

ARLINDA PEREIRA ELOY

**SUPRESSIVIDADE DE UM SOLO A MURCHA-DE-
FUSÁRIO DO CAUPI E INFLUÊNCIA DA DOENÇA NO
RENDIMENTO DA CULTURA**

**RECIFE -PE
MARÇO – 2003**

ARLINDA PEREIRA ELOY

**SUPRESSIVIDADE DE UM SOLO A MURCHA-DE-
FUSÁRIO DO CAUPI E INFLUÊNCIA DA DOENÇA NO
RENDIMENTO DA CULTURA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Fitopatologia.

RECIFE - PE

MARÇO - 2003

**SUPRESSIVIDADE DE UM SOLO A MURCHA-DE-
FUSÁRIO DO CAUPI E INFLUÊNCIA DA DOENÇA NO
RENDIMENTO DA CULTURA**

ARLINDA PEREIRA ELOY

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Dr. Sami Jorge Michereff (Orientador)

Dr. Delson Laranjeira (Co-orientador)

Dr. Clístenes Williams Araújo do Nascimento (Co-orientador)

**RECIFE - PE
MARÇO - 2003**

**SUPRESSIVIDADE DE UM SOLO A MURCHA-DE-FUSÁRIO DO
CAUPI E INFLUÊNCIA DA DOENÇA NO RENDIMENTO DA
CULTURA**

ARLINDA PEREIRA ELOY

Tese defendida e aprovada pela Banca Examinadora em:

ORIENTADOR:

Dr. Sami Jorge Michereff (UFRPE)

EXAMINADORES:

Dr. Ailton Reis (Embrapa Hortaliças)

Dr. Gustavo Pereira Duda (ESAM)

Dr.^a Leonor Costa Maia (UFPE)

Dr.^a Rosa de Lima Ramos Mariano (UFRPE)

Dr.^a Elineide Barbosa da Silveira (UFRPE)

RECIFE - PE

MARÇO - 2003

*À minha mãe Maria de Lourdes,
que me fez existir.*

*À Deus,
sem o qual nada seria feito.*

OFEREÇO

*Aos meus irmãos Luís Antônio, Maridalva e
Maridásio e aos sobrinhos
Adriano e M^ª. Clara,*

DEDICO

*À memória do meu pai Gildásio,
e da minha irmã M^ª das Graças,
“Sempre presentes na minha vida”*

MINHA ETERNA GRATIDÃO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pelo apoio institucional e à Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos;

Ao professor Sami Jorge Michereff pelo empenho como orientador, contribuição na redação final deste trabalho e amizade;

Aos professor Clístenes Williams e Delson Laranjeira pela atenção e disponibilidade;

Aos membros da Banca examinadora, pelas sugestões e contribuições para a melhoria deste trabalho;

Às professoras Maria Menezes e Rosa Mariano, pelos ensinamentos, carinho e compreensão em muitos momentos, e pela saudável convivência;

À Coordenação do curso de Pós-Graduação em Fitossanidade, pelo apoio dispensado; aos demais funcionários e professores do curso, pelos ensinamentos ministrados;

A Aristóteles Pires de Matos pela amizade, apoio e incentivo que me foi dispensado, no início da minha carreira profissional;

Ao amigo “irmão” Josué Francisco pelo carinho, amizade e por ter me acolhido tantas vezes em sua casa quando foi preciso;

Aos amigos Adriana, André Menezes, Angélica, Alice, Daniel Junior, Dayse, Domingos, Luciana Cordeiro, Flávia, Genira, Iraíldes, Ivanise, Josinéia, Marcelo, Neilza, Renata, Suerda, e Valéria, pela agradável convivência;

A todos os colegas da turma do Doutorado em Fitopatologia pela amizade;

À Paulo Vícinus pela contribuição nas análises no Laboratório de Fertilidade de Solo.

À turma do Laboratório de Epidemiologia Otacílio, Michelle, Isaac, Pollyanna, Jearbes, Henrique, Gustavo, Cris, Peruch, pela boa convivência durante este período.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS.....	vii
SUMÁRIO.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	xi
CAPÍTULO 1 – Introdução Geral	13
Referências Bibliográficas	21
CAPÍTULO II – Natureza da supressividade de um solo à murcha-de-fusário do caupi e dinâmica populacional de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>tracheiphilum</i> .	27
Resumo	28
Abstract	29
Material e Métodos	32
Resultados e Discussão	37
Referências Bibliográficas	43
CAPÍTULO III – Influência da murcha-de-fusário no rendimento do caupi em duas épocas de plantio	55
Resumo	56
Abstract	57
Material e Métodos	59
Resultados e Discussão	62
Referências Bibliográficas	65
CONCLUSÕES GERAIS	71

RESUMO

A murcha-de-fusário, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, é responsável por grandes reduções de rendimento na cultura do caupi no Nordeste brasileiro. O trabalho teve como objetivos caracterizar a natureza e a capacidade de transferência de supressividade de um solo à murcha-de-fusário do caupi, analisar a dinâmica populacional de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* e outros microrganismos em dois solos com diferentes níveis de supressividade, bem como determinar a relação entre a severidade da doença e as reduções no rendimento de sementes de caupi em duas épocas de cultivo. Na análise da natureza e transferência da supressividade foram utilizadas amostras de dois solos, classificados previamente como supressivo (CAC) e condutivo (GOI) à murcha-de-fusário do caupi, nos quais não foram detectadas populações autóctones de *F. oxysporum*. Quando os solos foram infestados com o patógeno e semeados com as cultivares de caupi BR 17 Gurguéia (altamente suscetível) e IPA 206 (moderadamente suscetível), as populações de fungos totais, bactérias totais e *Bacillus* spp. foram maiores na rizosfera no solo supressivo que no condutivo. A supressividade à doença não foi relacionada com um efeito supressivo sobre a população do patógeno. A esterilização não alterou a capacidade supressiva do solo, indicando sua natureza abiótica, bem como foi comprovada a capacidade de transferência da supressividade para o solo condutivo. Somente no solo supressivo foi constatada influência significativa dos níveis de pH na severidade da murcha-de-fusário, que decresceu proporcionalmente à elevação do pH. A eficiência do inóculo do patógeno foi significativamente inferior no solo supressivo. A análise da relação entre a severidade da doença e as reduções no rendimento de sementes de caupi cultivado em duas épocas, foi

conduzida em parcelas artificialmente infestadas com o patógeno, em dois períodos de cultivo, sendo o primeiro plantio realizado em abril de 2002 e o segundo em outubro do mesmo ano. Na fase de colheita de cada época de plantio, foi determinado o rendimento por parcela, representado pelo peso total de sementes por planta. Após a colheita, a severidade da murcha-de-fusário foi avaliada em todas as plantas. Não foram constatadas correlações significativas entre as densidades de inóculo do patógeno detectadas nas parcelas antes do plantio e os níveis de severidade da doença. Nas parcelas não infestadas pelo patógeno, o rendimento no primeiro plantio foi superior ao do segundo plantio, o que pode ter sido consequência do estresse hídrico a que as plantas foram submetidas na fase de pré-floração. As reduções no rendimento de sementes foram influenciadas significativamente pelos níveis de severidade da doença. Não foram constatadas diferenças entre os níveis médios de severidade da doença e de perdas de rendimento nos dois períodos de cultivo. A severidade da murcha-de-fusário variou entre 3,2 e 93,3%, enquanto as perdas de rendimento entre 2,2 e 98,1%.

ABSTRACT

The Fusarium wilt, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, reduces cowpea yield in Northeastern Brazil. This work aimed to characterize the nature and ability to transfer cowpea Fusarium wilt suppressiveness of a soil; to analyze populational dynamic of *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* and others soilborne microorganisms in two soils with different levels of suppressiveness, as well as to determine the relation of disease severity and the reductions of yield in cowpea seeds, in two plant seasons. In the nature and transfer of suppressiveness analyses the two soils samples used were previously classified as suppressive (CAC) and conducive (GOI) to cowpea Fusarium wilt, and did not slow indigenous populations of *Fusarium oxysporum*. When the samples were infested with the pathogen and sown with BR 17 Gurguéia (highly susceptible) and IPA 206 (moderately susceptible) cowpea cultivars, total populations of both fungi and bacteria, and *Bacillus* spp. were higher in rhizosphere of the suppressive soil samples than in the conducive ones. The suppressiveness was not related to a suppressive effect on the pathogen population. Soil sterilization did not change the suppressive capability, pointing out its abiotic origin. The ability suppressiveness transfer to a conducive soil was demonstrated only. In the suppressive soil, a significant influence of pH levels on Fusarium wilt severity was verified, which decreased in increasing pH. The inoculum density alone did not determine the severity of Fusarium wilt on plants cultivated in both soils, due to the influence of the efficiency of the inoculum, which was significantly lower in the suppressive soil. Aiming to determine the linkage of disease severity to the reduction of cowpea seed yield, cultivated during two different period of time, an essay was carried out using plots artificially infested with the pathogen. The first planting was made in April 2002, while the second one in October, in the

same year. At the harvest, yield for each plot was determined through the total weight of seed per plant. After harvesting the severity of Fusarium wilt was evaluated in all plants. There was no significant correlation between inoculum densities of the pathogen that was present in the soil before planting and the disease severity. The yield in the first planting period was higher than in the second one, in non-infested plots, what may have been due to the water stress to which the plants were submitted right before the blossom. Differences between the severity average levels and yield losses were not verified for both essays. Fusarium wilt severity ranged between 3.2 and 93.3%, while the yield losses ranged between 2.2 and 98.1%.

Capítulo I

Introdução Geral

Introdução Geral

O caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] é cultivado nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, especificamente nas zonas semi-áridas dos continentes africano, asiático e americano. No Brasil, também é conhecido como feijão-de-corda ou feijão macássar e desempenha importante papel socioeconômico na agricultura das regiões Norte e Nordeste (Benevenuti, 1996). É uma atividade que gera 2,4 milhões de empregos diretos e abastece a mesa de 27,5 milhões de nordestinos, contribuindo com cerca de 18,5% do consumo de proteínas da população mais carente (Tuan *et al.*, 1999). O consumo de caupi é considerado pela Organização Mundial para Agricultura e Alimentação (FAO) como uma das melhores opções para o aumento de oferta de proteínas, em razão do baixo custo de produção (Roberts *et al.*, 1996). No Nordeste, maior produtor brasileiro, o caupi é preferido pela população em detrimento do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), respondendo por um consumo de 73% dos feijões comercializados na região (Teixeira *et al.*, 1988).

Esta é a principal cultura de subsistência na região semi-árida do Nordeste brasileiro, que se caracteriza por baixa disponibilidade hídrica. Nessas condições, ela é cultivada praticamente durante todo o ano, seja em monocultivo ou em consórcio com outras culturas, em sequeiro ou em cultivos comerciais irrigados (Cardoso *et al.*, 2000; Andrade Júnior *et al.*, 2000). Além do alto teor protéico, o caupi apresenta ótima fixação de nitrogênio através da simbiose com bactérias do gênero rizóbio, capacidade de adaptação a diferentes condições de clima e solo, e a baixos níveis de fertilidade do solo, apresentando ainda certa tolerância a salinidade (Melo e Cardoso, 2000; Dantas *et al.*, 2001; Pereira *et al.*, 2001).

O Estado de Pernambuco é um dos principais produtores nacionais desta leguminosa e grande parte da produção se concentra nas regiões do Agreste e Sertão (IBGE, 2003). Trata-se de uma das culturas mais plantadas no Estado, nivelando-se ao milho e à mandioca, sendo

superada apenas pela cana-de-açúcar, ocupando 59,85% da área cultivada com feijão (Benevenuti, 1996).

A produtividade média do caupi no Nordeste tem sido reduzida, atingindo cerca de 350 kg/ha, e reflete fatores adversos como instabilidade pluviométrica, plantio em áreas que proporcionam mesoclimas menos propícios para a cultura, utilização de cultivares com potencial genético reduzido e ocorrência de doenças e pragas (Castro, 2000; Pereira *et al.*, 2001).

As doenças constituem importantes fatores de redução da produtividade do caupi, causando perdas na quantidade e qualidade dos grãos. No entanto, a murcha-de-fusário, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* (E.F. Smith) Snyder & Hansen, é uma das mais frequentes e de maior intensidade (Coelho, 2001; Rios, 1988), podendo causar perdas significativas em áreas de produção. Na Índia, foram registradas reduções no rendimento do caupi de até 75% devido à doença (Allen, 1983), enquanto na Nigéria há relato de epidemia causando a morte de até 50% das plantas em um campo naturalmente infestado (Oyekan, 1977). Em Pernambuco, foram registradas reduções de até 86,5% no rendimento de sementes de caupi devido à murcha-de-fusário em parcelas experimentais no campo, com solo infestado artificialmente pelo patógeno (Assunção *et al.*, 2003b).

A murcha-de-fusário do caupi foi relatada pela primeira vez nos Estados Unidos da América (Kendrik, 1931), sendo constatada posteriormente no Canadá, Colômbia, Índia, Austrália, África Central (Holliday, 1970), Nigéria (Oyekan, 1977) e Brasil (Rios, 1988). A ocorrência da doença é mais frequente em regiões secas com altas temperaturas, onde provoca perdas localizadas e sazonais (Allen, 1983). Os sintomas se caracterizam pela redução do crescimento das plantas, clorose, murcha e queda prematura de folhas, resultando na morte das plantas infectadas. Os tecidos vasculares adquirem coloração castanho-escura e pode haver formação de intumescências no colo da planta (Athayde Sobrinho *et al.*, 2000; Holliday, 1970; Poltronieri *et al.*, 1994).

O fungo *F. oxysporum* é um habitante do solo e pertence à classe Deuteromycetes, ordem Moniliales, família Tuberculariaceae (Alexopoulos & Mims, 1979). Este fungo apresenta micélio delicado, de coloração branca a rosada, esparsa a abundante. Os microconídios são produzidos abundantemente em fiálides simples, apresentando formato oval a elipsóide, ligeiramente curvados e sem septos. Os macroconídios são esparsos a abundantes, produzidos em conidióforos ou na superfície de esporodóquios, apresentando formato fusóide a subulado e pontiagudos nas extremidades, com as paredes finas e três a cinco septos. Os clamidosporos apresentam paredes espessas, duplas e rugosas, são abundantes e formados terminal ou intercaladamente no micélio (Nelson *et al.*, 1983; Alexopoulos *et al.*, 1996).

A importância de *F. oxysporum* como patógeno de caupi está relacionada, principalmente, à sua elevada agressividade, transmissibilidade pelas sementes e alta capacidade de sobrevivência no solo mesmo na ausência da planta hospedeira (Rios, 1988). O crescimento e a sobrevivência de *F. oxysporum* são muito influenciados pelas características físicas, químicas e biológicas do solo, que atuam acelerando ou retardando o desenvolvimento da doença, pela alteração da viabilidade do inóculo, embora o patógeno possa sobreviver em condições adversas, incluindo regiões secas e com altas temperaturas (Nelson, 1981).

Devido à capacidade de *F. oxysporum* adaptar-se às condições adversas no solo, onde se desenvolve e sobrevive na forma de clamidosporo (Nelson, 1981), o controle da murcha-de-fusário é muito difícil, sendo recomendadas várias práticas culturais integradas, como uso de variedades resistentes, plantio em áreas livres do patógeno, escolha da época de plantio, rotação de culturas e tratamento de sementes. As variedades resistentes constituem um dos meios mais eficazes para o controle da murcha-de-fusário do caupi, embora a variabilidade do patógeno muitas vezes reduza a sua eficiência (Rios, 1988), motivo pelo qual outras alternativas têm sido investigadas, dentre as quais a utilização de solos supressivos (Assunção *et al.*, 2003a).

O fenômeno de alguns solos prevenirem naturalmente o estabelecimento de patógenos ou inibirem as suas atividades patogênicas é denominado supressividade e os solos com essas características, denominados solos supressivos. Solos com pouca ou nenhuma habilidade em impedir a atividade patogênica são denominados de condutivos. Existem solos que suprimem os patógenos, pela capacidade de reduzir a densidade de inóculo e suas atividades saprofíticas, enquanto outros solos suprimem a doença, pela capacidade de reduzir a sua severidade, mesmo com alta densidade de inóculo e capacidade de sobrevivência do patógeno (Cook e Baker, 1983). Interações complexas envolvendo fatores bióticos e abióticos podem determinar a supressividade natural do solo e têm despertado muito interesse como alternativa no controle das murchas-de-fusário (Alabouvette, 1999).

Propriedades do solo como textura e tipos de argila, níveis de fósforo, potássio, carbono, nitrogênio total, alumínio, cálcio, magnésio, sódio, matéria orgânica, relação C/N, condutividade elétrica e pH, assim como densidade, biomassa e atividade microbiana, entre outras, podem ser usadas como indicadoras da supressividade (Hornby, 1983; Doran *et al.*, 1996; Chellemi e Porter, 2001). As propriedades físicas e químicas do solo interferem na supressividade de forma direta, por meio do favorecimento da atividade microbiana, ou indiretamente, quando interferem no ciclo do patógeno. Os solos ricos em matéria orgânica geralmente apresentam maior supressividade. Esse fato deve-se, principalmente, à capacidade de proporcionar maior atividade microbiana e melhorar a estrutura, a aeração e a retenção de umidade do solo (Hornby, 1983). Várias propriedades têm sido utilizadas como indicadoras da supressividade de solos às murchas causadas por diferentes *formae specialis* de *F. oxysporum* (Alabouvette, 1999; Peng *et al.*, 1999; Domínguez *et al.*, 2001; Assunção *et al.*, 2003a).

A microbiota do solo é constituída por vários microrganismos que podem participar na supressividade do solo. Em estudos de solos supressivos a *F. oxysporum* vêm sendo encontrados diversos isolados não-patogênicos de *F. oxysporum* que inibem as formas

patogênicas do fungo (Larkin *et al.*, 1996; Alabouvette, 1999). Esses isolados de *F. oxysporum* antagonicos têm a capacidade de competir na rizosfera do hospedeiro com as formas patogênicas. A atividade antagonica se deve principalmente à sua alta capacidade saprofítica e rápida colonização da rizosfera do hospedeiro, ocupando os possíveis sítios de infecção (Cugudda e Garibaldi, 1987). Outro antagonista frequentemente associado à supressão de murchas-de-fusário é o gênero *Pseudomonas* do grupo fluorescente (Alabouvette, 1999).

A maioria das pesquisas tem concentrado esforço na supressividade de natureza biológica, que pode ser transmitida em pequenas porções de solo supressivo para solo condutivo. Pouca atenção, entretanto, tem sido direcionada para as propriedades físicas e químicas do solo, que podem estar direta ou indiretamente envolvidas na supressividade (Amir e Alabouvette, 1993).

O melhor procedimento experimental para verificar a hipótese da supressividade de um solo a determinada doença, consiste na introdução de densidades crescentes de inóculo do patógeno nesse solo e comparação da taxa de intensidade da doença em um hospedeiro suscetível em relação a produzida pela mesma densidade de inóculo num solo condutivo controle. Além da comprovação da supressividade, os fatores que determinam esse fenômeno devem ser investigados visando a utilização dessas informações no desenvolvimento de estratégias de controle de doenças radiculares (Alabouvette, 1999). Nesse sentido, Assunção *et al.* (2003a) constataram a ocorrência de solos supressivos e condutivos à murcha-de-fusário do caupi no Estado de Pernambuco, mas não tiveram sucesso na determinação dos fatores envolvidos nesses processos devido a ausência de correlações significativas entre variáveis associadas à doença e propriedades físicas, químicas e microbiológicas dos solos.

A supressividade pode ser induzida num solo condutivo pela utilização de corretivos orgânicos, manipulação da umidade e acidez, introdução de antagonistas e transferência de porções do solo supressivo para o condutivo (Cook e Baker, 1983; Hornby 1983).

Transferência de supressividade entre solos foi constatada na Carolina do Norte em relação a podridão negra das raízes do fumo, causada por *Thielaviopsis basicola*, cujos mecanismos envolvidos na supressão foram abióticos e dependentes da interação entre pH do solo, saturação de bases e alumínio trocável (Meyer e Shew, 1991). Adicionando 50 e 70% de solo supressivo a um solo condutivo argilo-arenoso, Scher e Baker (1980) reduziram significativamente a murcha-de-fusário do linho. Por outro lado o mal-do-Panamá da bananeira, causado por *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, foi controlado pelo adequado manejo da água, do pH e aplicação de nutrientes (Peng *et al.*, 1999).

Em muitas culturas, o progresso da murcha-de-fusário é restringido pelo solo que lhe serve de substrato, mesmo quando o patógeno é introduzido por repetidas vezes (Peng *et al.*, 1999). O solo pode apresentar uma atividade fungistática durante a germinação dos propágulos, isto é, a fonte de energia exógena para a germinação pode estar em deficiência devido à competição com outros microrganismos ou a germinação pode não acontecer como consequência da presença de compostos tóxicos excretados pelas plantas ou pela microbiota presente no solo (Knudsen *et al.*, 1999).

As reduções no rendimento das culturas devidas a diferentes intensidades de doenças radiculares têm sido pouco estudadas, principalmente em patossistemas tropicais. A determinação da redução do rendimento em função da intensidade de doenças altamente dependentes da quantidade de inóculo inicial, como é o caso da murcha-de-fusário, tem sido realizada pela utilização de diferentes densidades de inóculo para gerar diferentes intensidades de doença e, conseqüentemente, diferentes quantidades de produção (Benson, 1994).

Relações quantitativas consistentes entre reduções de rendimento e intensidade da murcha-de-fusário do caupi foram estabelecidas em estudo previamente realizado em solo infestado artificialmente com *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* (Assunção *et al.*, 200b), sendo as perdas de produção devidas ao decréscimo no número de vagens e sementes por planta, sem influência no peso médio das sementes. Esse estudo foi pioneiro na análise das

reduções de rendimento do caupi devido à murcha-de-fusário, no entanto, as estimativas foram realizadas somente em uma época de plantio, o que pode não ser representativo das condições de produção comercial.

Diante do exposto, este trabalho teve como principais objetivos caracterizar a natureza e a capacidade de transferência de supressividade de um solo à murcha-de-fusário do caupi, analisar a dinâmica populacional de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* e outros microrganismos em dois solos com diferentes níveis de supressividade, bem como determinar a relação entre a severidade da doença e as reduções no rendimento de sementes de caupi em duas épocas de cultivo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALABOUVETTE, C. Soil-borne plant pathogens: prospects for disease management. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G. (Eds.) **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Viçosa: SBCS, Lavras: UFLA/DCS, 1999. p.509-528.

ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W. **Introductory mycology**. 3. ed. New York: John Willey & Sons, 1979. 632p.

ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W.; BLACKWELL, M. **Introductory mycology**. 4. ed. New York: John Wiley & Sons, 1996. 868p.

ALLEN, D.J. **The pathology of tropical food legumes: disease resistance in crop improvement**. New York: John Wiley & Sons, 1983. 413p.

AMIR, H.; ALABOUVETTE, C. Involvement of soil abiotic factors in the mechanisms of soil suppressiveness to Fusarium wilts. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.25, n.2, p.157-164, 1993.

ANDRADE JÚNIOR, A.S.; RODRIGUES, B.H.N.; BASTOS, E.A. Irrigação. In: CARDOSO, M.J. (Ed.) **A cultura do feijão caupi no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2000. p.127-154.

ASSUNÇÃO, I.P.; MICHEREFF, S.J.; BROMMONSCHENKEL, S.H.; ELOY, A.P.; ROCHA JÚNIOR, O.M.; DUDA, G.P.; NASCIMENTO, C.W.A.; NASCIMENTO,

R.S.M.P.; RODRIGUES, J.J.V. Caracterização de solos de Pernambuco quanto a supressividade à murcha-de-fusário do caupi. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, 2003a (aceito).

ASSUNÇÃO, I.P.; MICHEREFF, S.J.; MIZUBUTI, E.S.G.; BROMMONSCHENKEL, S.H. Influência da intensidade da murcha-de-fusário no rendimento do caupi. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, 2003b (aceito).

ATHAYDE SOBRINHO, C.; VIANA, F.M.P.; SANTOS, A.A. Doenças do caupi. In: CARDOSO, M.J. (Ed.) **A cultura do feijão caupi no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2000. p.157-177.

BENEVENUTTI, V. **Gestão governamental de apoio à produção de feijão: o caso Pernambuco (1991 – 1994)**. Recife: 1996. 160p. Dissertação (Mestrado em Administração Rural e Comunicação Rural) - Universidade Federal Rural de Pernambuco.

BENSON, D.M. Inoculum. In: CAMPBELL, C.L., BENSON, D.M. (Eds.) **Epidemiology and management of root diseases**. Heidelberg: Springer-Verlag, 1994. p.1-33.

CARDOSO, M.J.; RIBEIRO, V.Q.R.; MELO, F. de B. Cultivos consorciados. In: CARDOSO, M.J. (Ed.) **A cultura do feijão caupi no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2000.p.107-113.

CASTRO, N.R. **Caracterização fisiológica de *Cercospora cruenta* Sacc. e controle genético de cercosporiose em caupi**. Recife: 2000. 48p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) - Universidade Federal Rural de Pernambuco.

CHELLEMI, D.O.; PORTER, I.J. The role of plant pathology in understanding soil health and its application to productive agriculture. **Australasian Plant Pathology**, Collingwood, v.30, n.1, p.103-109, 2001.

COELHO, R.S.B. Doenças fúngicas do caupi. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DO CAUPI, 5., 2001, Teresina. **Anais ...** Teresina: Embrapa Meio Norte, 2001. p.321-322.

COOK, R.J.; BAKER, K.F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1983. 539p.

CUGUDDA, L.; GARIBALDI, A. Soil suppressive to Fusarium wilt of carnation: studies on mechanism of suppressiveness. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.216, n.1, p.67-76, 1987.

DANTAS, J.P.; FERREIRA, M.M.M.; MARINHO, F.J.L.; AMORIM, M.S. Seleção de cultivares e/ou linhagens de feijão caupi com tolerância ao estresse salino II. Área foliar e teor de proteínas. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DO CAUPI, 5., 2001, Teresina, **Anais...** Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2001. p.91-103.

DOMÍNGUEZ, J.; NEGRÍN, M.A.; RODRÍGUEZ, C.M. Aggregate water-stability, particle-size and soil solution properties in conducive and suppressive soils to Fusarium wilt of banana from Canary Islands (Spain). **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.33, n.4-5, p.449-455, 2001.

DORAN, J.W.; SARRANTONIO, M.; LIEBIG, M.A. Soil health and sustainability. **Advances in Agronomy**, Madison, v.56, p.2-54, 1996.

HOLLIDAY, P. *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1970. 1p. (C.M.I. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, 220).

HORNBY, D. Suppressive soils. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.21, p.65-85, 1983.

IBGE. **SIDRA 2000** - Sistema IBGE de recuperação automática. Rio de Janeiro: 2003. Disponível em:<http://www.sidra.ibge.gov.br>. acesso em: 10 fev. 2003.

KENDRICK, J.B. Seed transmission of cowpea wilt. **Phytopathology**, Lancaster, v.21, n.10, p.979-983, 1931.

KNUDSEN, I.M.B.; DEBOSZ, K.; HOCKENHULL, J.; JENSEN, D.F.; ELMHOLT, S. Suppressiveness of organically and conventionally managed soils towards brown foot rot of barley. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.12, n.1, p.61-72, 1999.

LARKIN, R.P.; HOPKINS, D.L.; MARTIN, F.N. Suppression of *Fusarium* wilt of watermelon by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* and other microorganisms recovered from disease-suppressive soil. **Phytopathology**, St Paul, v.86, n.8, p.812-819, 1996.

MELO, F. B.; CARDOSO, M.J. Fertilidade, correção e adubação do solo. In: CARDOSO, M.J. (Ed.) **A cultura do feijão caupi no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2000. p.127-154.

MEYER, J.R.; SHEW, H.D. Soils suppressive to black root of burley tobacco, caused by *Thielaviopsis basicola*. **Phytopathology**, St Paul, v.81, n.9, p.946-954, 1991.

NELSON, P.E., TOWSSON, T.A., MARASAS, W.F.O. *Fusarium species*: an illustrated manual for identification. University Park: The Pennsylvania State University Press, 1983. 193p.

NELSON, P.E. Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum*. In: MACE, M.E.; BELL, A.A.; BECKMAN, C.H. (Eds.) **Fungal wilt diseases of plants**. New York: Academic Press, 1981. p.51-80.

OYEKAN, P.O. Occurrence of cowpea wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* in Nigeria. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 59, n.6, p.488-490, 1977.

PENG, H.X.; SIVASITHAMPARAM, K.; TURNER, D.W. Chlamydospore germination and *Fusarium* wilt of banana plantlets in suppressive and conducive soils area affected by physical and chemical factors. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.31, n.10, p.1363-1374, 1999.

PEREIRA, P.A.A.; DEL PELOSO, M.J.; DA COSTA, J.G.C.; FERREIRA, C.M.; YOKOYAMA, L.P. Produto feijão: perspectivas de produção, do consumo e do melhoramento genético. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISAS DO CAUPI, 5., 2001, Teresina, **Anais...** Teresina: Embrapa Meio Norte, 2001.p307-311.

POLTRONIERI, L.S.; TRINDADE, D.R.; SILVA, J.F. **Principais doenças do caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp. no Pará e recomendações de controle.** Belém: EMBRAPA-CPATU, 1994. 24p.

RIOS, G.P. Doenças fúngicas e bacterianas do caupi. In: ARAÚJO, J.P., WATT, E.E. (Eds.) **O caupi no Brasil.** Goiânia: EMBRAPA-CNPAF, 1988. p.549-589.

ROBERTS, P.A.; MATTHEWS, W.C.; EHLERS, J.O. New resistance to virulent root-knot nematodes linked to the Rk locus of cowpea. **Crop Science**, Madison, v.36, n.1, p.234-239, 1996

SCHER, F.M.; BAKER, R. Mechanism of biological control in a *Fusarium*-suppressive soil. **Phytopathology**, St. Paul, v.70, n.4, p.412-417, 1980.

TEIXEIRA, S.M.; MAY, P.H.; SANTANA, A.C. Produção e importância econômica do caupi no Brasil. In: ARAUJO, J.P.; WATT, E.E. (Eds.) **O caupi no Brasil.** Brasília:EMBRAPA-CNPAF, 1988. p.101-127.

TUAN, Y.H.; PHILLIPS, R.D.; DOVE, C.R. Predicting integrated protein nutritional quality part 1: amino-acid availability corrected amino-acid score and nitrogen balance data fitted to linear and non-linear models for test proteins. **Nutrition Research**, Athens, v.19, n.12, p.1791-1805, 1999.

Capítulo II

**Natureza da supressividade de solo à murcha-de-
fusário do caupi e dinâmica populacional de
Fusarium oxysporum f. sp. *tracheiphilum***

Natureza da supressividade de um solo à murcha-de-fusário do caupi e dinâmica populacional de *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*

Arlinda P. Eloy¹, Sami J. Michereff^{1*}, Clístenes W.A Nascimento², Delson Laranjeira¹,
Michelle A.S. Borges¹

¹Área de Fitossanidade e ²Área de Solos, Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, CEP 52171-900, Recife, PE. E-mail: arlindaeloy@bol.com.br

Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco. Bolsista da CAPES.

*Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq.

Aceito para publicação em:

RESUMO

Eloy, A.P.; Michereff, S.J.; Nascimento, C.W.A.; Laranjeira, D.; Borges, M.A.S. Natureza da supressividade de um solo à murcha-de-fusário do caupi e dinâmica populacional de *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum*. *Summa Phytopathologica*

A murcha-de-fusário, causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum*, é responsável por grandes reduções de rendimento na cultura do caupi no Nordeste brasileiro. O trabalho teve como objetivos caracterizar a natureza e a capacidade de transferência da supressividade de um solo à murcha-de-fusário do caupi, bem como analisar a dinâmica populacional de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* e outros microrganismos no solo. Foram utilizadas amostras de dois solos, classificados previamente como supressivo (CAC) e conduçivo (GOI) à murcha-de-fusário do caupi, em que não foram detectadas populações autóctones de *F. oxysporum*. Quando os solos foram infestados com o patógeno e semeados

com as cultivares de caupi BR 17 Gurguéia (altamente suscetível) e IPA 206 (moderadamente suscetível), as populações de fungos totais, bactérias totais e *Bacillus* spp. foram maiores na rizosfera no solo supressivo que no condutivo. A supressividade à doença não foi relacionada com um efeito supressivo sobre a população do patógeno, tendo em vista que os níveis populacionais de *F. oxysporum* foram similares nos dois solos. A esterilização não alterou a capacidade supressiva do solo, indicando sua natureza abiótica, bem como foi comprovada a capacidade de transferência da supressividade para o solo condutivo. Somente no solo supressivo foi constatada influência significativa dos níveis de pH na severidade da murcha-de-fusário, que decresceu proporcionalmente à elevação do pH. A densidade do inóculo do patógeno, isoladamente, não determinou a severidade da murcha-de-fusário nas plantas cultivadas nos dois solos, tendo em vista que a influência da eficiência desse inóculo, foi significativamente inferior no solo supressivo.

Palavras-chave adicionais: *Vigna unguiculata*, pH, inóculo, ecologia do solo.

ABSTRACT

Eloy, A.P.; Michereff, S.J.; Nascimento, C.W.A.; Laranjeira, D.; Borges, M.A.S. Nature of soil suppressiveness to Fusarium wilt of cowpea and populational dynamic of *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*. *Summa Phytopathologica*

The Fusarium wilt, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, reduces cowpea yield in Northeastern Brazil. This work aimed to characterize the nature and ability to transfer cowpea Fusarium wilt suppressiveness, as well as analyze populational dynamic of *F. oxysporum* f.sp. *tracheiphilum* and other soilborne microorganisms. Samples of two soil types were used. They had been previously classified as suppressive (CAC) and condutive (GOI) to Fusarium wilt, of cowpea and did not showed indigenous populations of *Fusarium oxysporum*. When the samples were infested with the pathogen and sown with BR 17

Gurguéia (highly susceptible) and IPA 206 (moderately susceptible) cowpea cultivars, total populations of both fungi and bacteria, and also *Bacillus* spp. were higher in rhizosphere of the suppressive soil samples than in the conducive ones. The suppressiveness was not related to a suppressive effect on the pathogen population, since *F. oxysporum* populational levels were similar in both types of soil. Soil sterilization did not change the suppressive ability, pointing out the abiotic origin, as well as the ability to transfer suppressiveness to a conducive soil was demonstrated. Only in suppressive soil, a significant influence of pH levels on Fusarium wilt severity was verified, and it decreased as pH increases pH. The inoculum density alone did not determine the severity of Fusarium wilt on plants cultivated in both soils, since the influence of the inoculum efficiency, was significantly lower in the suppressive soil.

Additional key-words: *Vigna unguiculata*, pH, inoculum, soil ecology.

A cultura do caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] tem grande importância sócio-econômica no Nordeste brasileiro, onde a ocorrência de doenças vem provocando elevadas reduções de produtividade. A murcha-de-fusário, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* (Smith) Snyder & Hansen, é uma das doenças mais frequentes, principalmente quando as plantas são submetidas a estresse hídrico e/ou nutricional (7).

Devido ao patógeno ser habitante do solo, onde se desenvolve e sobrevive por longos períodos na forma de clamidosporos, o controle da murcha-de-fusário do caupi é muito difícil. As principais medidas de controle incluem o uso de sementes sadias e de cultivares resistentes, no entanto, outras alternativas têm sido investigadas, dentre as quais a utilização de solos supressivos (6).

O fenômeno de alguns solos prevenirem naturalmente o estabelecimento de patógenos ou inibirem as suas atividades patogênicas é denominado supressividade e os solos com essas

características, denominados solos supressivos, oposto de solos condúctivos. Existem solos que suprimem os patógenos pela capacidade para reduzir a densidade de inóculo e suas atividades saprofíticas, enquanto outros solos suprimem a doença pela capacidade de reduzir a sua severidade, mesmo com alta densidade de inóculo e capacidade de sobrevivência do patógeno (8). Interações complexas envolvendo fatores bióticos e abióticos podem determinar a supressividade natural do solo e têm despertado muito interesse como alternativa no controle das murchas-de-fusário (1).

O melhor procedimento experimental para verificar a hipótese da supressividade de um solo à determinada doença, consiste na introdução de densidades crescentes de inóculo do patógeno nesse solo e comparação da taxa de intensidade da doença em um hospedeiro suscetível em relação ao produzido pela mesma densidade de inóculo num solo condúctivo controle. Além da comprovação da supressividade, os fatores que determinam esse fenômeno devem ser investigados visando a utilização dessas informações no desenvolvimento de estratégias de controle de doenças radiculares (1). Nesse sentido, ASSUNÇÃO *et al.* (6) constataram a ocorrência de solos supressivos e condúctivos à murcha-de-fusário do caupi no Estado de Pernambuco, mas não tiveram sucesso na determinação dos fatores envolvidos nesses processos, devido à ausência de correlações significativas entre variáveis associadas à doença e as propriedades físicas, químicas e microbiológicas dos solos.

A supressividade pode ser induzida, dentre outras práticas, pela transferência de porções de solos supressivos para solos condúctivos e alteração do pH de solo (8). A maioria das pesquisas tem visado a supressividade de natureza biológica, que pode ser transmitida em pequenas porções de solo supressivo para solo condúctivo. Pouca atenção, entretanto, tem sido direcionada para as propriedades físicas e químicas do solo, que podem estar direta ou indiretamente envolvidas na supressividade (4).

O presente trabalho teve como objetivos caracterizar a natureza e a capacidade de transferência da supressividade de um solo à murcha-de-fusário do caupi, bem como analisar a dinâmica populacional de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* e outros microrganismos na rizosfera e rizoplane de caupi em dois solos, classificados como supressivo e condutivo.

MATERIAL E MÉTODOS

Solos

Foram coletadas amostras de solo de duas áreas do Estado de Pernambuco, denominadas Cachoeirinha (CAC) - Planossol Solódico coletados a (S 8° 29' 14,0'' - W 36° 13' 51,6'') e Goiana (GOI) - Podzol Hidromórfico a (S 7° 38' 26,2'' - W 34° 57' 04,4''), classificados previamente como supressivo e condutivo à murcha-de-fusário do caupi, respectivamente (6). As coletas foram efetuadas durante o mês de janeiro de 2002, removidos 1.000 kg de solo em cada local, a uma profundidade de 0-20 cm. As amostras dos solos foram analisadas quanto às características físicas e químicas conforme EMBRAPA (10), que estão representadas no Quadro 1. Esses solos foram utilizados qualquer correção ou aplicação de fertilizantes.

Preparo do inóculo e infestação do solo

Foi utilizado um isolado de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* (FL), obtido de plantas de caupi procedentes de Floresta (PE). O fungo foi multiplicado em substrato de areia lavada-farinha de milho durante 20 dias a 25 ± 2 °C em alternância luminosa (12 h claro/12 h escuro) (6). A população do fungo no substrato foi determinada pelo método de diluição em série, seguido do plaqueamento em meio de cultura peptona-PCNB-ágar, sendo estimado o número de unidades formadoras de colônias (ufc)/g de substrato. A infestação dos solos foi efetuada

pela adição do substrato colonizado na quantidade que permitisse a obtenção da densidade de inóculo desejada, seguida da homogeneização da mistura.

Dinâmica populacional de microrganismos na rizosfera e no rizoplano de caupi e severidade da murcha-de-fusário

As amostras dos solos foram acondicionadas em vasos plásticos (4 dm³ de capacidade) e infestadas com o patógeno, obtendo-se a densidade final de $6,3 \times 10^4$ ufc/g de solo. A testemunha consistiu de solo não infestado. Sete dias após a infestação do solo, foi efetuado o plantio das cultivares de caupi BR 17 Gurguéia e IPA 206, classificadas como altamente e moderadamente suscetíveis a *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, respectivamente (6).

A população microbiana da rizosfera e do rizoplano do caupi foi avaliada aos 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 dias após o plantio (DAP). Para obtenção do solo rizosférico, as plantas de cada vaso foram arrancadas cuidadosamente com auxílio de uma espátula, para evitar a perda de raízes, removendo-se, em seguida, o solo levemente aderido às mesmas. Para a amostra do rizoplano, raízes adventícias e pêlos absorventes (livres de solo rizosférico) foram cortadas com tesoura flambada, lavadas em água destilada esterilizada e, em seguida, cortadas novamente em pequenos pedaços. Alíquotas de 1 g foram retiradas, sendo efetuadas diluições em série e distribuição nos meios batata-dextrose-ágar (BDA) com 250 ppm de tetraciclina, ágar nutritivo e peptona-PCNB-ágar, para isolamento de fungos totais, bactérias totais e *F. oxysporum*, respectivamente. Para isolamento de *Trichoderma* spp. e *Pseudomonas* do grupo fluorescente foram utilizados os meios de Martin (22), modificado com a adição de metalaxyl (250 ppm), e B de King (13), respectivamente. Para isolamento de *Bacillus* spp., as diluições foram submetidas à banho-maria de 80°C por 10 minutos e plaqueadas em meio ágar nutritivo. As culturas foram incubadas a 25 ± 2 °C e 70 ± 2 % UR, sob alternância luminosa. As populações bacterianas foram avaliadas após 48 horas de incubação, enquanto os fungos

foram avaliados após cinco dias. Cada população resultou do número médio de colônias em quatro placas, sendo expressas em ufc/g de solo.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2x2, representado por dois solos e dois sítios de avaliação da população, com quatro repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso com quatro plantas.

A severidade da murcha-de-fusário foi avaliada aos 40 DAP do caupi, com o auxílio de escala de notas adaptada de SCHOONHOVEN & PASTOR-CORRALES (18), onde: 0 = planta sem sintomas externos; 1 = menos de 10% da folhagem com clorose e/ou murcha; 2 = aproximadamente 25% de folhas com clorose e/ou murcha; 3 = aproximadamente 50% das folhas e ramos com clorose e/ou murcha, com as plantas manifestando nanismo; 4 = aproximadamente 75% ou mais das folhas e ramos com murcha, nanismo severo e desfolha prematura, freqüentemente resultando na morte da planta. Com os dados foi calculado o índice de doença (18), e os resultados submetidos à análise de variância e ao teste de Duncan a 5 % de probabilidade.

Origem e capacidade de transferência da supressividade

A amostra de cada solo foi dividida em duas porções, sendo uma parte mantida natural e a outra submetida à esterilização em autoclave a 120°C por 30 minutos, em dois dias consecutivos. Sete dias após, as amostras dos dois solos foram misturadas para obtenção das proporções de 0, 10, 25, 50, 75, 90 e 100% do solo supressivo. As amostras foram acondicionadas em vasos plásticos e, após sete dias, infestadas com um isolado do patógeno, obtendo-se a densidade final de $7,0 \times 10^4$ ufc/g de solo. A testemunha consistiu de solo não infestado. O plantio do caupi (cv. BR 17 Gurguéia) foi efetuado sete dias após a infestação do solo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2x7,

representado por dois solos e sete proporções do solo supressivo na mistura, com quatro repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso com quatro plantas.

A severidade da murcha-de-fusário foi avaliada aos 40 DAP do caupi e com os dados calculado o índice de doença. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de regressão, tendo proporção do solo supressivo na mistura como variável independente e índice de doença como variável dependente.

Influência do pH do solo na severidade da murcha-de-fusário do caupi e na população de *F. oxysporum* f.sp. *tracheiphilum*

As amostras dos solos foram ajustadas para sete níveis de pH (5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0, 7,5 e 8,0) pela adição de doses de carbonato de cálcio (CaCO_3 ; p.a) ou solução de ácido clorídrico (HCl; 1 mol/L). As doses necessárias destes corretivos para elevação ou diminuição do pH das amostras foram previamente definidas utilizando-se equações originadas de curvas de incubação das amostras de solo com o corretivo. As amostras permaneceram incubadas por 20 dias. Após este período mediu-se o pH do solo. A dose de corretivo necessária para a elevação ou diminuição do pH foi obtida através de uma equação de regressão entre o valor de pH e a dose de corretivo (CaCO_3 ou HCl).

Em casa de vegetação, as várias doses de HCl ou CaCO_3 foram misturadas às amostras de solo, as quais foram acondicionadas em vasos plásticos e incubadas por 20 dias, mantendo-se a umidade constante. Ao final desse período, as amostras foram infestadas com o patógeno, obtendo-se a densidade final de $1,0 \times 10^5$ ufc/g de solo. A testemunha consistiu de solo não infestado. O plantio do caupi (cv. BR 17 Gurguéia) foi efetuado sete dias após a infestação do solo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2×7 , representado por dois solos e sete níveis de pH, com quatro repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso com quatro plantas.

A severidade da murcha-de-fusário foi avaliada aos 40 DAP do caupi e com os dados calculado o índice de doença. Na mesma oportunidade, foi quantificada a população de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* nos solos, pela coleta de amostras próximo às plantas numa profundidade de 2,0 cm como descrita anteriormente. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de regressão, tendo os níveis de pH como variável independente e população do patógeno ou índice de doença como variável dependente.

Influência da densidade do inóculo de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* na severidade da murcha-de-fusário

As amostras dos solos foram acondicionadas em vasos plásticos e infestadas com o patógeno, obtendo-se seis densidades finais de inóculo: 1×10^1 , 1×10^2 , 1×10^3 , 1×10^4 , 1×10^5 e 1×10^6 ufc/g de solo. A testemunha consistiu de solo não infestado. O plantio do caupi (cv. BR 17 Gurguéia) foi efetuado sete dias após a infestação do solo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, 2x6, representado por dois solos e seis densidades de inóculo do patógeno, com quatro repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso com quatro plantas.

A população de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* nos solos foi quantificada aos 15 e 40 DAP, sendo que nesta última ocasião também foi avaliada a severidade da murcha-de-fusário nas plantas de caupi e posteriormente calculado o índice de doença. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de regressão, tendo densidade de inóculo do patógeno aos 0, 15 ou 40 DAP como variável independente e severidade como variável dependente. A significância das regressões foi verificada pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade, enquanto os parâmetros das regressões obtidas foram comparados por intervalo de confiança, utilizando os erros-padrões. Adicionalmente, pela análise de Probit (11), foi determinada a densidade de inóculo do patógeno necessária para causar 10% de severidade da doença (DI_{10}),

tendo densidade de inóculo como variável independente e severidade como variável dependente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Características físicas e químicas das amostras de solos

As amostras de solo utilizadas apresentaram diferenças em relação à maioria das características químicas (Quadro 1). O solo CAC apresentou pH alcalino, enquanto no solo GOI o pH foi ácido. Além disso, o primeiro solo apresentou teores superiores de P, K, Na, Ca, Ca + Mg, Fe e Mn. Os solos foram enquadrados em classes texturais diferentes, embora tendo em comum os elevados teores de areia (Quadro 1).

Dinâmica populacional de microrganismos na rizosfera e no rizoplane de caupi e severidade da murcha-de-fusário

Não foram detectadas populações autóctones de *F. oxysporum*, *Trichoderma* spp. e *Pseudomonas* do grupo fluorescente na rizosfera e rizoplane de caupi de solos CAC e GOI, enquanto populações de *Bacillus* spp. foram constatadas durante todo o período de avaliação, confirmando o observado em estudo anterior que utilizou amostras desses solos (6). A ausência de populações de *F. oxysporum*, *Trichoderma* spp. e *Pseudomonas* do grupo fluorescente pode constituir uma característica particular dos solos utilizados, tendo em vista que esses microrganismos são habitantes do solo e freqüentemente detectados em grande quantidade. Nesse sentido, os elevados teores de Fe nos solos utilizados (Quadro 1) podem estar relacionados à ausência de populações de *Pseudomonas* do grupo fluorescente, pois esse elemento reduz a capacidade competitiva desse microrganismo no solo (16).

As populações de fungos totais e *Bacillus* spp. foram maiores na rizosfera que no rizoplano no solo CAC, independentemente da cultivar de caupi (Figuras 1 e 2). Essas mesmas populações foram maiores na rizosfera do solo CAC que na do GOI, o que também foi observado em relação à população de bactérias totais. A elevada população de microrganismos no solo CAC, comparada ao solo GOI, pode ser devida às características químicas do primeiro, tendo em vista a maior fertilidade e disponibilidade de nutrientes (Quadro 1). Além disso, a maior população de bactérias na rizosfera do solo CAC está relacionada ao pH alcalino, que favorece a multiplicação e o desenvolvimento desses microrganismos (3).

Quando considerado somente o rizoplano, nas duas cultivares foram detectadas maiores populações de fungos totais no solo GOI que no CAC, enquanto as populações de bactérias totais apresentaram comportamento variável conforme a cultivar, sendo maior no solo GOI na cv. IPA 206 e menor nesse mesmo solo na cv. BR 17 Gurguéia.

A alcalinidade do solo CAC não foi determinante na dinâmica populacional de *F. oxysporum*, embora esse organismo tenha maior afinidade por solos ácidos (4). As populações de *F. oxysporum* não apresentaram padrões populacionais definidos ao longo do período de avaliação na rizosfera e no rizoplano na cv. BR 17 Gurguéia, enquanto na cv. IPA 206 foram verificadas maiores populações na rizosfera do solo CAC que do GOI, sendo observado o contrário em relação ao rizoplano. Esses resultados indicam um efeito diferenciado da rizosfera e do rizoplano da cultivar moderadamente suscetível (IPA 206) sobre a população de *F. oxysporum*, o que parece não acontecer na cultivar altamente suscetível (BR 17 Gurguéia).

Aos 40 dias após o plantio, a severidade máxima da murcha-de-fusário nas plantas cultivadas no solo CAC foi 12,5% na cv. BR 17 Gurguéia, enquanto a cv. IPA 206 não apresentou sintomas da doença. Por outro lado, no solo GOI a severidade atingiu níveis superiores a 85%, sem diferença significativa entre as cultivares (Quadro 2). Esses resultados

confirmam o constatado na seleção preliminar de solos supressivos à murcha-de-fusário do caupi (6), na qual os solos CAC e GOI foram classificados como supressivo e condutivo, respectivamente. A similaridade dos níveis de suscetibilidade das cultivares de caupi à doença no solo condutivo, o que não foi observado no solo supressivo, indica que no solo condutivo há necessidade da utilização de cultivares com níveis elevados de resistência ao patógeno para que o controle da doença seja satisfatório. Outro aspecto interessante é que a supressividade à doença no solo CAC não está relacionada com um efeito supressivo sobre a população do patógeno, tendo em vista que os níveis populacionais de *F. oxysporum* foram similares aos verificados no solo condutivo (GOI), assemelhando-se ao constatado em alguns estudos envolvendo a dinâmica populacional desse fungo em solos supressivos e condutivos a murchas-de-fusário (3, 4, 15, 21).

Origem e capacidade de transferência da supressividade

A esterilização não alterou a capacidade supressiva do solo CAC sobre a murcha-de-fusário do caupi, tendo em vista que as plantas não apresentaram sintomas da doença quando esse solo não foi misturado ao solo GOI (Figura 3). Portanto, as populações de fungos totais, bactérias totais e *Bacillus* spp. detectadas na rizosfera de plantas cultivadas no solo CAC não influíram no nível de supressividade, indicando a natureza abiótica da supressividade desse solo e assemelhando-se ao constatado em outros estudos envolvendo supressividade às murchas-de-fusário (4), embora também seja freqüente a associação entre densidade microbiana e supressão dessas doenças (1, 23).

A natureza abiótica da supressividade à murcha-de-fusário está freqüentemente associada às características físicas e/ou químicas do solo, que influenciam no desenvolvimento da doença pela alteração da viabilidade e da eficiência do inóculo de *F. oxysporum* (4). No presente estudo, os fatores abióticos parecem ter afetado a eficiência do

inóculo de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, mas não a viabilidade do mesmo, uma vez que os níveis e a dinâmica populacional desse fungo foram similares nos dois solos.

A severidade da doença decresceu proporcionalmente à quantidade de solo supressivo adicionado ao solo condutivo (Figura 3), evidenciando a capacidade de transferência da supressividade. Quando o solo condutivo foi esterilizado e predominou na mistura, os níveis de doença foram superiores aos verificados na ausência da esterilização, indicando que a destruição da microbiota pode estar envolvida no aumento da condutividade do solo. A maioria dos solos possui algum nível de supressividade às doenças, cuja intensidade dependerá da predominância dos fatores supressivos sobre os condutivos, resultando na classificação de altamente supressivo a altamente condutivo (1). No caso desse estudo, o solo GOI apresentou uma redução do nível de supressividade biológica, detectada somente com a destruição da microbiota, mas essa supressividade foi superada por fatores condutivos desconhecidos.

Influência do pH do solo na severidade da murcha-de-fusário do caupi e na população de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*

As populações de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* nos solos não foram influenciadas significativamente pelos níveis de pH (Figura 4), confirmando o constatado no estudo de dinâmica populacional. Somente no solo supressivo (CAC) foi constatada influência significativa ($P=0,05$) dos níveis de pH na severidade da murcha-de-fusário, sendo que a intensidade da doença decresceu proporcionalmente à elevação do pH (Figura 4). Esse resultado comprova a hipótese levantada por ASSUNÇÃO *et al.* (6) na seleção preliminar de solos supressivos a essa doença e assemelha-se ao verificado em outros estudos de supressividade às murchas causadas por *F. oxysporum* (4, 9, 12, 20). Em estudos realizados com a murcha-de-fusário do tomateiro (12), a elevação do pH não causou um aumento nos

teores de cálcio no solo ou nos tecidos das plantas, mas limitou a disponibilidade de fósforo e micronutrientes como Fe, Mn e Zn, essenciais para o crescimento, esporulação e virulência de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. No entanto, vários estudos sobre a influência de nutrientes e pH na intensidade das murchas-de-fusário não têm conseguido distinguir o efeito direto do elemento na fisiologia da planta e um efeito indireto no nível de supressividade à doença (1). O elevado pH do solo CAC pode ter exercido um efeito fungistático nos propágulos de *F. oxysporum* f.sp. *tracheiphilum*, embora não se descarte a possibilidade da participação de substâncias inorgânicas voláteis, como registrado em solos alcalinos esterilizados e naturais (14), bem como de outros elementos químicos ou físicos do solo que tenham atuado isoladamente ou em interação com o pH.

A elevação do pH não propiciou a indução da supressividade à murcha-de-fusário do caupi no solo condutivo (GOI), indicando que outros fatores, desconhecidos, estão envolvidos na condutividade. Diferentemente do constatado nesse estudo, PENG *et al.* (18) verificaram que somente no solo condutivo a severidade da murcha-de-fusário da bananeira foi afetada significativamente pelos níveis de pH.

Influência da densidade do inóculo de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* na severidade da murcha-de-fusário

Quando avaliada a influência da densidade do inóculo de *F. oxysporum* f.sp. *tracheiphilum* na severidade da murcha-de-fusário aos 40 dias após o plantio, observou-se que a intensidade da doença aumentou significativamente ($P=0,05$) com o incremento da densidade de inóculo do patógeno, independentemente do solo ser supressivo ou condutivo, bem como do período no qual o inóculo foi quantificado (Figura 5). No entanto, foram constatadas diferenças entre as taxas de aumento da severidade da doença em função da densidade de inóculo nos dois solos, sendo significativamente ($P<0,05$) superior no solo

conducivo. A severidade máxima da murcha-de-fusário no solo supressivo foi de 23,5% enquanto no conducivo foi de 96,87%. A manutenção dos níveis de supressividade do solo CAC, mesmo a elevadas densidades de inóculo de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, sugere que esse apresenta diferença consistente do solo conducivo, sem que ocorra superação dos fatores de supressividade com o aumento da densidade de inóculo e do progresso da doença.

A eficiência do inóculo, representada pela densidade de inóculo do patógeno necessária para causar 10% de severidade da doença, variou entre os dois solos e entre as épocas em que o inóculo foi quantificado. Como exemplo, considerando a densidade do inóculo de *F. oxysporum* nos solos imediatamente após a infestação [dias após o plantio (DAP) = 0], pela análise de Probit, no solo supressivo (CAC) seriam necessárias 13.352,18 ufc/g de solo para que a severidade da doença atingisse 10% aos 40 DAP, enquanto no solo conducivo (GOI) seriam necessárias apenas 0,74 ufc/g de solo. Com a densidade de inóculo constatada aos 15 DAP, para atingir a severidade de 10% aos 40 DAP seriam necessárias 760,02 ufc/g no solo supressivo e 60,64 ufc/g no conducivo. Com o inóculo aos 40 DAP, para que a severidade de 10% fosse atingida, seriam necessárias 234 ufc/g no solo supressivo e 36,87 ufc/g no conducivo. A densidade do inóculo do patógeno, isoladamente, não determinou a severidade da murcha-de-fusário nas plantas cultivadas nos dois solos, tendo em vista a influência significativa da eficiência desse inóculo, que variou com o nível de supressividade do solo à doença. Nesse sentido, a hipótese da fungistase estar associada à supressividade da murcha-de-fusário do caupi não deve ser descartada, pois em estudos com outras murchas causadas por *F. oxysporum*, o fenômeno da supressividade dos solos tem sido correlacionado com a fungistase desde que a supressão da doença seja independente da população do patógeno (2).

Como verificado em relação ao pH no presente estudo, fatores responsáveis pela supressividade em determinado solo podem não exercer o mesmo papel em outros devido à

complexidade das interações entre as diferentes propriedades físicas, químicas e microbiológicas do solo, o que torna difícil a identificação de indicadores de supressividade que possam ser utilizados em diferentes situações (5), bem como a distinção entre fatores primários e secundários responsáveis pela supressividade (1).

Utilizando o proposto por COOK & BAKER (8), o solo CAC pode ser classificado como supressivo à murcha-de-fusário do caupi, mas não a *F. oxysporum* f.sp. *tracheiphilum*, tendo em vista que reduziu a severidade da doença mesmo com alta densidade de inóculo do patógeno, mas não reduziu a densidade desse inóculo. Novos estudos devem ser realizados para verificar a existência de outros mecanismos abióticos de supressividade no solo CAC além do pH, bem como caracterizar os mecanismos envolvidos na condutividade do solo GOI, visando contribuir efetivamente para o manejo integrado da murcha-de-fusário do caupi.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ALABOUVETTE, C. Soil-borne plant pathogens: prospects for disease management. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G. (Eds.) **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Viçosa: SBCS, Lavras: UFLA/DCS, 1999. p.509-528.
02. ALABOUVETTE, C.; ROUXEL, F.; LOUVET, J. Recherches sur la résistance des sols aux maladies. VII. Étude comparative de la germination des chlamydospores de *Fusarium oxysporum* et *Fusarium solani* au contact de sols résistant et sensible aux fusarioses vasculaires. **Annales de Phytopathologie**, Paris, v.12, n.1, p.21-30, 1980.

03. ALABOUVETTE, C.; STEINBERG, C. Suppressiveness of soils to invading micro-organisms. In: HOKKANEN, H.M.T.; LYNCH, J.M. (Eds.) *Biological control: benefits and risks*. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. p.3-12.
04. AMIR, H., ALABOUVETTE, C. Involvement of soil abiotic factors in the mechanisms of soil suppressiveness to *Fusarium* wilts. ***Soil Biology and Biochemistry***, Oxford, v.25, n.2, p.157-164, 1993.
05. ARSHAD, M.A.; MARTIN, S. Identifying critical limits for soil quality indicators in agro-ecosystems. ***Agriculture, Ecosystems and Environment***, Amsterdam, v.88, n.1, p.153-160, 2002.
06. ASSUNÇÃO, I.P.; MICHEREFF, S.J.; BROMMONSCHENKEL, S.H.; ELOY, A.P.; ROCHA JÚNIOR, O.M.; DUDA, G.P.; NASCIMENTO, C.W.A.; NASCIMENTO, R.S.M.P.; RODRIGUES, J.J.V. Caracterização de solos de Pernambuco quanto a supressividade à murcha-de-fusário do caupi. ***Summa Phytopathologica***, Botucatu, 2003 (aceito).
07. COELHO, R.S.B. Doenças fúngicas do caupi. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DO CAUPI, 5., 2001, Teresina. ***Anais ...*** Teresina: Embrapa Meio Norte, 2001. p.321-322.
08. COOK, R.J.; BAKER, K.F. ***The nature and practice of biological control of plant pathogens***. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1983. 539p.

09. DOMÍNGUEZ, J.; NEGRÍN, M.A.; RODRÍGUEZ, C.M. Aggregate water-stability, particle-size and soil solutios properties in conducive and suppressive soils to Fusarium wilt of banana from Canary Islands (Spain). **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.33, n.4-5, p.449-455, 2001.
10. EMBRAPA. **Manual de métodos de análises de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1997. 212p.
11. FINNEY, D.J. **Probit analysis**. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1971. 345p.
12. JONES, J.P., ENGELHARD, A.W., WOLTZ, S.S. Management of Fusarium wilt of vegetables and ornamentals by macro- and microelement nutrition. In: ENGELHARD, A.W. (Ed.) **Soilborne plant pathogens: management diseases with macro- and microelements**. St. Paul: APS Press, 1989. p.18-32.
13. KING, E.O., WARD, M.K. BANEY, D.E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. **Journal of Laboratory Clinical Medicine**, London, v.44, p.301-307, 1954.
14. KO, W.H.; HORA, F.K.; HERLISCSKA, E. Isolation and identification of a volatile fungistatic substance from alkaline soil. **Phytopathology**, St. Paul, v.64, n.12, p.1657-1662.

15. LARKIN, R.P.; HOPKINS, D.L.; MARTIN, F.N. Ecology of *Fusarium oxysporum* f sp. *niveum* in soils suppressive and conducive to Fusarium wilt of watermelon. **Phytopathology**, St. Paul, v.83, n.10, p. 1105-1116.
16. LEONG, S. Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.24, p.187-209, 1986.
17. McKINNEY, R.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v.26, n.5, p.195-218, 1923.
18. PENG, H.X.; SIVASITHAMPARAM, K.; TURNER, D.W. Chlamydospore germination and Fusarium wilt of banana plantlets in suppressive and conducive soils area affected by physical and chemical factors. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.31, n.10, p.1363-1374, 1999.
19. SCHOONHOVEN, A.V.; PASTOR-CORRALES, M.A. **Sistema estándar para la evaluación de germoplasma de frijol**. Colômbia: CIAT, 1987. 56p.
20. SUGHA, S.K.; KAPOOR, S.K.; SINGH, B.M. Soil characteristics and their relation to Fusarium wilt of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Tropical Science**, Oxford, v.34, p.282-288, 1994.

21. TOYOTA, K.; YAMAMOTO, K.; KIMURA, M. Mechanisms of suppression of *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani* in soils so-called suppressive to Fusarium-wilt of radish. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v.40, n.3, p.373-380, 1994.

22. TUIITE, J. **Plant pathological methods: fungi and bacteria**. Minneapolis: Burgess, 1969. 239p.

23. WELLER, D.M.; RAAIJMAKERS, J.M.; GARDENER, B.B.M; TOMASHOW, L.S. Microbial populations responsible for specific suppressiveness to plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.40, p.309-348, 2002..

Quadro 1. Características físicas e químicas dos solos utilizados no estudo com a murcha-de-fusário do caupi.

Solo ¹	Classe ²	Textura ³	pH	P	K	Na	Ca	Ca+Mg	Al	H+Al	Fe	Mn	Zn	C/N	M.O.
				mg/dm ³	mg/dm ³	mg/dm ³	mg/dm ³	c/mol _e /dm ³	c/mol _e /dm ³	mg/dm ³	mg/dm ³	mg/dm ³	%		
CAC	Ps	FAr	8,1	10,0	0,20	1,83	3,85	7,80	0,30	0,33	52,4	34,5	12,6	3,7	0,2
GOI	Ph	Ar	5,1	1,6	0,08	0,04	0,65	0,90	0,53	3,38	16,0	0,00	14,1	7,0	1,0

¹CAC = Cachoeirinha; GOI = Goiana

²Classificação edáfica: Ps = Planosol Solódico; Ph = Podzol Hidromórfico

³FAr = Franco arenoso; Ar = areia

Quadro 2. Severidade da murcha-de-fusário em duas cultivares de caupi aos 40 dias após o plantio, em dois solos infestados com *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum*.

Solo ¹	Cultivares	
	BR 17 Gurguéia	IPA 206
CAC	12,5 bA ²	0,0 bB
GOI	89,9 aA	85,6 aA
CV (%) = 6,34		

¹CAC = Cachoeirinha; GOI = Goiana

²Dados originais. Para efeito de análise, os dados foram transformados em $x^{0.5}$. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna vertical e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si (Duncan 5%).

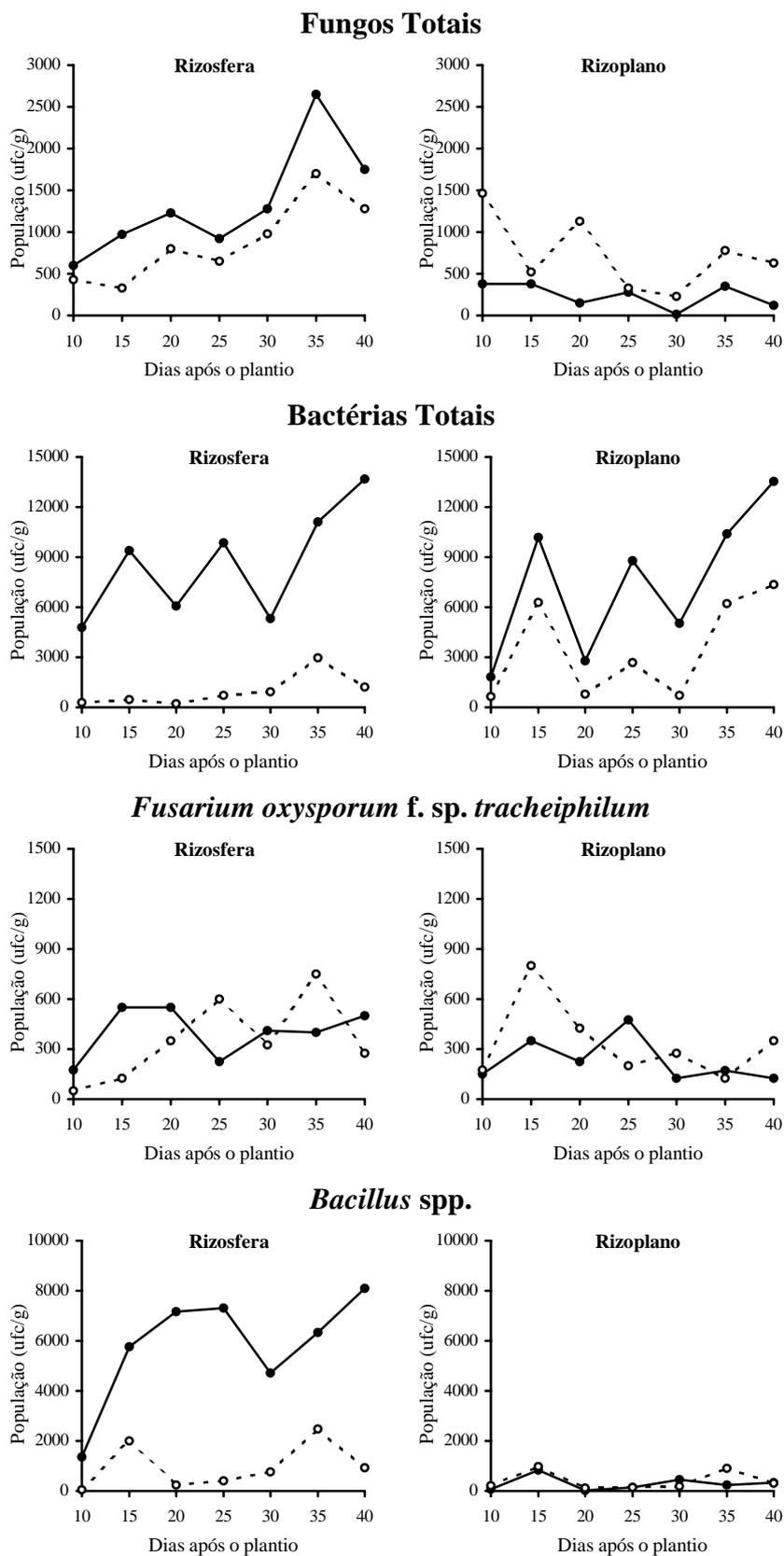


Figura 1. Flutuação populacional de microrganismos na rizosfera e no rizoplane da cultivar de caupi BR 17 Gurguéia nos solos CAC - supressivo (linhas contínuas) e GOI – condutivo (linhas pontilhadas) à murcha-de-fusário, infestados com *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum*.

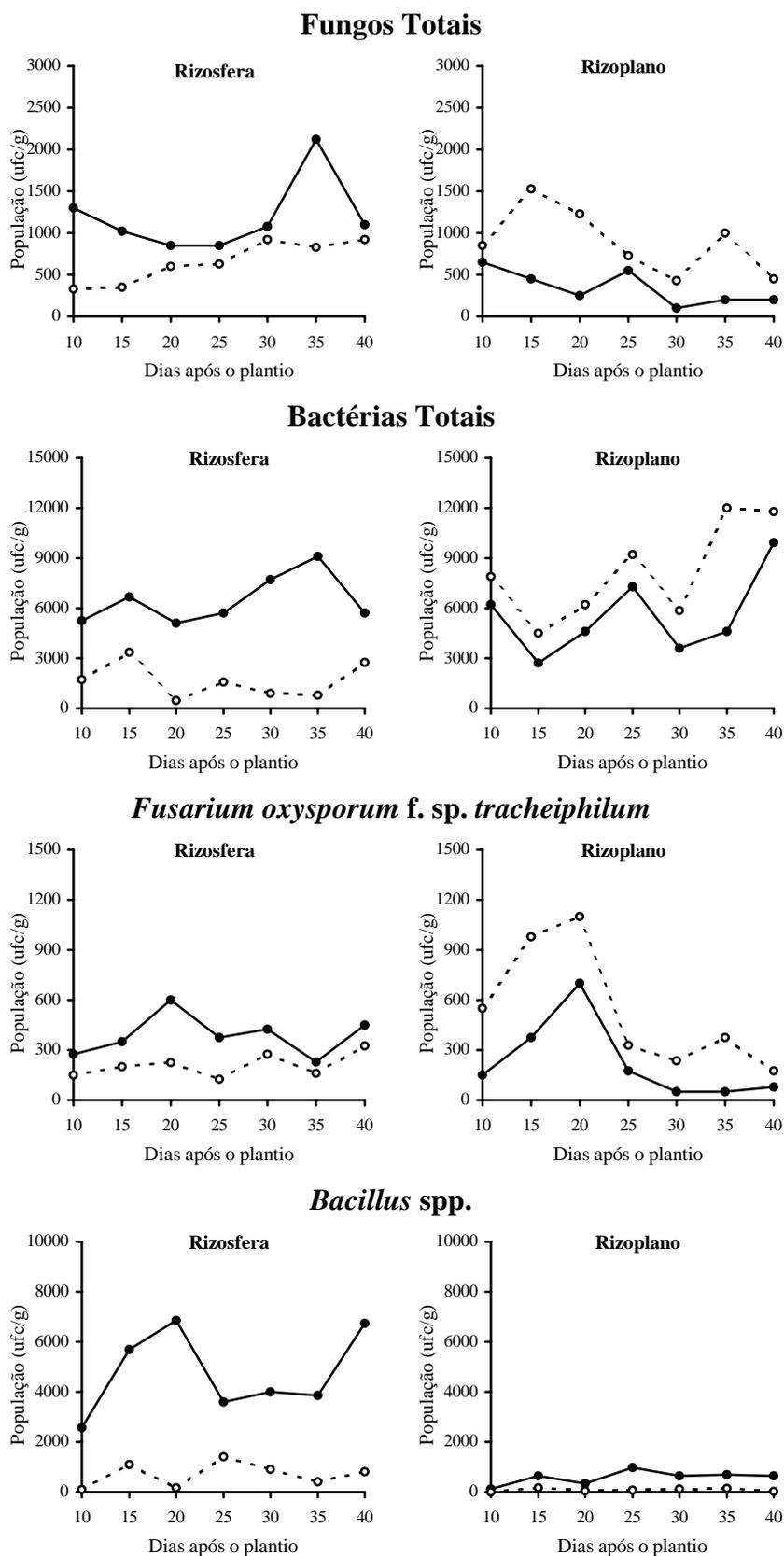


Figura 2. Flutuação populacional de microrganismos na rizosfera e no rizoplano da cultivar de caupi IPA 206 nos solos CAC - supressivo (linhas contínuas) e GOI - condutivo (linhas pontilhadas) à murcha-de-fusário, infestados com *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum*.

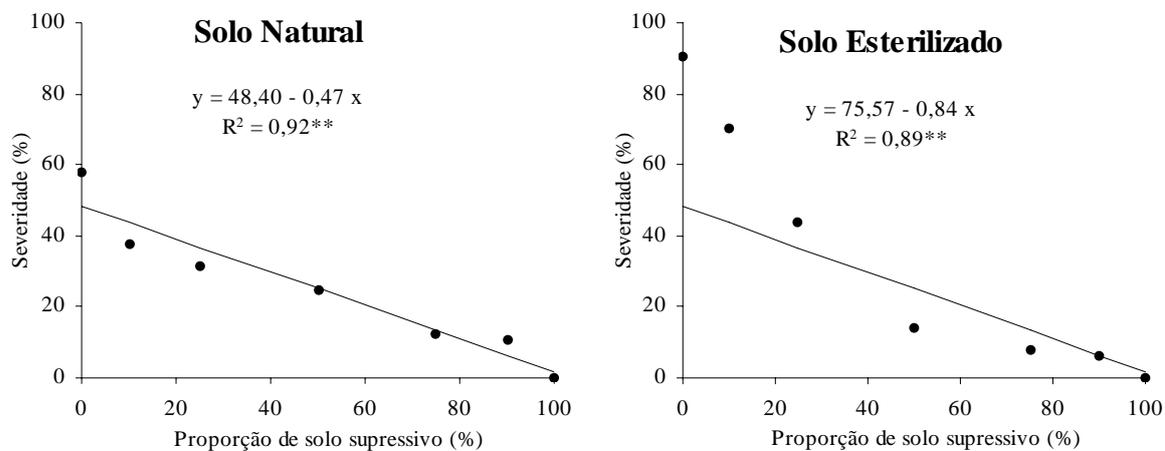


Figura 3. Severidade da murcha-de-fusário do caupi (cv. BR 17 Gurguéia) em diferentes proporções de mistura dos solos supressivo (CAC) e conducive (GOI), naturais e esterilizados, infestados com *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum*.

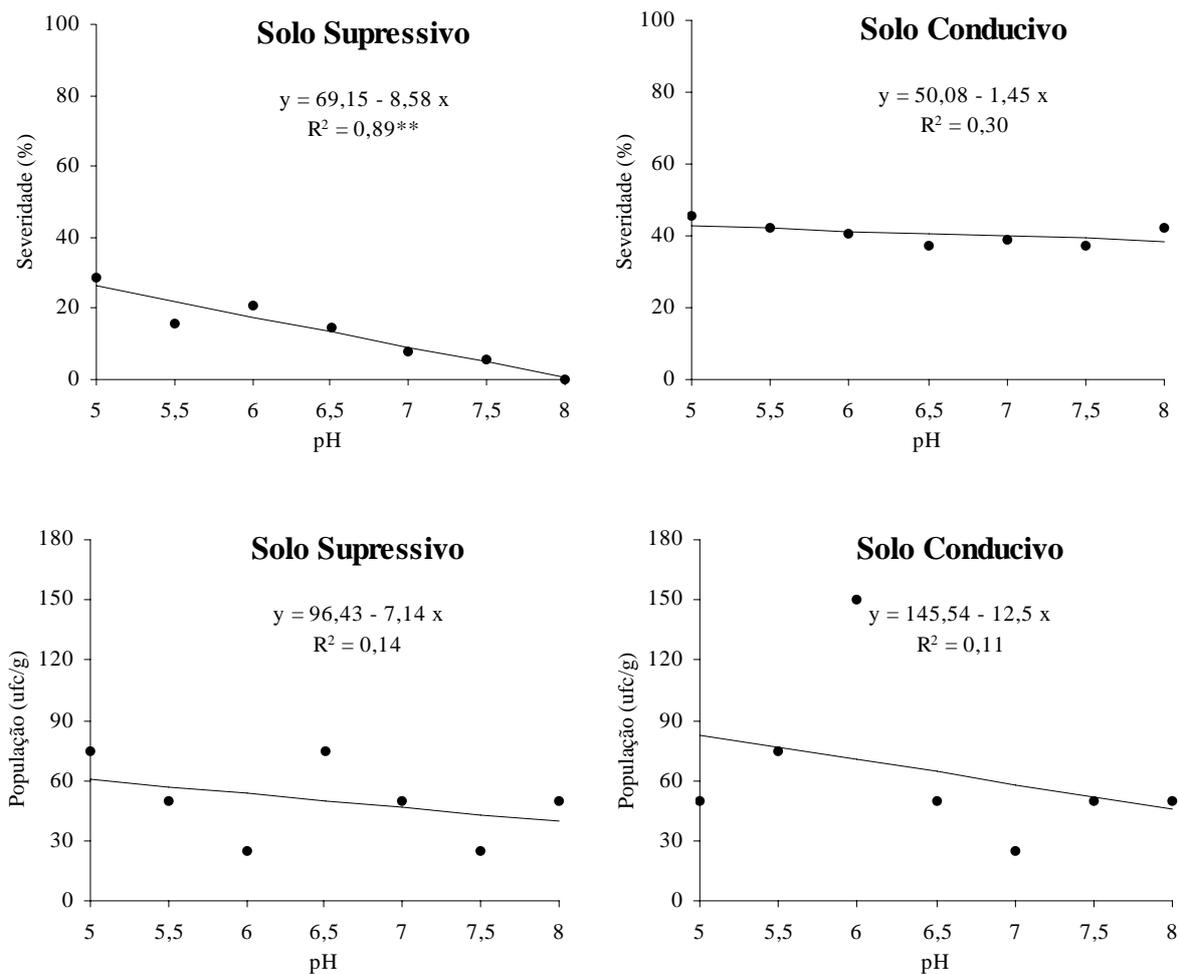


Figura 4. Influência do pH na severidade da murcha-de-fusário do caupi (cv. BR 17 Gurguéia) e na população de *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum* nos solos supressivo (CAC) e condutivo (GOI).

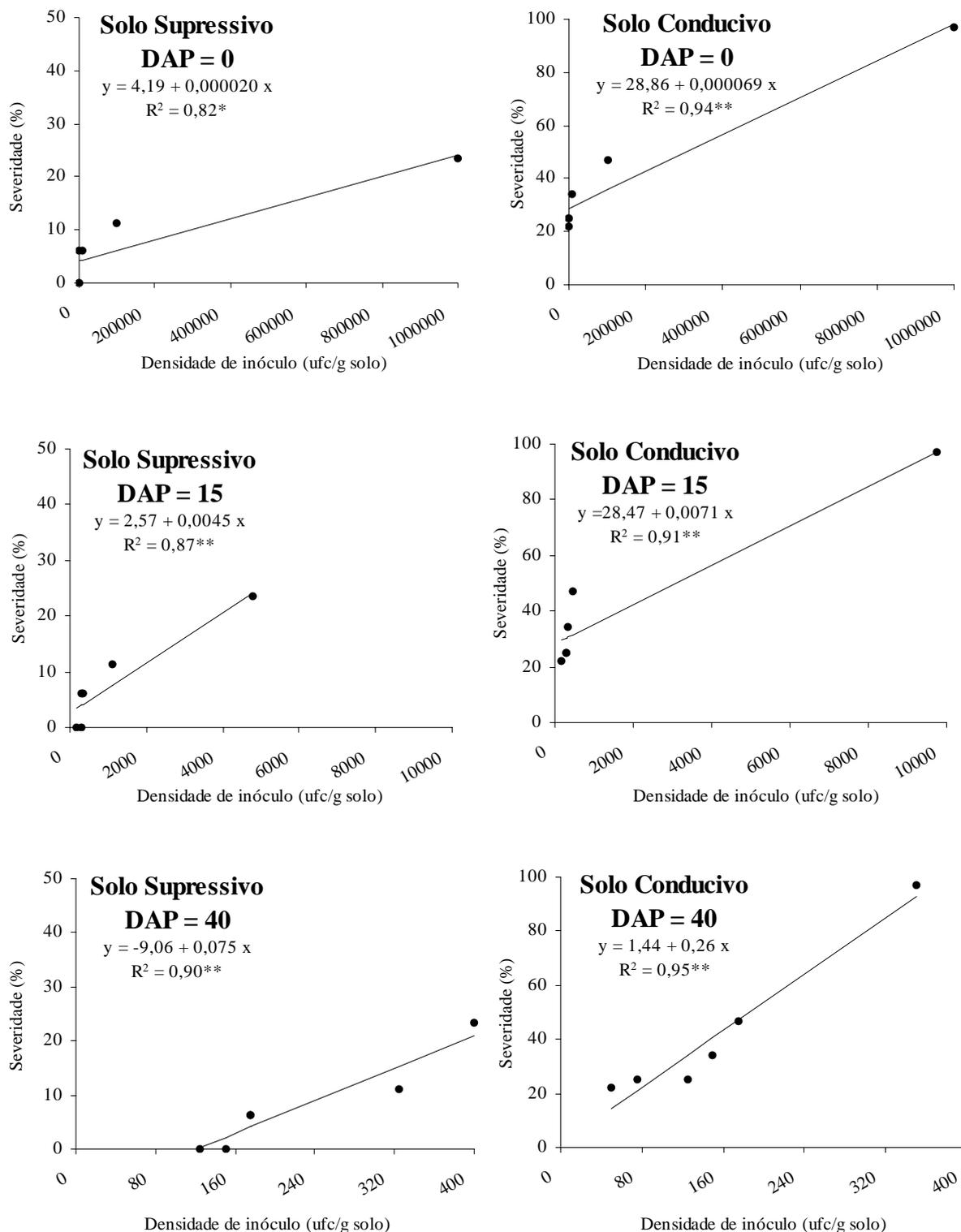


Figura 5. Influência da densidade do inóculo de *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum* aos 0, 15 e 40 dias após plantio (DAP) de caupi (cv. BR 17 Gurguéia) na severidade da murcha-de-fusário aos 40 DAP, em solos supressivo (CAC) e condutivo (GOI).

Capítulo III

Influência da murcha-de-fusário no rendimento do caupi em duas épocas de plantio

Influência da murcha-de-fusário no rendimento do caupi em duas épocas de plantio

Arlinda P. Eloy & Sami J. Michereff*

Área de Fitossanidade, Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, CEP 52171-900, Recife, PE.. E-mail: arlindaeloy@bol.com.br

Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco. Bolsista da CAPES.

*Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq.

Aceito para publicação em:

RESUMO

Eloy, A.P.; Michereff, S.J. Influência da murcha-de-fusário no rendimento do caupi em duas épocas de plantio. *Summa Phytopathologica*

A murcha-de-fusário, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, é uma importante doença do caupi no Nordeste brasileiro. Com o objetivo de determinar a relação entre a severidade da doença e as reduções no rendimento de sementes de caupi cultivado em duas épocas, foram conduzidos experimentos em parcelas artificialmente infestadas com o patógeno, respectivamente em abril e outubro de 2002. Na fase de colheita de cada época de plantio, foi determinado o rendimento por parcela, representado pelo peso total de sementes por planta. Após a colheita, a severidade da murcha-de-fusário foi avaliada em todas as plantas. Não foram constatadas correlações significativas entre as densidades de inóculo do patógeno detectadas nas parcelas antes do plantio e os níveis de severidade da doença. Nas parcelas não infestadas pelo patógeno, o rendimento no primeiro plantio foi superior ao do

segundo plantio, o que pode ter sido consequência do estresse hídrico a que as plantas foram submetidas na fase de pré-floração. Não foram constatadas diferenças entre os níveis médios de severidade da doença e de perdas de rendimento nos dois períodos de cultivo. A severidade da murcha-de-fusário variou entre 3,2 e 93,3%, enquanto as perdas de rendimento entre 2,2 e 98,1%. O modelo de regressão linear simples, sem a transformação dos dados, possibilitou ajuste adequado para análise da relação entre a severidade da murcha-de-fusário e reduções de rendimento do caupi nas duas épocas de cultivo, ficando comprovada a influência significativa da severidade nos níveis de redução de rendimento.

Palavras-chave adicionais: *Vigna unguiculata*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, murcha vascular, produção vegetal.

ABSTRACT

Eloy, A.P.; Michereff, S.J. Influence of Fusarium wilt in cowpea yield cultivated in two times. *Summa Phytopathologica*

The Fusarium wilt, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, is an important cowpea disease in the of Northeast Brazil. Aiming to determine the relationship between of disease severity and the reduction of cowpea yield, cultivated during two different period of time, two essays were carried out using plots artificially infested with the pathogen, respectively in April and October. At the harvest, yield for each plot was determined as the total weight of seed per plant. After harvest, the severity of Fusarium wilt was evaluated in all plants. There was no significant correlation between inoculum density of the pathogen present in the soil before planting and the disease severity. The yield in the first planting period was higher than in the second one, in non-infested plots, what may have been due to the water stress to which the plants were submitted right before the blossom.. Differences between the disease severity average levels and yield losses were not verified for both essays.

Fusarium wilt severity ranged from 3.2 and 93.3%, while the yield losses ranged from 2.2 and 98.1%. The model of simple linear regression, without data transformation, fitted the data in relation to Fusarium wilt severity and yield losses of both planting times, which proved the significant influence of the severity on yield loss levels.

Additional key-words: Vigna unguiculata, Fusarium oxysporum f. sp. tracheiphilum, vascular wilt, crop production.

No Nordeste brasileiro é expressiva a importância da cultura do caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], cujos grãos constituem uma das principais fontes de proteínas para a população, principalmente na região semi-árida. O Estado de Pernambuco é um dos principais produtores dessa leguminosa, e as áreas de produção concentram-se nas microrregiões do Agreste e do Sertão (14). Apesar da grande adaptação às condições edafo-climáticas regionais, a produtividade média do caupi tem sido reduzida, atingindo cerca de 350 kg/ha (4), devido a fatores adversos como plantio em novas áreas com mesoclimas menos propícios para a cultura, utilização de cultivares com potencial genético reduzido e ocorrência de doenças e pragas (9).

As doenças têm causado perdas de produção do caupi devido à redução da quantidade e da qualidade dos grãos (18), destacando-se a murcha-de-fusário, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* (E.F. Smith) Snyder & Hansen, como uma das mais frequentes no Nordeste (10). Os sintomas da doença são mais comuns na fase reprodutiva da planta, mas podem ocorrer também em plantas jovens, caracterizando-se pela clorose e queda prematura de folhas, reduções do crescimento e, finalmente, murcha e morte das plantas. Os tecidos vasculares adquirem coloração castanho-escura e pode haver formação de intumescências na parte mais baixa do caule (13, 17).

Em campos de produção de caupi na Índia, foram registradas reduções no rendimento de até 75% devido à murcha-de-fusário (2), embora as estimativas não tenham se baseado em dados experimentais, sendo pouco confiáveis. A relação entre intensidade de doenças radiculares e reduções no rendimento de cultivos tem sido pouco estudada (5), principalmente para patossistemas tropicais.

Para doenças monocíclicas, altamente dependentes da quantidade de inóculo inicial, a determinação da redução do rendimento em função da intensidade da doença tem sido realizada pela utilização de diferentes densidades de inóculo para gerar diferentes intensidades de doença e, conseqüentemente, diferentes quantidades de produção (5). Em estudo previamente realizado em solo infestado artificialmente com *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* (3), foram estabelecidas relações quantitativas consistentes entre reduções de rendimento e intensidade da murcha-de-fusário do caupi. As perdas de produção foram devidas a um significativo decréscimo no número de vagens e de sementes por planta, sem influência no peso médio das sementes, sendo registradas reduções de até 86,5% no rendimento de sementes. Esse estudo foi pioneiro na análise das reduções de rendimento do caupi devido à murcha-de-fusário, no entanto, as estimativas foram realizadas somente em uma época de plantio, o que pode não ser representativo das condições de produção comercial.

Este trabalho teve como objetivo determinar a relação entre a severidade da murcha-de-fusário e as reduções no rendimento de sementes de caupi, cultivado em duas épocas.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na área experimental do Núcleo de Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Recife, PE), em solo argilo-arenoso (pH =

5,0; N total = 4,5 g/kg; P = 14 mg/dm³; K = 0,11 c/mol_c/dm³; Ca = 1,20 c/mol_c/dm³; Ca + Mg = 1,85 c/mol_c/dm³; Al = 0,40 c/mol_c/dm³; matéria orgânica = 1,0 %) acondicionado em parcelas constituídas de manilhas de concreto (1,0 m de diâmetro e 1,0 m de profundidade). Foram utilizadas 52 parcelas, das quais 48 haviam sido infestadas com diferentes densidades da mistura do inóculo de dois isolados de *F. oxysporum* f.sp. *tracheiphilum* (FL e PI), procedentes de áreas de plantio de caupi dos municípios de Floresta (PE) e Parnaíba (PI), respectivamente, com a obtenção de gradientes de densidades de inóculo nas diferentes microparcelas infestadas (3). As quatro parcelas que não foram infestadas pelo patógeno constituíram as testemunhas. Em todas as parcelas havia sido cultivado caupi no período de outubro de 2001 a fevereiro de 2002, sendo posteriormente mantidas em pousio até o início dos experimentos. Os tratamentos utilizados foram duas épocas de plantio: 1) época chuvosa - mês de abril e 2) época seca - mês de outubro. Os plantios foram efetuados no ano de 2002.

Três dias antes de cada plantio foram coletadas amostras de solo das 52 parcelas para análise da população de *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*. Na determinação da população foi utilizado o método de diluição em série, seguido do plaqueamento em meio de cultura peptona-PCNB-água e posterior estimativa do número de unidades formadoras de colônias (ufc)/g de solo (7).

Nas duas épocas, as parcelas foram plantadas com a cultivar de caupi BR 17 Gurguéia, classificada como altamente suscetível a *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* (1). As sementes foram desinfestadas com NaClO a 1,5 % e tratadas com pentacloronitrobenzeno, na dosagem de 260 g/100 kg sementes, para o controle de podridões de sementes e tombamentos de pré-emergência. Em cada parcela foram semeadas 30 sementes e aos 10 dias após o plantio foi efetuado o desbaste, sendo mantidas 20 plantas por parcela. As plantas invasoras nas parcelas foram removidas manualmente e os insetos controlados com a aplicação do inseticida monocrotophos, na dosagem 2 mL/1000 mL de água, quando necessário.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos, representados pelas épocas de plantio, com 48 repetições, sendo cada unidade experimental constituída por uma parcela com 20 plantas. As testemunhas consistiram de parcelas não infestadas com o inóculo.

Os dados de temperatura, umidade relativa do ar e precipitação pluvial total foram obtidos diariamente em estação meteorológica situada a 4 km da área experimental.

O rendimento do caupi foi determinado ao final de cada estação de cultivo, entre 3 a 3 meses e meio após a semeadura, obtendo-se, em cada parcela, o peso total de sementes por planta. A porcentagem de redução de rendimento (PR) devido à murcha-de-fusário foi calculada utilizando a fórmula: $PR = [(RPS - RPD)/RPS] \times 100$, onde RPS = rendimento na parcela sadia (testemunha) e RPD = rendimento na parcela doente.

Depois de concluída a colheita, a severidade da murcha-de-fusário foi avaliada em todas as plantas da parcela com o auxílio de uma escala de notas (0 a 5) adaptada de HARRIS & FERRIS (11), onde: 0 = sem colonização vascular; 1 = colonização da raiz; 2 = colonização do hipocótilo; 3 = colonização até o primeiro internódio; 4 = colonização até o segundo internódio; 5 = colonização até o terceiro internódio. Com os dados obtidos foi calculado o índice de intensidade da doença, conforme McKINNEY (15).

As comparações do rendimento de sementes do caupi nas parcelas não infestadas pelo patógeno, bem como da severidade e da redução do rendimento nas parcelas infestadas, entre as duas épocas de cultivo, foi efetuada pelo teste *t* para amostras independentes, ao nível de 5% de probabilidade, enquanto a redução no rendimento de sementes nas duas épocas em cada parcela, bem como dos níveis de severidade da murcha-de-fusário nas duas épocas em cada parcela, foram também comparadas pela análise de correlação de Pearson, ao nível de 5% de probabilidade. A relação entre redução no rendimento do caupi e severidade da doença, em cada época de cultivo, foi determinada pela análise de regressão linear simples, tendo

intensidade da doença como variável independente e a redução de rendimento de sementes como variável dependente. A significância das regressões foi verificada pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade, enquanto os parâmetros das regressões obtidas nas duas épocas de cultivo foram comparados por intervalo de confiança, utilizando os erros padrões (8).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram detectadas populações de *F. oxysporum* nas parcelas testemunhas, enquanto nas parcelas infestadas a densidade de inóculo variou entre $1,2 \times 10^1$ e $7,8 \times 10^3$ ufc/g de solo, aos três dias antes do plantio. Não foram constatadas correlações significativas entre as densidades de inóculo do patógeno detectadas nas parcelas antes do plantio e os níveis de severidade da doença, semelhante ao verificado por ASSUNÇÃO *et al.* (3) em experimento realizado nas mesmas parcelas. No entanto, esses resultados divergem dos observados em estudos de redução no rendimento do grão-de-bico devido à murcha-de-fusário, causada por *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* (12, 16).

Durante o primeiro período de cultivo do caupi (abril-julho) a temperatura média foi $26,2 \pm 5,2$ °C, a umidade relativa média foi $80,4 \pm 5,8$ % e a precipitação total foi 312 mm, distribuída em 22 dias de pluviosidade, enquanto no segundo período (outubro-janeiro) a temperatura média foi $28 \pm 4,9$ °C, a umidade relativa média foi $77 \pm 6,2$ % e a precipitação total foi 184 mm, distribuída em 11 dias de pluviosidade. Nesse último período, as plantas passaram por estresse hídrico no estágio R5 (pré-floração) (20), devido à ausência de chuvas.

Nas parcelas não infestadas pelo patógeno, o rendimento de sementes de caupi (cv. BR 17 Gurguéia) no primeiro cultivo (abril - julho) foi significativamente ($P < 0,05$) superior ao obtido no segundo cultivo (outubro - janeiro) (Quadro 1), o que pode ter sido consequência do estresse hídrico a que as plantas foram submetidas, no segundo cultivo.

A severidade da murcha-de-fusário verificada nas 48 parcelas infestadas pelo patógeno variou entre 3,2 e 88,3 % no primeiro cultivo e entre 5,3 e 93,3 % no segundo, não sendo constatada diferença significativa ($P < 0,05$) entre os níveis médios de severidade nos dois períodos (Quadro 1). Correlações significativas ($P < 0,05$) foram constatadas entre os níveis de severidade da doença no primeiro e no segundo cultivo ($r = 0,72$). Na maioria das situações, os sintomas da murcha-de-fusário tornaram-se evidentes somente após o início da formação das vagens, provavelmente em virtude da maior demanda fisiológica da planta para mobilização de reservas visando a formação e enchimento dos grãos, motivo pelo qual avaliações efetuadas precocemente podem não ser representativas..

No primeiro cultivo, as reduções de rendimento de sementes de caupi variaram de 7,2 a 67,3 %, enquanto no segundo de 2,2 a 98,1 %, sem haver diferença significativa ($P < 0,05$) entre as reduções médias de rendimento nos dois períodos (Quadro 1). Foram constatadas correlações significativas ($P < 0,05$) entre as reduções no rendimento de sementes em cada parcela no primeiro e no segundo plantio ($r = 0,77$). Os níveis máximos de severidade da doença e de redução no rendimento registrados no plantio de outubro de 2002, foram superiores aos verificados no ano anterior na mesma cultivar e época de plantio (3).

O estresse hídrico a que as plantas foram submetidas no segundo plantio não afetou os níveis de severidade da doença e de reduções de rendimento na cultura devido à doença, embora tenha afetado significativamente o rendimento da cultura na ausência da doença. Esses resultados divergem da observação de ALLEN (2), na qual a murcha-de-fusário do caupi ocorre com maior intensidade em regiões secas e com altas temperaturas, onde as plantas estão mais sujeitas a estresse.

Em virtude da falta de correlação entre os níveis de inóculo e a severidade da doença, a análise foi efetuada considerando a relação entre os níveis de severidade da murcha-de-fusário e as reduções de rendimento em cada safra nas parcelas. Independentemente da época

de plantio do caupi, a severidade da murcha-de-fusário influenciou significativamente no rendimento da cultura, sendo que as reduções aumentaram com a elevação da severidade da doença (Figura 1).

O modelo de regressão linear simples, sem a transformação dos dados, possibilitou ajuste adequado para análise da relação entre a severidade da murcha-de-fusário e reduções de rendimento do caupi nas duas épocas de cultivo ($0,61 \leq R^2 \leq 0,67$), assemelhando-se ao constatado no mesmo patossistema (3) e em outros estudos (6, 19) em que foi utilizado o modelo de ponto crítico para a análise das perdas de rendimento devido às doenças radiculares.

Não foram constatadas diferenças significativas entre as épocas de cultivo de caupi em relação à quantidade inicial de perdas e a taxa de perda, representadas pelos parâmetros “a” e “b” das equações de regressão, respectivamente (Figura 1). Os resultados evidenciaram a existência de proporcionalidade entre rendimento e perdas devido à murcha-de-fusário nas épocas analisadas, pois embora na ausência da doença o primeiro plantio tenha apresentado rendimento superior ao segundo, com a doença as perdas foram percentualmente similares, ou seja, o primeiro plantio apresentou maior rendimento, mas as perdas foram proporcionalmente mais elevadas.

As taxas de perdas de rendimento de sementes nas parcelas infestadas verificadas nesse estudo (0,58 e 0,67) foram similares à constatada na mesma cultivar (0,68) em plantio realizado seis meses antes por ASSUNÇÃO et al. (3), enquanto as quantidades iniciais de perdas de rendimento (3,39 e 5,31) foram inferiores ao verificado pela autora (13,78), provavelmente devido ao plantio ter sido efetuado 10 dias após a infestação do solo naquele trabalho, enquanto neste o plantio foi realizado seis meses após a infestação.

Houve influência da severidade da murcha-de-fusário nos níveis de redução de rendimento em caupi, confirmando que estimativas de perdas de rendimento dessa cultura

sem considerar os níveis de intensidade da doença são imprecisas e pouco confiáveis. Os modelos de perdas estimados constituem passo importante para a compreensão da relação entre intensidade da murcha-de-fusário e reduções de rendimento do caupi, podendo constituir a base para o desenvolvimento de sistemas de manejo integrado da doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBUQUERQUE, M.P.; COELHO, R.S.B.; PEREZ, J.O. Avaliação de linhagens e cultivares de caupi (*Vigna unguiculata*) em relação a *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*. **Caderno Ômega, Série Agronomia**, Recife, n.12, p.5-7, 2001.
2. ALLEN, D.J. **The pathology of tropical food legumes: disease resistance in crop improvement**. New York: John Wiley & Sons, 1983. 413p.
3. ASSUNÇÃO, I.P.; MICHEREFF, S.J.; MIZUBUTI, E.S.G.; BROMMONSCHENKEL, S.H. Influência da intensidade da murcha-de-fusário no rendimento do caupi. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, 2003 (aceito).
4. BENEVENUTTI, V. **Gestão governamental de apoio à produção de feijão: o caso Pernambuco (1991 – 1994)**. Recife, 1996. 160p. Dissertação (Mestrado em Administração Rural e Comunicação Rural) - Universidade Federal Rural de Pernambuco.
5. BENSON, D.M. Inoculum. In: CAMPBELL, C.L.; BENSON, D.M. (Eds.) **Epidemiology and management of root diseases**. Heidelberg: Springer-Verlag, 1994. p.1-33.

6. BOWEN, K.L.; HAGAN, A.K.; WEEKS, R. Seven years of *Sclerotium rolfsii* in peanut fields: yield losses and means of minimization. **Plant Disease**, St. Paul, v.76, n.10, p.982-985, 1992.
7. BURGESS, L.W.; SUMMERELL, B.A.; BULLOCK, S.; GOTT, K.P.; BACKHOUSE, D. **Laboratory manual for *Fusarium* research**. 3. ed. Sydney: University of Sydney, 1994. 133p.
8. CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley & Sons, 1990. 532p.
9. CASTRO, N.R. **Caracterização fisiológica de *Cercospora cruenta* Sacc. e controle genético de Cercosporiose em caupi**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2000. 48p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade).
10. COELHO, R.S.B. Doenças fúngicas do caupi. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DO CAUPI, 5., 2001, Teresina. **Anais ...** Teresina: Embrapa Meio Norte, 2001. p.321-322.
11. HARRIS. A.R.; FERRIS, H. Interactions between *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* and *Meloidogyne* spp. in *Vigna unguiculata*. A. Effects of different inoculum densities on Fusarium wilt. **Plant Pathology**, London, v.40, n.3, p.445-456, 1991.

12. HAWARE, M.P.; NENE, Y.L. Influence of wilt at different stages on the yield loss in chickpea. **Tropical Grain Legume Bulletin**, London, v.19, p.38-40, 1980.
13. HOLLIDAY, P. *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1970. 1p. (C.M.I. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, 220).
14. IBGE. **SIDRA 2000** - Sistema IBGE de recuperação automática. Rio de Janeiro: 2003. Disponível em:<http://www.sidra.ibge.gov.br>. acesso em: 10 fev. 2003.
15. McKINNEY, R.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v.26, n.5, p.195-218, 1923.
16. NAVAS-CORTÉS, J.A.; HAU, B.; JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M. Yield loss in chickpea in relation to development of Fusarium wilt epidemics. **Phytopathology**, St. Paul, v.90, n.11, p.1269-1278, 2000.
17. POLTRONIERI, L.S.; TRINDADE, D.R.; SILVA, J.F. **Principais doenças do caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp. no Pará e recomendações de controle**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1994. 24p.
18. RIOS, G.P. Doenças fúngicas e bacterianas do caupi. In: ARAÚJO, J.P., WATT, E.E. (Eds.) **O caupi no Brasil**. Goiânia: EMBRAPA-CNPAF, 1988. p.549-589.

19. RODRÍGUEZ-KÁBANA, R., BACKMAN, P.A., WILLIAMS, J.C. Determination of yield losses of *Sclerotium rolfsii* in peanut fields. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v.59, n.9, p.855-858, 1975.

20. SCHOONHOVEN, A.V.; PASTOR-CORRALES, M.A.. **Sistema estándar para la evaluación de germoplasma de frijol**. Colômbia: CIAT, 1987. 56p.

Quadro 1. Rendimento de sementes de caupi (cultivar BR 17 Gurguéia) cultivado em parcelas não infestadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, severidade da murcha-de-fusário e redução no rendimento em parcelas infestadas, em duas épocas de plantio, em Recife – PE, 2002

Época de plantio	Rendimento de sementes (g/planta)	Severidade (%)	Redução no rendimento (%)
Abril	17,2 a*	54,0 a	38,2 a
Outubro	9,5 b	51,6 a	36,7 a

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste *t* para amostras independentes (P=0,05).

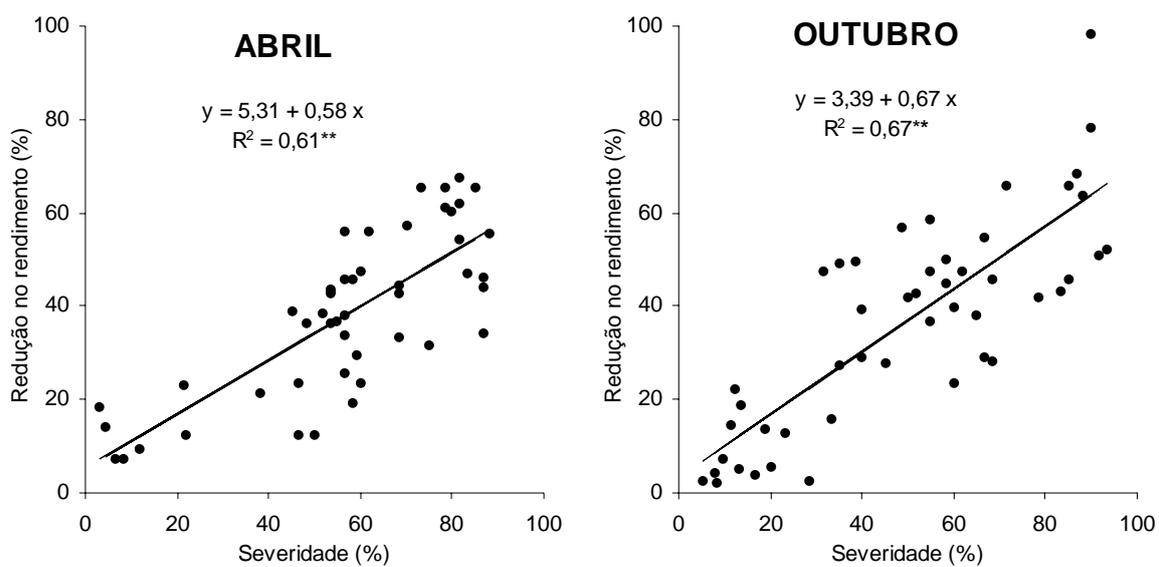


Figura 1. Relação entre severidade da murcha-de-fusário e redução no rendimento de sementes de caupi (cv. BR 17 Gurguéia) plantado em duas épocas (abril e outubro), em Recife - PE.

Conclusões Gerais

CONCLUSÕES GERAIS

1. Foi confirmada a supressividade do solo de Cachoeirinha e condutividade do solo de Goiana à murcha-de-fusário de caupi;
2. As populações de fungos totais, bactérias totais e *Bacillus* spp. foram maiores na rizosfera do solo supressivo que do condutivo.
3. O efeito supressivo do solo de Cachoeirinha não foi relacionado com a população de *F. oxysporum* f.sp. *tracheiphilum* no solo;
4. A supressividade do solo de Cachoeirinha à doença foi de natureza abiótica e transferível para o solo condutivo;
5. O pH do solo de Cachoeirinha foi um dos fatores abióticos envolvidos na supressividade;
6. A eficiência do inóculo do patógeno no solo supressivo foi inferior ao constatado no solo condutivo;
7. Os níveis de redução no rendimento de sementes do caupi foram influenciados pela severidade da murcha-de-fusário;
8. A época de cultivo não influenciou nos níveis médios de severidade da doença e de reduções do rendimento de sementes.