

DIALIL DISSULFETO INDUZ A GERMINAÇÃO DE *Sclerotium cepivorum*

Luisa Bastos Domingos

Engenheira Agrônoma, M.Sc. Produção Vegetal, Cooperativa de Agronegócios do Cerrado Brasileiro, São Gotardo, MG, Brasil

Everaldo Antônio Lopes

Engenheiro Agrônomo, D.Sc. Fitopatologia, Professor Adjunto, UFV, *Campus* Rio Paranaíba, Rio Paranaíba, MG, Brasil

*Extraído da dissertação de mestrado intitulada “INDUTORES DE GERMINAÇÃO DE ESCLERÓDIOS E USO DE FUNGICIDAS NO MANEJO DE *Sclerotium cepivorum*” apresentada à Universidade Federal de Viçosa/ *Campus* Rio Paranaíba.

INTRODUÇÃO

Sclerotium cepivorum é o agente causal da podridão-branca do alho, doença específica de plantas do gênero *Allium*. A doença limita a produção de alho e cebola em todo o mundo, causando perdas de até 100% da lavoura. Áreas infestadas podem se tornar inviáveis para a produção de alho após quatro anos de cultivos sucessivos (Brewster, 2008) e a erradicação do patógeno de áreas infestadas é difícil e cara. Várias medidas devem ser adotadas visando à redução da população do patógeno no solo. O controle químico da doença tem eficiência limitada, devido à incapacidade dos fungicidas em eliminar os escleródios, em proteger os locais de infecção nas raízes e pela rápida degradação de alguns princípios ativos no solo (Coley-Smith, 1990; Zewide et al., 2007). Embora o patógeno parasite apenas plantas do gênero *Allium*, a rotação de culturas não é um método recomendado para o manejo da doença, uma vez que os escleródios podem sobreviver no solo por 10 a 30 anos (Brewster, 2008). Assim, o manejo integrado da doença deve incluir diferentes estratégias de controle, dentre elas, a aplicação de indutores de germinação dos escleródios.

Plantas do gênero *Allium* liberam na rizosfera compostos não voláteis, como sulfóxidos alquilo e alilcisteína, principalmente durante o período de bulbificação. Esses compostos são metabolizados pela microbiota do solo, especialmente bactérias, e resultam na produção de compostos voláteis, a exemplo do di-n-propil dissulfureto (DPDS) e dissulfeto de dialila (DADS). Tais substâncias voláteis estimulam a germinação de escleródios de *S. cepivorum* (Coley-Smith & King, 1969; Coley-Smith, 1987), resultando na produção de hifas que infectarão o hospedeiro.

Considerando que a germinação dos escleródios depende da presença desses compostos, a densidade do patógeno no solo pode ser reduzida pela aplicação de substâncias que estimulam a germinação, contendo ou mimetizando as substâncias químicas voláteis dos exsudatos de raízes de *Allium*. Se a aplicação for feita em solo úmido, com temperatura de 13 a 18 °C, os escleródios podem germinar na ausência do hospedeiro. Micélios formados a partir de escleródios germinados podem persistir por diferentes períodos, variando de poucos dias a várias semanas, dependendo da

temperatura do solo. No entanto, morrem depois de esgotar as reservas de nutrientes do escleródio e pela ausência de tecido vegetal para infectar (Davis et al., 2007).

A substância mais comumente utilizada para indução da germinação de escleródios de *S. cepivorum* é o dialil dissulfeto (DADS) (Stewart & McLean, 2007), com produtos comerciais à base desse composto disponíveis na Oceania e América do Norte (Hovius & McDonald, 2002; Davis et al., 2007; Stewart & McLean, 2007; Villalta et al., 2012). A aplicação no campo contendo 70 – 150 escleródios por kilo de solo, com duas aplicações de DADS na dose de 10 L.ha⁻¹ em 500 L.ha⁻¹ de água, reduziu a incidência de podridão-branca em cebola, a menos de 1% (Hovius & McDonald, 2002). Há relatos de que extratos e óleos de plantas do gênero *Allium* também podem induzir a germinação do fungo (Merriman et al., 1980; Sommerville & Hall, 1987; Villalta et al., 2012). No entanto, ao contrário do DADS comercial que já foi mais estudado e possui concentração padronizada pelo fabricante, as concentrações, doses e formas de aplicação dos extratos devem ser avaliadas antes da recomendação para aplicação no campo.

Considerando a possibilidade de uso do DADS para o manejo da podridão-branca, avaliou-se neste trabalho a eficiência da indução da germinação de escleródios a partir da ação do DADS como estimulante de germinação do fungo ao longo do perfil de solo.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Bioquímica, Fitopatologia e Genética Molecular, localizados na Universidade Federal de Viçosa, *Campus* Rio Paranaíba.

Obtenção dos isolados de *Sclerotium cepivorum*

Os isolados de *S. cepivorum* utilizados neste estudo foram obtidos a partir de plantas de alho doentes cultivadas em São Gotardo – MG. No laboratório, os escleródios foram desinfestados em álcool 50 % e hipoclorito de sódio a 0,5 %, por 30 e 180 segundos, respectivamente. Em seguida, os escleródios foram enxaguados duas vezes em água destilada estéril e transferidos para placas de Petri contendo meio batata


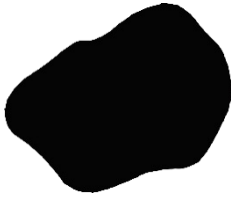
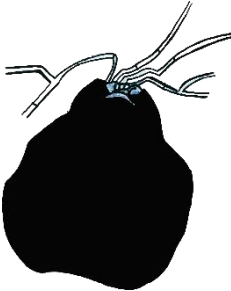

dextrose ágar (BDA), enriquecidos com extrato de alho aquoso a 20 % (m:m). As placas de Petri foram mantidas a 17 ± 2 °C, com fotoperíodo de 12 horas, por 15 dias.

Eficiência da percolação de Dialil Dissulfeto pelo perfil do solo

Tubos de PVC de 30 cm de altura e 10 cm de diâmetro foram usados para avaliar o efeito da percolação do DADS ao longo do perfil do solo. Os tubos foram preenchidos com solo de textura média, coletado em áreas não infestadas com o patógeno e previamente autoclavado a 121 °C por 120 minutos. Bolsas de poliéster de 75 cm², com fibras internas de 0,04 mm², foram preenchidas com 10 escleródios de *S. cepivorum* e dispostas no tubo com solo nas profundidades de 10, 20 e 30 cm. Todos os escleródios foram desinfestados (0,5 % NaOCl) superficialmente durante 1 minuto e lavados três vezes em água estéril, antes de serem transferidos para as bolsas de poliéster. Uma bolsa foi colocada em cada profundidade e o local em que se encontravam foi demarcado na face externa do tubo.

O efeito da percolação do produto no solo foi testado a partir da simulação de duas lâminas de irrigação, 3 e 5 mm, comumente usadas por produtores de alho do Cerrado mineiro. Para o volume de calda, foi realizada equivalência a partir da área da boca do tubo em relação a 10.000 m². Foram utilizados 10 L de DADS para 1.000 L de água, conforme recomendação de Villalta (2012). Água foi adicionada em substituição ao DADS nas testemunhas em ambas as lâminas de irrigação.

Os tubos foram mantidos em incubadora do tipo BOD por 40 dias, a 17 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas. As bolsas de poliéster foram então retiradas e a porcentagem de germinação de escleródios em cada profundidade foi quantificada com auxílio de microscópio trinocular com objetivas invertidas. Os escleródios foram classificados de acordo com a Figura 1. O escleródio que emitiu tubo germinativo ou se encontrava rompido (chocho) foi considerado germinado.

Chocho	Intacto	Germinando	Germinação Ativa
			

DESCRIÇÃO

Chocho: escleródio vazio, com casca rompida (sem micélio em seu interior).

Intactos: sem emissão de tubo germinativo e a casca não possui fissuras.

Germinando: plug de hifas saindo de um único ponto da casca.

Germinação ativa: tubo germinativo e micélio aparente em mais de um ponto da casca, já rompida.

Figura 1. Classificação dos escleródios após aplicação de dialil dissulfeto ou água e incubação em solo mantido em tubos de PVC por 40 dias a 17 ± 2 °C.

Os experimentos foram delineados em esquema fatorial 2x2x3, sendo os tratamentos com e sem DADS, duas lâminas de irrigação e três profundidades de avaliação, em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições, considerando-se cada tubo de PVC uma unidade experimental. O experimento foi conduzido duas vezes. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Lilliefors para testar a normalidade das variâncias. Realizou-se a análise de variância (ANOVA, Teste F a 5% de probabilidade) e os tratamentos comparados por meio do teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, com o uso do pacote estatístico ASSISTAT 7.7 Beta (Silva, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação de DADS estimulou a germinação dos escleródios de *S. cepivorum* localizados de 10 a 30 cm de profundidade (Tabela 1), quando comparados com tubos que receberam apenas água. No entanto, o estímulo da germinação com a aplicação do DADS foi maior a 10 cm de profundidade e menor a 30 cm. Sem estímulo do DADS, a germinação dos escleródios variou entre 24 e 28 %. Não houve efeito da lâmina de água

aplicada na indução da germinação dos escleródios em tubos contendo DADS. Possivelmente, isso ocorreu devido ao fato do solo contido nos tubos estar umedecido até a capacidade de campo no momento da aplicação do produto, dependendo menos da ação da lâmina de água como agente carreador ao longo do perfil. Assim, em condições de solo úmido e com textura média, os compostos voláteis estimulantes da germinação atingiram os escleródios mesmo a 30 cm de profundidade (Coley-Smith, 1969; Crowe & Hall, 1980; Coley-Smith & Esler, 1983; Crowe, 1995).

Tabela 1. Porcentagem de escleródios de *Sclerotium cepivorum* germinados em tubos de PVC em diferentes profundidades de avaliação com e sem aplicação de dialil dissulfeto após 40 dias de incubação.

Tipo de Aplicação	Profundidade Avaliada (cm)		
	10	20	30
Com DADS	90 aA ⁽¹⁾	69 aB	35 aC
Sem DADS	28 bA	28 bA	24 bA

⁽¹⁾Médias seguidas por letras maiúsculas na linha e letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A aplicação de DADS na dose de 10 L.ha⁻¹ induz a germinação de escleródios de *S. cepivorum* localizados até a 30 cm de profundidade, sendo mais eficiente nos propágulos localizados mais próximos da superfície do solo. Para evitar efeito da dormência constitutiva (Esler, 1983), escleródios já condicionados foram usados no experimento. Assim, todos os escleródios estavam aptos a germinar. Além disso, evitou perdas do produto por volatilização pela manutenção da umidade do solo e os tubos a 20 °C, logo após a aplicação do DADS, favorecendo a atividade do produto ao longo do período do experimento.

A eficiência do DADS na indução da germinação de escleródios de *S. cepivorum* depende da profundidade, como demonstrado neste trabalho e também da densidade de inóculo (Hovius & McDonald, 2002). Em condições de pressão de inóculo baixa ou moderada, o produto pode ser importante componente para o manejo da doença. É importante frisar que em solos altamente infestados, no entanto, outras estratégias devem ser adotadas ‘a priori’ antes da aplicação do DADS, visando à redução do inóculo, como, por exemplo, fumigação química, solarização, biofumigação ou inundação do solo.

Apesar dos resultados obtidos neste trabalho serem promissores quanto ao uso do DADS na indução da germinação de escleródios de *S. cepivorum*, outras

características do produto ainda precisam ser estudadas visando aumentar a eficiência do controle e evitar efeitos indesejados. O produto pode ser tóxico aos aplicadores e causar desequilíbrio à microbiota do solo (Coley-Smith, 1986). Devido à sua capacidade de volatilização, o tempo de permanência do produto no solo deve ser avaliado. Além disso, é importante entender se a aplicação do produto em campo estimula a germinação de escleródios localizados em diferentes profundidades, independentemente do efeito de dormência constitutiva.

CONCLUSÃO

Aplicação de DADS estimula a germinação de escleródios de *Sclerotium cepivorum* localizados 10 a 30 cm de profundidade.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa - *Campus* Rio Paranaíba, à ANAPA pelo apoio financeiro ao projeto, à Coopacer e Coopadap pela doação do produto testado.

REFERÊNCIAS

BREWSTER, J. L. Onions and Other Vegetable *Alliums*, 2nd Ed. **Crop Production Science in Horticulture Series**, Volume 15, 2008.

COLEY-SMITH, J. R. White rot disease of *Allium*: problems of soil-borne diseases in microcosm. **Plant Pathology**, v. 39, p. 214-222, 1990.

COLEY SMITH, J. R. Alternative methods of controlling white rot disease of *Allium*, in **Innovative Approaches to Plant Disease Control**, Edited by Chet, I., John Wiley and Sons, New York, p.161-177, 1987.

COLEY-SMITH, J. R.; PARFITT, D. Some effects of diallyl bisulphide on sclerotia of *Sclerotium cepivorum*: Possible novel control method for white rot disease of onions. **Pesticide Science**, v. 17, n. 5, p. 587-594, 1986.

COLEY-SMITH, J. R. and KING, J. E. The production by species of *Allium* of alkyl sulphides and their effects on the germination of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* Berk. **Annals of Applied Biology**, v. 64, p. 289-301, 1969.

CROWE, F. J. White rot. In: **Compendium of Onion and Garlic Diseases**, (eds.). Schwartz, H. F. and Mohan, S. K., APS Press, USA, pp. 14-16, 1995.

CROWE, F.J.; HALL, D.H. Soil temperature and moisture effects on sclerotium germination and infection of onion seedlings by *Sclerotium cepivorum*. **Phytopathology**, v. 70, p. 74-80, 1980.

CROWE, F.J.; HALL, D.H.; GREATHEAD, A.S.; BAGHOTT, K.G. Inoculum density of *Sclerotium cepivorum* and the incidence of white rot of onion and garlic. **Phytopathology**, v. 70, p. 64-9, 1980.

DAVIS, R. M.; HAO, J. J.; ROMBERG, M. K.; NUNEZ, J. J. and SMITH, R. F. Efficacy of germination stimulants of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* for management of white rot of garlic. **Plant Disease**, v. 91, n. 2, p. 204-208, 2007.

ESLER G.; COLEY-SMITH J. R. Flavour and odour characteristics of species of *Allium* in relation to their capacity to stimulate germination of sclerotia of *Sclerotium cepivorum*. **Plant Pathology**, v. 33, p. 13-22, 1983.

HOVIUS, M. H. Y. and McDONALD M. R. Management of *Allium* white rot (*Sclerotium cepivorum*) in onions on organic soil with soil-applied diallyl disulphide and di-N-propyl disulphide. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 24, p. 281-286, 2002.

MERRIMAN, P. R.; ISAACS, S.; MACGREGOR R. B. and TOWERS, G. B. The evaluation of onion oils as a treatment for the control of *Sclerotium cepivorum* in onions. **Annals of Applied Biology**, v. 96, p. 163-168, 1980.

SILVA, F. de. S.; AZEVEDO, C. A. V. de. Versão do programa computacional ASSISTAT para o sistema operacional Windows. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v. 4, n.1, p. 71-78, 2002.

SOMERVILLE, P. A. and HALL, D. H. Factors affecting sclerotial germination of *Sclerotium cepivorum*, secondary sclerotia formation, and germination stimulants to reduce inoculum density. **Plant Disease**, v. 71, n. 3, p. 229-233, 1987.

STEWART, A.; MCLEAN, K.L. Biological control of onion white rot. In: CHINCHOLKAR, S.B.; MUKERJI, K.G. (Ed.). **Biological Control of Plant Diseases**. New York: The Haworth Press, p. 123-148, 2007.

VILLALTA, O. Manejo integrado de la podredumbre blanca (*S. cepivorum*) de especies *Allium* en Australia. Brasil, 2012.

VILLALTA, O.; WITE, D.; PORTER, I. J.; McLEAN, K. L.; STEWART, A.; HUNT, J. Integrated control of onion white rot on spring onions using diallyl disulphide, fungicides and biocontrols. **Acta Horticulturae**, v. 944, p. 63-71, 2012.

ZEWIDE, T.; FININSA, C. and SAKHUJA, P. K. Management of white rot (*Sclerotium cepivorum*) of garlic using fungicides in Ethiopia. **Crop Protection**, v. 26, n. 6, p. 856-866, 2007.