

11619 - Influência de sucessões culturais sobre populações microbianas do solo e densidade de inóculo de *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum* em feijão-caupi

*Influence of cultural succession on soil microbial populations and inoculum density of *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum* in cowpea*

SILVA, Wellington Costa da¹; ASSUNÇÃO, Iraíldes Pereira¹; LIMA, Gaus Silvestre de Andrade¹; CORREIA, Érika Cristina Souza da Silva¹; FEIJÓ, Frederico Monteiro¹; NASCIMENTO, Antônio Duarte do¹.

¹ Universidade Federal de Alagoas-UFAL, ceca_gac@hotmail.com

Resumo: Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência de sucessões culturais sobre a microbiota e a densidade de *Fusarium oxysporum* do solo em sistema de cultivo de feijão-caupi. O experimento foi constituído de três ciclos de cultivos: (i) feijão-caupi, (ii) sucessões culturais e (iii) feijão-caupi. As sucessões culturais foram compostas por cultivos agrícolas: milho - MI, sorgo - SO, algodão - AL, mamona - MN e girassol - GI; leguminosas: crotalaria juncea - CJ, crotalaria spectabilis - CS, feijão-de-porco - FP, guandu anão - GA, lab-lab - LA e mucuna-preta - MP e mucuna-anã - MA. Constaram ainda como tratamentos: parcelas com feijão-caupi sem inóculo de *F. o. f. sp. tracheiphilum* - TEST, parcelas de feijão-caupi inoculadas com *F. o. f. sp. tracheiphilum* (caupi) - CA, e parcelas infestadas com o patógeno em sistema de pousio - PO. Os tratamentos MP, CJ, GA, FP, LA, CS e AL reduziram a densidade de *F. oxysporum* no solo.

Palavras -Chave: Sucessões culturais, *Fusarium oxysporum*, microbiota do solo.

Abstract: This study aimed to evaluate the influence of cultural succession on the microbiota and the density of *Fusarium oxysporum* in soil cultivation system of cowpea. The experiment consisted of three cycles of crops: (i) cowpea, (ii) cultural succession and (iii) cowpea. The sequences were composed of cultural crops: corn - MI, sorghum - SO, cotton - AL, castor - MN and sunflower - GI; legumes: *Crotalaria juncea* - CJ, *Crotalaria spectabilis* - CS, bean-pig - FP, pigeon pea dwarf - GA, lab-lab - LA and black velvet - velvet MP and dwarf - MA. Yet appear as treatments: plots with cowpea without inoculum of *F. o. f. sp. tracheiphilum* - TEST, plots of cowpea inoculated with *F. o. f. sp. tracheiphilum* (cowpea) - CA, and plots infested with the pathogen in fallow system - PO. Treatments MP, CJ, GA, FP, LA, AL and CS reduced the density of *F. oxysporum* in the soil.

Key Words: Succession cultural, *Fusarium oxysporum*, soil microbes.

Introdução

A murcha-de-fusario constitui uma doença importante para o feijão-caupi podendo acarretar grandes prejuízos. Alterações nas características do solo podem proporcionar ao mesmo diferentes graus de supressividade a doença (ELOY et al. 2004).

A microbiota do solo encontra-se em constante interação entre as espécies, por meio de sinergismo, antagonismo, mutualismo, parasitismo e saprofitismo (STAMFORD et al., 2005). Permanecendo o solo em estado de equilíbrio dinâmico, as populações de microrganismos se relacionam entre si de forma benéfica. Influências de natureza diversa, provenientes das interações biológicas, são determinantes na densidade e na atividade das populações nas comunidades microbianas da rizosfera (PEREIRA, 2000). Essa

relação entre microrganismos na rizosfera pode ser benéfica à planta quando possui uma grande concentração de antagonistas. Tais antagonistas pertencem a grupos distintos, podendo ser encontrados entre fungos, bactérias, actinomicetos e outros. A incorporação de resíduos orgânicos induz uma supressividade a curto prazo, pois constitui uma alteração no manejo agrícola, podendo essa supressividade ocorrer pelo estímulo da atividade da biota, aumentando as comunidades de agentes de biocontrole e diminuindo o potencial de inóculo dos fitopatógenos pela ação de compostos liberados durante a decomposição da matéria orgânica (BETTIOL; GHINI, 2005; BETTIOL et al., 2009).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de sucessões de cultivo sobre populações microbianas do solo e a densidade de *Fusarium oxysporum*.

Metodologia

Os experimentos foram realizados em microparcelsas de concreto, com dimensões de 1 m de diâmetro e 0,6 m de altura, na Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas – CECA/UFAL, no Município de Rio Largo-AL, longitude 09° 28' 02" S e latitude 35° 49' 43" W, no período de maio de 2009 a abril de 2010.

O solo utilizado foi obtido em uma área sem histórico anterior da ocorrência de murcha-de-fusário do feijão-caupi. Foram infestadas 54 microparcelsas com substrato contendo estruturas do patógeno na proporção de 100 gramas de inóculo para 20 kg de solo, visando à obtenção de uma densidade de inóculo em torno de 5×10^3 ufc g⁻¹ de solo. As quatro parcelas restantes foram tomadas como testemunhas e receberam a incorporação de substrato isento de estruturas do patógeno. O experimento foi constituído de três ciclos de cultivos: (i) feijão-caupi, (ii) sucessões culturais e (iii) feijão-caupi. As sucessões culturais foram compostas por cultivos agrícolas: milho - MI, sorgo - SO, algodão - AL, mamona - MN e girassol - GI; leguminosas: crotalária juncea - CJ, crotalária spectabilis - CS, feijão-de-porco - FP, guandu anão - GA, lab-lab - LA e mucuna-preta - MP e mucuna-anã - MA. Constaram ainda como tratamentos: parcelas com feijão-caupi sem inóculo de *F. o. f. sp. tracheiphilum* - TEST, parcelas de feijão-caupi inoculadas com *F. o. f. sp. tracheiphilum* (caupi) - CA, e parcelas infestadas com o patógeno em sistema de pousio - PO.

Após o terceiro ciclo realizou-se o levantamento das populações microbianas. Foram removidas 10 subamostras de solo de 50 g de cada microparcelsa e homogeneizadas, em seguida, alíquotas de 10 g foram retiradas e transferidas, individualmente, para tubos de ensaio contendo 90 ml de água destilada esterilizada, submetendo-se à sonicação em banho de ultra-som por 10 minutos. De cada suspensão obtida foram efetuadas diluições em série a 10^{-3} e 10^{-4} e plaqueadas nos meios batata-dextrose-água (BDA) com adição de tetraciclina (250 ppm), água nutritiva - dextrose - extrato de levedura (NYDA) e Komada, para isolamento de fungos totais, bactérias totais e *F. oxysporum*, respectivamente. Para isolamento de Actinomicetos utilizou-se o meio amido-caseína-água modificado (ACAM). Para isolamento de *Bacillus* spp. as diluições foram submetidas a banho-maria de 80° C por 20 minutos e plaqueadas em meio água nutritiva (AN). As populações bacterianas foram avaliadas após 48 horas de incubação, enquanto que fungos totais, *F. oxysporum* e actinomicetos foram avaliados após cinco dias de incubação. Cada população resultou em um número médio de colônias de cinco placas, sendo expressas em unidades formadoras de colônia por grama de solo (UFC⁻¹g).

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, com 15 tratamentos e quatro repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância e Correlação de Pearson entre as variáveis, pelo programa STATISTIX 9.0 e agrupamento pelo teste Scott-Knott ($P=0,05$), utilizando o programa SISVAR 5.1.

Resultados e discussão

As sucessões culturais possibilitam alterações significativas nas populações de microrganismos. Isso já era de se esperar tendo em vista que incorporação de matéria orgânica esta diretamente relacionada com a atividade biológica do solo (BETTIOL; GHINI, 2005). Para fungos totais os tratamentos com MI e SO possibilitaram melhores condições ambientais, refletindo em maiores populações, seguidos pelas leguminosas GA, MA e MP, que apresentaram populações intermediárias, com potencial acima do cultivo consecutivo de feijão-caupi em área infestada com o patógeno (TABELA 1). Quanto à população de bactérias totais os tratamentos FP, MP, MA e LA obtiveram diferenças em relação à testemunha, sendo as maiores populações presentes nas sucessões com FP e MP, sucedendo em valores a MA e em seguida a LA. Com relação ao nível populacional com *Bacillus* spp. novamente ocorreu destaque para os tratamento FP e MA. Para a população de actinomicetos pode ser verificado a formação de dois grupos populacionais, os tratamentos que possibilitaram menor densidade do microrganismo (GI, MA, MP e GA) e os demais com densidade estatisticamente igual ao tratamento testemunha.

Tabela 1 - População de bactérias totais, *Bacillus* spp., fungos totais, actinomicetos e *Fusarium oxysporum* em solo rizosférico de feijão-caupi sobre influência de sucessões de cultivos.

TRATAMENTOS	BT	BC	FT	ACT	FO
Pousio	1,73 a	1,48 d	1,67 b	2,67 b	3,33 b
Algodão	1,79 a	1,20 b	0,78 a	3,08 b	1,17 a
Guandu-anão	1,85 a	0,91 a	3,40 d	0,87 a	0,67 a
Girassol	2,19 b	1,36 c	2,00 c	0,57 a	1,67 b
Mamona	2,21 b	1,35 c	1,33 a	3,67 b	1,67 b
Crotalaria juncea	2,56 c	1,80 e	1,57 b	2,55 b	0,33 a
Caupi	2,70 d	2,23 h	2,07 c	2,10 b	1,33 a
Crotalaria spectabilis	2,80 d	2,24 h	0,82 a	2,20 b	1,00 a
TESTEMUNHA	2,81 d	1,92 f	1,10 a	2,10 b	0,00 a
Milho	2,85 d	2,28 h	4,62 e	2,88 b	2,33 b
Sorgo	2,92 d	2,04 g	4,28 e	2,45 b	1,67 b
Lab-lab	2,13 e	1,95 f	1,90 b	2,42 b	1,00 a
Mucuna-anã	2,55 f	1,75 e	3,15 d	0,56 a	1,33 a
Mucuna-preta	2,93 g	3,33 i	2,83 d	0,77 a	0,33 a
Feijão-de-porco	2,96 g	3,61 j	2,45 c	2,65 b	0,83 a
CV (%)	2,69	2,96	12,49	29,85	55,36

CV (%) – coeficiente de variação em percentagem, BT- bactérias totais ($\times 10^6$ UFC.g⁻¹ de Solo), BC – *Bacillus* spp, ($\times 10^6$ UFC.g⁻¹ de Solo), FT –Fungos totais ($\times 10^5$ UFC.g⁻¹ de Solo), ACT – actinomicetos ($\times 10^5$ UFC.g⁻¹ de Solo), FO – *Fusarium oxysporum* ($\times 10^4$ UFC.g⁻¹ de Solo).

Apesar de não diferirem estatisticamente dos tratamentos CA e MA, as leguminosas MP, CJ, FP, LA, CS e o cultivo agrícola com AL, desempenharam maior controle da população do fitopatógeno (TABELA 1). Tais espécies não favorecem o desenvolvimento do fitopatógeno, característica apontada por Reis et al., (2005), que as habilitam como sendo

boas alternativas para redução do potencial de inóculo. Os Tratamentos compostos pela incorporação de PO, MI, SO, MN e GI, estimularam maior densidade do fitopatógeno, sendo considerados impróprios para uso em sucessões de cultivo. Nos tratamentos com PO, MI e MN foram verificados os maiores valores de fósforo disponível no solo, que é um nutriente essencial para o crescimento e esporulação de *F. oxysporum*, possibilitando-se evidenciar favorecimento do patógeno (ELOY et al. 2004). O favorecimento para o aumento da densidade de inóculo no tratamento com SO não era esperado. As substâncias alelopáticas liberadas do sistema radicular e da decomposição dos resíduos de sorgo poderiam afetar a biologia do fungo tendo em vista a ocorrência deste fato para outros fitopatógenos habitantes do solo (INOMOTO et al. 2008).

No levantamento da população microbiana do solo, foi observado um aumento no total de bactérias, exceto para os tratamentos com PO, AL e GA, dentre elas, o gênero *Bacillus*, (TABELA 1). Por sua vez, os resultados deste trabalho não sugerem uma ação antagônica de *Bacillus*, nos tratamentos feitos com os cultivos sucessivos de FP e MP onde as populações de *Bacillus* foram maiores e a densidade do patógeno menor, pois não houve correlação entre as variáveis. No entanto foi possível observar correlação negativa entre as populações de bactérias totais e a densidade de inóculo da doença ($r = -0,33$), indicando que o aumento de bactérias no solo constitui uma dos fatores que conduzem a supressividade do solo a doença. Contudo inúmeras espécies do gênero *Bacillus* já demonstraram atividade antagônica contra várias espécies do gênero *Fusarium* (BATISTA-JÚNIOR et al., 2002; MELO; VALARINI, 1995), produzindo peptídeos ácidos com atividade antagônica (LIEVENS et al., 1989), suportando assim, o grande potencial no controle de patógenos do solo, especialmente espécies do gênero *Fusarium* presentes na rizosfera de feijoeiros.

Este resultado evidencia a ação de rizobactérias presentes em todas as parcelas do experimento. Possivelmente as mesmas podem ter contribuído para a diminuição de microrganismos deletérios da rizosfera, nos tratamentos onde ocorreu a diminuição da densidade de inóculo.

Considerando-se o efeito dos tratamentos na supressão de *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, é possível indicar um efeito diferenciado da rizosfera e do rizoplane em todos os tratamentos empregados no trabalho. HAWES et al. 1992, mostraram que grande número de compostos orgânicos, incluindo carboidratos, aminoácidos e ácidos orgânicos, é exsudado pelo sistema radicular e exerce influência sobre as comunidades microbianas do rizoplane e da rizosfera, podendo atuar como promotor ou inibidor da colonização.

Considerações finais

- 1- O uso de espécies vegetais diferenciadas altera a microbiota do solo causando variações nos níveis populacionais de microrganismos.
- 2- As sucessões com MP, CJ, GA, FP, LA, CS e AL proporcionam redução do potencial de inóculo da doença.

Bibliografia Citada

BATISTA-JÚNIOR, C. B.; ALBINO, U. B.; MARTINES, A. M.; SARIDAKIS, D. P.; MATSUMOTO, L. S.; AVANZI, M. A.; ANDRADE, G. Efeito fungistático de *Bacillus*

thuringienses e de outras bactérias sobre alguns fungos fitopatogênicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 8, p. 1189-1194, 2002.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Solos Supressivos. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Eds.). **Ecologia manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE - Imprensa Universitária, 2005. p. 125-152.

BETTIOL, W.; GHINI, R.; MARIANO, R. M. L.; MICHEREFF, S. J.; MATTOS, L. P. V.; ALVARADO, I. C. M.; PINTO, Z. P. Supressividade a fitopatógenos habitantes do solo. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Eds.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio-Ambiente, 2009. p. 183-205.

ELOY, A. P. MICHEREFF, S. J. Natureza da supressividade de solo à murcha-de-fusário do caupi e dinâmica populacional de *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu-SP, v. 30, n. 2, p. 209-218, 2004.

HAWES, M.C.; BRIGHAM, L.A. Impact of root border cells on microbial populations in the rhizosphere. **Advances in Plant Pathology**, London, v.8, p.119-148, 1992.

INOMOTO, M.M.; ANTERODOMÊNICO, S.R.; SANTOS, V.P.; SILVA, R.A.; ALMEIDA, G.C. Avaliação em casa de vegetação de uso de sorgo, milho, e crotalária no manejo de *Meloidogyne javanica*. **Tropical plant pathology**, Brasília, v. 33, n.2, p.125-129, 2008.

LIEVENS, L. H.; RIJSBERGEN, R. V.; LEYNS, R. F.; LAMBENT, B. J.; TENNING, P.; SWINGS, J.; JOOS, H. J. P. Dominant rhizosphere bacteria as a source for antagonistic agents. **Pesticide Science**, Oxford, v. 27, n. 2, p. 141-154, 1989.

MELO, L. S.; VALARINI, P. J. Potencial de rizobactérias no controle de *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. Em pepino (*Cucumis sativum* L.). **Sci. Agric.**, Piracicaba, v. 52, n. 2, p. 326-330, 1995.

PERREIRA, J. C. **Interação entre as populações de actinomicetos e outros microrganismos na rizosfera**. Seropédica: EMBRAPA AGROBIOLOGIA, 2000, 15 p, 2000. (EMBRAPA AGROBIOLOGIA. Documento, 118)

STAMFORD, N. P.; STAMFORD, T. L. M.; ANDRADE, D. E. G. T.; MICHEREFF, S. J. Microbiota dos solos tropicais. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Eds.). **Ecologia manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE - Imprensa Universitária, 2005. p. 61 – 92.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; HOLFFMANN, L. L. Controle Cultural de Doenças Radiculares. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Eds.). **Ecologia manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE - Imprensa Universitária, 2005. p. 279 - 302.