

ANÁLISE QUALITATIVA E QUANTITATIVA DE ESPÉCIES
DE *PYTHIUM* PATOGÊNICAS DOS SOLOS NO MUNICÍPIO DE MANAUS,
I SOLOS DE TERRA FIRME¹.

MAURICE LOURD², MARIA LUIZA BRAZA ALVES², DANIEL BOUHOT³

(²Departamento de Agronomia – INPA – C Postal, 478 – 69 000, Manaus, AM ³Institut
Nacional de Recherche Agronomique – INRA – Dijon, França)

(Aceito para publicação em 10/04/86)

RESUMO

LOURD, M, & ALVES, M LUIZA, B, & BOUHOT, D Análise qualitativa e quantitativa de espécies de *Pythium* patogênicas dos solos no município de Manaus I Solos de terra firme Fitopatol bras 11 479-485 1986

Através de um teste biológico foi avaliada a presença de *Pythium* em 118 amostras de solos de terra firme do Município de Manaus Verificou-se que o fungo se encontra presente tanto em solos cultivados como em solos de floresta primária Devido a presença de *P aphanidermatum* que se mostrou patogênica em relação à planta teste (pepino cv Aodai Nazaré) utilizada no diagnóstico destes solos, as amostras de solos cultivados apresentaram um potencial infeccioso mais elevado

ABSTRACT

Qualitative and quantitative study of the species of Pathogenic *Pythium* in soils of the region of Manaus. I. *Pythium* in "terra firme" soils.

The presence of *Pythium* was observed in 118 samples from soils of "terra firme" (lands out of flooding influence) with the use of a biological test *Pythium* spp were found as well in cultivated soils as in soils of primary forest However, the soil infectivity was always higher in cultivated soils because of the presence of *P aphanidermatum* which showed to be highly virulent to the cucumber (cv Aodai Nazaré) used as susceptible plant in the biological test

INTRODUÇÃO

Os fungos do gênero *Pythium*, saprofitos e patogênicos estão presentes nos so-

los do mundo inteiro Com raras exceções, as espécies patogênicas são polífagas, ata-

1 Trabalho realizado com auxílio do POLOAMAZÔNIA

ORSTOM Fonds Documentaire

Nº : 25.499 ex 1

Cote : B

18 JAN. 1989

H P55

cando tanto plântulas e plantas jovens em pré e pós-emergência como plantas adultas ao nível de raízes e caule (Galli, 1980).

As condições ambientes peculiares da região amazônica, com temperatura e umidade elevada, favorecem o desenvolvimento de algumas espécies deste patógeno. Exceto alguns diagnósticos realizados no campo (Lourd, et al., 1983, 1984) não foi feito nenhum levantamento para avaliar a presença deste fungo na região.

No entanto, a intensificação das culturas nos arredores de Manaus, assim como, as modificações ecológicas ligadas ao desmatamento (Schubart, 1977) fazem com que o estudo do *Pythium* torne-se altamente justificável.

Visando observar a evolução das populações patogênicas de *Pythium* em função da expansão das culturas, iniciou-se esta

pesquisa de diagnóstico dos solos infestados por *Pythium* nas cercanias de Manaus.

O estudo apoia-se no conceito de potencial infeccioso (PI) de Bouhot (1980) o qual permite considerar a ação dos componentes do solo na expressão da doença mais do que o conceito de potencial de inóculo de Garret (1956) e Baker (1978). Bouhot define o potencial infeccioso de um solo infestado por um patógeno como a quantidade de energia patogênica disponível dentro do solo. Um teste biológico idealizado a partir deste conceito permite localizar o patógeno nas amostras de solo testadas e avaliar o PI considerando as interações entre a planta hospedeira, o patógeno e os constituintes bióticos e abióticos do solo (Bouhot, 1975).

Nesta primeira fase foram estudados somente os solos de terra firme, área definida como terras que se situam fora do al-

Tabela 1. Localização dos solos analisados.

Origem dos solos	Área de coleta	Número de amostras analisadas	Data de coleta
Solos de floresta	Reserva Ducke-INPA Km 25, AM-10	14	Jan. e Jun. 83, Out. 84
	Reserva natural INPA Km 60, BR 174	8	Jun. 83, Jan. 84
Solos de Silvicultura	Estrada Manaus-Manacapuru Reserva Ducke INPA Km 25 AM-10	2	Jan. 84
	Estação de Silvicultura INPA, Km 60 BR 174	6	Jan. e Jun. 83
		29	Jun. 83, Jan. 84
Solos de alqueive	INPA Manaus	1	Dez. 82
	Estrada Manaus-Manacapuru Am-10	4	Dez. 83
	Estação Experimental-INPA Km 14 BR 174	2	Jan. 83
		3	Dez. 82
Solos cultivados	Rio Cuieras	1	Ago. 84
	Estrada Manaus-Manacapuru AM-10	9	Dez. 83 Jan. 84
	EMBRAPA-UEPAE	13	Abr. 83
	Estação Experimental-INPA Km 14 BR 174	4	Abr. 83
	Pomar experimental INPA Km 60 BR 174	16	Dez. 82, Nov. 83.
		2	Jan. 84
		2	Abr. 83
	Rio Cuieras	4	Ago. 84

cance das enchentes das águas dos rios (Falesi, 1967).

MATERIAL E MÉTODOS

Para este levantamento, coletou-se 118 amostras de solo, em áreas com diferentes espécies cultivadas e em floresta primária (Tabela 1). Amostra de solo representativa de cada área era obtida, com auxílio de uma pазinha de metal, a partir da homogeneização de 3 sub-amostras de 1 kg cada, retirada na camada superficial (0-10 cm) do solo e transportada em sacos plásticos até o laboratório. Após a coleta, os solos eram secados no laboratório (25-27°C) por 48-72 horas, peneirados (peneiras de 1 mm) e, em seguida, determinava-se a densidade aparente e capacidade de retenção de água. Logo após, as amostras de solo eram submetidas ao teste biológico.

Teste Biológico — Avaliação Qualitativa.

O teste constitui basicamente em confrontar uma população de plantas hospedeiras, especificamente suscetíveis ao fungo a ser avaliado, favorecendo a expressão da patogenicidade do *Pythium* (Fig. 1). Utilizou-se como planta — teste o pepino *Cucumis sativus* L. cultivar Aodai Nazaré. A semeadura foi realizada em copos descartáveis, colocando-se 80 ml de solo desinfectado (autoclavado durante 1 hora a 115°C) e umedecido com água estéril até atingir 70% da capacidade máxima de retenção (C.M.R.), semeou-se 10 sementes de pepino por copo. Após 4 dias de incubação em câmara de crescimento, sob condições controladas de luz (5000 lux, período de 12 horas) e de temperatura (27-30°C) as plântulas atingiam o estado de cotilédones abertos, sendo então inoculadas. A inoculação consistiu em colocar o solo a ser testado acrescido de 0,5g de aveia (fonte nutritiva para o fungo) ao nível do colo das plântulas num volume constante necessário para cobrir a base do caule até 1 cm de altura. O solo foi umedecido com água estéril até 70% da

C.M.R. sendo realizado 5 repetições de 10 plantas para cada amostra. Após a inoculação, os copos eram colocados novamente na câmara-de-crescimento e mantidos neste ambiente durante 4 dias. Concluída a incubação, a presença do *Pythium* foi identificada por sintomas típicos de tombamento das plantas. E por fim fez-se o isolamento de controle a partir das plantas tombadas. As primeiras análises qualitativas realizadas visaram conhecer a situação sanitária dos solos da região de Manaus em diferentes lugares representativos do tipo de vegetação e cultura da região ou seja, mata primária, alqueive, áreas dedicadas à silvicultura, área cultivada de maneira tradicional ou intensiva.

Avaliação do potencial infeccioso

— Teste quantitativo.

A quantificação do potencial infeccioso (PI) é baseado na relação quantidade de doença/concentração de inóculo. Por isso, o teste quantitativo foi realizado inoculando plântulas de pepino com diferentes concentrações de solo a ser analisado. A relação obtida é uma regressão da mortalidade em função da concentração do solo. Para linearizar a relação, diferentes transformações das variáveis foram testadas (Bouhot et al. 1979). A mais conveniente para o teste standart foi a transformação de Van der Plank (1963) onde a doença expressa-se em $\text{Ln} \frac{1}{1-x}$, sendo $x = \%$ de plantas mortas, e a concentração do solo em $\log C$ (Bouhot, 1980).

Assim a equação da relação é: $\text{Ln} \frac{1}{1-x} = a + b \log C$. Ela é resolvida para 50% de mortalidade que representa a dose eficiente 50 (D.E. 50) a partir da qual é calculada a unidade de potencial infeccioso UPI_{50}/g de solo. Esta UPI_{50}/g define-se como a quantidade de solo necessário e suficiente para provocar a morte de 50% das plantas inoculadas. Cada teste foi realizado usando a escala de concentração 100; 10; 1;

0,3 e 0,1% de solo a ser testado, diluído em solo estéril (autoclavado a 115°C por 1 hora, durante 3 dias consecutivos) mantendo sempre o volume constante de inóculo (Fig. 1). Para cada concentração, realizou-se 4 repetições com 10 plantas cada. Foram analisadas quantitativamente 20 amostras de solo de terra firme, que se mostraram infectadas pelo fungo através do teste qualitativo.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Diagnóstico dos solos.

O Teste biológico qualitativo permitiu identificar três situações distintas: 1. Ausência de sintoma nas plantas inoculadas: solos não infestados.

2. Presença de sintomas de tombamento afetando menos de 30% das plantas: solos pouco infestados.

3. Mortalidade de 90 a 100% das plantas: solos infestados mostrando um alto potencial infeccioso.

A partir dos isolamentos, identificou-se 3 espécies de *Pythium*: *P. aphanidermatum* (Edson) Fitzp., *P. oligandrum* Dreschler e *P. splendens* Braun, conforme a classificação de Waterhouse (1968) e as descrições de Domsch et al. (1980).

Observou-se assim que a espécie mais ligada ao PI é *P. aphanidermatum* que se encontrou presente sempre nos solos altamente infestados.

Os resultados em função da origem dos solos estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Diagnóstico de solos de terra firme, no município de Manaus, em relação aos *Pythium* fitopatogênicos.

Classificação do solo \ Origem	Cultura				Total	%
	Floresta	Silvicultura	Alqueive	diversa		
Infestados	3	6	1	21	31	26
Pouco infestados	4	12	1	11	28	24
Não Infestados	17	17	9	16	59	50
Total analisado	24	35	11	48	118	

Esses resultados mostraram que 50% dos solos estudados contém uma população de *Pythium* capaz de se revelar patogênica, mas somente 26% são altamente infestados pela espécie *P. aphanidermatum* que se mostrou mais agressiva. De acordo com a origem das amostras observa-se que a porcentagem de solos contaminados é maior naqueles cultivados do que nos solos florestais ou não cultivados como o alqueive. No entanto, nenhum local está livre de contaminação. Para precisar essas observações, analisou-se estes dados em função do tipo de cultura estabelecida em cada área analisada, cujos dados se encontram na Tabela 3.

Observa-se que a proporção de solos infestados por *Pythium* aumenta quando cultivados, principalmente com hortaliças.

Em culturas tradicionais de roça, onde a mandioca é a planta dominante, a situação não é muito diferente daquela observada com os solos de florestas. O *P. aphanidermatum* encontra-se presente mas em baixa proporção. Em pomares de frutíferas, que tradicionalmente estão instalados em áreas de roça abandonada, a porcentagem de solos infestados aumenta mas o desenvolvimento do *P. aphanidermatum* ainda é muito desfavorecido. A evolução mais acentuada aparece em solos cultivados com

Tabela 3. Classificação das amostras de solos quanto a infestação por *Pythium* em função do tipo de cultura estabelecida em cada área analisada.

Classificação do solo \ Cultura	Cultura de roça mandioca	Frutífera	Hortaliças	Total	%
Infestados	1	5	15	21	44
Pouco infestados	1	10	0	11	23
Não infestados	5	3	8	16	33
Total	7	18	23	48	

hortaliças onde *P. aphanidermatum* chega a ser a espécie dominante entre as populações de *Pythium* e a proporção de solos infestados é a mais elevada (65%) dentre os solos de terra firme analisados.

Avaliação quantitativa do potencial infeccioso.

O potencial infeccioso (PI) exprimido em UPI₅₀/g de solo foi calculado para cada amostra analisada. Os resultados se encontram na Tabela 4.

Observa-se variações significativas dentro da amostragem estudada. Na maioria dos solos, o PI é inferior a 1, chegando a ser muito baixo nos solos J8, Mn7, Mn 11, Mn 15 e SV 16. De modo geral, parece que os cultivos mais intensivos favorecem a elevação do PI. No caso das amostras coletadas nas plantações de mamoeiro (Mn 13 e Mn 14), o PI é elevado, contrastando com o resultado manifestado com outras frutíferas (Mn 7). Possivelmente a explicação mais lógica para o alto PI registrado seria a utiliza-

Tabela 4. Potencial infeccioso de solos de terra firme infestados por *Pythium*.

Solo	Vegetação/cultura	Localização da coleta	UPI ₅₀ /g solo
SV16	Floresta	Reserva natural do INPA, BR 174	0,02
Mn11	Floresta	Estrada Manaus-Manacapuru, Km 22	4x10 ⁻³
J8	Alqueive	Estação Experimental, INPA	5x10 ⁻³
SV13	Silvicultura	Estação de Silvicultura, INPA	0,12
Mn15	Mandioca	Estrada Manaus-Manacapuru, Km 23	5x10 ⁻³
J7	Milho	Estação Experimental do INPA	1,35
Mn7	Frutíferas	Estrada Manaus-Manacapuru, Km 22	8x10 ⁻⁴
Mn13	Mamoeiro	Estrada Manaus-Manacapuru, Km 22	1,45
Mn14	Mamoeiro	Estrada Manaus-Manacapuru, Km 22	4,45
J12	Taioba	Estação Experimental do INPA	0,82
J3	Quiabo	Estação Experimental do INPA	0,16
J13	Quiabo	Estação Experimental do INPA	0,88
J1	Quiabo	Estação Experimental do INPA	1,96
J6	Feijão	Estação Experimental do INPA	4,98
J2	Pepino	Estação Experimental do INPA	1,15
J9	Pepino	Estação Experimental do INPA	3,82
J10	Pepino	Estação Experimental do INPA	0,95
J11	Berinjela	Estação Experimental do INPA	1,25
J14	Repolho	Estação Experimental do INPA	0,50
J15	Repolho	Estação Experimental do INPA	0,46

ção em larga escala de adubo orgânico e a maior sensibilidade da cultura instalada à *Pythium*. Por outro lado, o baixo nível de PI encontrado na floresta, algumas áreas de silvicultura e fruticultura é explicado pela manutenção ou pequena alteração do equilíbrio natural do meio ambiente.

A partir destas informações preliminares sobre o potencial infeccioso três aspectos podem ser considerados: 1. A distribuição do *Pythium* nos solos da região; 2. A composição das populações de *Pythium* e suas variações em função do manejo dos solos; 3. A avaliação do potencial infeccioso como indicador da potencialidade dos solos para a cultura.

Sobre o primeiro aspecto os resultados obtidos mostraram que o gênero *Pythium* é um componente comum dos solos da região de Manaus, não sendo portanto introduzido pelas plantas cultivadas pois análises dos solos da floresta primária também revelaram a presença de *Pythium* fitopatogênicos em algumas amostras. Mas, mesmo naqueles solos considerados como não infestados e assim classificados pela ausência de tombamento das plantas-teste observou-se outras espécies de *Pythium* não patogênicos a partir de isolamentos diretos dos solos (dados não publicados). Essas observações, completando as de Beneke et al. (1962) e Carvalho (1965) sobre as espécies de *Pythium* no centro-sul do país, vem comprovar o provável cosmopolitismo do gênero *Pythium* no Brasil.

Na região de Manaus, a repartição espacial das espécies patogênicas parece ser, no momento, aleatória. Na floresta, em condições ambientes aparentemente muito similares, das 17 amostras estudadas 3 solos encontravam-se infestados por *P. aphanidermatum*. Somente um estudo mais aprofundado, relacionando a análise dos parâmetros físico-químicos aos aspectos biológicos, permitirá definir as condições que favorecem o desenvolvimento deste patógeno. É evidente que nos solos cultivados a quebra do equilíbrio natural do meio am-

biente e o tipo de cultura instalada, assim como, o cultivo sucessivo de uma determinada área tem grande influência na manifestação das espécies patogênicas de *Pythium*.

A composição das populações de *Pythium* e suas variações é um elemento muito importante da dinâmica do processo de infestação dos solos. Em Manaus, 3 espécies foram identificadas como ligadas ao PI. Mas, devido a complexidade da sistemática do gênero *Pythium*, claramente enfatizada por Milanez (1984), diversas outras pertencentes à microflora do solo que podem ter um papel secundário, ficam ainda desconhecidas. Em comparação, Carvalho (1965) chegou a identificar 12 espécies diferentes, relacionadas às doenças racinárias e sintomas de tombamento nos solos do estado de São Paulo.

No entanto tratando-se do potencial infeccioso nos solos do município de Manaus, observou-se que a espécie *P. aphanidermatum* é a mais importante. As variações do PI parecem estar em relação com a frequência de aparecimento desta espécie nos solos analisados. Assim, o gradiente progressivo da proporção de amostras infestadas, dos solos da floresta até os solos intensivamente cultivados, deve traduzir uma modificação da microflora em favor do *P. aphanidermatum*, ligada ao manejo do solo para fins agrícolas.

Esta evolução foi confirmada pela análise quantitativa a qual mostrou que o PI atinge um nível máximo nos locais cultivados de uma maneira intensiva como nas plantações de hortaliças.

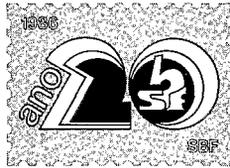
O último aspecto a considerar para concluir este primeiro estudo é o valor da avaliação e evolução do PI como indicador da situação sanitária dos solos. A partir dos resultados alcançados observou-se a repartição do *Pythium* nos solos de terra firme e os efeitos da cultura sobre a emergência das espécies patogênicas. A medida do PI pode permitir classificar e caracterizar os solos que apresentam um risco mais elevado de

doenças tipo tombamento, permitindo orientar o manejo das culturas. Enfim, a partir do teste biológico é possível analisar os efeitos sobre o PI dos principais parâmetros e componentes do ecossistema como a umidade, o pH, a matéria orgânica ou a micoflora.

Assim, a partir dos estudos em andamento sobre a dinâmica do PI em alguns agrossistemas regionais espera-se obter subsídios para tentar manter e/ou restabelecer um bom equilíbrio biológico nos solos cultivados a fim de limitar os efeitos danificados do *Pythium*.

LITERATURA CITADA

- BAKER R. Inoculum potential. in: HORSFALL J.G. & COLLING E.B. Ed. Plant disease II. How disease develops in populations. Academic Press 1978 p. 137-157.
- BENEKE, E.S. & ROGERS, A.L. Aquatic Phycomycetes isolated in the states of Minas Gerais, São Paulo and Paraná, Brazil. Rickia 1: 181-193. 1962.
- BOUHOT, D. Technique selective et quantitative d'estimation du potentiel infectieux des sols, terreaux et substrats infestés par *Pythium* sp. Mode d'emploi. Ann. Phytopathol. 7:155-158. 1975.
- BOUHOT, D. Le potentiel infectieux des sols. Un concept, un modèle pour sa mesure, quelques applications, Thèse Doctorat Etat, Université de Nancy. France. 1980.
- BOUHOT, D. & JOANNES, H. Recherches sur l'écologie des champignons parasites dans le sol. IX. Mesure du potentiel infectieux des sols naturellement infestés par *Pythium*. Soil Biol. Biochem. 11:4117-429. 1979.
- CARVALHO, P.C.T. Ocorrência no Brasil de algumas espécies de *Pythium* Pringsheim, de interesse à olericultura. Rickia 2: 89-106. 1965.
- DOMSCH, K.H., GAMS, W. & ANDERSON, T.H. Compendium of soil fungi. Academic Press. 1980. 852 p.
- FALESI, i.C. O estado atual dos conhecimentos sobre os solos da Amazônia brasileira. Geociências 1:151-168. 1967.
- GALLI, F. Manual de Fitopatologia. 2ª edição. Piracicaba. Editora Agronômica Ceres Ltda. São Paulo. Vol. II. 1980.
- GARRET, S. D. Biology of root infecting fungi. Cambridge University Press. 1956. 293 p.
- LOURD, M.; ALVES, M.L.B. & BOUHOT, D. Estudo qualitativo de *Pythium* sp. nos solos da região de Manaus. Fitopatol. Bras. 8: 602. 1983.
- LOURD, M.; ALVES, M.L.B. & BOUHOT; D. Avaliação quantitativa do potencial infeccioso dos solos da Amazônia infestados por *Pythium*. Fitopatol. bras. 9:333. 184.
- MILANEZ, A.I. A problemática da identificação de espécies dentro do gênero *Pythium* Pringsheim. Fitopatol. bras. 9:304. 1984.
- SCHUBART, H.O.R. Critérios ecológicos para o desenvolvimento agrícola das terras firmes da Amazônia. Acta Amazônica 7(4):559-567. 1977.
- VAN DER PLANK, J.E. Plant diseases: epidemics and control. Academic Press 1963. 349 p.
- WATERHOUSE, G.M. Key to *Pythium*. Mycol. Pap. 109: 1-15. 1967.



COLEGA

**COLABORE PARA O CADASTRO
GERAL DOS SÓCIOS, ATUALIZANDO
E COMPLEMENTANDO OS DADOS
PUBLICADOS NO FASCÍCULO 2,
VOLUME 11 DE
FITOPATOLOGIA BRASILEIRA**