

## ABSORÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DO FÓSFORO NO ALGODOEIRO EM VARIEDADE RESISTENTE E SUSCETÍVEL A “MURCHA DO ALGODOEIRO” \*

H. P. HAAG \*\*

E. BALMER \*\*\*

M. KURAMOTO \*\*\*\*

Com objetivo de aquilatar a influência da “Murcha do algodoeiro” na absorção e distribuição do fósforo em var. suscetível e resistente, os autores cultivaram plantas de *Gossypium hirsutum* L. variedades IAC-12 e IAC-RM4 em solução nutritiva contendo fósforo, inoculados ou não com *Fusarium oxysporum* f. *vasinfectum*. Uma vez evidenciados os sintomas de “Murcha”, as plantas foram expostas durante 48 horas a uma solução contendo fósforo marcado ( $^{32}\text{P}$ ). As amostras após conveniente tratamento foram expostas a um sistema de detecção e contagem (Geiger-Muller). Foram montados radioautógrafos.

Os autores constataram que a presença do *Fusarium* afeta a distribuição do fósforo em ambas as variedades. A variedade suscetível (IAC-RM4) inoculada com o fungo perde a capacidade de absorver o fósforo em cerca de 45%.

### INTRODUÇÃO

A “Murcha do algodoeiro” é a doença mais séria e importante que pode ocorrer na cultura do algodoeiro, segundo SILVEIRA (1965) e BALMER (1966), entre outros. O agente casual é o fungo (*Fusarium oxysporum* f. *vasinfectum* (ATK) Snyder & Hansen).

Em contraste com outros fungos que causam doenças o *Fusarium* invade e se estabelece nos vasos condutores do xilema da planta, até que o hospedeiro torna-se moribundo, ocorrendo então uma invasão dos tecidos parenquimatosos (DIMOND, 1970). São conhe-

\* Parcialmente financiado pelo Centro Nuclear Aplicado a Agricultura (CENA), Piracicaba, entregue para publicação em 1/12/1971.

\*\* Departamento de Química — E.S.A. “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

\*\*\* Departamento de Fitopatologia — E.S.A. “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

\*\*\*\* Agradece a Fundação de Amparo à Pesquisa do Est. de S. Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de iniciação científica.

cidos os efeitos de alguns elementos especialmente do ferro, manganês, cobre e zinco contidos no solo sobre o crescimento de fungos e bactérias (SADASIVAN, 1965). Por outro lado são deveras escassos os trabalhos que abordam a ação do fungo na absorção e distribuição dos elementos minerais na planta.

Assim, HAAG et al, (1967) e BALMER e HAAG (1967) estudaram a influência da "Murcha do algodoeiro" na nutrição mineral do algodoeiro. Cultivaram o algodoeiro em sílica fornecendo solução nutritiva omitindo um macronutriente por vez ou em solução completa, contendo todos os nutrientes essenciais. Em um grupo de plantas foi inoculado o fungo, permanecendo o outro como testemunha. Concluíram os autores que torna-se difícil a identificação dos sintomas da "murcha" quando associados à carência dos macronutrientes; observaram igualmente uma variação na quantidade total e distribuição de N e P em plantas afetadas pelo **Fusarium**.

O presente trabalho tem por finalidade estudar a influência da "murcha", na absorção e distribuição do P em var. suscetível e resistente.

\* Revisão da Literatura.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Sementes de algodão (**Gossypium hirsutum** L.), var. IAC 12 (suscetível) e IAC-RM4 (resistente) foram postas a germinar em vasos, contendo sílica lavada. Os vasos e a sílica foram previamente autoclavados a uma atmosfera de pressão durante 30 minutos. Os vasos foram irrigados, por percolação, duas vezes ao dia com solução nutritiva de HOAGLAND & ARNON (1950), completa e ou carente em fósforo.

Para obtenção do inóculo (**Fusarium Oxysporum f.vasinfectum** (ATK) Snyder & Hansen) procedeu-se da seguinte maneira:

O fungo foi repicado para placas de Petri com o meio de MARTIN (1950), desenvolvendo-se durante quatro dias a 25.°C.

Da periferia da colônia foram retirados círculos de aproximadamente 0,5 cm de diâmetro e transferidos para frascos de Erlenmeyer com capacidade de três litros, contendo um litro do meio líquido de ARMSTRONG et al (1958). Os frascos foram mantidos a temperatura ambiente e agitados três vezes ao dia. No quarto dia procedeu-se a centrifugação do conteúdo dos frascos a 7.000 rpm durante 10 minutos. O micelio foi suspenso em água destilada, usando-se o mesmo volume. Tão logo as plantas apresentaram duas folhas verdadeiras, inoculou-se 150 ml da suspensão por vaso, empregando a técnica de ARMSTRONG, citada em BALMER (1967). Após a inoculação procedeu-se ao desbaste, deixando seis plantas por vaso.

Os tratamentos foram os seguintes:

1. var. IAC — RM4 + fungo — P
2. var. IAC — RM4 + fungo + P
3. var. IAC — RM4 — fungo — P
4. var. IAC — RM4 — fungo + P
5. var. IAC 12 + fungo — P
6. var. IAC 12 + fungo + P
7. var. IAC 12 — fungo — P
8. var. IAC 12 — fungo + P

Quando as plantas da var. suscetível a “murcha” apresentaram sintomas iniciais da doença (25%) e em estágio mais avançado (75%) foi aplicado a todos os vasos uma solução de fosfato de sódio com uma atividade de 20 Cu de  $32_p$  por vaso. Quarenta e oito horas após a aplicação da solução radiotiva as plantas foram colhidas, lavadas as raízes com uma solução de  $KH_2SO_4M$  durante dois minutos, seguida de água destilada. As plantas foram divididas em raiz, caule, par de folhas cotiledonares, 1.º par de folhas verdadeiras e folhas restantes. O material após ser devidamente tratado foi submetido a um sistema de detecção e contagem (Geiger-Müller) Radioautografias foram obtidas segundo BERGAMIN FILHO (1959)

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Sintomas externos

O quadro sintomatológico da doença apareceu sete dias após a inoculação e pode ser evidenciado por: murchamento das folhas novas, amarelecimento do limbo foliar entre as nervuras, escurecimento das nervuras principais. Além desta sintomatologia as plantas apresentavam-se enfezadas, folhas novas encrespadas. Os sintomas são concordantes com os descritos por HAAG et al, (1967) e GALLI et al, (1968 pg 143). Este quadro sintomatológico só foi observado na variedade suscetível à doença, sem omissão do fósforo.

Nos tratamentos dos quais foi omitido o fósforo, as plantas não apresentaram sintomas da doença, mesmo na var. suscetível, contrariando aparentemente os resultados obtidos por HAAG et al, (1967).

Esta discrepância pode ser explicada, considerando-se que, no caso dos autores citados, as plantas foram inoculadas no caule e se apresentavam bem desenvolvidas, contendo uma apreciável reserva de fósforo, ao passo que, no presente trabalho, as plantas foram menores e a inoculação deu-se em via radicular.

O fato de que mesmo a variedade suscetível inoculada pelo *Fusarium* não ter mostrado sintomas da doença na omissão de fósforo

na solução nutritiva, leva a crer ser o fósforo um elemento importante para o desenvolvimento dos esporos que se encontram no vaso do xilema.

### Distribuição porcentual do fósforo (32<sub>P</sub>)

Os quadros n.ºs 1, 2, 3, 4 apresentam a distribuição porcentual do fósforo (32<sub>P</sub>) na raiz, caule, folhas cotiledonares, 1.º par de folhas verdadeiras e folhas restantes na variedade resistente e suscetível em função do fornecimento de fósforo e severidade da doença.

Quadro 1 — Distribuição porcentual de fósforo (32<sub>P</sub>). Tratamento com omissão de fósforo e início de "murcha" (25%). Média de tres repetições.

Órgão	Variedades			
	Suscetível		Resistente	
	c/ fungo	s/ fungo	c/ fungo	s/ fungo
Raiz	44,83	49,10	26,10	45,16
Caule	20,34	22,50	22,02	27,88
Folhas cotiledonares	7,66	4,24	11,73	4,52
1.º par de folhas verdadeiras	8,24	4,39	11,41	4,33
Folhas restantes	18,89	19,74	28,74	18,07

Quadro 2 — Distribuição porcentual de fósforo (32<sub>P</sub>). Tratamento com fósforo e mais união de "murcha" (25%). Média de tres repetições.

Órgão	Variedades			
	Suscetível		Resistente	
	c/ fungo	s/ fungo	c/ fungo	s/ fungo
Raiz	43,66	32,57	32,33	30,04
Caule	13,82	20,49	19,51	19,42
Folhas cotiledonares	12,23	9,83	9,77	10,98
1.º par de folhas verdadeiras	10,51	9,39	12,43	11,03
Folhas restantes	19,51	27,65	25,96	25,79

Quadro 3 — Distribuição porcentual de fósforo ( $32_P$ ). Tratamento com omissão de fósforo e com sintomas de “murcha” (75%). Média de tres repetições.

Órgão	Variedades			
	Suscetível		Resistente	
	c/ fungo	s/ fungo	c/ fungo	s/ fungo
Raiz	49,22	52,40	38,11	46,22
Caule	27,23	28,45	29,31	29,20
Fôlhas cotiledonares	2,90	4,09	5,69	5,39
1.º par de fôlhas verdadeiras	7,80	3,05	6,03	4,02
Fôlhas restantes	12,84	12,02	20,82	15,47

Quadro 4 — Distribuição porcentual de fósforo ( $32_P$ ). Tratamento com fósforo e com sintomas de “murcha” (75%). Média de tres repetições.

Órgão	Variedades			
	Suscetível		Resistente	
	c/ fungo	s/ fungo	c/ fungo	s/ fungo
Raiz	79,23	50,98	35,06	45,13
Caule	7,82	25,72	23,79	27,99
Fôlhas cotiledonares	2,83	4,36	8,30	4,12
1.º par de fôlhas verdadeiras	5,83	5,70	8,92	6,90
Fôlhas restantes	4,24	13,21	23,87	15,82

Observa-se, um aumento significativo ao nível de 1% de probabilidade\* na distribuição do fósforo ( $32_P$ ) nas fôlhas cotiledonares e no 1.º par de fôlhas verdadeiras nas plantas inoculadas com o fungo, independentemente do nível de fósforo na solução nutritiva, quer na var. resistente, quer na var. suscetível. Este fato, sugere que tanto na var. resistente, como na var. suscetível o fungo que se

\* Análise estatística, não incluída no texto.

desenvolve nos vasos, observa o fósforo ( $32_p$ ) fornecido às plantas durante 48 horas. MACE et al (1971) demonstraram que os esporos de **Fusarium oxysporum** f. sp. **lycopersici** no tomateiro distribuem-se nos vasos em var. resistente como na var. suscetível a "murcha".

Os dados do presente trabalho mostram uma maior distribuição porcentual do fósforo ( $32_p$ ), significativo ao nível de 5% de probabilidade, para o 1.º par de folhas verdadeiras e folhas restantes na var. resistente, independente do nível de fósforo na solução nutritiva e da presença ou não do **Fusarium**. SADASIVAN (1961) assinala, que uma absorção maior de nitrogênio, fósforo e potássio pelas plantas está associada a um aumento de resistência dos protoplastos ao anel piridinico do ácido fusárico. Possivelmente a resistência da var. IAC-RM4 esteja associada a sua distribuição de fósforo.

Em presença de um baixo nível de fósforo no substrato (quadro n.º 1), observa-se uma distribuição diferente do fósforo ( $32_p$ ) na var. resistente e inoculada quando confrontada com a da var. suscetível e inoculada. Ocorre uma maior concentração do fósforo ( $32_p$ ) nas folhas restantes e menor nas raízes. É sabido que geralmente ocorrendo uma infecção há um aumento na respiração da planta (COLLINS et al, 1958), o que sugere uma maior distribuição do fósforo na planta. Fato este entretanto só observado na var. resistente.

Em plantas bem supridas em fósforo (quadro n.º 2) observou-se uma retenção de fósforo ( $32_p$ ) nas raízes da var. suscetível inoculada e uma diminuição porcentual do fósforo ( $32_p$ ) nas folhas restantes; devido a uma obstrução nos vasos impedindo parcialmente a translocação do fósforo ( $32_p$ ) para as outras partes da planta. Correlação positiva entre a obstrução e translocação de corantes e material radioativo foi obtida por PARMETER et al, (1956) em "murcha" de carvalho.

Num estado mais avançado da "murcha" (75%) ocorre uma acentuada imobilização do fósforo ( $32_p$ ) nas raízes da var. suscetível e inoculada (quadro n.º 4), tendo, como consequência uma diminuição da porcentagem do fósforo que alcança as folhas restantes. Nas plantas da var. suscetível e resistente sem a presença do **Fusarium** a distribuição do fósforo ( $32_p$ ) é idêntica.

### Radioautografias

A figura n.º 1 apresenta os herbários e as radioautografias das plantas da var. resistente (1 e 1A) e suscetível (2 e 2A) no estado inicial da murcha (25%). Observa-se que o fósforo ( $^{32}\text{P}$ ) distribuiu-se de forma aproximadamente idêntica nas duas variedades, com uma leve predominância para a var. resistente.

Na figura n.º 2 estão representados os herbários e as radioautografias das plantas da var. resistente (3 e 3A) e suscetível (4 e 4A) no estado final da murcha (75%). Nota-se nitidamente o maior acúmulo e distribuição do fósforo ( $^{32}\text{P}$ ) na var. resistente, quando confrontada com a var. suscetível, onde o fósforo concentrou-se no sistema radicular e no início do caule.

### CONCENTRAÇÃO DE FÓSFORO EM PLANTAS DE VAR. RESISTENTE E SUSCETÍVEL

Quadro 5 — Microgramas de fósforo absorvidos em 28 horas pelo var. resistente e suscetível. (1) alta severidade de “murcha” (75%).  
(2) baixa severidade de “murcha” (25%).

Órgãos	V A R I E D A D E				
	Suscetível			Resistente	
	c/fungo(1)	c/fungo(2)	s/fungo	c/fungo	s/fungo
Raiz	1415	1548	1786	1619	1872
Caule até 2.º f. Verd.	621	968	1110	1016	1158
Caule restante	556	659	2031	1151	1355
1.º par f. verdadeiras	452	630	555	548	598
2.º par f. verdadeiras	—	469	634	540	697
Fólias restantes	—	—	646	596	660
T o t a l	3044	4274	6762	5470	6340

Pelo exame do quadro n.º 5, observa-se uma redução na capacidade de absorção do fósforo pelas raízes na var. suscetível inoculada, quer com baixa (25%) quer com alta severidade de “murcha” (75%). A var. resistente inoculada por *Fusarium* igualmente apresentou uma diminuição na absorção do fósforo. As plantas da var.

suscetível inoculadas apresentando uma alta severidade de "murcha" não se desenvolveram e acumular pouco fósforo em 48 horas quando confrontadas com as plantas da mesma var. não inoculadas, e com plantas da var. resistente inoculadas ou não. Ocorreu uma redução na ordem de 45% na absorção do fósforo devido a presença do fungo na var. suscetível.

### CONCLUSÕES

1. A presença do **Fusarium** nos tecidos da planta afeta a distribuição do fósforo, nas variedades IAC-12 e IAC-RM4.
2. A var. IAC-12 afetada pela "murcha" apresenta acentuada redução na capacidade em absorver o fósforo, em cerca de 45%.
3. A var. IAC-RM4 em presença do **Fusarium** absorve menor quantidade de fósforo.

**Absorption and distribution of phosphorus in cotton plants resistant and susceptible to "wilt disease".**

### SUMMARY

In order to find out the effects of "wilt disease" on the absorption and distribution of phosphorus, cotton plants of the varieties IAC-12 (susceptible) and IAC — RM4 (susceptible) were cultivated in nutrient solution containing phosphorus, without phosphorus, inoculated or not by **Fusarium Oxysporum f. vasinfectum**. Soon as the plants presented disease symptoms they were transferred to nutrient solution containing  $32^P$ . The plants remained in the solution during 48 hours. Determination of the phosphorus activity was carried out on the different parts of the plants. The presence of the fungus affected the distribution of phosphorus in both varieties. The susceptible variety (IAC — RM4) affected by the disease showed a 45% reduction in the capacity of phosphorus absorption.

### LITERATURA CITADA

- ARMSTRONG, J. K.; G. M. ARMSTRONG. 1958. A race of cotton wilt *Fusarium* causing wilt of yellow Soybean and Flue Cured Tobacco. Plant Disease. Report, 43:147-151.
- BALMER, E.; H. P. HAAG. 1967. Influência de deficiências minerais sobre a expressão de sintomas de murcha do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. var. IAG-12, causada por *Fusarium oxysporum vasinfectum* (ATK). SNYDER & HANSEN. Ciência e Cultura, 19:450.
- BALMER, E. 1967. Contribuição ao estudo das relações entre *Fusarium oxysporum f. vasinfectum* (ATK). SAND & HANS e *Gossypium hirsutum* L. Tese mimeog. E.S.A. "Luiz de Queiroz", USP, Piracicaba.

- BERGAMIM, F.º, H. 1969. Radioautografia de tecidos. *Revista da Agricultura*, 34:41-49.
- BALMER, E. 1966. Doenças do algodoeiro. *Divulgação Agronômica Shell* n.º 21:35-39.
- DIMOND, A. E. 1970. Biophysics and Biochemistry of the vascular wilt syndrome. *Ann Rev. of Phytopathology*, 8:301-322.
- GALLI, F.; H. TOKESHI, P. C. T. de CARVALHO, E. BALMER, KIMATI, C. O. N. CARDOSO, C. L. SALGADO. 1968. *Manual de Fitopatologia. Doenças das Plantas e seu controle*. Editôra Agronômica Ceres. São Paulo — Brasil.
- HAAG, H. P.; E. BALMER; A. De CARVALHO. 1967. Influência da "Murcha do Algodoeiro" na composição mineral do algodoeiro. *Anais da E.S.A. "Luiz de Queiroz"*. XXIV:33-342.
- HOAGLAND, D. R.; D. I. ARNON. 1950. The water culture method for growing plants without soil. *Calif. Agric. Exp. Sta. Univ. of Calif. Berkeley circular* 347.
- MACE, M. E.; J. A. VEECH; F. HAMMERSCHLAG. 1971. Fusarium wilt of Susceptible and Resistant Tomato Isolines: Spore Transport. *Phytaj*, 61:627-630.
- MARTIM, J. P. 1950. Use of acid, rose bengol and streptomycin in the plate method for estimating fungus soil. *Soil Science*, 69:215-233.
- PARMETER, J. R.; J. E. KUNTZ; A. J. RIKER. 1956. Oak wilt development in bur oaks *Phytaj* 46:423-436.
- SADASIVAN, T. S. 1961. Physiology of wilt disease. *Ann Rev. of Plant Physiology*, 12:449-468.
- SILVEIRA, A. P. 1965. IX. Moléstias, Fungos e Bactérias. Em "Cultura e Adubação do Algodoeiro". Ed. Instituto Brasileiro de Potassa. S. Paulo — Brasil.
- SADASIVAN, T. S. 1965. Effect of mineral nutrients on soil microorganisms and plant disease. Em *Ecology of soil — Borne Plant Pathogens* (Baker, K. F., W. C. SNYDER). University of Califórnia Press, Bekeley, Calif, U.S.A.

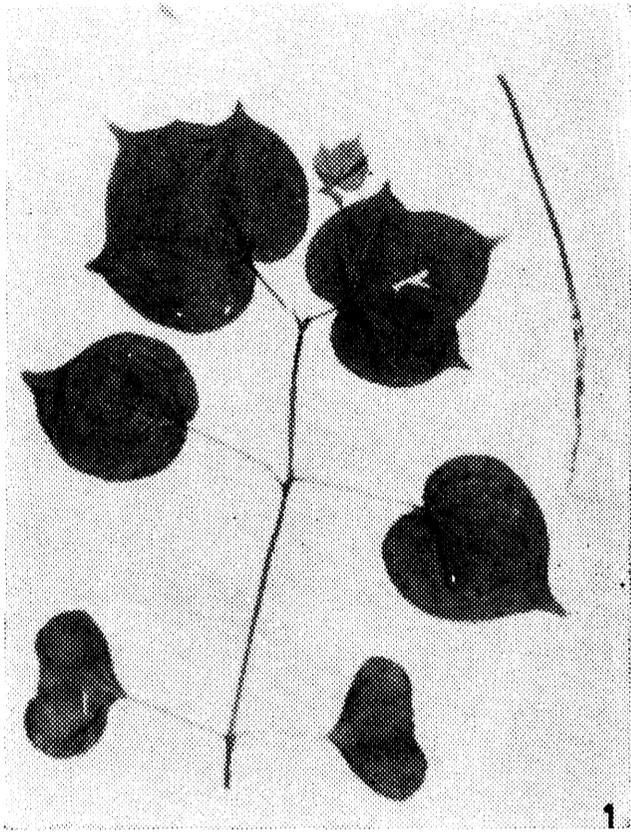
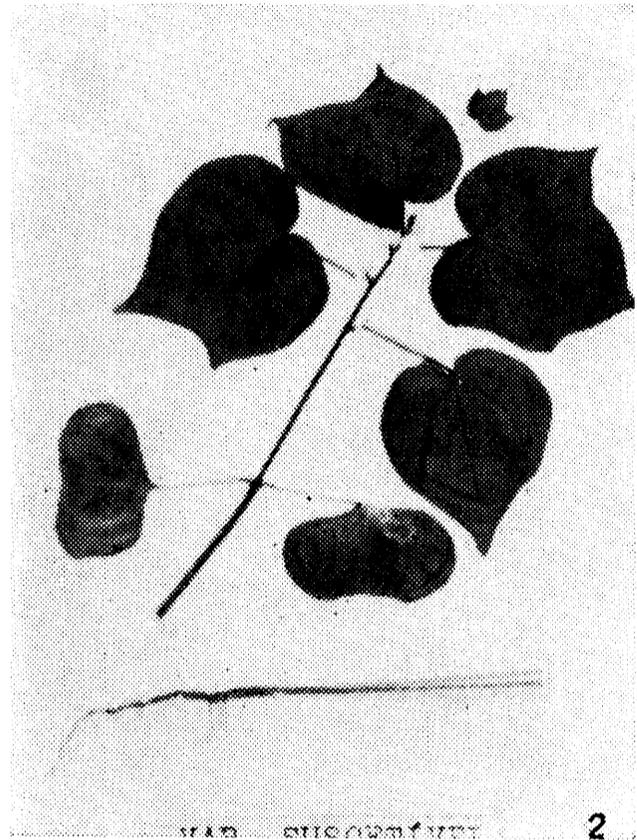
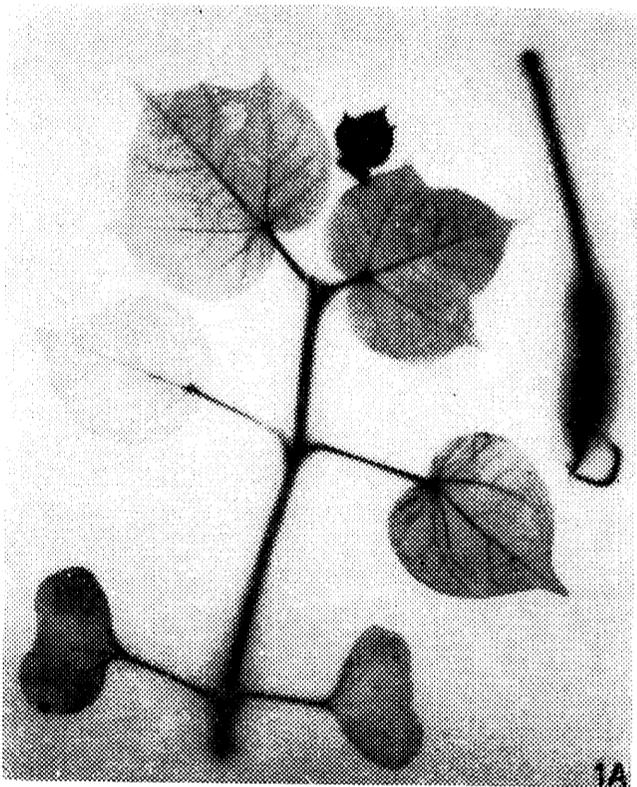
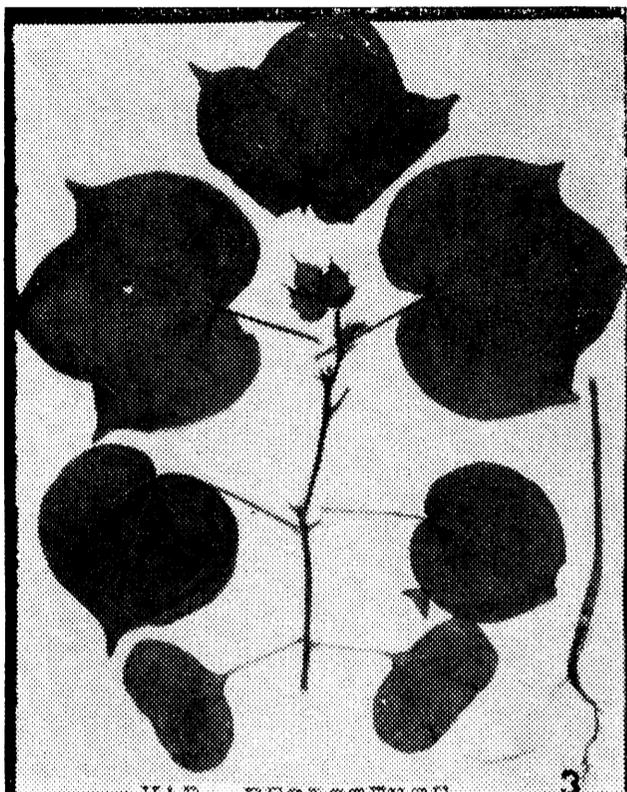
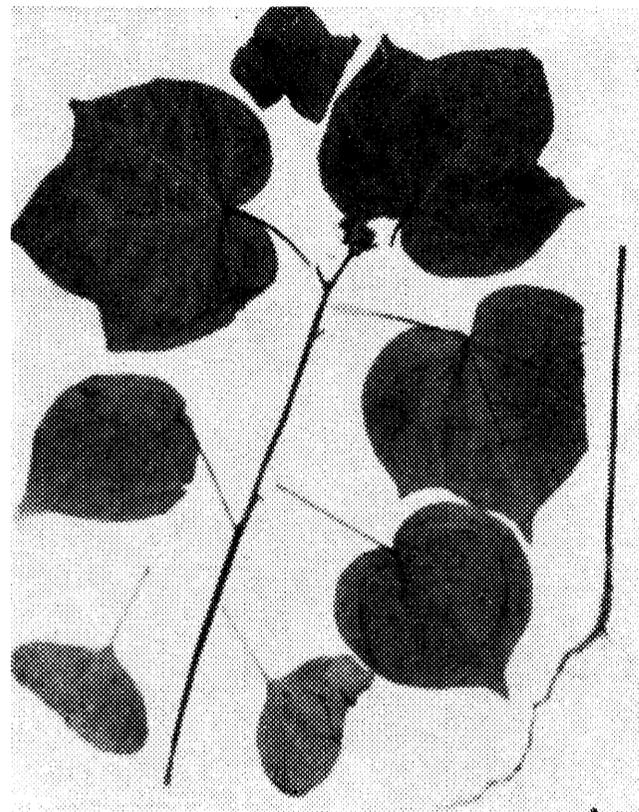
*Var. Resistente**Var. Suscetível**Radioautografia-Var. Resistente**Radioautografia-Var. Suscetível*

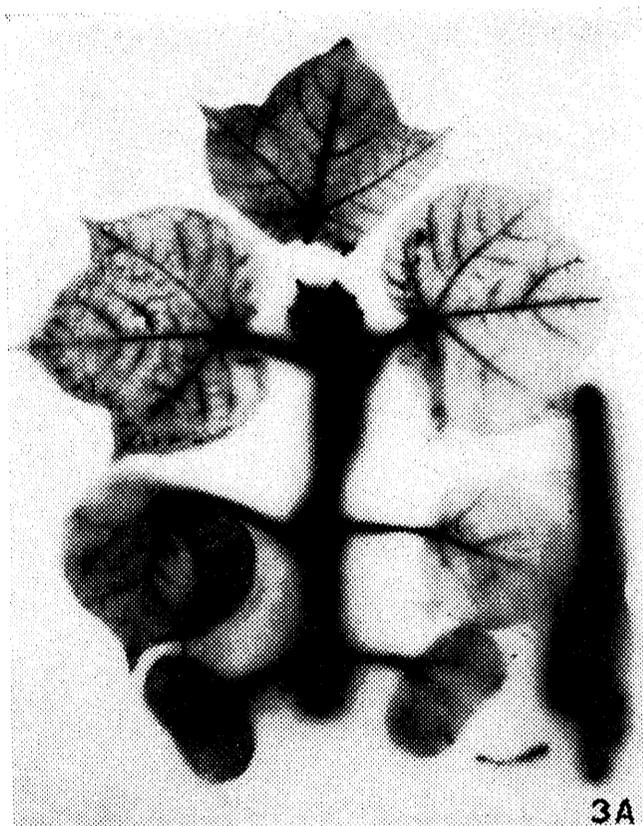
Fig. 1 — Distribuição do fósforo ( $^{32}\text{P}$ ) em 48 horas na var. resistente e suscetível com início de "murcha" — 25%.



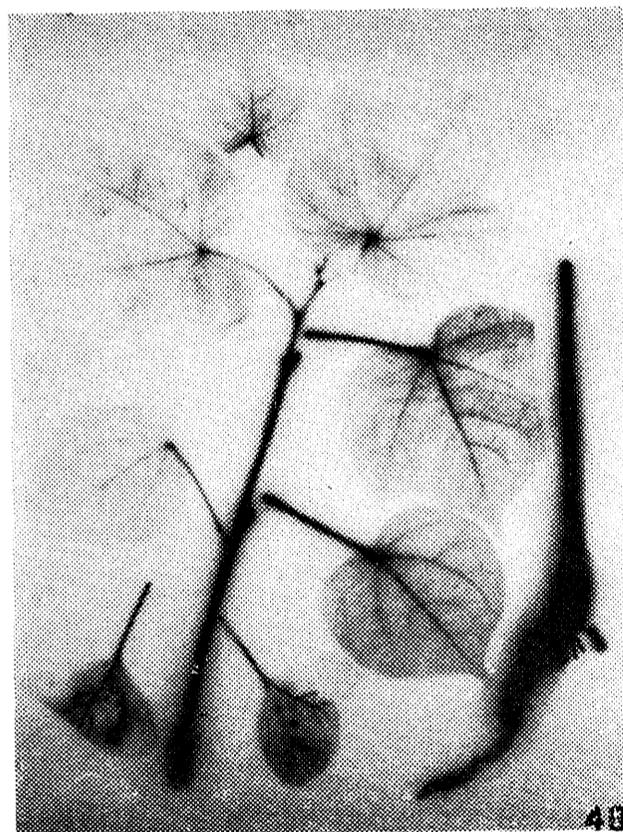
*Var. Resistente*



*Var. Suscetivel*



*Radioautografia-Var. Resistente*



*Radioautografia-Var. Suscetivel*

Fig. 2 — Distribuição do fósforo ( $^{32}\text{P}$ ) em 48 horas na var. resistente e suscetível fase adiantada de “murcha” — 75%.

