças. In: ZILLI, J. E.; VILARINHO, A. A.; ALVES, J. M. A. (eds.) **A cultura do feijão-caupi na Amazônia Brasileira**. 1. ed. Boa Vista, RR: Embrapa Roraima, 2009. p. 245-270.
- NECHET, K. L.; HALFELD-VIEIRA, B. A.; GIANLUPPI, V.; MEYER, M. C. Reação de cultivares de soja à mela (*Thanatephorus cucumeris*) em campo em dois estádios de desenvolvimento das plantas. **Summa Phytopathologica**, v. 34, p. 277-279, 2008.

- OGOSHI, A. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn. **Annual Review of Phytopathology**, v. 25, p. 125-143, 1987.
- PARMETER, J. R.; SHERWOOD, R. T.; PLATT, W. D. Anastomosis grouping among isolates of *Thanatephorus cucumeris*. **Phytopathology**, v. 59, p. 1270-1278, 1969.
- PASCUAL, C. B.; TODA, T.; RAYMONDO, A. D.; HYAKUMACHI, M. Characterization by conventional techniques and PCR of *Rhizoctonia solani* isolates causing banded leaf sheath blight in maize. **Plant Pathology**, v. 49, p.108-118, 2000.
- PAPAVIZAS, G. C.; DAVEY, C. B. Saprophytic behavior of *Rhizoctonia* in soil. **Phytopathology**, v. 51, p. 693-699, 1961.
- POLTRONIERI, L. S.; TRINDADE, D. R.; BENCHIMOL, R. Web Blight (*Thanatephorus cucumeris*) in passion fruit in the state of Pará of Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, p. 92, 1999.
- POLTRONIERI, L. S.; VERZIGNASSI, J. R.; BENCHIMOL, R.L. *Tectona grandis*, nova hospedeira de *Rhizoctonia solani* no Pará. **Summa Phytopathologica**, v. 34, p. 291, 2008.
- SHARMA, M.; GUPTA, S. K.; SHARMA, T. R. Characterization of variability in *Rhizoctonia solani* by using morphological and molecular markers. **Journal of Phytopathology**, v. 153, p. 449-456, 2005.
- SNEH, B.; JABAJI-HARE, S.; NEATLE, S.; DIJST, G. ***Rhizoctonia* species: taxonomy, molecular, biology, ecology, pathology and disease control**. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 1995. 578p.
- SNEH, B.; BURPEE, L.; OGOSHI, A. **Identification of *Rhizoctonia* species**. 2 ed. St. Paul: APS Press, 1994. 133p.
- SOUZA, E. C.; KURAMAE, E. E.; NAKATANI, A. K.; BASSETO, M. A.; PRABHU, A. S.; CERESINI, P. C. Caracterização citomorfológica, cultural, molecular e patogênica de *Rhizoctonia solani* Kühn associado ao arroz em Tocantins, Brasil. **Summa Phytopathologica**, v. 33, p. 129-136, 2007.
- SUMNER, D. R. Sclerotia formation by *Rhizoctonia* species and their survival. In: SNEH, B.; BURPEE, L.; OGOSHI, A. **Identification of *Rhizoctonia* species**. 2 ed. St. Paul: APS Press, 1994. 207-215 pp.
- TRINDADE, D. R.; POLTRONIERI, L. S.; ALBUQUERQUE, F. C. Mancha areolada causada por *Thanatephorus cucumeris* em laranjeiras no estado do Pará. **Fitopatologia Brasileira**, v. 22, p. 115, 1997.
- YANG, X. B.; SNOW, J. P.; BERGGREN, G. T. Morphogenesis of microsclerotia and sasakii-type sclerotia in *Rhizoctonia solani*, anastomosis group I, intraspecific groups IA and IB. **Mycological Research**, v. 93, p.429-434, 1989.