



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA  
CURSO DE AGRONOMIA**

**JANAINA MARTINS DE SOUSA**

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E PATOGÊNICA DE ISOLADOS DO  
COMPLEXO DE ESPÉCIES *Fusarium solani* ASSOCIADOS À PODRIDÃO  
RADICULAR DO FEIJÃO-CAUPI**

**FORTALEZA**

**2018**

JANAINA MARTINS DE SOUSA

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E PATOGÊNICA DE ISOLADOS DO  
COMPLEXO DE ESPÉCIES *Fusarium solani* ASSOCIADOS À PODRIDÃO RADICULAR  
DO FEIJÃO-CAUPI

Monografia apresentada ao Curso de Agronomia  
do Centro de Ciências Agrárias da Universidade  
Federal do Ceará, como requisito parcial à  
obtenção do título de Engenheira Agrônoma.

Orientador: Prof. Dr. Cristiano Souza Lima.  
Coorientadora: Ma. Diene Elen Miranda da Silva.

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- S697c Sousa, Janaina Martins de.  
Caracterização morfológica e patogênica de isolados do complexo de espécies *Fusarium Solani* associados à podridão radicular do Feijão-Caupi / Janaina Martins de Sousa. – 2018.  
40 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Agronomia, Fortaleza, 2018.  
Orientação: Prof. Dr. Cristiano Souza Lima.  
Coorientação: Profa. Ma. Diene Elen Miranda da Silva.
1. *Vigna unguiculata*. 2. Patógenos radiculares. 3. Fabacea. I. Título.

CDD 630

---

JANAINA MARTINS DE SOUSA

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E PATOGÊNICA DE ISOLADOS DO  
COMPLEXO DE ESPÉCIES *Fusarium solani* ASSOCIADOS À PODRIDÃO RADICULAR  
DO FEIJÃO-CAUPI

Monografia apresentada ao Curso de  
Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da  
Universidade Federal do Ceará, como requisito  
parcial à obtenção do título de Engenheira  
Agrônoma. Área de concentração: Fitotecnia.

Aprovada em: 20/06/2018.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. D.Sc Cristiano Souza Lima (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. D.Sc Cândida Hermínia Campos de Magalhães Bertini  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

D.Sc José Emilson Cardoso  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa)

---

Ms.Sa Diene Elen Miranda da Silva  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Maria de Lourdes e Aluísio

Inácio.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que me permitiu aprender e amadurecer muito durante esses anos de graduação, conviver com tantas pessoas incríveis, superar tantas adversidades e ser grata por tudo o que vivi e otimista em relação ao meu futuro

À Universidade Federal do Ceará, a qual me deu suporte para o meu crescimento profissional e pessoal por todos esses anos de academia.

Ao Prof. Dr. Cristiano Souza Lima, pela confiança, extrema paciência, disponibilidade e excelente orientação.

À Diene, minha coorientadora que me deu suporte nos momentos mais difíceis durante a realização desse trabalho, sempre solícita e paciente, você foi um presente!

Aos meus pais Maria de Lourdes e Aluísio Inácio de Sousa que sempre acreditaram e apoiaram os meus estudos, e pelo suporte na realização deste trabalho, me orgulho e amo muito vocês.

Ao Sérgio Alves, meu namorado por sua compreensão, incentivo, amor e companheirismo durante os anos de graduação em Agronomia!

À minha família, em especial a minha irmã Jamyle e minha madrinha Zeneida Gomes que sempre estiveram ao meu lado encorajando e consolando em todos os momentos.

À equipe do Laboratório de Micologia da UFC Israel, Vitória, Samuel, Leonardo e Wesley que foram essenciais para a realização desse estudo, me ajudaram e compartilharam momentos únicos durante esse período, minha eterna gratidão para cada um de vocês.

À equipe do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Agroindústria Tropical, em especial ao Weverson e Regimara pelo tempo e pela assistência durante a realização das análises.

À Mirla e Luan que prontamente me ajudaram com as análises, me explicando pacientemente a realização das mesmas, esse apoio foi indispensável.

À todos os meus colegas de curso, em especial, Suane, Marília, Marcia, Lorena, Felipe, Helisson, Theyson e Lucas aos quais eu desejo muito sucesso profissional.

Aos pesquisadores participantes da banca examinadora Profa. Dra. Cândida Hermínia Campos de Magalhães Bertini e Dr. José Emilson Cardoso pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

“O papel dos infinitamente pequenos na natureza é infinitamente grande”

Louis Pasteur

## RESUMO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) é uma cultura de grande relevância econômica para a região Nordeste e seu cultivo vem se expandindo para a região Centro-Oeste como cultura de safrinha. No entanto, sua produção tem sido afetada por doenças causadas por patógenos de solo, como *Fusarium solani* sensu lato, que tem potencial para se tornar importante, como já é observado na cultura da soja com a podridão-vermelha-da-raiz (PVR). Desse modo, objetivou-se caracterizar isolados do complexo de espécies *Fusarium. solani* (FSSC) associados a podridão-radicular em feijão-caupi no município de São João, um importante produtor no estado de Pernambuco. Para tal, foram utilizadas características morfológicas e dois testes de patogenicidade distintos para avaliar virulência e agressividade dos isolados. Os isolados apresentaram variação quanto à coloração das colônias, crescimento micelial, e micromorfologia, e foram divididos em dois morfogrupos em função do padrão de ramificação dos conidióforos. Os testes de patogenicidade confirmaram a capacidade de colonização dos tecidos vegetais e maior agressividade em isolados pertencentes ao morfogrupo que apresenta conidióforo ramificado.

**Palavras-chave:** *Vigna unguiculata*. Patógenos radiculares. Fabacea.



## ABSTRACT

Cowpea (*Vigna unguiculata*) is an economically important crop to northeast region of Brazil and its cultivation is expanding to the mid-west region as an off-season crop. However, its production has been affected by soil-borne pathogens, such as *Fusarium solani* sensu lato, which has the potential to become important, as observed in soybean crop affected by the sudden death syndrome. In this context, the objective of this study was to characterize isolates of *F. solani* associated to root rot in the São João municipality, an important cowpea producer in Pernambuco State. Thus, morphological characteristics and two distinct pathogenicity trials were conducted to evaluate the virulence of the isolates. The isolates showed variation regarding colony color, mycelial growth and micromorphology, and were split into two morphogroups by the conidiophore branching pattern. The pathogenicity experiments confirmed the ability to colonize plant tissue and the higher virulence to isolates belonging to the morphogroup showing branched conidiophore.

**Keywords:** *Vigna unguiculata*. Root pathogens. Fabacea.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Diversidade de cores entre os isolados de <i>Fusarium solani</i> em BDA.....	26
Figura 2 – Características morfológicas gerais dos isolados de <i>Fusarium solani</i> obtidos de feijão-caupi no município de São João - PE.....	27
Figura 3 – Comparação dos resultados obtidos no teste de patogenicidade pelo método do disco de micélio.....	29
Figura 4 – Comparação dos resultados obtidos no teste de patogenicidade pelo método do palito. ....	30

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Coloração das colônias e médias das taxas de crescimento dos isolados de <i>Fusarium solani</i> associados a podridão radicular do feijão-caupi .....	25
Tabela 2 – Morfogrupos baseados nas características morfológicas dos isolados.....	28
Tabela 3 – Índice de agressividade da doença entre isolados de <i>Fusarium solani</i> .....	31
Tabela 4 – Relação entre caracterização patogênica e morfológica.....	33

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFA	Área foliar afetada
CMV	<i>Cowpea mosaic virus</i>
Conab	Companhia Nacional de abastecimento
CpAMV	<i>Cowpea aphid-born e mosaic virus</i>
CpSMV	<i>Cowpea severe mosaic virus</i>
CpGMV	<i>Cowpea golden mosaic virus</i>
BDA	Batata Dextrose Agar
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	Food and Agriculture Organization
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
PVR	Podridão vermelha da soja
SNA	Syntethic nutriente-poor ágar

## LISTA DE SÍMBOLOS

ha	Hectare
%	Porcentagem
t	Tonelada
µm	Micrômetro
cm	Centímetro

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	16
<b>2.1</b>	<b>Feijão-caupi: importância e doenças fúngicas</b> .....	16
<b>2.2</b>	<b><i>Fusarium solani</i> associado às culturas da família Fabaceae</b> .....	18
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	21
<b>3.1</b>	<b>Obtenção de isolados</b> .....	21
<b>3.2</b>	<b>Cultivo monospórico</b> .....	21
<b>3.3</b>	<b>Caracterização morfológica</b> .....	22
<b>3.4</b>	<b>Caracterização patogênica</b> .....	22
<b>3.5</b>	<b>Análise estatística</b> .....	24
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	25
<b>4.1</b>	<b>Caracterização morfológica</b> .....	25
<b>4.2</b>	<b>Caracterização patogênica</b> .....	28
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	35
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	36
	<b>ANEXOS</b> .....	40

## 1 INTRODUÇÃO

O feijão-caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp, popularmente conhecido no Nordeste brasileiro como feijão de corda é um dos principais alimentos da população dessa região, fornecendo carboidrato, proteínas e ferro. Cultivado principalmente por agricultores em pequenas propriedades, é fonte de emprego e renda. Atualmente está sendo cultivada por médios e grandes produtores de regiões de cerrado na forma de safrinha onde são empregadas as tecnologias de produção de commodities como a soja [*Glycine max* (L.) Merrill], o que permite um aumento da produção e oferta desse grão (VALE; BERTINI; BORÉM, 2017).

A produção brasileira de feijão é obtida em três safras ao longo do ano, e o feijão-caupi é o terceiro tipo mais cultivado no país na segunda safra, a região Nordeste, por exemplo, produziu 191,9 mil t de feijão-caupi na 2ª safra de 2016/2017 em uma área plantada de 635,8 ha (CONAB, 2018). Entretanto, a produção do feijão-caupi sofre com interferência de muitos fatores que influenciam negativamente sua produtividade, tais como, a falta de adoção de tecnologias e aparecimento de doenças (RODRIGUES; MENEZES, 2002).

Dentre os patógenos de plantas os organismos que compõem o gênero *Fusarium* são fungos endofíticos e patogênicos de plantas. Estes ocasionam vários tipos de doença como podridão radicular ou caulinar, cancro, murcha, a podridão da fruta ou da semente e doenças foliares (SUMMERELL; SALE; LESLIE, 2003). O fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* (E.F. Smith) Snyder & Hansen, é o agente causal da murcha-de-fusário no feijão-caupi, uma das principais doenças do caupi no Nordeste do Brasil (ASSUNÇÃO *et al.*, 2003).

Os fungos do complexo de espécies *F. solani* são agentes causais de doenças em plantas leguminosas como soja, na qual ocasiona a doença conhecida por podridão-vermelha-da-raiz (PVR) por ação do *F. solani* (Mart.) Sacc. f. sp. *glycines*, que tem causado danos crescentes (GÁSPERI *et al.*, 2003). No feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é causadora da doença conhecida como podridão radicular seca do feijoeiro, que reduz a produtividade da cultura e tem sido motivo de preocupação principalmente em áreas onde se realiza plantio direto (REIS; CASA, 1996) isso se deve a prática do plantio direto favorecer o aumento da população de *Fusarium* (TOLEDO-SOUSA *et al.*, 2008).

Segundo Reis & Casa (1996), a podridão radicular causada por *F. solani* tem sido motivo de grande preocupação no plantio direto. Toledo-Souza *et al.* (2008) mostraram que o plantio de leguminosas previamente ao feijoeiro favorece o aumento da população de *Rhizoctonia* spp. e de *Fusarium* spp., tanto no plantio direto, quanto no convencional.

Contudo, em revisão de literatura não foram encontrados estudos sobre a podridão radicular do feijão-caupi, causada pela interação com *F. solani*, desse modo o presente estudo objetivou caracterizar a população de *F. solani* oriunda do Agreste Pernambucano, município de São João, PE, por meio de testes de patogenicidade e métodos morfológicos. A caracterização morfológica para identificar espécies de *Fusarium* presentes em amostra de plantas doentes é a base para obtenção de evidências para estudos de filogenia visando à correta identificação e classificação taxonômica (LESLIE; SUMMERELL, 2006).



## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Feijão-caupi: importância e doenças fúngicas

O feijão-caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., é uma leguminosa de ampla distribuição mundial, ocorrendo em regiões tropicais e subtropicais. O continente africano é o centro de origem dessa espécie, que foi introduzida no Brasil pelos colonizadores portugueses em torno do século XVI (FREIRE FILHO, 1988), sendo classificada como Dicotyledonea pertencente à ordem Fabales, família Fabacea, subfamília Falvidae, tribo Phaseleie, sub-tribo Phaseolinae e gênero *Vigna* (VERDCOURT, 1970; FREIRE FILHO, 1988).

O feijão-caupi possui vários nomes vulgares, sendo conhecido como feijão-de-praia, feijão-da-colônia e feijão-de-estrada, na região Norte; feijão-miúdo, na região Sul feijão-macassar e feijão-de-corda, na região Nordeste (FREIRE FILHO, 2011). Essa cultura é estratégica para muitas regiões tropicais e subtropicais do planeta (TORRES *et al.*, 2015), constituindo uma importante fonte alimentar (fornece ferro, carboidratos, potássio e fósforo) principalmente para as populações da América Latina, Ásia e África (BERGER *et al.*, 2016; CHEN *et al.*, 2017).

No Brasil, essa espécie é amplamente explorada nas regiões Norte e Nordeste, predominantemente por agricultores familiares (RAMOS *et al.*, 2012). Atualmente está em expansão para áreas de cerrado do Centro-Oeste onde é cultivado como safrinha por produtores em médias e grandes propriedades, de base empresarial, com o uso das mesmas técnicas aplicadas na soja, o que possibilita uma produção de larga escala com elevada qualidade e regularidade fundamental para alimentar a cadeia comercial (FREIRE FILHO, 2011; VALE; BERTINI; BORÉM, 2017).

Em virtude da capacidade de se desenvolver satisfatoriamente em solos de baixa fertilidade e da sua rusticidade, o feijão-caupi vem sendo considerado como uma opção de fonte de matéria orgânica, sendo utilizado como adubo verde na recuperação de solos naturalmente pobres em fertilidade, ou esgotados pelo uso intensivo (OLIVEIRA; CARVALHO, 1988 *apud* OLIVEIRA *et al.*, 2002). Essas características e a associação com bactérias fixadoras de nitrogênio tem feito o feijão-caupi se tornar recentemente alvo de pesquisas como enfoque no enfrentamento das possíveis mudanças climáticas, como o aumento da temperatura e a redução da disponibilidade de água (CARVALHO *et al.*, 2017).

Dentre os países que compõem o Mercosul, o Brasil é o maior produtor e consumidor de feijão, participando com mais de 90% da produção e no consumo, produzindo

cerca de 3,0 milhões de toneladas anuais, seguido da Argentina (350,0 mil toneladas), do Paraguai (56,0 mil toneladas) e do Uruguai (3,5 mil toneladas), sendo que a produção média de feijão foi de 3,06 milhões de toneladas nos últimos anos. Na safra de 2016/2017, a produção de feijão-caupi, representou aproximadamente 21,6% da produção brasileira de feijão e sua produção é concentrada na 2ª safra, cultivada na Região Norte/Nordeste e no Mato Grosso, com exceção da produção do estado da Bahia (CONAB, 2017). A pouca circulação de feijão-caupi no comércio internacional se deve a pequena importância do mesmo em âmbito mundial, devido aos grandes produtores serem também os grandes consumidores do produto, o que torna pequeno o excedente exportável; a falta de um real conhecimento do seu mercado e ao baixo consumo nos países desenvolvidos (CONAB, 2017).

Segundo o Levantamento Sistemático da Produção Agrícola - IBGE (1985-2016), a produção de feijão-caupi em 2016 foi de 344.752 t em uma área de 1.066.175 ha, sendo que a região Nordeste produziu 177.527 t em uma área plantada de 873.283 ha, considerando 1ª e 2ª safras do ano de 2016 com um rendimento de 203 kg por ha (EMBRAPA, 2018). O estado do Ceará produziu na segunda safra de 2016/2017 117, 2 mil toneladas em uma área plantada de 404,2 mil ha, sendo o maior produtor de feijão-caupi na região Nordeste (CONAB, 2018).

Dentre os entraves na produção da cultura do caupi, a falta de adoção de tecnologia se destaca, principalmente em relação aos insumos, pois o agricultor muitas vezes faz uso de sementes sem tratamento adequado o que colabora para o surgimento de doenças (RODRIGUES; MENEZES, 2002).

Segundo Barros, Menezes (1981 *apud* RODRIGUES; MENEZES, 2002) a diversidade fúngica encontrada em sementes de caupi é bastante elevada, sendo *Penicillium* Link., *Aspergillus* Link. e *Curvularia* Boedjn os principais gêneros. Esses pesquisadores obtiveram uma frequência de 65,6% dos dois primeiros gêneros em 32 espécies de fungos detectados em caupi. Os patógenos radiculares do feijoeiro são organismos saprófitas, isto é, podem passar parte de seu ciclo de vida no solo, por um longo período na ausência de seus hospedeiros infectando órgãos subterrâneos ou caules das plantas e podem produzir esporos disseminados pelo ar ou água (CASA *et al.*, 2010).

Os sintomas das doenças causadas pelos patógenos radiculares são notados na fase final da doença, sendo as opções de controle limitadas e difíceis como, por exemplo, a esterilização do solo que tem uso restrito a pequenas áreas e práticas como a rotação de culturas, considerada a melhor medida de controle ecologicamente sustentável e utilizadas em áreas extensas, que não é economicamente viável para fungos com habilidade de competição

saprofítica, pois estes organismos formam estruturas de resistência (MICHEREFF *et al.*, 2005). Essas doenças causadas por fungos de solo constituem um complexo, que vem sendo apontado como responsáveis pelas maiores perdas de produtividade nas áreas irrigadas do Sudeste e Centro-Oeste do Brasil (CARDOSO, 1991 *apud* POR TOLEDO-SOUZA *et al.*, 2009), os fitopatógenos (*Rhizoctonia solani* Kuhn [sin. *Thanatephorus cucumeris* (A.B. Frank) Donk] e *Fusarium solani* (Mart. Appel & Wollenv.) Sacc. f. sp. *phaseoli* (Burkholder) (sin. *Nectria hematococca* Berk. & Br.) ocorrem tanto isoladamente, como em associação sinérgica (CARDOSO; COSTA, 1988 *apud* TOLEDO-SOUZA *et al.*, 2009).

Em praticamente todas as regiões de cultivo do Brasil são relatadas doenças do sistema radicular do feijoeiro variando quanto à intensidade, isso em função das condições do cultivo como, por exemplo, a suscetibilidade da cultivar, as condições climáticas e práticas de manejo do solo, principalmente as doenças ocasionadas pelos fungos *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli*, *Fusarium oxysporum* (Schlecht) f.sp. *phaseoli* (Kendrick & Snyder) e *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid (BIANCHINI *et al.*, 1997). Estudos mostraram que o plantio de leguminosas previamente ao feijoeiro favorece o aumento da população de *Rhizoctonia* spp. e de *Fusarium* spp., tanto no plantio direto, quanto no convencional (TOLEDO-SOUZA *et al.*, 2008), e os principais efeitos causados pela ação desses fitopatógenos incluem a redução do estande e do vigor das plântulas e com isso perda na produtividade da cultura. Para exemplificar as perdas ocasionadas por espécies do gênero *Fusarium*, Toledo-Souza *et al.* (2009), identificaram que, quanto maior a densidade de *F. solani* f. sp. *phaseoli* no solo em conjunto com *Rhizoctonia solani* em elevada densidade, menor é a massa da matéria seca da parte aérea do feijoeiro comum.

## **2.2 *Fusarium solani* associado à cultura da família Fabaceae**

De acordo com Leslie & Summerell (2006), o gênero *Fusarium* contem várias espécies de fungos patogênicas e/ou saprófitas. São amplamente distribuídos em todo o mundo, por conter espécies cosmopolitas e outras com ocorrência restrita a determinados ambientes, ocorrendo, hegemonicamente em regiões tropicais e subtropicais ou em condições de clima frio das regiões temperadas, além disso, algumas espécies apresentam íntima associação com os hospedeiros. Esse gênero foi descrito pela primeira vez em 1809 por Link, sendo atualmente classificado na família Nectriaceae, ordem Hypocreales, subclasse Sordariomycetes, subfilo Pezizomycotina, filo Ascomycota e reino Fungi (INDEX FUNGORUM, 2018) e sua taxonomia tem sido alterada em função dos conceitos de espécie,

morfológico, biológico e filogenético (LESLIE; ZELLER; SUMMERELL, 2001; SUMMERELL; SALLEH; LESLIE, 2003).

No passado, o conceito de espécie morfológica era predominante para classificação taxonômica e se baseavam na similaridade das características morfológicas e considerando essas características como um padrão dentro da mesma espécie e diferindo entre espécies diferentes (LESLIE; ZELLER; SUMMERELL, 2001). O gênero *Fusarium* tem um sistema taxonômico complexo dividido em seções, *formae speciales* e raças (BENYON; BURGESS, 2000; LESLIE; SUMMERELL, 2006). As *formae speciales*, conceito aplicado por Snyder & Hansen (1953), classifica de acordo com a gama de hospedeiros que atacam (OLIVEIRA; COSTA, 2014), em contrapartida a subdivisão em raças é baseada na virulência ou diferenciação de cultivares hospedeiras da planta (CORRELL, 1991).

Estudos mostram que dentre os patógenos de solo presentes em áreas de cultivo de feijão, *F. solani* f. sp. *phaseoli* é predominante em relação aos demais, expressando maior densidade de inoculo,  $7,10 \times 10^4$  propágulos/g de solo (VALARINI, 1994 *apud* COSTA; COSTA 2004), causando a murcha seca do feijoeiro que reduz a produtividade da cultura do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) reduzindo o estande das plantas principalmente em áreas submetidas a irrigação (CARDOSO 1991 *apud* COSTA: COSTA, 2004). Os sintomas são a presença de estrias longitudinais avermelhadas, no hipocótilo e na raiz de plântulas ou plantas jovens que gradativamente se tornam marrons e sem margens definidas, de acordo com a evolução da doença (EMBRAPA, 2018). *Rhizoctonia solani* estimula os sintomas de podridão radicular de *Fusarium* quando está presente no mesmo substrato e infectando conjuntamente o mesmo hospedeiro que *F. solani* f. sp. *phaseoli*, porém *F. solani* f. sp. *phaseoli* inibe os sintomas de podridão radicular de *Rhizoctonia*, em infestações conjuntas (CASA *et al.*, 2010).

O *Fusarium solani* (App. & Wollenw.) Snyder & Hans f. sp. *glycines* causa a síndrome da morte súbita da soja, essa doença também é conhecida como podridão vermelha das raízes da soja (PVR) (KLINGELFUS; YORINORI ; DESTRO, 2007), podendo levar a diminuição do tamanho (72% a 98% do peso) e do número de grãos (55% a 96%) dependendo do estágio no qual a planta foi afetada e do número de plantas afetadas (GÁSPERI *et al.*, 2003) a PVR induz o aparecimento de manchas cloróticas e necróticas interveias e a região das nervuras permanece com coloração verde normal (ALMEIDA *et al.*, 1997). Próximo ao florescimento esses sintomas ficam evidenciados podendo causar desfolha das plantas. O sistema radicular inicialmente apresenta o sintoma de uma mancha avermelhada (infecção inicial) na raiz principal, sendo frequentemente localizada a aproximadamente dois

centímetros abaixo do nível do solo, essa lesão aumenta circundando a raiz e assumindo coloração castanho avermelhado escuro, isso de acordo com a evolução da infecção (RUPE; GBUR 1995 *apud* DE QUEIROZ FREITAS, MENEGHETTI E BALARDIN, 2004).

Segundo Leslie & Summerell (2006), as características de culturas *F. solani* em meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) apresentam coloração geralmente variando entre branca e bege. Os conídios do micélio aéreo (microconídeos) podem apresentar formato oval, elipsoidal ou reniforme com 0-1 septos em falsas cabeças em monofiálides longas. Os macroconídios são relativamente grandes, frequentemente encontrados em esporodóquios, cuja coloração predominante é bege e menos frequentemente na coloração verde e azul e o formato variando de reto à ligeiramente curvados. Os clamidósporos são formados em 2-4 semanas, podendo ser intercalado entre as hifas ou na ponta de ramos laterais individuais ou em pares em formato oval ou globoso, com ornamentação na parede presente ou não.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Obtenção de isolados

No presente estudo foram utilizados 24 isolados de *F. solani*, os quais foram preservados em água destilada e esterilizada (ADE). Os isolados foram obtidos de plantas de feijão-caupi com sintomas de podridão radicular entre os meses de Outubro e Dezembro de 2011, em diferentes propriedades no município de São João, PE (08°52'15''S, 36°21'28''W).

Fragmentos da região de transição entre os tecidos sadios e doentes das plantas com tecido vascular escurecido foram submetidos à desinfestação superficial de organismos saprófitas e contaminantes, com imersão em álcool 70% por 30 segundos e posteriormente imersão em solução de hipoclorito a 1% de cloro ativo por 2 min, em seguida submetendo-se a tríplice lavagem em água destilada esterilizada (ADE).

Em seguida, os fragmentos foram transferidos para placas de Petri contendo o meio de cultura Ágar-Ágar, 20 g de Ágar para 1L, e incubadas em BOD sob temperatura de 26 °C e fotoperíodo de 12 horas de luz branca fluorescente. Quando notado crescimento micelial característico do gênero *Fusarium* procedeu-se a transferência de fragmentos de micélio para placas contendo meio BDA e submetidos à incubação em temperatura de 26 °C e fotoperíodo de 12 horas de luz branca fluorescente e 12 horas de escuro, para crescimento das colônias. Posteriormente, fragmentos de micélio dessas colônias foram transferidos para placas contendo meio de cultura “syntethic nutriente-poor ágar” (SNA), para identificação dos isolados ao nível de complexo de espécie de *F. solani* com base em características morfológicas como tipo de monofiálide.

#### 3.2 Cultivo monospórico

Para obtenção de culturas monospóricas de *F. solani* foram retirados fragmentos do micélio em meio de cultura SNA com uma agulha esterilizada, em seguida estes foram transferidos para tubos contendo 10 mL de ADE, e agitados por 30 segundos, e posteriormente, transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura SNA e espalhadas na placa, com o uso de alça de Drigalski. Após incubação de 16 h foi realizada a visualização das placas em microscópio de luz, para monitorar a germinação dos esporos. Após a localização de um esporo germinado completamente isolado na placa, com uma agulha esterilizada, realizou-se a transferência do mesmo para placas de Petri contendo SNA,

obtendo-se assim culturas monospóricas. Em seguida, após constatação da pureza do isolado com a observação de fragmento da colônia em microscópio, fragmentos foram transferidos para placas com meio de cultura BDA, que foram incubados para crescimento das colônias, a partir das quais foram realizados os demais ensaios.

### **3.3 Caracterização morfológica**

A caracterização morfológica foi realizada quanto à taxa de crescimento, pigmentação da colônia e micromorfologia seguindo os protocolos de Leslie & Summerell, (2006).

Para avaliação da taxa de crescimento foram feitas três repetições para cada isolado. Um disco de micélio de ~5 mm de diâmetro foi transferido da margem das colônias para placas de Petri, com tamanho de 9 cm de diâmetro, contendo meio de cultura BDA, estas foram incubadas a 26 – 27 °C no escuro durante três dias, a medição do diâmetro ortogonal das colônias ocorreu no terceiro dia. A avaliação da pigmentação das colônias foi obtida utilizando as mesmas placas da taxa de crescimento, sendo estas submetidas a mais sete dias de incubação em temperatura de 26 – 28 °C e fotoperíodo de 12 horas de luz, após esse período foram fotografadas as duas faces das placas mais representativas de cada isolado. Já a caracterização micromorfológica, consistiu na incubação de isolados em placas de Petri com meio SNA contendo fragmentos secos e esterilizados de folhas de cravo (*Dianthus caryophyllus* L.), em ~ 26 °C de temperatura e 12 horas de luz por 10 – 14 dias. As características observadas foram a presença ou não e cor de esporodóquios; tamanho, formato e septação de microconídeos e macroconídeos (com base na medição de 50 estruturas); tipos de fiálides; presença ou não de clamidósporos; presença ou não de microconídeos em falsas cabeças. As dimensões dos conidióforos, macro e microconídios foram obtidas por meio do programa Motic Images Plus 2.0, instalado em computador acoplado a um microscópio de luz.

### **3.4 Caracterização patogênica**

Sementes da cultivar BR 17 Gurguéia, proveniente do Banco de Germoplasma da Universidade Federal do Ceará, foram utilizadas no ensaio de patogenicidade. Essa cultivar de feijão-caupi foi desenvolvida pela Embrapa Meio-Norte, difundida no estado do Piauí e

apresenta grãos de cor tipo “sempre verde”, coloração bastante aceita no mercado piauiense, e apresenta alta resistência a CpAMV e imunidade a CpSMV, CMV e CpGMV .

Duas metodologias de inoculação e avaliação da patogenicidade dos isolados foram testadas, sendo elas, a metodologia de disco de micélio (NORONHA *et al.*, 1995) e a inoculação com palitos-de-dente (KLINGELFUSS *et al.*, 2007) utilizando, respectivamente, 3 e 4 repetições de cada isolado e testemunhas. Foi utilizado substrato de areia e húmus (1:3) esterilizados (120°C, 10 ATM em 60 min por dois dias seguidos), e a distribuição espacial dos tratamentos em casa de vegetação em delineamento inteiramente casualizado, as sementes foram plantadas a 2 cm de profundidade no substrato.

Durante a realização dos ensaios, as plantas foram irrigadas diariamente, contudo não foi realizado nenhum tipo de adubação nos tratamentos e nem nas plantas controle em nenhum dos ensaios.

A patogenicidade pelo método do disco de micélio consistiu em adicionar um disco de micélio de 5 mm de diâmetro, retirados da margem da colônia em placa com meio de cultura BDA, cujo o isolado foi cultivado por 3 dias, ao solo sobre a semente no momento da semeadura, a avaliação foi realizada 15 dias depois, considerando a severidade da doença a partir de uma escala de notas adaptada da escala de Noronha *et al.* (1995), onde 0 = ausência de sintomas, 1 = hipocótilo com estrias avermelhadas, 2 = hipocótilo com grandes lesões, 3 = tecidos radiculares escurecidos apresentando início de apodrecimento. Além disso, foram realizados reisolamentos dos tecidos radiculares, como descrito anteriormente, para confirmar o agente etiológico das lesões radiculares (TENÓRIO, 2011).

Já o método do palito (KLINGELFUSS *et al.*, 2007), resumiu-se em cultivar os isolado em placas com meio de cultura BDA por 5 dias, em seguida palitos de dente, previamente autoclavados, foram adicionados às colônias e estes foram incubados a uma temperatura de 27-28 °C por 15 dias sendo espetados no centro do hipocótilo das planta com 12-15 dias após a germinação, a cerca de 1,5 cm abaixo do nó cotiledonar, deixando-se sob condições de umidade de saturação por 48 horas. Foram realizadas avaliações dos sintomas da parte aérea aos 15, 18, 21, 24 e 28 dias após a emergência das plântulas, considerando a severidade da doença a partir de uma escala de notas adaptada da escala de Klingelfuss *et al.*, (2007), onde 0 = ausência de sintomas, 1 = leve desenvolvimento de sintomas com clorose (1%-10% de área foliar afetada - afa), 2 = desenvolvimento moderado de sintomas com clorose internerval e necrose nas bordas foliares (11%-30% de afa e necrose  $\leq$  10%), 3 = forte desenvolvimento de sintomas com clorose e necrose internerval (31%-70% afa e 11%-30% de necrose) e 5 = desenvolvimento de sintomas severos com clorose e necrose internerval e/ou



plantas mortas (>70% afa e necrose >30%), mas apenas a última avaliação foi considerada na avaliação estatística. As lesões internas do caule também foram analisadas por intermédio da medição do comprimento das lesões nos tecidos internos com régua.

### **3.5 Análise estatística**

Primeiramente, os dados qualitativos (notas) obtidos das avaliações dos testes de patogenicidade foram convertidos em dados quantitativos, utilizando o Índice de Mckinney, em seguida realizou-se a análise de variância (ANOVA) em delineamento inteiramente casualizado, e teste de Scott Knott ( $p \leq 0,05$ ) para agrupamento dos isolados, usando o programa Sisvar.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização morfológica

Neste estudo foram obtidos 24 isolados do complexo de espécies *F. solani*, estes apresentaram variação quanto à coloração das colônias, e crescimento micelial e tamanho de microconídios (Tabela 1).

Tabela 1 - Coloração das colônias e médias das características morfológicas de *Fusarium solani* associados a podridão radicular do feijão-caupi.

Isolado	Coloração da Colônia em BDA *	Crescimento micelial (mm.dia-1)* *	Microconídios (µm)		Macroconídios (µm)		
			Comprimento	Largura	Comprimento	Largura	
JMS23	61. Bege claro	3,47	a	28,20	7,61	-	-
JMS10	10. Salmão	3,68	a	38,31	9,75	-	-
JMS08	Branco	3,70	a	25,67	6,98	-	-
JMS24	9. Marrom	3,72	a	38,79	8,65	69,99	9,31
JMS01	11. Castanho claro	3,75	a	42,05	7,99	78,79	10,04
JMS16	10. Salmão	3,80	a	50,31	10,41	-	-
JMS11	10. Salmão	3,80	a	28,45	7,75	-	-
JMS12	10. Salmão	3,85	a	27,58	7,77	87,67	10,04
JMS18	10. Salmão	3,88	b	50,10	8,79	-	-
JMS20	45. Bege	3,90	b	27,90	7,68	-	-
JMS07	45. Bege	3,93	b	33,91	7,39	-	-
JMS15	45. Bege	3,97	b	29,51	7,68	91,74	10,86
JMS04	Branco	3,97	b	28,65	7,85	71,46	8,70
JMS25	45. Bege	3,98	b	30,08	8,47	-	-
JMS26	9. Marrom	4,00	b	57,92	11,69	-	-
JMS06	10. Salmão	4,02	b	46,35	9,88	77,76	11,89
JMS05	9. Marrom	4,02	b	35,95	8,21	-	-
JMS17	45. Bege	4,03	b	54,15	9,73	-	-
JMS14	Branco	4,05	b	51,21	9,62	-	-
JMS03	10. Salmão	4,07	b	46,00	8,30	72,82	10,47
JMS21	Branco	4,08	b	38,92	11,44	-	-
JMS09	10. Salmão	4,15	b	28,77	9,07	-	-
JMS19	Branco	4,37	b	48,75	9,27	-	-
JMS27	12. Castanho	5,97	c	59,87	7,84	-	-
<b>Pvalor:</b>	0,000						

\*coloração das colônias tanto na superfície inferior quanto superior de acordo com Rayner (1970)

\*\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-knott (P > 0,05).

Fonte: Elaborada pelo autor.

Quanto ao crescimento micelial, os isolados podem ser divididos em três grupos: crescimento rápido, médio e lento. Os aspectos morfológicos observados foram micélios abundantes e coloração com variações entre branco, bege, salmão e marrom (Rayner, 1970) (Figura 1).

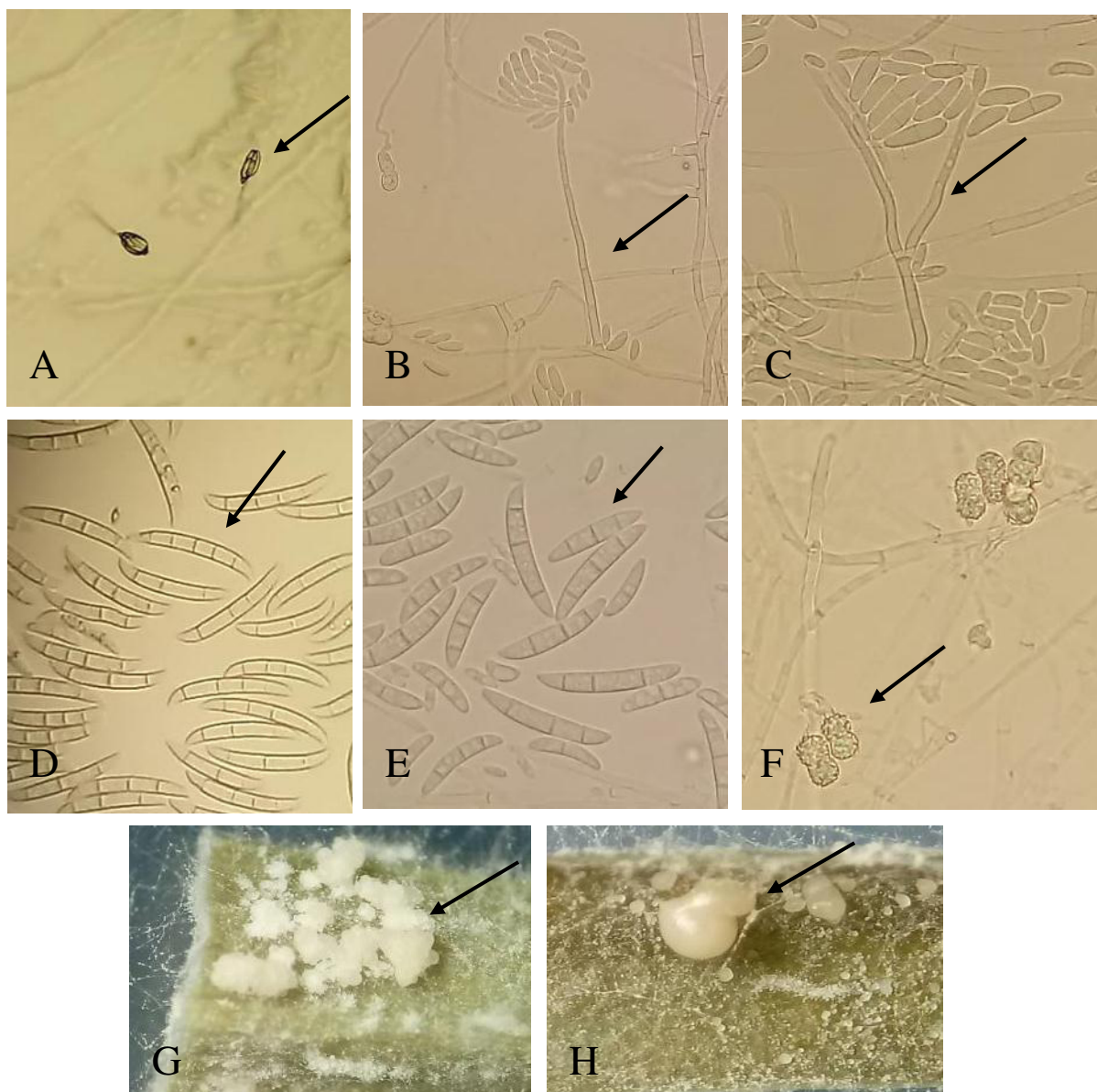
Figura 1 – Diversidade de cores entre os isolados de *Fusarium solani* em BDA.



Fonte: Autor.

As características micromorfológicas observadas estavam de acordo com a descrição de *Fusarium solani* (LESLIE; SUMMMEREL, 2006), isto é, os isolados apresentaram monofiálides longas, falsas cabeças, microconídeos abundantes em formato oval a elipsóide, ligeiramente curvado em sua maioria com 0-3 septos e as dimensões apresentaram variações entre 25,67 – 59, 87  $\mu\text{m}$  de comprimento e 6,98 – 11,69  $\mu\text{m}$  de largura, os macroconídios, quando presentes, produziram esporodóquios, apresentaram formato falcado, moderadamente curvado com dois a cinco septos dimensões variando entre 69,99 – 91, 74  $\mu\text{m}$  de comprimento e 8,70 – 11,89  $\mu\text{m}$  de largura; observou-se abundante produção de clamidósporos rugosos em sua maioria nas extremidades das hifas ocorrendo solitários, em pares ou em cadeias. Os esporodóquios, quando produzidos, foram de coloração branca e bege a partir de aproximadamente 20 dias de incubação (Figura 2).

Figura 2 – Características morfológicas gerais dos isolados de *Fusarium solani* obtidos de feijão-caupi no município de São João - PE.



Fonte: Andrade.

A – Falsas cabeças, B – Conidióforo simples, C – Conidióforo ramificado, D – macroconídeos, E – microconídeos com 3 septos, F – Clamidósporos ornamentados solitários, aos pares e em cadeia, G – H: variação morfológica dos esporodóquios apresentando coloração branca e bege.

\* Todas as imagens de estruturas micromorfológicas (A-F) foram obtidas com microscópio e as imagens de esporodóquios (G-H) foram obtidas com lupa.

Na caracterização micromorfológica foi notada a diferença dos isolados quanto à ramificação dos conidióforos, a maioria dos isolados apresentou ramificação e com base nessa característica, os mesmos foram divididos em dois morfogrupos (Tabela 2). As diferenças

morfológicas observadas entre organismos dos complexos do gênero *Fusarium* como a ramificação de conidióforos tem sido usada como evidência da diversidade de organismos dentro das espécies e a partir de análises filogenéticas estudos tem confirmado essa distinção genética e classificado esses organismos (AOKI *et al.*, 2003) .

Tabela 2. Morfogrupos baseados nas características morfológicas dos isolados.

<b>Morfogrupo 1</b>	<b>Morfogrupo 2</b>
<b>(Conidióforo ramificado)</b>	<b>(Conidióforo não ramificado)</b>
JMS01	JMS08
JMS03	JMS23
JMS04	JMS27
JMS05	
JMS06	
JMS07	
JMS09	
JMS10	
JMS11	
JMS14	
JMS15	
JMS16	
JMS17	
JMS18	
JMS19	
JMS20	
JMS21	
JMS22	
JMS24	
JMS25	
JMS26	

Fonte: Elaborada pelo autor

## 4.2 Caracterização patogênica

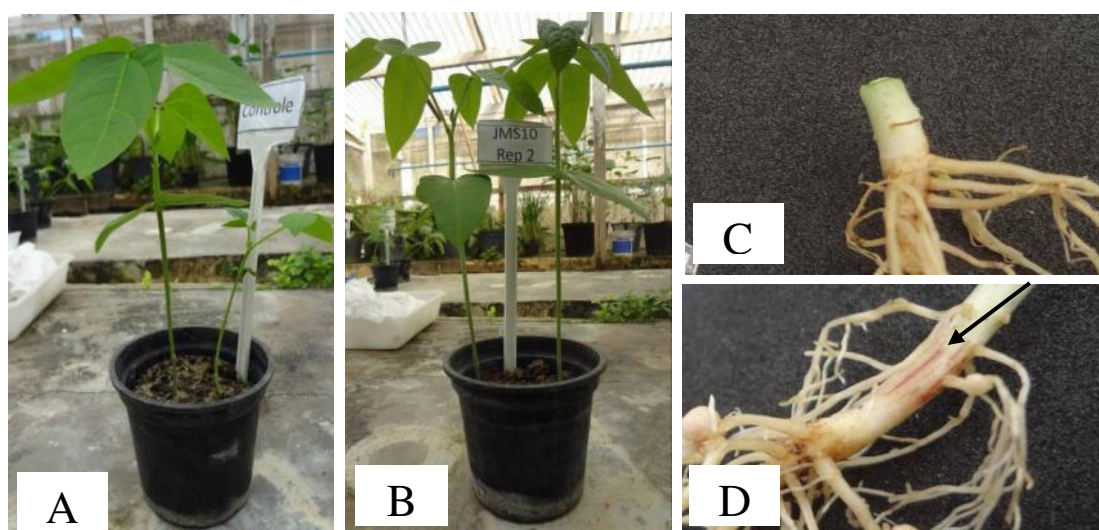
A maioria dos isolados produziram lesões nos pontos de inoculação, quando foram inoculados em feijão-caupi, produzindo estrias avermelhadas nas regiões do hipocótilo observadas no teste do disco de micélio e lesões avermelhadas com diferentes tamanhos no ponto de inoculação, surgindo a partir do segundo dia após inoculação com o “palito-de-dente” (Figura 3), o aparecimento de estrias e lesões de coloração avermelhada é também observado nos sintomas de PVR da soja e podridão seca do feijoeiro comum (EMBRAPA,

2018; RUPE; GBUR 1995 *apud* DE QUEIROZ FREITAS, MENEGHETTI E BALARDIN, 2004). As testemunhas, não apresentaram estrias avermelhadas nas regiões do hipocótilo nem lesões avermelhadas em nenhum dos testes de patogenicidade.

Após o reisolamento a partir de tecidos da região radicular e do caule das plantas submetidas aos ensaios de patogenicidade, apenas as testemunhas não apresentaram crescimento de *F. solani* em meio de cultura, enquanto todos os tratamentos que foram inoculados, em ambos os testes de patogenicidade, apresentaram crescimento de colônias de *F. solani* após o reisolamento, inclusive as plantas que não apresentaram estrias avermelhadas, confirmando a colonização vascular do fungo.

Entretanto, analisando a parte aérea das plantas sujeitadas aos isolados pelo método do disco de micélio, não foi observado nenhum sintoma de deficiência nutricional, como clorose, isso pode ter ocorrido em função do tempo no qual a avaliação foi realizada, 15 dias após germinação, caso a infecção ocorra de forma lenta ou tardia os sintomas poderão aparecer apenas no período de enchimento de grãos, causando danos no rendimento de plantas de soja devido à infecção do patógeno no sistema radicular das plantas (QUEIROZ FREITAS; MENEGHETTI; BALARDIN, 2004). Outra razão para o não aparecimento desses aspectos pode ter sido a baixa concentração do inóculo, reduzindo a severidade da doença (Costa; Costa, 2004).

Figura 3 – Comparação dos resultados obtidos no teste de patogenicidade pelo método do disco de micélio.

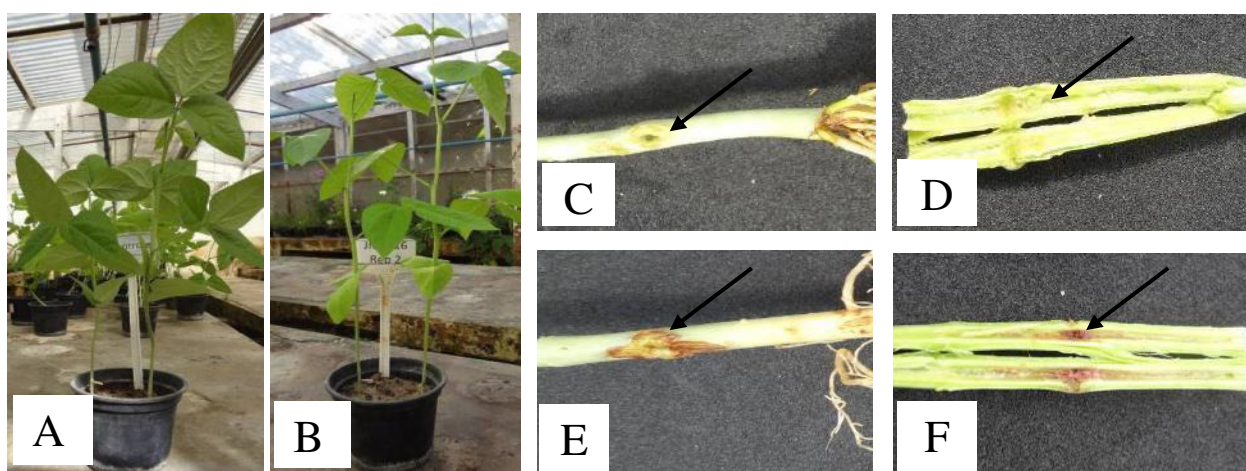


Fonte: Autor

A – Parte aérea da planta controle, B – Parte aérea do tratamento submetido ao isolado JMS10, C – Sistema radicular de planta controle, D – Sistema radicular de tratamento inoculada com isolado JMS 10.

Diferente dos resultados anteriores, a parte aérea das plantas submetidas ao teste de patogenicidade por “palito-de-dente” apresentaram deficiência nutricional com sintomas de amarelecimento e queima das bordas foliares, além disso, o ponto de infecção, isto é, onde o palito foi inserido, apresentou variação em cor e crescimento externo ao longo do tempo e os tecidos internos também, demonstrando a colonização dos tecidos internos pelo patógeno (Figura 4).

Figura 4 – Comparação dos resultados obtidos no teste de patogenicidade pelo método do “palito-de-dente”



Fonte: Autor.

·A – Parte aérea de planta controle, B – Parte aérea de tratamento, C - Área externa do caule, ponto de inserção do palito em planta controle, D - Área interna do caule, ponto de inserção do palito em planta controle, E – Área externa do caule, ponto de inserção do palito em tratamento, F - Área interna do caule, ponto de inserção do palito em tratamento.

Na análise estatística observou-se diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os isolados quanto à agressividade, em ambos os ensaios, realizada por comparação das médias pela ANOVA o que indica um contraste quanto ao nível de agressividade dos isolados. Ao avaliar a agressividade dos isolados pela metodologia “disco de micélio” em função das estrias avermelhadas apresentadas no sistema radicular, o teste de comparação de médias formou dois grupos estatisticamente diferentes sendo que os controles e o isolado JMS 15 apresentaram valores iguais à zero, os demais isolados pertencentes a esse grupo são: JMS 05, 11, 20, 23, 09, 08 e 03. No grupo que apresentou médias mais elevadas, sugerindo maior agressividade, destacam-se os isolados JMS 25, 26, 27, 12, 07, 17, e 14 devido apresentarem maior percentagem de lesões no sistema radicular (Tabela 3).

Ao examinar a agressividade dos isolados por meio do método do “palito-de-dente”, analisou-se o comprimento da lesão interna a partir do ponto de inoculação e observou-se que ocorreu diferença estatística ( $P < 0,05$ ) e o teste de comparação de médias dividiu os isolados em dois grupos. O grupo no qual os isolados não divergiram estatisticamente do controle que apresentou apenas o comprimento da lesão causada pela inserção do palito, estão os isolados JMS 04, 27, 24, 26, 18, 19, 08, 20, 03, 21, 05, 23, 06, e 15. Enquanto, que no segundo grupo composto pelos isolados JMS 09, 07, 25, 10, 16, 17, 14, 01, 12 e 11 (Tabela 3), foram notadas dimensões maiores do que o comprimento da lesão causada pelo palito como no controle, indicando a colonização dos tecidos internos, desse modo pode-se inferir que estes isolados apresentam maior agressividade quanto à colonização dos tecidos vegetais.

Os resultados de severidade da doença para parte aérea no “palito-de-dente” não divergiram muito das análises estatísticas anteriores, havendo diferença estatística ( $P < 0,05$ ) e os isolados novamente foram divididos em dois grupos pelo teste de comparação de médias. No grupo com menores médias, estão os isolados JMS 17, 03, 15, 26, 18, 24, 20, 27, e 06 e os isolados que apresentaram maiores médias foram JMS 23, 16, 19, 21, 05, 07, 10, 04, 01, 14, 11, 25, 08, 12 e 09 (Tabela 3).

Tabela 3 - Índice de severidade da doença entre isolados de *Fusarium solani* associados à podridão radicular em feijão-caupi utilizados

Teste do disco de micélio *			Teste do “palito-de-dente” *					
Lesões no sistema radicular (%)			Infecção interna (cm)			Parte aérea (%)		
<b>Controle</b>	0,00	a	<b>Controle</b>	0,30	a	<b>Controle</b>	0,00	a
<b>JMS15</b>	0,00	a	<b>JMS04</b>	0,38	a	<b>JMS17</b>	6,25	a
<b>JMS05</b>	8,33	a	<b>JMS27</b>	0,73	a	<b>JMS03</b>	12,50	a
<b>JMS11</b>	8,33	a	<b>JMS24</b>	0,88	a	<b>JMS15</b>	12,50	a
<b>JMS20</b>	8,33	a	<b>JMS26</b>	0,88	a	<b>JMS26</b>	18,38	a
<b>JMS23</b>	8,33	a	<b>JMS18</b>	0,88	a	<b>JMS18</b>	18,75	a
<b>JMS09</b>	16,67	a	<b>JMS19</b>	0,95	a	<b>JMS24</b>	18,75	a
<b>JMS08</b>	16,67	a	<b>JMS08</b>	1,18	a	<b>JMS20</b>	18,75	a
<b>JMS03</b>	16,67	a	<b>JMS20</b>	1,23	a	<b>JMS27</b>	18,75	a
<b>JMS24</b>	25,00	b	<b>JMS03</b>	1,33	a	<b>JMS06</b>	18,75	a
<b>JMS16</b>	25,00	b	<b>JMS21</b>	1,40	a	<b>JMS23</b>	25,00	b
<b>JMS21</b>	25,00	b	<b>JMS05</b>	1,50	a	<b>JMS16</b>	25,00	b
<b>JMS19</b>	25,00	b	<b>JMS23</b>	1,53	a	<b>JMS19</b>	25,00	b
<b>JMS18</b>	25,00	b	<b>JMS06</b>	1,60	a	<b>JMS21</b>	25,00	b
<b>JMS10</b>	25,00	b	<b>JMS15</b>	1,65	a	<b>JMS05</b>	25,00	b



<b>JMS06</b>	25,00	b	<b>JMS09</b>	1,85	b	<b>JMS07</b>	25,00	b
<b>JMS01</b>	25,00	b	<b>JMS07</b>	1,93	b	<b>JMS10</b>	25,00	b
<b>JMS04</b>	25,00	b	<b>JMS25</b>	1,95	b	<b>JMS04</b>	25,00	b
<b>JMS25</b>	33,33	b	<b>JMS10</b>	2,00	b	<b>JMS01</b>	31,25	b
<b>JMS26</b>	33,33	b	<b>JMS16</b>	2,00	b	<b>JMS14</b>	31,25	b
<b>JMS27</b>	33,33	b	<b>JMS17</b>	2,13	b	<b>JMS11</b>	31,25	b
<b>JMS12</b>	33,33	b	<b>JMS14</b>	2,33	b	<b>JMS25</b>	31,25	b
<b>JMS07</b>	33,33	b	<b>JMS01</b>	2,53	b	<b>JMS08</b>	37,50	b
<b>JMS17</b>	41,67	b	<b>JMS12</b>	2,78	b	<b>JMS12</b>	37,50	b
<b>JMS14</b>	41,67	b	<b>JMS11</b>	3,08	b	<b>JMS09</b>	43,75	b
<b>Pvalor:</b>	<u>0,02</u>		<b>Pvalor:</b>	0,00		<b>Pvalor:</b>	0,00	

\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-knott ( $P > 0,05$ ).

Fonte: Elaborada pelo autor

Tanto o método “palito-de-dente” quanto o método “disco de micélio” foram eficazes para reproduzir a doença nas plantas inoculadas, com a maioria dos isolados do complexo *F. solani* associado ao feijão-caupi, porém sintomas foliares, tais como clorose, foram observados apenas pelo método “palito-de-dente”, além disso, o método disco de micélio não elucidou a agressividade dos isolados 15 e 11 em comparação aos resultados observados no teste de palito. Pode-se inferir que o teste do micélio pode ter sofrido a influência da densidade de inóculo (COSTA; COSTA, 2004; RIBEIRO, 2004), por exemplo, o estudo de Toledo *et al.*, (2009) mostrou que o aumento progressivo da severidade de podridão radicular de *Fusarium* aumentou proporcional ao da densidade do inóculo de *F. solani* f.sp. *phaseoli*, tanto em infestações isoladas, como em infestações conjuntas com *R. solani*. Aliás, Burke (1965) demonstrou que *F. solani* f.sp. *phaseoli* não ataca facilmente raízes sadias de feijão sendo as infecções mais severas quando as raízes sofreram algum dano como ferimentos, ou apresentam crescimento reduzido em função de outros fatores, o que também justificaria os isolados JMS 11 e 15 terem apresentado resultados baixos neste teste e agressividade considerável no teste do palito (Tabela 4).

O teste do palito, é conhecido pela sua utilização para avaliar a reação de genótipos da soja através da severidade dos sintomas foliares ou do comprimento de lesão no caule causado por *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* (GÁSPERI, *et al* 2003). Esse teste proporcionou duas análises para a investigação da patogenicidade de *F. solani* no caupi, dentre elas a avaliação da infecção interna é a análise mais importante, pois permite observação da colonização dos tecidos pelo patógeno, enquanto que a avaliação da parte aérea permite o acompanhamento dos sintomas da doença na planta, mas esta pode sofrer uma elevada influência de outros fatores, alguns pesquisadores que utilizam o método do “palito-

de-dente” relatam que apesar das análises foliares serem rápidas e relativamente eficientes, ocorre uma falta de correlação entre sintomas nas raízes e na parte aérea (GRAY; ACHENBACH, 1996; HARTMAN *et al.*, 1997).

Tabela 4 – Relação entre caracterização patogênica e morfológica.

Isolado	Teste do disco de dicélio	Teste do “palito-de-dente”		
	Lesões no sistema radicular (%)	Infecção interna (cm)	Parte aérea (%)	Morfogruppo
JMS04	25,00	0,38	25,00	1
JMS27	33,33	0,73	18,75	2
JMS18	25,00	0,88	18,75	1
JMS24	25,00	0,88	18,75	1
JMS26	33,33	0,88	18,38	1
JMS19	25,00	0,95	25,00	1
JMS08	16,67	1,18	37,50	2
JMS20	8,33	1,23	18,75	1
JMS03	16,67	1,33	12,50	1
JMS21	25,00	1,40	25,00	1
JMS05	8,33	1,50	25,00	1
JMS23	8,33	1,53	25,00	2
JMS06	25,00	1,60	18,75	1
JMS15	0,00	1,65	12,50	1
JMS09	16,67	1,85	43,75	1
JMS07	33,33	1,93	25,00	1
JMS25	33,33	1,95	31,25	1
JMS10	25,00	2,00	25,00	1
JMS16	25,00	2,00	25,00	1
JMS17	41,67	2,13	6,25	1
JMS14	41,67	2,33	31,25	1
JMS01	25,00	2,53	31,25	1
JMS12	33,33	2,78	37,50	1
JMS11	8,33	3,08	31,25	1

1.– Morfogruppo 1: Conidióforos ramificados, 2- Morfogruppo 2: Conidióforos não ramificados.

Fonte: Elaborada pelo autor

Relacionando os dados observados nas análises morfológicas e patogênicas, é notado que todos os isolados colonizam os tecidos do feijão-caupi, entretanto os que apresentam maior agressividade, analisando a infecção interna, foram os isolados 09, 12, 11, 14, 01, 10, 07 e 16 (Tabela 4) que pertencem ao morfogrupo dos conidióforos ramificados, o que indica uma diferenciação morfológica e patogênica entre as espécies do complexo *F.*

*solani* associado ao feijão-caupi, essa observação é importante, pois devido à plasticidade e variações de características fenotípicas no gênero *Fusarium* as características morfológicas tem sido utilizadas para distinguir espécies de *Fusarium*. (LESLIE; ZELLER; SUMMERELL, 2001), atualmente associadas a diferentes técnicas moleculares como, por exemplo, marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) e DNA ribossomal rDNA, a fim de estudar a variabilidade genética em *Fusarium* spp. e identificar marcadores em nível de *formae speciales* e raças (OLIVEIRA; COSTA, 2002).

## 5 CONCLUSÕES

1. Existe variação na morfologia do conidióforo entre os isolados, sendo estes divididos em dois morfogrupos: ramificados e não ramificados;
2. Existe variabilidade na agressividade dos isolados do complexo de espécies de *F. solani* do Agreste Pernambucano.
3. A característica de ramificação do conidióforo está associada à agressividade, uma vez que os isolados que apresentam maior severidade compõem o morfogrupo dos conidióforos ramificados.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A.M.R. et al. Doenças da soja. In: KIMATI, H. et al. **Manual de fitopatologia**. 3.ed. São Paulo: Ceres. Cap.61, p.642-664, 1997.
- 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** v. 28, p. 615-619, 2003.
- AOKI, T. O'DONNELL, K.; HOMMA, Y.; LATTANZI, A. R. Sudden-death syndrome of soybean is caused by two morphologically and phylogenetically distinct species within the *Fusarium solani* species complex—*F. virguliforme* in North America and *F. tucumaniae* in South America. **Mycologia**, v. 95, n. 4, p. 660-684, 2003.
- BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**, São Paulo: Agrônômica Ceres Ltda, v.2, p. 663, 1997.
- BENYON, F. H.; BURGESS, L. W.; SHARP, P. J. Molecular genetic investigations and reclassification of *Fusarium* species in sections *Fusarium* and *Roseum*. **Mycological Research**, v. 104, n. 10, p. 1164-1174, 2000.
- BERGER, L. R.L R.; STAMFORD N. P.; WILLADINO L. G.; LARANJEIRA, D.; LIMA, M. A. B.; MALHEIROS, S. M. M.; OLIVEIRA, W. J. Cowpea resistance induced against *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* by crustaceous chitosan and by biomass and chitosan obtained from *Cunninghamella elegans*. **Biological control**, v. 92, p. 45-54, 2016.
- BURKE, D. W. The near immobility of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* in natural soil. **Phytopathology**, St. Paul, v. 55, n. 11, p. 1188-1190, 1965.
- CARVALHO, M. LINO-NETO, T.; ROSA, E.; CARNIDE, V. Cowpea: a legume crop for a challenging environment. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2017
- CASA, R. T.; KRIEGER, I.; JUNIOR, P. R. K.; BOGO, A.; MOREIRA, É. N.; RIZZI, F. P. Podridão radicular em feijão no sistema plantio direto. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 10, n. 1, p. 37-43, 2010.
- CHEN, H.; CHEN, H.; HU, L.; WANG, L.; WANG, S.; WANG, M. L.; & CHENG, X. Genetic diversity and a population structure analysis of accessions in the Chinese cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] germplasm collection. **The Crop Journal**, v. 5, n. 5, p. 363-372, 2017.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Ministério da Agricultura e Pecuária (mapa). **Acompanhamento da Safra Brasileira Grãos: V.5 - Safra 2017/2018 - N. 8 - Oitavo Levantamento Maio 2018**. 5. ed. Brasília: Conab, p. 1-145, 2018.
- CONAB, ISSN 2318-3241 - **Perspectivas agropecuárias. Brasília**, v.5, p. 1-112, set. 2017
- CORRELL, J. C. et al. The relationship between formae speciales, races, and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. **Phytopathology**, v. 81, n. 9, p. 1061-1064,

1991.

DE TOLEDO-SOUZA, E. D.; DA SILVEIRA, P. M.; JUNIOR, M. L.; & CAFÉ FILHO, A. C. Sistemas de cultivo, sucessões de culturas, densidade do solo e sobrevivência de patógenos de solo. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 43, n. 8, p. 971-978, 2008.

TOLÊDO-SOUZA, E. D. D.; LOBO JÚNIOR, M.; MARQUES DA SILVEIRA, P.; CORRÊA CAFÉ FILHO, A. Interações entre *Fusarium solani* f. sp. phaseoli e *Rhizoctonia solani* na severidade da podridão radicular do feijoeiro. **Pesquisa agropecuária tropical**, v. 39, n. 1, 2009.

DE QUEIROZ FREITAS, T. M.; MENEGHETTI, R. C.; BALARDIN, R. S. Dano devido à podridão vermelha da raiz na cultura da soja. **Ciência rural**, v. 34, n. 4, p. 991-996, 2004

EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO. **Dados conjunturais da produção de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) no Brasil (1985 a 2016): área, produção e rendimento**. Disponível em:

<<http://www.cnpaf.embrapa.br/socioeconomia/index.htm>>. Acesso em: 29 de maio. 2018.

**EMBRAPA**. Embrapa de Informação Tecnológica-AGEITEC. Disponível em:

<<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/feijao/arvore/CONT000gvwk5em102wx7ha0g934vg016m2r7.html/>>. Acesso em: 15 de junho. 2018.

FREIRE FILHO, F. R. et al. Feijão-Caupi no Brasil: Produção, melhoramento genético, avanços e desafios. 1. ed. Teresina, PI: **Embrapa Meio-Norte**, 2011.

FREIRE FILHO, F. R.; SANTOS, A. A. DOS; CARDOSO, M. J.; SILVA, P. H. S. DA; RIBEIRO, V. Q. BR 17 Gurguéia. Teresina: **EMBRAPA-CPAMN**, 2p. 1998

FREIRE FILHO, F.R. de. Origem, evolução e domesticação do caupi. *in* ARAÚJO, J. P.; WATT, E. E. (Eds.). **O caupi no Brasil**. Brasília: EMBRAPA-IITA, p. 26–46, 1988.

GÁSPERI, A. C.; PRESTES, A. M.; COSTAMILAN, L. M. Reação de cultivares de soja à podridão-vermelha-da-raiz causada por *Fusarium solani* f. sp. glycyne. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 5, p. 544-547, 2003.

GRAY, L.E. & ACHENBACH, L.A. Severity of foliar symptoms and root and crown rot of soybean inoculated with various isolates and inoculum rates of *Fusarium solani*. **Plant Disease** 80:1197-1199. 1996

HARTMAN, G.L., HUANG, Y.H., NELSON, R.L. & NOEL, G.R. Germplasm evaluation of Glycine max for resistance to *Fusarium solani*, the causal organism of sudden death syndrome. **Plant Disease** 81:515-518. 1997.

HERSHMAN, D.E.; HENDRIX, J.W.; STUCKEY, R.E.; BACHI, P.R. & HENSON, G. Influence of planting date and cultivar on soybean sudden death syndrome in Kentucky. **Plant Disease** 74: 761-766. 1990.

HUANG, Y.H.; HARTMAN, G.L. Reaction of selected soybean genotypes to isolates of *Fusarium solani* f. sp. glycyne and their culture filtrates. **Plant Disease** 82:999-1002. 1998.

**INDEX FUNGORUM.** Disponível em: <<http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>>  
Acesso em: 27 de maio. 2018.

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**, v. 32, n. 1, p. 50-55, 2007.

LESLIE, J. F.; ZELLER, K. A.; SUMMERELL, B. A. Icebergs and species in populations of *Fusarium*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 59, n. 3, p. 107-117, 2001

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. The *Fusarium* laboratory manual. 2006. **Ames, Iowa: Blackwell Publishing CrossRef Google Scholar**, 2006.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais.** Universidade Federal e Rural de Pernambuco, 2005.

NORONHA, M. A.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R. Efeito do tratamento de sementes de caupi com *Bacillus subtilis* no controle de *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 20, n. 2, p. 174-178, 1995.

DE OLIVEIRA, A. P.; SOBRINHO, J. T.; NASCIMENTO, J. T.; ALVES, A. U.; DE ALBUQUERQUE, I. C.; BRUNO, G. B. Avaliação de linhagens e cultivares de feijão-caupi, em Areia, PB. **Hortic. bras**, v. 20, n. 2, 2002

OLIVEIRA, V.C.; COSTA, J.L.S. Análise de restrição de DNA ribossomal amplificado (ARDRA) pode diferenciar *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* de *F. solani* f. sp. *glycines*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p. 631-634, 2002.

RAMOS, H. M. M.; BASTOS, E. A.; DE ANDRADE JÚNIOR, A. S.; MAROUELLI, W. A. Estratégias ótimas de irrigação do feijão-caupi para produção de grãos verdes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 4, p. 576-583, 2012.

RAYNER, R.W. A mycological color chart. **Commonwealth Mycological Institute and British Mycological Society**, Kew, Surrey, UK, p.34, 1970.

REIS, E. M.; CASA, R. T. **Manual de identificação e controle de doenças de milho.** Passo Fundo: Aldeia Norte, 1996.

RIBEIRO COSTA, G.; DA SILVA COSTA, J. L. Influência da densidade de inóculo de *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* na severidade da podridão radicular seca do feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 34, n. 2, 2004.

RODRIGUES, A. A.C.; MENEZES, M. Detecção de fungos endofíticos em sementes de caupi provenientes de Serra Talhada e de Caruaru, Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira, Brasília**, v. 27, n. 5, p. 532-537, 2002.

SUMMERELL, B. A.; SALLEH, B.; LESLIE, J. F. A utilitarian approach to *Fusarium* identification. **Plant disease**, v. 87, n. 2, p. 117-128, 2003.

TENÓRIO, D. D. A. **Diversidade genética e patogênica de *Rhizoctonia solani* do feijoeiro no Agreste Meridional de Pernambuco.** 2011.

TOLÊDO-SOUZA, E. D. D.; LOBO JÚNIOR, M.; MARQUES DA SILVEIRA, P.; CORRÊA CAFÉ FILHO, A.. Interações entre *Fusarium solani* f. sp. phaseoli e *Rhizoctonia solani* na severidade da podridão radicular do feijoeiro. **Pesquisa agropecuária tropical**, v. 39, n. 1, 2009.

TORRES, F. E. et al. Interação genótipo x ambiente em genótipos de feijão-caupi semiprostrado via modelos mistos. **Bragantia**, v. 74, n. 3, 2015.

VALE, J. C.; BERTINI, C.; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão-Caupi: do plantio à colheita.** 1. Ed., Viçosa, MG, p.267, 2017.

VERDCOURT, B. Studies in the Leguminosae-Papilionoideae for the Flora of Tropical East Africa: II. **Kew Bulletin**, p. 235-307, 1970.



## ANEXOS - ANÁLISE DE VARIÂNCIA TESTES DE PATOGÊNICA

### ANEXO A – LESÕES NO SISTEMA RADICULAR

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	25	54.936538	2.197462	3.438	0.0000
erro	78	49.860000	0.639231		
Total corrigido	103	104.796538			
CV (%) =	49.79				
Média geral:	1.6057692	Número de observações:	104		

Teste Scott-Knott (1974) para a FV TRAT

NMS: 0.05

Média harmônica do número de repetições (r): 4  
 Erro padrão: 0.399759543110221

### ANEXO B – AVALIAÇÃO INFECÇÃO INTERNA

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	25	10727.163462	429.086538	2.711	0.0004
erro	78	12343.750000	158.253205		
Total corrigido	103	23070.913462			
CV (%) =	51.81				
Média geral:	24.2788462	Número de observações:	104		

---

Teste Scott-Knott (1974) para a FV TRATAMENTO

---

NMS: 0.05

---

Média harmônica do número de repetições (r): 4  
 Erro padrão: 6.28993650858666

### ANEXO C – AVALIAÇÃO PARTE AÉREA

#### TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

---

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	25	10448.717949	417.948718	1.932	0.0228
erro	52	11250.000000	216.346154		
Total corrigido	77	21698.717949			
CV (%) =	67.49				
Média geral:	21.7948718	Número de observações:	78		

---



---

Teste Scott-Knott (1974) para a FV TRATAMENTO

---

NMS: 0.05

---

Média harmônica do número de repetições (r): 3  
 Erro padrão: 8.49207775608447

---