

Área: Fitopatologia

## **INFLUÊNCIA DE METODOLOGIA DE INOCULAÇÃO E DA CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO DE *Macrophomina phaseolina* NO DESENVOLVIMENTO DA PODRIDÃO-CINZENTA-DO-CAULE EM FEIJÃO-CAUPI**

**Laíze Raphaele Lemos Lima<sup>1</sup>; Marissônia de Araújo Noronha<sup>2</sup>; Kaesel Jackson Damasceno e Silva<sup>3</sup>;  
Ângela Celis de Almeida Lopes<sup>4</sup>; Maurisrael de Moura Rocha<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Mestranda em Genética e Melhoramento de Plantas na Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Teresina, PI. Email: dra\_lemos@hotmail.com.

<sup>2</sup> Pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Av. Beira Mar, 3250, Aracaju, SE.

<sup>3</sup> Pesquisador da Embrapa Meio-Norte, Av. Duque de Caxias, 5650, Teresina, PI.

<sup>4</sup> Profª Associada da Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Teresina, PI.

**Resumo** – A podridão-cinzenta-do-caule é uma doença radicular que acomete o feijão-caupi, sobretudo em áreas de cultivo sob estresse hídrico. Em ensaios visando à resistência de germoplasmas de feijão-caupi a *M. phaseolina*, a padronização de métodos de inoculação e da quantidade do inóculo a ser adotada é essencial para se obter êxito nas avaliações. Este trabalho teve como objetivo avaliar métodos de inoculação e o efeito da concentração do inóculo de *M. phaseolina* no desenvolvimento da podridão-cinzenta-do-caule em feijão-caupi (BRS Potengi). Os ensaios foram realizados na Embrapa Meio-Norte. Os métodos consistiram na infestação do solo, previamente esterilizado, com grãos de arroz com casca, sementes de crotalária infestados com o patógeno, na deposição de 10 mL de solução de conídios de *M. phaseolina* no colo da planta e na imersão das sementes em solução de conídios antes do plantio. A avaliação do efeito da concentração do inóculo de *M. phaseolina* em feijão-caupi foi efetuada pela infestação do solo antes do plantio, com cinco concentrações de inóculo, constituída por sementes de crotalária infestadas pelo patógeno. O delineamento foi inteiramente casualizado com cinco repetições, representadas por cinco plantas por vaso. A avaliação da doença foi efetuada 20 dias após a semeadura com o auxílio de uma escala de notas de zero a cinco. Dos métodos analisados o que mostrou melhor resultado com relação à severidade da doença foi o método da deposição de sementes de crotalária na cova de plantio, apresentando uma severidade de 60%. A análise de regressão mostrou que todas as concentrações de inóculo do patógeno causaram sintomas da doença, destacando a concentração de cinco sementes de crotalária na cova de plantio que apresentou maior severidade da doença, 43,68%.

**Palavras-chave:** severidade, *Vigna unguiculata*, doença radicular

### **Introdução**

O feijão-caupi é uma cultura amplamente cultivada nas regiões Norte e Nordeste do Brasil devido ao seu alto valor nutricional e sua adaptabilidade às condições ambientais adversas dessas regiões. Além de ser considerada uma planta rústica e com uma grande variabilidade genética, o que possibilita o seu fácil manuseio e plantio em qualquer tipo de sistema de produção. Esta cultura é acometida por diversas doenças que podem limitar sua produção e a qualidade do produto, dentre as quais, a podridão-cinzenta-do-caule, doença radicular

que acomete o feijão-caupi, sobretudo em áreas de cultivo sob estresse hídrico e causada pelo fungo *Macrophomina phaseolina*. Esta doença é comumente encontrada em muitos países da América Latina e África, causando sérios prejuízos em plantações de feijão, sobretudo em cultivares suscetíveis (ABAWI e PASTOR-CORRALES, 1990).

*Macrophomina phaseolina* é um fungo de natureza polífaga, cosmopolita, importante patógeno habitante do solo possuidor de uma alta variabilidade patogênica e alta capacidade de sobrevivência em condições extremamente adversas. Tem seu crescimento favorecido por altas temperaturas e baixa umidade do solo, sendo eficientemente transmitido por sementes, quando a mesma entra em contato com solo infestado pelo patógeno (ATHAYDE SOBRINHO, 2004; PEREIRA GOMES et. al., 2008).

Devido à grande importância dessa doença na cultura do feijão-caupi, o desenvolvimento de uma metodologia adequada à inoculação e a definição da concentração do inóculo do patógeno, constituem em uma importante ferramenta a ser utilizada na seleção de genótipos de feijão-caupi com resistência a *M. phaseolina*. De modo que, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a influência de métodos de inoculação e da concentração de inóculo de *M. phaseolina* no desenvolvimento da podridão-cinzenta-do-caule em feijão-caupi.

### **Material e Métodos**

Foram realizados dois ensaios sob condições de casa de vegetação localizada na Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI. Em ambos os ensaios, as sementes de feijão-caupi utilizadas foram da cultivar BRS Potengi, as quais foram previamente desinfestadas em solução de NaClO 1,5% e postas para secar em papel toalha.

O primeiro ensaio consistiu na avaliação de quatro métodos de inoculação que consistiram na infestação do solo, previamente esterilizado em autoclave (120°C durante uma hora), com grãos de arroz com casca, sementes de crotalaria infestados com o patógeno, na deposição de 10 mL de solução de conídios de *M. phaseolina* no colo da planta e na imersão das sementes em solução de conídios antes do plantio. Inicialmente, em vasos plásticos contendo solo esterilizado foi realizada a infestação do mesmo pela deposição em cada cova de três grãos de arroz com casca e sementes de crotalaria (*Crotalaria pallida*) previamente autoclavadas e colonizadas com o isolado MP 09 de *M. phaseolina* seguida da semeadura de cinco sementes de feijão-caupi (BRS Potengi) por vaso. As testemunhas consistiram na deposição de grãos de arroz e sementes de crotalaria não infestadas com o patógeno, seguida do plantio das sementes de feijão-caupi.

O método de deposição da suspensão de conídios de *M. phaseolina* no colo da planta, consistiu na deposição de 10 mL de suspensão de conídios ( $1,8 \times 10^6$  conídios mL<sup>-1</sup>) em sulcos em meia-lua realizados com o auxílio de espátula esterilizada, a 2,0 cm do caule e 4,0 cm de profundidade, ao redor de cada planta de feijão-caupi com 15 dias após o plantio, sendo estas plantas cultivadas em solo esterilizado. Para o método de imersão as sementes de feijão-caupi foram imersas em solução de conídios ( $1,8 \times 10^6$  conídios mL<sup>-1</sup>) durante 10 minutos e, em seguida, plantadas em solo previamente esterilizado. As testemunhas consistiram na deposição de 10 mL de água destilada esterilizada no colo da planta e na imersão das sementes durante 10 minutos em água destilada esterilizada. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso com cinco plantas e os tratamentos constituídos pela deposição de grãos de arroz e sementes de crotalaria na cova de plantio, na deposição de solução de conídios no colo da planta e na imersão das sementes em solução de conídios.

O segundo ensaio consistiu na avaliação do efeito da concentração de inóculo de *M. phaseolina* no desenvolvimento da podridão-cinzenta-do-caule em feijão-caupi (BRS Potengi). O ensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, sendo cinco concentrações de inóculo (um, dois, três, quatro e cinco sementes de crotalária colonizadas com o patógeno) com cinco repetições cada. A preparação do inóculo e a metodologia de inoculação das plantas seguiram o método da infestação do solo com o patógeno definida em função dos resultados obtidos no primeiro ensaio, sendo utilizado como inóculo sementes de crotalária colonizadas com o isolado MP 09 do patógeno. A testemunha consistiu da utilização da deposição de sementes de crotalária não infestadas pelo patógeno, seguida do plantio das sementes de feijão-caupi (BRS Potengi).

Nos dois ensaios as avaliações foram realizadas 20 dias após a semeadura e 20 dias após a deposição do inóculo, com o auxílio de uma escala de notas de zero a cinco, adaptada de Abawi e Pastor-Corrales (1990).

### Resultados e Discussão

A análise de variância realizada para os quatro métodos de inoculação (Tabela 1) mostrou que houve diferenças significativas ( $P \leq 0,01$ ) entre os mesmos, ou seja, os métodos de inoculação utilizados produziram respostas diferentes quanto a capacidade do patógeno causar sintomas de podridão-cinzenta-do-caule em plantas de feijão-caupi.

**Tabela 1.** Análise de variância dos quatro métodos de inoculação de *Macrophomina phaseolina* em feijão-caupi.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	3	6536,80	2178,93	40,0539 **
Resíduos	16	870,40	54,40	
Total	19	7407,20		

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $P \leq 0,01$ ).

Em uma análise geral, pode-se observar que a severidade da podridão-cinzenta-do-caule em plantas de feijão-caupi inoculadas pelo método de deposição de sementes de crotalária colonizados com o patógeno não diferiu estatisticamente ( $P \leq 0,05$ ) do método de deposição de grãos de arroz, sendo estes dois métodos responsáveis pela maior severidade da doença. Assim como, não houve diferenças entre os métodos de suspensão no colo da planta e infestação de sementes (Tabela 2).

O desenvolvimento e a padronização de metodologias são fundamentais em estudos que visem à identificação de fontes de resistência e a determinação precisa da reação de resistência ou de suscetibilidade a patógenos (COTA et. al., 2010). Dessa forma, o método onde o solo foi infestado com sementes de crotalária colonizados com o patógeno foi adotado no ensaio seguinte, onde foi avaliado o efeito da concentração do inóculo de *M. phaseolina* em feijão-caupi.

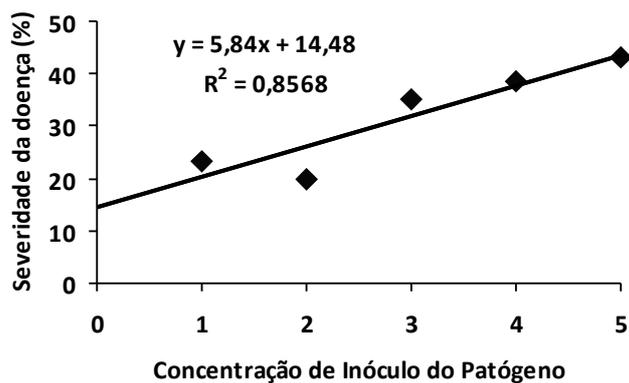
No experimento em que se avaliou o efeito da concentração, a análise de variância mostrou que a regressão linear foi significativa ( $P \leq 0,05$ ) indicando que é possível estabelecer uma relação linear entre o aumento das concentrações de inóculo e a elevação da severidade da podridão-cinzenta-do-caule em feijão-caupi.

**Tabela 2** – Severidade de *Macrophomina phaseolina* em plantas de feijão-caupi submetidas a quatro métodos de inoculação.

Métodos	Severidade da doença (%)
<sup>1</sup> Suspensão no colo da planta	19,2 b
<sup>2</sup> Infestação de sementes	20,8 b
<sup>3</sup> Infestação dos solo com arroz	51,2 a
<sup>3</sup> Infestação dos solo com crotalária	60,0 a
Média	37,8
CV(%)	19,51

<sup>1</sup>Método de deposição de suspensão de conídios no colo da planta. <sup>2</sup>Método de imersão das sementes em suspensão de conídios. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna vertical não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

A severidade da doença variou de 20,32 a 43,68% entre as concentrações de inóculo menor e maior, respectivamente (Figura 1). A maior concentração utilizada, cinco sementes de crotalária infestadas com o patógeno, resultou na maior severidade da doença, corroborando com o resultado obtido por Noronha et. al. (2010).



**Figura 1**- Efeito da concentração de inóculo de *Macrophomina phaseolina* na severidade da podridão-cinzenta-do-caule em feijão-caupi.

Pereira (2007) ao analisar a severidade de doenças em diferentes culturas observou que diferentes intensidades da doença podem ser geradas com diferentes concentrações de inóculo, pela reação diferenciada de cultivares e pela variação na agressividade ou virulência do patógeno.

Segundo Klingelfuss (2007), uma das maiores dificuldades encontrada em experimentos que visem à análise de metodologias de inoculação está relacionada à quantidade de inóculo presente em cada grão colonizado que é colocado no solo do vaso, que não é uniforme, mesmo quando são selecionados os grãos, que apresentam visualmente a mesma quantidade de inóculo, portanto, os sintomas podem ser mascarados, e assim, reduzir a precisão experimental.

## Conclusões

O método de infestação com sementes de crotalária colonizadas com o patógeno mostra-se eficiente em causar a podridão-cinzenta-do-caule em feijão-caupi. Todas as concentrações de inóculo do patógeno causam sintomas da doença, observa-se o aumento da severidade da doença em função do aumento da concentração de inóculo.

#### Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro.

#### Referências

- ABAWI, G. S.; PASTOR-CORRALES, M. A. **Root rots of bean in Latin America and Africa: diagnosis, research methodologies and management strategies**. Bogotá: Centro de Agricultura Tropical, 1990. 114p.
- ATHAYDE SOBRINHO, C. Patossistema caupi x *Macrophomina phaseolina*: método de detecção em sementes, esporulação e controle do patógeno. 147p. **Tese** (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2004.
- COTA, L.V.; COSTA, R.V. da; GUIMARÃES, P.E.; GUIMARÃES, L.J.M.; PARENTONI, S.N.; PACHECO, C.A.P.; SILVA, D.D.da; PARREIRA, D. F. **Métodos de inoculação de *Colletotrichum graminicola* em colmo de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. 7 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 137).
- KLINGELFUSS, L.H.; YORINORI, J.T.; DESTRO, D. Métodos de inoculação para quantificação de resistência em soja à *Fusarium solani* f. sp. *glycines*, em casa-de-vegetação. **Fitopatologia Brasileira**, vol. 32, p.50-55, 2007.
- NORONHA, M. de A.; GONÇALVES, S. R.; SILVA, H. K.; SILVA, K. J. D. e . Influência da concentração de inóculo de *Macrophomina phaseolina* na severidade da doença em genótipos de feijão-caupi. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, 2010.
- PEREIRA, M. J.Z. Resistência do feijoeiro a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. 103p. **Tese** (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG, 2007.
- PEREIRA GOMES, D.; CAMPOS SILVA, G.; KRONKA, A. Z.; BARROS TORRES, S.; RODRIGUES DE SOUZA, J. Qualidade fisiológica e incidência de fungos em sementes de feijão-caupi produzidas do Estado do Ceará. Universidade Federal Rural do Semi-Árido, **Revista Caatinga**, vol. 21, n. 2, p. 165-171, 2008.