

## INFLUÊNCIA DA DENSIDADE DE INÓCULO DE *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* NA SEVERIDADE DA PODRIDÃO RADICULAR SECA DO FEIJOEIRO<sup>1</sup>

Gesimária Ribeiro Costa<sup>2</sup> e Jefferson Luis da Silva Costa<sup>3</sup>

### ABSTRACT

EFFECT OF *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* INOCULUM DENSITY ON DRY ROOT ROT SEVERITY IN THE COMMON BEAN

Four densities of *Fusarium solani* inoculum (1, 2, 4 and 8 g/L of soil) were tested for determining the minimum inoculum density for the occurrence of bean dry root rot, in two soil types. The response variables evaluated were the total number of microorganisms in the soil, the number of *F. solani* f. sp. *phaseoli* propagules, total soil microbial activity and seedling disease severity. The results indicated that the minimum inoculum density for disease occurrence varied with the soil type. For a non-cultivated soil, the minimum inoculum density was greater than 5,127 propagules per gram of soil, while for cultivated soil, the minimum inoculum density was 3,701 propagules per gram of soil. Disease severity in seedlings grown in cultivated soil was twice as great as for those grown in non-cultivated soil. Total soil microbial activity, as determined by dehydrogenase of fluorescein diacetate, did not correlate with the population of the pathogen, indicating that the mere presence of these organisms in the same soils does not imply that they are active.

KEY WORDS: suppressive soil, conducive soil, *Phaseolus vulgaris*.

### INTRODUÇÃO

A murcha seca do feijoeiro, doença fúngica causada por *Fusarium solani* (Mart.) Appel & Wr. f.sp. *phaseoli* (Burk.) Synd. & Hans, ocorre em todas as regiões produtoras do Brasil e é responsável pelas maiores perdas de produtividade nas áreas irrigadas do Sudeste e Centro-Oeste do Brasil (Cardoso 1991).

No feijoeiro comum, as doenças causadas por fungos de solo constituem um complexo etiológico responsável por perdas de estande e vigor das plântulas (Cardoso 1991). Esses fitopatógenos ocorrem tanto

### RESUMO

Foram testadas quatro densidades de inóculo de *Fusarium solani*, em gramas por litro de solo (1,0; 2,0; 4,0 e 8,0) e um tratamento testemunha, em solo tipo Latossolo Vermelho-Escuro, cultivado e não cultivado, com o objetivo de determinar a densidade mínima de inóculo no solo necessária para a ocorrência de podridão radicular seca do feijoeiro. Como variáveis respostas foram avaliadas: número de microorganismos totais do solo, número de propágulos de *F. solani*, atividade microbiológica total do solo e severidade da doença em plântulas. Os resultados indicaram que a densidade de inóculo do fungo variou com o tipo de solo. Para um solo não cultivado a densidade necessária para causar a doença esteve acima de 5.127 propágulos por grama de solo, enquanto para o solo cultivado a densidade de inóculo para causar doença foi de 3.701 propágulos por grama de solo. Os índices de doença em plântulas cultivadas sob o solo cultivado foram duas vezes superiores ao índice de doença de plântulas sob o solo não cultivado. A atividade microbiológica total nos solos, determinada pela desidrogenase de fluoresceína diacetato, não se correlacionou com a população dos microorganismos, indicando que a simples presença desses não implica em que estejam ativos.

PALAVRAS-CHAVE: solo supressivo, solo condutivo, *Phaseolus vulgaris*.

isoladamente como em associação sinérgica (Piecarka & Abawi 1978, Cardoso & Costa 1988).

Valarini (1994) estudou o efeito de sistemas de cultivo na microbiota do solo e na incidência de patógenos de solo na cultura do feijoeiro irrigado. Constatou que dentre os patógenos de solo detectados, *F. solani* f.sp. *phaseoli* foi predominante em todos os tipos de solo, apresentando maior quantidade de inóculo ( $7,10 \times 10^4$  propágulos/g de solo) no sistema de plantio direto em sequeiro, seguido por *Sclerotium rolfsii*, em plantios convencionais (sequeiro, irrigado),

1. Trabalho recebido em set./2002 e aceito para publicação em jun./2004 (registro nº 520).

2. Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília. Campus Universitário Darcy Ribeiro. Caixa Postal 4457. CEP. 70910-970, Brasília, DF. E-mail: gcosta@unb.br

3. Embrapa Tabuleiros Costeiros. Av. Beira Mar, 3250. CEP. 49025-040. Aracaju, SE. E-mail: jcosta@cpac.embrapa.br

principalmente em solos com culturas. Nash & Snyder (1962) constataram quantidades próximas a 1.000 propágulos do fungo por grama de solo seco.

A variação na incidência de doenças em solos específicos tem sido reconhecida há muitos anos, embora só recentemente o potencial de solos supressivos passou a ser considerado como uma das maneiras de controlar doenças de fungo de solo (Schneider 1982). Nesses solos, a supressividade é geralmente detectada através da ocorrência nula ou reduzida da doença (Hornby 1983).

O objetivo deste trabalho foi determinar a densidade mínima de inóculo de *F. solani* f.sp. *phaseoli*, necessária para ocorrência da podridão radicular seca do feijoeiro, em solo tipo Latossolo Vermelho-Escuro, cultivado e não cultivado.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos, em casa de vegetação na sede da Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás. Foram utilizadas plantas de feijoeiro, cultivar Rosinha, cultivadas em vasos. O solo foi do tipo Latossolo Vermelho-Escuro: uma amostra de solo não cultivado, coletada em mata, e outra de solo cultivado sob condições de pivô central. Para a infestação foi utilizado um isolado do fungo originário do município de Silvânia-GO. Diferentes densidades de inóculo foram comparadas: 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 gramas por litro de solo, e um tratamento testemunha. Empregou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições. O ensaio foi repetido duas vezes e os dados submetidos à análise de regressão.

O isolado do fungo encontrava-se preservado em tubo de ensaio, com solo estéril, incubado a 5°C no laboratório de Fitopatologia da Embrapa Arroz e Feijão. Pequenas porções desse solo foram transferidas para placas de Petri contendo meio de cultura ágar-água, e incubadas à temperatura de aproximadamente 25°C, por 48 horas. Decorrido esse período, o isolado foi repicado para placas de Petri contendo meio de cultura BDA e incubadas à temperatura de aproximadamente 25°C, até a sua cobertura total com micélio do fungo. Em erlenmeyers de 250 mL, foram acondicionados 100 g de sorgo e 60 mL de água destilada, sendo a seguir autoclavados por 20 minutos a 120°C, cultivado com discos de micélio do fungo e incubados em condições de laboratório (aproximadamente 25°C) durante sete dias, a fim de obter a completa colonização do substrato. Após este período, a massa de grãos de sorgo colonizada foi desagregada

manualmente e os grãos distribuídos em bandejas. Estes foram secos ao ar, triturados em liquidificador e passados através de uma peneira de 10 malhas por polegada quadrada, com o objetivo de uniformizar o tamanho das partículas de inóculo.

Vinte e um dias após a infestação dos solos com o fungo veiculado em grãos de sorgo, e a instalação do experimento, determinou-se o número de propágulos de microorganismos presentes no solo pelo método de diluição em série. Do fator de diluição 1:1000 retiraram-se alíquotas de 1,0 mL, que foram colocadas em placas de Petri, nas quais verteu-se o meio de rosa de bengala para determinar a população fúngica total; o meio AN (ágar-nutriente), para determinar a população bacteriana; e o meio de cultura seletivo Nash & Snyder, para a identificar as espécies do gênero *Fusarium*. Durante a condução do experimento várias colônias de placas representativas foram transferidas para o meio BDA contendo estreptomicina, para confirmar a identificação das espécies de *Fusarium* isoladas do meio seletivo. Logo após essas placas foram incubadas no escuro, em temperatura ambiente de laboratório (22 ± 2°C).

Após 72 horas, quantificou-se o número de colônias visíveis com auxílio de um contador de colônias (marca Darkfield Quebec, Mod. 3326, Scientific Instrument Division, Buffalo NY 14215, USA), determinado-se o número de propágulos/grama de solo. Para determinar a atividade microbiológica do solo utilizou-se o método descrito por Costa *et al.* (1996). As plantas foram coletadas 21 dias após a semeadura, sendo atribuídas notas de 1 a 9, de acordo com a escala de avaliação do Centro Internacional de Agricultura Tropical (Abawi & Pastor Corroles 1990).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de caracterização biológica dos dois solos utilizados (Tabela 1) indicaram que, apesar de não terem se diferenciado estatisticamente, o número de propágulos fúngicos por grama de solo foi numericamente maior no solo cultivado que no solo não cultivado. O número de bactérias por grama de solo foi 32,5% superior no solo cultivado, quando comparado com o do solo não cultivado, apresentando diferença estatística.

A atividade microbiológica total do solo não cultivado foi 3,5 vezes superior à atividade microbiológica total do solo cultivado. Estes resultados indicam que a simples presença de organismos no solo não implica em que estes estejam ativos ou

Tabela 1. Caracterização dos solos cultivado e não cultivado, em termos do número de propágulos fúngicos, do número de bactérias por grama de solo e de suas atividades microbiológicas (em µg de FDA/g de solo/minuto)

Classificação do solo	Nº. de propágulos fúngicos em 1,0 g de solo	Nº de bactérias em 1,0 g de solo	Atividade microbiológica
Solo não cultivado	3.565,1 a <sup>1</sup>	4.737,3 a	0,65 a
Solo cultivado	3.799,5 a	3.195,2 b	0,18 b

<sup>1</sup>- Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

atuantes. A população de fungos nos dois solos, apesar de similares, apresentou atividade microbiológica bem superior no solo não cultivado (Tabela 1). Essa atividade microbiológica mais elevada pode ser responsável pela supressividade do patógeno neste solo, ou seja, pela diminuição da capacidade do fungo de causar doença. É possível que antagonistas naturais habitantes do solo não cultivado, estando em atividade, tenham capacidade de competir e impedir o estabelecimento de outros fungos oportunistas capazes de causar doenças em plantas cultivadas.

Os resultados mostram uma flutuação da população microbiana antagonista, no solo, e uma crescente fonte de inóculo de *F. solani* f. sp. *phaseoli* em função das diferentes densidades de inóculo artificial e dos tipos de solos utilizados (Figura 1). Isto indica que para iniciar o processo de doença a quantidade de inóculo do patógeno varia de um solo para outro. Este estudo inicial demonstra que a simples determinação da população do microorganismos no solo, através do método de diluição em série, não é suficiente para monitorar estudos dessa natureza.

O solo não cultivado foi relativamente menos influenciado pelas densidades de inóculo utilizadas,

enquanto no solo cultivado foi possível obter considerável severidade de doença mesmo sob baixa densidade de inóculo (1,0 grama de inóculo por litro de solo) (Figuras 1 e 2). Portanto, para ambos os tipos de solo, a elevação na densidade de inóculo ocasionou aumento na severidade da doença; porém, para o solo não cultivado verificou-se uma menor proporção de severidade de doença.

Considerando-se a diversificação patogênica de fungos no solo, a simples detecção de elevadas densidades de inóculo não deve conduzir necessariamente ao prognóstico de elevadas perdas por podridões radiculares. Informações adicionais, como o histórico da doença na área, ou patogenicidade dos fungos isolados, são necessárias para se fazer um prognósticos com maior segurança. Enfim, a atividade microbiológica parece ser o principal fator determinante do mecanismo de supressividade (Figura 3).

Quando altas densidades de inóculo são utilizadas, entre outros fatores, a taxa de crescimento da doença pode ser aumentada a tal ponto que um cultivar resistente poderá comportar-se como suscetível (Kidney 1980). Isso poderá dificultar a

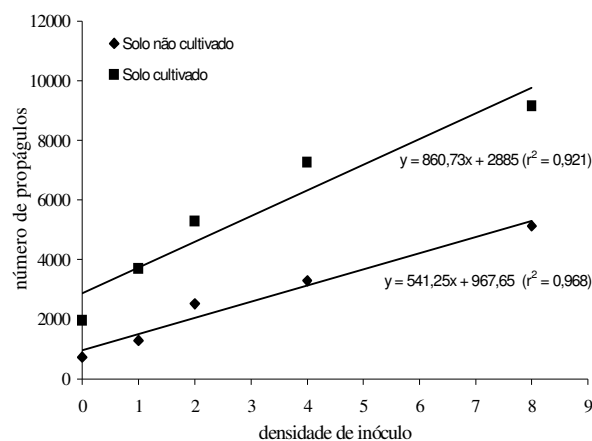


Figura 1. Número de propágulos de *F. solani* f.sp. *phaseoli* por grama de solo, sob diferentes densidades de inóculo inicial (g.L<sup>-1</sup> de solo), em solos infestados artificialmente

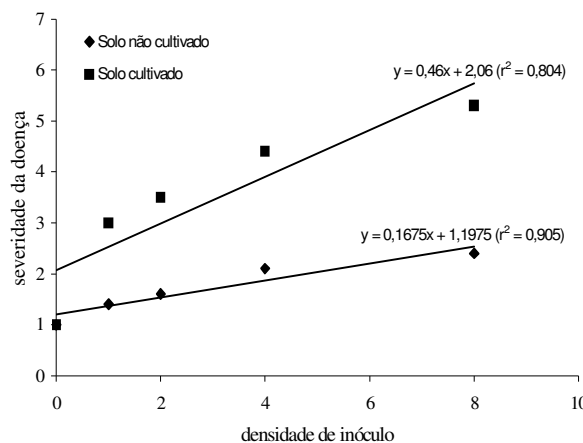


Figura 2. Severidade da podridão radicular de *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* (escala de nota de 1 a 9), em dois solos, em condições de infestação artificial

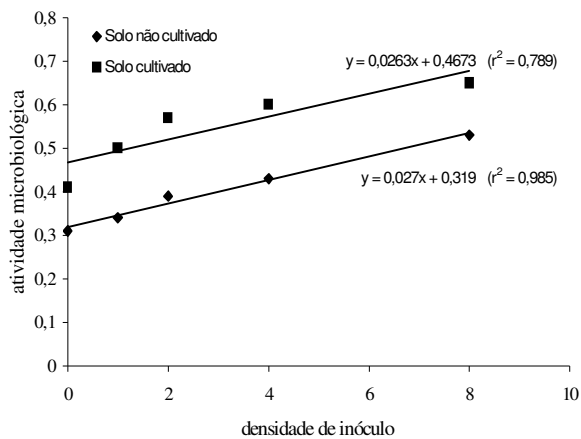


Figura 3. Atividade microbiológica total (µg de FDA/g de solo/ minuto) em dois tipos de solo inoculados com *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli*, sob condições artificiais

distinção de um cultivar resistente de outro com pouca resistência. Assim, muitas vezes, baixo nível de inóculo pode ser mais adequado para quantificar a resistência das plantas, desde que esse nível seja capaz de causar doença (Van der Plank 1963).

Nesse contexto, os resultados indicam que as inoculações artificiais com 1,0 grama de inóculo/grama de solo cultivado podem ser recomendadas para trabalhos sobre resistência de feijoeiro a *F. solani* f. sp. *phaseoli*, já que com essa densidade obtém-se severidade da doença. Entretanto, para o solo não cultivado a densidade de inóculo mínima para ocorrer doença deve ser ainda melhor investigada.

### CONCLUSÕES

1. Os resultados indicam que a densidade de inóculo de *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* varia com o tipo de solo.
2. Para um solo não cultivado, a densidade necessária para causar a podridão radicular seca do feijoeiro esteve acima de 5.127 propágulos por grama de solo, enquanto para o solo cultivado, essa densidade foi de 3.701 propágulos por grama de solo.
3. O índice de doença em plântulas sob o solo cultivado foi, em média, duas vezes superior ao índice de doença sob solo não cultivado.
4. A atividade microbiológica total nos solos, determinada pela dehidrogenase de fluorescina diacetato, não se correlacionou com a população dos microorganismos, mostrando que a simples presença desses microorganismos no solo não é indicativo de que estes estejam em atividade.

### REFERÊNCIAS

- Abawi, G.S & M.A. Pastor Corroles. 1990. Root rots of beans in latin American and Africa: Diagnosis, research methodologies, and management strategies. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. 114 p.
- Cardoso, J. E. & J. L. da S. Costa. 1988. Interações entre fungos de solo patógenos do caupi. Fitopatologia Brasileira, 13 (2): p.143.
- Cardoso, J. E. 1991. Controle de patógenos de solo na cultura do feijão, p.45-50. In Seminário sobre pragas e doenças do feijoeiro, 2. Vol. 4. Campinas, SP. Anais.
- Costa, J. L. da S., S. A. Menge & W. L. Casale. 1996. Investigations on some of the mechanisms by wich bioenhanced mulches can supress. Phytophthora root rot of avocado. Microbiological Research, 151(2):185-192.
- Hornby, D. 1983. Suppressive soils. Annual Review Phytopathology. 21: 65-85.
- Kidney, B. 1980. Quantifying expression of resistance to Uromyces in Phaseolus. Tese de Mestrado. University of Flórida. Local. 92 p.
- Nash, S. M. & W.C. Snyder. 1962. Quantitative estimations by plate counts of propagules of the bean root rot *Fusarium* in field soils. Phytopathology, 52(6): 567-572.
- Pieczarka, D. J. & G. S. Abawi. 1978. Effect of interaction *Fusarium*, *Pythium*, and *Rhizoctonia* on severity of bean root rot. Phytopathology, 68(3): 403-408.
- Schneider, R. W. 1982. Suppressive soils and plant disease. St. Paul American Phytopathological Society. 88 p.
- Valarini, P. J. 1994. Efeito de sistemas de cultivo na microbiota do solo e na incidência de patógenos de solo na cultura do feijoeiro irrigado. p. in-fim. In Seminário sobre pragas, doenças e plantas daninhas do feijoeiro, 5. Piracicaba, São Paulo. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Anais.
- Van Der Plank, J. C. 1963. Plant disease: Epidemics and control. New York, Academic press. 349 p.