

## Métodos de inoculação de *Sclerotium rolfsii* Sacc. em feijoeiro

Suzana Alencar Freire DANTAS<sup>1</sup>; Luciana Cordeiro do NASCIMENTO<sup>1</sup>; Sônia Maria Alves OLIVEIRA<sup>2</sup>; Roberto Luiz Xavier SILVA<sup>2</sup>; Francisco de Assis DANTAS<sup>3</sup>

**RESUMO:** Foram conduzidos dois experimentos, utilizando-se os seguintes tratamentos: idade da planta (10, 15, 20 e 25 dias após a semeadura), idade do inóculo (10, 15, 20 e 25 dias) e número de escleródios por planta (5, 10 e 15). A cultivar de *Phaseolus vulgaris* utilizada foi IPA-11, sendo feito o plantio em vasos plásticos contendo solo esterilizado e o isolado de *Sclerotium rolfsii* proveniente de Garanhuns-PE. As plantas foram inoculadas ferindo-se previamente o colo das mesmas, e depositando-se os escleródios. No experimento onde as plantas foram submetidas a câmara úmida, as mesmas permaneceram por 48 horas. A avaliação foi realizada aos 10 dias após a inoculação, baseando-se em escala de notas proposta pelo CIAT, e os dados transformados para índice de doença de MacKinney. O experimento submetido à câmara úmida mostrou-se mais eficiente na maioria dos tratamentos estudados, alcançando o maior índice de doença (100%) com as idades de 15 dias após a semeadura para a planta e 10 dias de incubação para o inóculo, independente do número de escleródios testados. E no experimento conduzido sem câmara úmida só foi observado doença no tratamento onde utilizou-se o inóculo com 10 dias de incubação, e o maior índice de doença (em torno de 50%) em plantas com 15 dias após a semeadura.

Palavras chave: Metodologia, *Phaseolus vulgaris*, podridão do colo

### INTRODUÇÃO

A podridão do colo causada por *Sclerotium rolfsii* Sacc., é uma doença importante e ocorre freqüentemente em todas as regiões produtoras de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) no país (Cardoso, 1994). A doença é invariavelmente letal para a planta, independente do seu estágio fenológico. Conseqüentemente, as perdas são devidas à redução do estande durante todo o ciclo da cultura. Perdas significativas são registradas em solos leves, com umidade próxima à capacidade de campo, e com elevada densidade de inóculo (Punja, 1985).

Existem relatos conflitantes sobre a densidade adequada de inóculo requerida para induzir infecção, com valores variando de 3 a 130 escleródios por cm<sup>3</sup> de solo (Punja, 1985). Infecções podem também serem obtidas pela colocação de escleródios secos em contato com a planta hospedeira (pós-emergência) e incubadas a -26-30°C ou misturando os escleródios no solo e plantando o hospedeiro ao mesmo (Linderman & Gilbert, 1969). Santos *et al.* (1998) em estudos de reações do feijoeiro à *S. rolfsii*, obtiveram o inóculo produzindo-o em Erlenmeyers contendo 100g de talo de feijoeiro esterilizados, onde eram colocados cinco discos de ágar com 5mm de diâmetro, removidos dos bordos da colônia. A incubação foi realizada por 15 dias a 15°C e os escleródios postos a secar a sombra, sendo a inoculação feita colocando-se dois escleródios por cova misturados ao solo. Em estudos de reações de lentilha (*Lens esculenta* M.) à *S. rolfsii* Kannaiyan & Nene (1976), utilizaram inóculo produzido com 15 dias de incubação, onde os escleródios e o micélio foram misturados ao meio, seguida de remoção 3cm da superfície do solo e colocando-se o inóculo próximo a região do colo de cada planta, repondo o solo próximo a região do colo, sendo então as plantas mantidas a 90% de umidade.

Claudius & Mehrotra (1973) obtiveram o inóculo cultivando *S. rolfsii* em meio de areia-aveia, incubado por 12 dias, usando 200g de inóculo em 5 kg<sup>-1</sup> de solo, contido em vasos de 30cm de diâmetro, sendo semeados com 50 sementes por vaso. Após a infestação, os vasos foram recobertos com bagoço de cana por 48 horas. Um outro método de inoculação relatado por Mohammad & Kumar (1986), envolve inoculação por planta, colocando-se dois escleródios maduros com 21 dias de incubação, na região do hipocótilo e recobertos com solo umedecido.

Considerando a divergência de informações com relação a métodos de inoculação de *S. rolfsii*, este trabalho objetivou estudar um método de inoculação em feijoeiro, onde fossem avaliadas a idade da planta, do inóculo e quantidade de inóculo por planta.

### MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos foram instalados em casa de vegetação, empregando-se a mesma metodologia, com exceção da utilização de câmara úmida por 48 horas em um dos experimentos.

Sementes de feijoeiro da cultivar IPA-11, foram semeadas em vasos plásticos, contendo solo esterilizado, em diferentes datas, de forma que as mesmas atingissem as idades de 10, 15, 20 e 25 dias ao mesmo tempo. O isolado de *S. rolfsii* foi obtido a partir de plantas de feijoeiro proveniente de Garanhuns-PE., com sintomas típicos da doença, retirando-se escleródios diretamente do caule, com o auxílio de uma alça de platina flambada, sendo transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura BDA e incubados por 10 dias à temperatura ambiente. Em seguida, os escleródios foram repicados para placas de Petri contendo Aveia-Ágar (AA) e incubados a temperatura ambiente por 10, 15, 20 e 25 dias.

<sup>1</sup>Doutoranda do PPGF

<sup>2</sup>UFRPE-DEPA/Fitossanidade, 52.171-900, Recife-PE

<sup>3</sup>Pesquisador da SPRRA-DEFIS

Decorrido esses períodos de tempo, as plantas foram inoculadas, ferindo-se previamente o colo das mesmas com estilete flambado, sendo depositados 5, 10 ou 15 escleródios em cada planta, de acordo com o tratamento.

As avaliações foram realizadas 10 dias após a inoculação, utilizando-se uma escala de notas de Schoonhoven & Pastor-Corrales (1987), com escala descritiva variando as notas de 1 a 9, onde: 1- ausência de sintomas; 3- região do hipocótilo com 1% de sintomas da doença, combinado com estruturas de frutificação do fungo; 5- hipocótilo e parte do talo com 10% de infecção, combinado com estruturas de frutificação do fungo; 7- hipocótilo e parte do talo com 25% de infecção, combinado com estruturas de frutificação do fungo; 9- mais de 50% do hipocótilo e tecidos com lesões e grande número de estruturas de frutificação do fungo. A partir dessas notas foi calculado o índice de doença de Mackinney (1923), segundo a fórmula  $ID = \sum(f.v)/n.x$  onde,  $f = n^{\circ}$  de plantas em cada categoria,  $v =$  nota da escala,  $n = n^{\circ}$  total de plantas e  $x =$  grau máximo de infecção.

O delineamento estatístico utilizado nos dois experimentos foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x4x3, representados por quatro idades da planta, quatro do inóculo e três quantidades de escleródios, com quatro repetições por tratamento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A temperatura e umidade relativa do ar observadas durante a condução dos experimentos variou de 27,3 a 30,8°C e 79,4 a 81,0%, respectivamente.

### Experimento com câmara úmida

O inóculo aos 10 dias de incubação destacou-se dos demais, alcançando um maior índice de doença (100%) quando as plantas foram inoculadas aos 15 dias após a semeadura, independente do número de escleródios utilizados (Figura 1). Os resultados da idade do inóculo concordam com os obtidos por Ito *et al.* (1990), que utilizaram cultura de *S. rolfsii*, incubada por 10 dias em meio líquido (BD), para teste de patogenicidade e reação de cultivares de guandu (*Cajanus cajan* L. Millsp.). Já Santos *et al.* (1998) utilizaram inóculo com 15 dias de incubação em estudos de reações de feijoeiro à *S. rolfsii*. Enquanto que Claudius; Mehrotra (1973), utilizaram inóculo com 12 dias de incubação, Kainnaiyan & Nene (1976) com 15 dias e Mohammad & Kumar (1986) escleródios com 21 dias de incubação, em estudos de reações de lentilha. Isso talvez possa ser explicado pelo fato que diferentes isolados de *S. rolfsii* apresentarem variabilidade nas suas

características, tendo assim cada isolado um determinado tempo para que seus escleródios se tornem maduros. Com relação a quantidade do inóculo os resultados divergem dos apresentados por Claudius & Mehrotra (1973) que afirma que a percentagem de infecção aumenta proporcionalmente com o aumento da quantidade do inóculo.

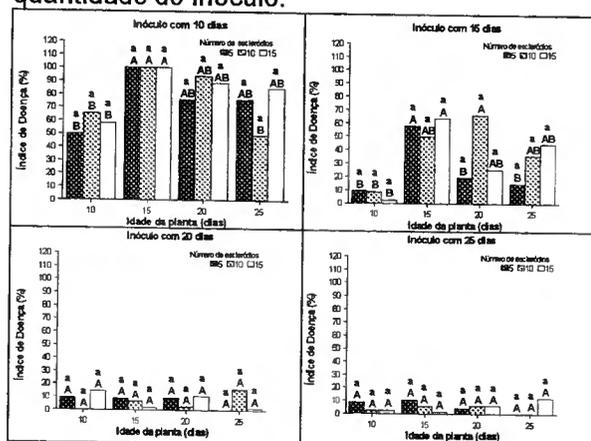


Figura 1 - Efeito da idade do inóculo e número de escleródios de *Sclerotium rolfsii* na severidade da podridão do colo em plantas de feijoeiro, cv. IPA-11, com diferentes idades, submetidas a câmara úmida. Colunas seguidas da mesma letra, minúsculas dentro da categoria e maiúscula entre categorias, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0.05$ ).

### Experimento sem câmara úmida

A variável que mais interferiu no método de inoculação foi a idade do inóculo (Figura 2), enquanto que a idade da planta e número de escleródios não mostraram efeito significativo na maioria dos tratamentos estudados, mostrando pouca efetividade na inoculação, observando-se maiores índices de doença (em torno de 50%) no tratamento que recebeu inóculo com 15 dias de incubação em plantas com 10 dias após a semeadura, independente do número de escleródios utilizados.

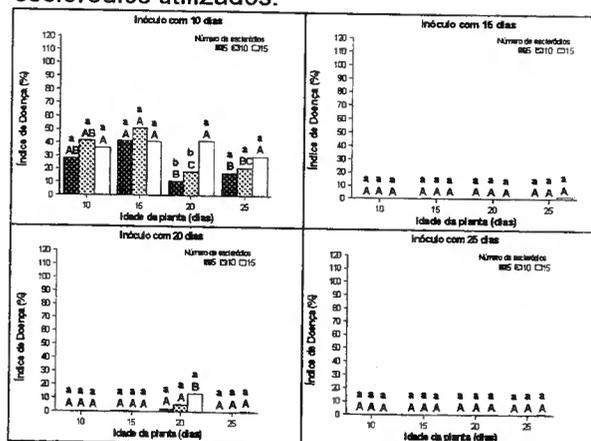


Figura 2 - Efeito da idade do inóculo e número de escleródios de *Sclerotium rolfsii* na severidade da podridão do colo em plantas de feijoeiro, cv. IPA-11, com diferentes idades, sem câmara úmida. Colunas seguidas da mesma letra, minúsculas dentro da categoria e maiúscula entre categorias,

não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0.05$ ).

Comparando-se os resultados obtidos nos dois experimentos (Figuras 1 e 2), verifica-se que o experimento com câmara úmida mostrou melhor efetividade na inoculação, apresentando índices de doença em todos os tratamentos estudados, enquanto que o experimento sem câmara úmida mostrou efetividade apenas nos tratamentos com inóculo aos 10 dias de incubação e idades da planta aos 10, 15, 20 e 25 dias após a semeadura independente do número de escleródios utilizados.

Os resultados sugerem que dependendo das características de cada isolado, para se obter eficiência na inoculação de *S. rolfsii* em plantas de feijoeiro deve-se utilizar plantas com 15 dias após a semeadura, inóculo com 10m dias de incubação e 5 a 15 escleródios no colo previamente ferido de cada planta e submetê-las a câmara úmida por 48 horas, que parece ser um aspecto importante no desenvolvimento de *S. rolfsii* em condições de casa de vegetação.

#### ABSTRACT

##### Inoculation methods of *Sclerotium rolfsii* on bean *Phaseolus vulgaris*

Two experiments were conducted out, using the following treatments: the plant's age (10, 15, 20, and 25 days after sowing), the inoculum's age (10, 15, 20, and 25 days) and number of sclerotia per plant (5, 10, and 15). The cultivar of *Phaseolus vulgaris* used was IPA-11, that was grown in plastic vases containing sterilized soil and inoculum of *S. rolfsii* used has derived from Garanhuns-PE. The plants were inoculated hurting previously the collar rot, depositing then the sclerotia. In experiments using humid camera, plants were kept there for 48 hours. The evaluations were made 10 days after inoculation, based on the scale of notes proposed by CIAT, and the data were transformed to index of disease of MacKinney. Experiments submitted to the humid camera have showed to be more efficient in most of the studied treatments, reaching the largest index of disease (100%) 15 days after sown for the plant and 10 days after inoculation for the inoculum, independent of the number of tested sclerotia. In the experiment conducted without humid camera, it was observed disease in the treatment using 10 days of incubation, and the largest index of disease (about 50%) in plants with 15 days after sown.

Key words: Methodology, *Phaseolus vulgaris*, collar rot

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1

CARDOSO, J.E. Podridão do colo. In: SARTORATO, A.; RAVA, C.A. **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília:EMBRAPA - SPI, 1994. p.165-172.

2

CLAUDIUS, G.R.; MEHROTRA, R.S. Wilt and root diseases of lentil (*Lens esculenta* M.) at sagar. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.26, p.268-273,1973.

3

ITO, M.F.; WUTKE, E.B.; MARTINS, A.L. Ocorrência de *Sclerotium rolfsii* em Guandu (*Cajanus cajan* L. Millips). **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v.15, p.231-234,1990.

4

KANNAIYAN, J.; NENE, Y.L. Reaction of lentil germplasm and cultivars age inst three root pathogens. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, New Delhi, v.46, p.165-167,1976.

5

LINDERMAN, R.G.; GILBERT, R.G. Stimulation of *Sclerotium rolfsii* in soil by volatile compounds of alfalfa hay. **Phytopathology**, St. Paul, v.59, p.1366-1372. 1969.

6

MACKINNEY, R.H. Influence on soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativus*. **Journal of Agricultural Research**, Islamabad, v.26, p.195-218. 1923.

7

MOHAMMAD, A.; KUMAR, U. Screening of lentil varieties against *Ozonium texanum* var. *parasiticum* and *Sclerotium rolfsii* causing wilt and collar rot. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.39, p.93-95, 1986.

8

PUNJA, Z.K. The biology, ecology and control of *Sclerotium rolfsii*. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.23, p.97-127, 1985.

9

SANTOS, S.C.; CHAVES, K.C.; COSTA, J.L. da. Reação do feijoeiro a *Sclerotium rolfsii* Sacc., agente causal da podridão do colo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.23, p. 280, 1998. (Resumo).

10

SCHOONHOVEN, V.A.; PASTOR-CORRALES, P.A.M. Standard system for the evaluation of bean germplasm. Colômbia: CIAT, 1987.