

## LITERATURE CITED

1. Fleischmann F, Lütz C, Raidl S, Oßwald W (2006). Changes in susceptibility of European beech (*Fagus sylvatica*) towards *Phytophthora citricola* under the influence of elevated CO<sub>2</sub> and nitrogen fertilization. Submitted to Plant Pathology
2. Karnosky DF, Percy KE, Xiang B, Callan B, Noormets A, Mankovska B, Hopkin A, Sober J, Jones W, Dickson RE, Isebrands JG (2002). Interacting elevated CO<sub>2</sub> and tropospheric O<sub>3</sub> predisposes aspen (*Populus tremuloides* Michx.) to infection by rust (*Melampsora medusae* f.sp. tremuloidae). Global Change Biology 8: 329 – 338
3. Manning WJ, Tiedemann v. (1995) Climate change: Potential effects of increased atmospheric carbon dioxide (CO<sub>2</sub>), ozone (O<sub>3</sub>), and ultraviolet-B (UV-B) radiation on plant diseases (Review). Environmental Pollution 88: 219 - 245
4. Matyssek R, Agerer R, Ernst D, Munch J-C, Oßwald W, Pretzsch H, Priesack E, Schnyder H, Treutter D (2005). The plants capacity in regulating resource demands. Plant Biology 7 (6): 560 – 580
5. Percy KE, Awmack CS, Lindroth RL, Kubiske ME, Kopper BJ, Isebrands JG, Pregitzer KS, Hendrey GR, Dickson RE, Zak DR, Oksanen E, Sober J, Harrington R, Karnosky DF (2002) Altered performance of forest pests under atmospheres enriched in CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub>. Nature 420 (28): 403 - 407
6. Plessl M, Heller W, Payer H-D, Elstner EF, Habermeyer H, Heiser I (2005). Growth parameters and resistance against *Drechslera teres* of spring barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Scarlett) grown at elevated ozone and carbon dioxide concentrations. Plant Biology 7 (6): 694 – 705
7. Tiedemann A v., Ostländer P, Firsching KH, Fehrmann H (1990). Ozone episodes in Southern Lower Saxony (FRG) and their impact on the susceptibility of cereals to fungal pathogens. Environmental Pollution 67: 43 - 59

## Alterações na rizosfera e seus efeitos nas interações hospedeiro-patógeno

Célia Regina Tremacoldi

Embrapa Amazônia Oriental, Setor de Fitopatologia, tremacol@cpatu.embrapa.br

### RESUMO

Estratégias normalmente utilizadas para o controle de doenças de plantas, como a aplicação de defensivos químicos e o uso de cultivares resistentes, são geralmente mais eficientes contra patógenos de parte aérea do que aqueles de solo. O uso de métodos culturais, especialmente os agentes de controle biológico capazes de colonizar os solos, e a adição de compostos orgânicos apresenta efeito supressivo contra doenças de

plantas causadas por fungos e bactérias de solo, assim como por nematóides, em vários sistemas agrícolas, contribuindo também para reduzir a utilização de defensivos químicos. O objetivo deste trabalho é apresentar um estudo sobre o efeito de rizobactérias promotoras do crescimento e de compostos orgânicos sobre o desenvolvimento de plantas e a estrutura da comunidade microbiana da rizosfera.

### ABSTRACT

Common plant disease management strategies, for example, application of chemicals and use of resistant cultivars, are generally more effective against aerial plant pathogens than soil-borne counterparts. The use of cultural methods, especially biological control agents able to multiply within soils and organic matter compost has been found to be suppressive against plant

diseases caused by soilborne fungi, bacteria or nematodes in various cropping systems and can be to reduce the widespread application of chemicals. The aim of this work is present a study about the effect of the plant growth-promoting rhizobacteria and the organic matter compost on plant growth and microbial community structure in the rhizosphere.

Palavras-chave: composto orgânico, *Pseudomonas fluorescens*, supressividade, controle biológico

Estratégias como o uso de defensivos químicos e de cultivares resistentes, comumente utilizadas no manejo de doenças de culturas agrícolas, geralmente são mais eficientes contra patógenos de parte aérea do que aqueles de solo. Um dos obstáculos ao controle destes últimos é que, tecnicamente, é difícil tratar grandes volumes de solo com produtos químicos e alguns vêm sendo retirados do mercado, por razões toxicológicas e ambientais. Outro fator desfavorável é que propágulos de vários patógenos são altamente resistentes e permanecem viáveis nos solos por muitos anos. Assim, métodos culturais e que se utilizam de agentes de controle biológico, visando a supressividade de doenças veiculadas pelo solo, despertam um interesse cada vez maior.

Na busca da supressividade dos solos contra importantes patógenos que afetam muitos sistemas agrícolas, a adição de compostos orgânicos e de microrganismos antagonísticos, isoladamente ou em conjunto, é a técnica mais estudada nos últimos anos. Os antibióticos produzidos por rizobactérias promotoras do crescimento de plantas, ou bactérias rizocompetentes, são o mecanismo chave da supressão de doenças, principalmente o 2,4-diacetilfloroglucinol e as fenazinas, produzidos por *Pseudomonas fluorescens*. Por outro lado, exsudatos de raízes influenciam diretamente organismos patogênicos, simbioses ou saprófitas que habitam a superfície radicular ou o córtex e podem atuar como fatores decisivos na manutenção dos agen-

tes de biocontrole adicionados ao solo.

Neste contexto, esta palestra abordará o impacto da adição de compostos orgânicos e de isolados de *P. fluorescens* sobre a comunidade microbiana e a supressividade do solo a doenças.

### Rizosfera

A rizosfera é a parte do solo imediata às raízes, com um a dois milímetros de espessura, a partir da superfície radicular. De forma mais ampla, devido à densidade de raízes que as plantas emitem, considera-se a rizosfera como a porção de solo que envolve essas raízes e onde ocorrem relações físicas e químicas que afetam a estrutura do solo e os microrganismos que ali vivem. A absorção de nutrientes pela planta, a decomposição da matéria orgânica e uma variedade de interações entre os microrganismos são algumas dessas importantes relações.

A maior concentração de microrganismos, no solo, é encontrada na rizosfera, devido aos exsudatos das raízes, como açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos, lipídios, vitaminas, proteínas, enzimas, entre outros (1). Estes compostos liberados pelas raízes podem atrair tanto fungos e bactérias decompositores como aqueles patogênicos e, dependendo da quantidade e natureza das substâncias, pode haver o favorecimento dos patógenos ou das relações de antagonismo, desfavoráveis aos mesmos. O estabelecimento de antagonistas, no mesmo campo de atuação do patógeno, é considerado um fator de fundamental importância para tornar um solo supressivo à doença. Denominar um solo como supressivo não significa a eliminação do patógeno, mas a ausência ou supressão da doença nos casos em que plantas suscetíveis são cultivadas nesse solo (2).

### *Pseudomonas fluorescens* e biocontrole na rizosfera

Durante a década de 60, solos com propriedades que supriam determinadas doenças de plantas começaram a ser melhor estudados. Foram identificados, assim, vários microrganismos com capacidade de interferir no desenvolvimento de patógenos, vislumbrando-se seu uso como agentes de controle biológico de doenças de plantas (3). Nos últimos vinte anos, são numerosos os trabalhos sobre os efeitos benéficos de *Pseudomonas fluorescens* sobre o crescimento das plantas, independentemente da presença de patógenos (4). Assim, muitas espécies de *Pseudomonas* são descritas como eficazes para controlar doenças radiculares causadas por fungos e por bactérias (5). Um dos mecanismos pelos quais as *Pseudomonas* fluorescentes promovem o crescimento vegetal, sendo chamadas de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas ou bactérias rizocompetentes, é a supressão de microrganismos patogênicos. Estas bactérias também podem manifestar seus efeitos indiretamente, estimulando a ação de organismos benéficos associados às raízes, como as micorrizas. Diferentes mecanismos estão associados à supressão de doenças por *Pseudomonas*, como a antibiose, a competição por nutrientes e pelos sítios de colonização, e a indução de mecanismos de defesa nas plantas (6). Os antibióticos produzidos por rizobactérias promotoras do crescimento de plantas, ou bactérias rizocompetentes, são o mecanismo chave da supressão de doenças, principalmente o 2,4-diacetilfloroglucinol e as fenazinas, produzidos por *Pseudomonas fluorescens* (7). A inibição dos patógenos pela produção de metabólitos antimicrobianos ou queladores de ferro são considerados os principais mecanismos de biocontrole dessas bactérias, as quais também são capazes de degradar fatores de virulência dos patógenos, como

toxinas, impedir a germinação de seus propágulos (8) e, ainda, produzir e liberar enzimas extracelulares, como quitinases, laminarases e glucanases, que podem degradar paredes fúngicas (9). Interessante é a constatação de que algumas *Pseudomonas*, quando intimamente associadas às raízes, podem induzir mecanismos de resistência sistêmica em plantas, contra patógenos fúngicos ou bacterianos (10).

A colonização das raízes é um pré-requisito para se viabilizar os mecanismos de biocontrole, pelas *Pseudomonas*. Uma colonização efetiva está ligada diretamente com a competição bem sucedida com outros microrganismos. Para exibir efeitos supressivos sobre uma doença, um agente de biocontrole necessita distribuir-se por toda a raiz, multiplicar-se e sobreviver por várias semanas na rizosfera, necessitando, para isso, não sofrer influência negativa de outros microrganismos naturalmente presentes, dos exsudatos radiculares da planta hospedeira, assim como de características do solo, como pH, temperatura, umidade e textura (6).

Recentemente, espécies de *Pseudomonas*, geneticamente transformadas para alta atividade antagonista a patógenos de plantas, vêm sendo testadas em adição a solos e compostos orgânicos. Alguns trabalhos, além de verificar o potencial de utilização dessas bactérias modificadas para a supressão de doenças, também analisam o efeito de sua presença sobre a comunidade microbiana da rizosfera e o desenvolvimento das plantas. O impacto de *P. chlororaphis* IDVI e *P. putida* RA2, marcadas cromossomicamente com *gfp*, antagonistas a *Ralstonia solanacearum*, foi observado sobre características de crescimento de plantas de milho e sobre os microrganismos da rizosfera. Houve um pequeno efeito de redução do crescimento das plantas de milho inoculadas, atribuído à competição por nutrientes e ação de metabólitos secundários das bactérias, uma vez que foram testadas altas concentrações de inóculo. Um balanço desfavorável à comunidade microbiana nativa da rizosfera também ocorreu, provavelmente pela competição e antibiose das *Pseudomonas* (11).

*P. fluorescens* 2-79, Q8r1-96, e um recombinante Z30-97 produzem os antibióticos fenazina-1-ácido carboxílico e 2,4-diacetilfloroglucinol. A colonização da rizosfera por estas estirpes e as alterações da estrutura da comunidade bacteriana foram avaliadas em vários ciclos de desenvolvimento de trigo. Quando adicionadas ao solo ao logaritmo de quatro células por grama, antes do plantio, as duas estirpes colonizaram as raízes do trigo germinado em níveis superiores ao logaritmo de 6,5 células por grama. A estrutura da comunidade bacteriana nativa sofreu grandes alterações, após o tratamento com as *Pseudomonas*, mas a maioria delas não foi consistentemente relacionada à abundância das estirpes inoculantes na rizosfera ou à sua transformação genética. No entanto, a inoculação com Z30-97 resultou sempre em aumento da comunidade bacteriana da rizosfera, previamente associada com o decréscimo de doença nas raízes (12).

Outra *P. fluorescens* SBW25, geneticamente modificada para a produção de fenazina-1-ácido carboxílico e com ação supressiva a *Pythium ultimum*, foi avaliada quanto ao efeito sobre a comunidade microbiana nativa do solo e seu potencial supressivo a doenças. Testada em solo infestado com *Pythium* spp., a bactéria modificada apresentou alta supressão ao patógeno, quando comparada à mesma estirpe não modificada geneticamente. Quando inoculada na rizosfera de ervilha, trigo e beterraba,

suprimiu a infecção por *Pythium* sp., *Fusarium* spp., *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Phytophthora cinnamomi* e *Rhizoctonia solani*, além de promover um aumento na biomassa total das plantas. A diversidade da comunidade microbiana da rizosfera em plantas inoculadas foi altamente similar àquela observada em sistemas não inoculados. Outro resultado interessante foi observar que as bactérias modificadas não exerceram influência negativa sobre a comunidade de fungos micorrízicos presente no solo (13).

#### Composto orgânico

Muitas são as formas de compostos de matéria orgânica utilizados na agricultura, como fertilizantes ou para melhorar a estrutura física dos solos, a partir de esterco animal, restos vegetais, cascas de árvores, tortas de dendê, mamona, soja e do excedente da matéria orgânica do lixo domiciliar e do esgoto. Um composto é um processo trifásico, dinâmico, onde a matéria orgânica fresca é transformada e mineralizada pela atividade de microrganismos aeróbicos. Além do efeito físico e nutricional, um composto incorporado ao solo estimula a atividade microbiana, o que aumenta a competição entre os microrganismos, limitando a atividade dos patógenos, e ativa os processos de antibiose e lise dos propágulos. Sabe-se, também, que a adição de microrganismos específicos ao composto aumenta sua supressividade a doenças (14).

*Verticillium biguttatum*, um micoparasita de *Rhizoctonia solani*, e um isolado não-patogênico de *Fusarium oxysporum*, antagonístico a *F. oxysporum* causador de murcha, foram inoculados em solo e três tipos de composto, de diferentes estágios de maturação. Os antagonistas sobreviveram por mais de três meses, em altas concentrações ( $10^3$  -  $10^5$  u.f.c/g), no solo e nos compostos. A supressividade aos patógenos ocorreu em todos os compostos e aumentou com a adição dos antagonistas, enquanto que o solo não foi supressivo, mesmo em presença dos microrganismos. Um composto passa por três estágios de maturação, da matéria orgânica fresca até o composto totalmente maturado e foi observado que a menor supressão às doenças ocorreu nos compostos já maturados, que apresentaram os menores índices de sobrevivência dos antagonistas (15).

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Linch, J.M. The rhizosphere. John Wiley & Sons Ltda. England, 1990. 458p.
2. Cook, R.J. Use of pathogen suppressive soils for disease control. In: Schneider, R.W. Suppressive soils and plant disease. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1984. p.51-65.
3. Hoitink, H.A.J.; Stone, A.G.; Han, D.Y. Suppression of plant diseases by composts. Hortscience, v.32, n.2, p.184-187, 1997.
4. Cook, R.J. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. Annual Review of Phytopathology, v.31, p.53-80, 1993.
5. Barea, J.M.; Pozo, M.J.; Azcon, R. Microbial co-operation in the rhizosphere. Journal of Experimental Botany, v.56, n.417, p.1761-1778, 2005.
6. Nelson, E.B. Microbial dynamics and interactions in the spermosphere. Annual Review of Phytopathology, v.42, p.271-309, 2004.
7. Timms-Wilson, T.M.; Ellis, R.J.; Renwick, A.; Rhodes, D.J.; Weller, D.M.; Mavrodi, D.V.; Thomashow, L.S.; Bailey, M.J. Chromosomal insertion of the phenazine biosynthetic pathway (phz ABCDEFG) enhances the efficacy of damping off disease control by *Pseudomonas fluorescens* 54/96. Molecular and Plant Microbial Interactions, v.13, p.1293-1300, 2000.
8. Toyoda, H.; Hashimoto, H.; Utsumi, R. Detoxification of fusaric acid by a fusaric acid resistant mutant of *Pseudomonas solanacearum* and its application to biological control of *Fusarium* wilt of tomato. Phytopathology, v.78, n.10, p.1307-1311, 1988.
9. Fridlender, M.; Inbar, J.; Chet, I. Biological control of soilborne plant-pathogens by a beta-1,3-glucanase producing *Pseudomonas cepacia*. Soil Biology & Biochemistry, v.25, n.9, p.1211-1221, 1993.
10. Maurhofer, M.; Hase, C.; Meuwly, P. Induction of systemic resistance of Tobacco to *Tobacco necrosis virus* by the root colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain Chao - influence of the *Gaca* gene and of pyoverdine production. Phytopathology, v.84, n.2, p.139-146, 1994.
11. Kosdrój, J.; Trevors, J.T.; van Elsas, J.D. Influence of introduced potential biocontrol agents on maize seedling growth and bacterial community structure in the rhizosphere. Soil Biology & Biochemistry, v.36, p.1775-1784, 2004.
12. Bankhead, S.B.; Landa, B.B.; Lutton, E.; Weller, D.M.; Gardener, B.B.M. Minimal changes in rhizobacterial population structure following root colonization by wild type and transgenic biocontrol strains. FEMS Microbiology Ecology, v.49, p.307-318, 2004.
13. Timms-Wilson, T.M.; Kilshaw, K.; Bailey, M.J. Risk assesment for engineered bacteria used in biocontrol of fungal disease in agricultural crops. Plant and Soil, v.266, p.57-67, 2004.
14. Postma, J.; Montanari, M.; van den Boogert, P.H.J.F. Microbial enrichment to enhance the disease suppressive activity of compost. European Journal of Soil Biology, v.39, p.157-163, 2003.
15. Tilston, E.L.; Pitt, D.; Groenhof, A.C. Composted recycled organic matter suppresses soil-borne diseases of field crops. New Phytologist, v.154, p.731-740, 2002.

## Investigações sobre o custo metabólico/energético da indução de resistência no controle de fitopatógenos

Sérgio F. Pascholati, Odair J. Kuhn

Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" / USP, Piracicaba - SP. e-mail: sfpascho@esalq.usp.br. Bolsistas - CNPq.

A indução de resistência envolve a ativação de mecanismos de defesa latentes existentes nas plantas em resposta ao tratamento com agentes bióticos ou abióticos (Bonaldo et al,

2005; Hammerschmidt & Dann, 1997). Do ponto de vista evolucionário as plantas desenvolveram um sistema de defesa latente, que pode ser ativado, com a finalidade de economizar