

Efeito do pH do solo em diferentes níveis de concentração de inóculo no controle de *Plasmodiophora brassicae*

Lucimeris Ruaro¹, Vismar da Costa Lima Neto¹, Antonio Carlos Vargas Motta²

¹Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, ²Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, Universidade Federal do Paraná, CEP 80035-050, Curitiba PR.

Autor para correspondência: Lucimeris Ruaro (lucimeris@ufpr.br)

Data de chegada: 20/08/2008. Aceito para publicação em: 30/10/2009.

1607

RESUMO

Ruaro, L.; Lima Neto, V. da C.; Motta, A.C.V. Efeito pH do solo e da concentração de inóculo no controle de *Plasmodiophora brassicae*. *Summa Phytopathologica*, v.36, n.1, p.16-20, 2010.

A hérnia das crucíferas causada por *Plasmodiophora brassicae* é uma das mais importantes doenças no cultivo de espécies de *Brassicaceae* no Brasil. Nos Municípios da Região Metropolitana de Curitiba, PR a maioria dos solos está contaminada pelo patógeno *Plasmodiophora brassicae* agente causal da hérnia das crucíferas, inviabilizando o cultivo de espécies de *Brassicaceae* em diversas propriedades. A calagem utilizada para elevar o pH do solo é uma das medidas de controle mais indicadas. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do pH do solo em diferentes concentrações de inóculo, no controle de *P. brassicae*. Foram utilizados quatro níveis de pH do solo: 4,3; 5,5; 6,2 e 7,3 e três concentrações de inóculo: 1.2×10^7 ; 2.5×10^7 ; e 5×10^7

esporos mL⁻¹ e testemunha não inoculada. A suspensão de esporos foi obtida a partir de raízes de couve-chinesa com sintomas de hérnias e adicionado no colo das plantas, por ocasião do transplante das mudas de couve-chinesa (*Brassica rapa* var. *pekinensis*), para os vasos. Aos 45 dias após a inoculação, foram realizadas as avaliações. O efeito do pH sobre a severidade da doença foi mais expressivo em concentrações médias de inóculo (1.2×10^7 a 2.5×10^7 esporos mL⁻¹). Em concentrações elevadas de inóculo, a severidade da doença foi reduzida em pH do solo de 6,2 e 7,3. O melhor desenvolvimento das plantas, quantificado pelo acúmulo de massa seca foliar foi obtido nos tratamentos onde o solo apresentou pH 6,2 e 7,3 e com a menor concentração de inóculo.

Palavras-chave adicionais: hérnia, calagem, supressividade, *Brassica rapa* var. *pekinensis*.

ABSTRACT

Ruaro, L.; Lima Neto, V. da C.; Motta, A.C.V. Soil pH and inoculum concentration on the control of *Plasmodiophora brassicae* effect. *Summa Phytopathologica*, v.36, n.1, p.16-20, 2010.

Clubroot of the crucifers caused by *Plasmodiophora brassicae* is one of the most important diseases in the cultivation of *Brassicaceae* species. In the Metropolitan Region of Curitiba, PR most of the soil is contaminated by the pathogen *Plasmodiophora brassicae* infesting agent of the clubroot of the crucifers making the cultivation of different species not feasible in many properties. Liming to increase soil pH is one of the most recommended control measures. Whereupon the objective of this work was to evaluate the effect of soil pH in different inoculum concentrations in the control of *P. brassicae*. Four levels of soil pH were used: 4,3; 5,5; 6,2 and 7,3 and three inoculum concentrations: 1.2×10^7 , 2.5×10^7 and 5×10^7 spores mL⁻¹ and

non-inoculated control. The spores suspension was obtained from Chinese cabbage roots showing galls and it was added to the plant collars when the Chinese cabbage (*Brassica rapa* var. *pekinensis*) seedlings were transplanted to pots. At 45 days after inoculation the evaluations were performed. The effect of pH on the disease severity was more expressive with the average inoculum concentrations (1.2×10^7 to 2.5×10^7 spores mL⁻¹). With the higher inoculum concentrations the disease severity was reduced in soil pH 6,2 and 7,3. The best development of the plants assessed by the accumulation of foliar dry phytomass was obtained where the soil presented pH between 6,2 and 7,3 and with the lowest inoculum concentration.

Keywords: galls, liming, suppressiveness, *Brassica rapa* var. *pekinensis*.

Dentre as olerícolas mais cultivadas, as espécies pertencentes às famílias *Brassicaceae* representadas pelo repolho, couve-flor, brócolos, mostarda e couve-chinesa se destacam pela sua expressão econômica, principalmente nas regiões Sudeste e Sul do Brasil. A Região Metropolitana de Curitiba-PR (RMC) é responsável por cerca de 70% da produção de olerícolas do estado do Paraná, abastecendo o mercado de Curitiba e outros centros consumidores do País (18).

Das doenças que incidem nessas culturas, a hérnia das crucíferas causada por *Plasmodiophora brassicae* Woronin é uma das mais importantes e está presente nas regiões Sul e Sudeste, especialmente

em locais com clima úmido e temperaturas mais baixas, como Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, com tendência a ser mais grave em áreas onde estas espécies são cultivadas intensivamente (26). A maioria dos solos nos municípios da RMC está contaminada pelo patógeno, chegando a inviabilizar o cultivo de brássicas em muitas propriedades (13).

No processo de colonização, o patógeno induz o desenvolvimento de hérnias no sistema radicular, a planta passa a exibir murcha nas horas mais quentes do dia, subdesenvolvimento e o apodrecimento antecipado do sistema radicular, culminando com a liberação de esporos

de resistência. Nesta condição, o patógeno pode permanecer no solo por longos períodos. Estudos de campo indicam que os esporos têm uma meia-vida de pelo menos 3,6 anos e alguns deles podem existir por 18 anos, na ausência de hospedeiros (23).

A doença é favorecida quando a temperatura oscila entre 18 e 25 °C, o solo é arenoso, e o pH é ácido. Esta última condição é preponderante no desencadeamento e desenvolvimento da infecção (23). Segundo Webster & Dixon (25) a doença é mais severa em pH menores que 5,7; entre 5,7 e 6,2 a severidade da doença decresce e acima de pH 7,8 o patógeno é completamente inibido. Niwa et al. (17) afirmam que a germinação dos esporos e a subsequente colonização dos pelos da raiz são inibidas pela presença de cálcio e valores de pH alcalino.

Geralmente a aplicação de calcário para elevar o pH do solo apresenta bons resultados, mas não é raro a redução da doença através desta medida acabar em resultados insatisfatórios (9). Diversos fatores podem modificar o resultado da calagem no controle da hêmia das crucíferas. Larson & Walker (12) correlacionaram um controle insuficiente a diferentes níveis de incorporação do calcário ao solo. Chupp & Sherf (2) destacam a importância de uma espera de seis a oito semanas, após a aplicação do calcário para obter-se um bom controle da doença. Níveis elevados de inóculo de *P. brassicae* permitiram infecções em plantas cultivadas em solos com pH de até 8,0 (3). E solos diferentes podem reagir de formas também diferentes à aplicação de calcário para o controle da hêmia das crucíferas (15).

Myers et al. (15) relatam que o pH do solo isoladamente não é uma indicação confiável de potencial para controle da hêmia das crucíferas em todos os solos. Ainda segundo os mesmos autores, aparentemente, o pH e a concentração de inóculo poderiam funcionar de forma interativa, afetando processos como a invasão, a colonização e os sintomas de formação de hêmias. Webster & Dixon (25) verificaram que o efeito do pH no controle da doença foi mais efetivo em baixas concentrações de inóculo do patógeno. Na RMC tem sido observada ocorrência severa da doença mesmo em propriedades onde a calagem é realizada e os valores médios do pH CaCl₂ das amostras de solo, coletadas nas covas das plantas, estão entre 6,8 e 7,2. Ruaro et al. (18) verificaram que a calagem não foi suficiente para reduzir a incidência da hêmia das crucíferas nos solos da região metropolitana de Curitiba. Pesquisas referentes aos efeitos do pH em solos com diferentes concentrações de inóculo no controle de *P. brassicae* são escassos e conta-se com os trabalhos de Webster & Dixon (25). Contudo, Dixon (8) destaca que fatores como pH do solo, concentração de inóculo e planta hospedeira podem influenciar de modo diferente algumas raças fisiológicas de *P. brassicae*. Pouco se sabe sobre as populações brasileiras deste patógeno, mas há indícios sobre diferenças existentes entre populações heterogêneas conforme estudos realizados por Cruz

et al. (5). Assim, é fundamental o entendimento dos efeitos desses fatores em condições brasileiras.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do pH do solo em diferentes concentrações de inóculo de *P. brassicae* na severidade da doença, na produção da parte aérea e no desenvolvimento do sistema radicular de plantas de couve chinesa.

MATERIALE MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Ciências Agrárias da UFPR, Curitiba, PR, em condições parcialmente controladas de casa de vegetação ($\pm 25^{\circ}\text{C}$), durante os meses de agosto à outubro. Os valores de pH utilizados no experimento foram: 4,3; 5,5; 6,2 e 7,3. Para a determinação da quantidade de calcário necessária para se atingir esses valores de pH, realizou-se a incubação do solo com doses crescentes de calcário, correspondendo a 0; 2,5; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 30,0 e 35,0 t.ha⁻¹, a unidade experimental era constituída de um vaso de plástico contendo 1 kg de solo, com cinco repetições. Foi utilizado calcário calcítico com Poder Relativo de Neutralização de 104,5%. Após a aplicação do calcário, o pH do solo foi monitorado, até a estabilização dos valores, que ocorreu aos 30 dias. Durante esse período, a umidade do solo foi mantida na capacidade de campo, pela adição de água a cada 48 horas. Após o período de incubação, amostras de 10 g de solo foram retiradas dos vasos, para compor uma amostra composta por tratamento, e foram submetidas à análise para determinação dos valores de pH. A partir dos valores de pH obtidos para as doses de calcário acima citadas, foi elaborada a curva de calibração, que indicou a necessidade de calagem de 0; 6,0; 12,0 e 21,0 g de calcário. 1,5 kg⁻¹ de solo, respectivamente para se atingir o pH de 4,3; 5,5; 6,2 e 7,3. As doses de calcário foram aplicadas ao solo 30 dias antes do transplante das mudas. Durante este período os vasos foram irrigados com água destilada e deionizada até a saturação dos mesmos para otimizar a reação do calcário no solo. As características do solo anterior e posterior à aplicação de calcário, estão apresentadas na Tabela 1.

A adubação nitrogenada, fosfatada e potássica seguiram as recomendações apresentadas pela Comissão de Química e Fertilidade do Solo (4). As quantidades utilizadas foram: 150 mg de N, 375 mg de P₂O₅ e 225 mg de K₂O, as quais foram aplicadas e homogeneizadas em cada vaso. As fontes utilizadas foram respectivamente: nitrato de cálcio, superfosfato simples e cloreto de potássio. Em cobertura, foram aplicadas 45 mg de N 1,5 kg⁻¹ de solo na forma de nitrato de cálcio, aos 15 e 30 dias após o transplante.

Foram utilizadas mudas de couve-chinesa cultivar suscetível (*Brassica rapa* var. *pekinensis*) Pak choi, produzidas em bandejas contendo substrato inerte à base de vermiculita. Aos 10 dias após a

Tabela 1. Características do solo utilizado na avaliação do efeito do pH e de diferentes concentrações de inóculo no controle da hêmia das crucíferas (*Plasmodiophora brassicae*).

pH CaCl ₂	Al ³⁺	H+Al	Ca ⁺² +Mg ⁺²	Ca ⁺²	K ⁺	T	P mg.dm ⁻³	M.O. g.dm ⁻³	pH SMP	V %	Areia total %	Silte %	Argila %
4,3	3,1	10,5	1,0	0,7	0,20	11,7	0,6	27,5	5,0	10	30	22	48
5,5	0,0	4,3	9,1	5,2	0,21	14,1	0,6	32,2	6,1	68	30	22	48
6,2	0,0	3,2	11,2	6,0	0,20	14,6	0,6	29,6	6,6	78	30	22	48
7,3	0,0	2,0	15,5	8,6	0,15	17,6	0,4	33,7	7,2	88	30	22	48

semeadura, as mudas foram transplantadas (uma planta/vaso) para vasos de alumínio com capacidade de 1,5 kg.

O inóculo de *P. brassicae* foi obtido a partir de raízes de couve chinesa com sintomas de hérnias, coletadas em plantio comercial da cultura com 50 dias de plantio, localizado no município de Colombo, PR. A coleta foi realizada após inspeção visual, selecionando-se plantas que apresentavam sintoma reflexo de murcha da parte aérea. Entre essas, escolheu-se as que apresentavam hérnias bem desenvolvidas, descartando-se aquelas em início de decomposição. Coletou-se 1 kg de raízes, que foram transportadas para o laboratório em saco de polietileno à temperatura ambiente. No mesmo dia em que foram coletadas, as raízes foram lavadas em água corrente e em água destilada e esterilizada, sendo posteriormente acondicionadas em sacos de polietileno e mantidas à temperatura de -20 °C, durante 45 dias. Segundo Dylewski (6) nessa temperatura os esporos de repouso do patógeno permanecem viáveis durante anos no tecido de raízes infectadas.

A extração dos esporos de repouso foi baseada na metodologia de Naiki & Dixon, (16). A suspensão de esporos de repouso de *P. brassicae* foi obtida pela homogeneização, em liquidificador, de 134 g de raízes com hérnias acrescida de 100 mL de água destilada e esterilizada. A mistura foi filtrada através de quatro camadas finas de “musseline” e em seguida centrifugada (sigma 3K30) por 10 minutos a 45.000xg. O filtrado obtido foi ressuspensão em 50 mL de água destilada e esterilizada e destilada, sendo os processos repetidos por duas vezes consecutivas, e o filtrado final diluído em 5 mL de água destilada e esterilizada. Com o auxílio de hemacitômetro foram calibradas suspensões com as seguintes quantidades de inóculo: 1.2×10^7 , 2.5×10^7 e 5×10^7 esporos mL⁻¹. Para o transplante das mudas, a umidade do solo foi medida gravimetricamente (p/p) (22). O solo foi irrigado em aproximadamente 3/4 da capacidade de campo que correspondeu a 225 mL de água esterilizada e deionizada em cada vaso. Na seqüência, foi realizado o transplante das mudas e a inoculação do patógeno, adicionando-se 25 mL de cada suspensão no colo das plantas, na forma de rega. Duas horas após o transplante e a inoculação, para elevar a umidade à capacidade de campo completou-se a rega com 75 mL de água em cada vaso (10).

Aos 45 dias após a inoculação, as raízes foram lavadas e avaliadas, determinando-se o índice de severidade da doença em porcentagem (7). Para tanto foi utilizada uma escala visual de notas variando de 0 a III (0=0%, I=1-29%, II=30-59%, III=60-100%), conforme a porcentagem da área radicular afetada. O índice de severidade da doença (ID) foi calculado de acordo com a fórmula: $ID = \frac{\sum (n \times c)}{N \times 3}$. Onde: ID: Índice de doença; n= número de raízes em cada categoria; c= categoria e N= número total de raízes examinadas. A parte aérea e radicular das plantas foi destacada, lavadas e submetidas à secagem em estufa de circulação forçada a 70° C por 72 horas. Após a secagem, determinou-se o acúmulo de massa seca foliar (MSF) e de massa seca radicular (MSR) das plantas de couve chinesa.

O experimento foi conduzido em blocos ao acaso, e tratamentos em ensaio fatorial. Cada tratamento contou com quatro repetições, cada repetição foi composta de um vaso com uma planta. Os resultados foram submetidos à análise de variância e, quando obtidos valores significativos, realizada a análise de regressão. O logaritmo das variáveis massa seca foliar (MSF) e de massa seca radicular (MSR) foram sugeridos como transformação para aproximação da distribuição normal dos erros. Para as análises, utilizou-se o programa R, cujo manual é descrito por Ihaka e Gentleman (11) e as referências básicas estão no “CRAN” (Comprehensive R archive network). Outro software utilizado como apoio foi o STATGRAPHICS PLUS para Windows.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A interação significativa entre os níveis de pH do solo e a concentração de inóculo, influenciou os seguintes atributos: severidade da doença, massa seca foliar (MSF) e de massa seca radicular (MSR) das plantas de couve-chinesa. Verificou-se que aumentando a concentração de inóculo para níveis mais elevados como 5×10^7 esporos mL⁻¹, a severidade da doença aumentou mesmo em níveis mais altos de pH do solo como 7,3 (Figura 1A). O melhor desenvolvimento das plantas, medido por meio da MSF, foi obtido com pH entre 6,2 e 7,3 no tratamento sem inoculação e no tratamento com a menor concentração de inóculo aplicada (1.2×10^7) (Figura 1B).

Inserir Figura 1

O peso da raiz sofreu aumento significativo quando comparado os pH 4,3, 5,5 e 6,2 com o pH 7,3 principalmente no tratamento com maior concentração de inóculo do patógeno (Figura 1C). Segundo Miller et al. (14) *P. brassicae* interfere no metabolismo hormonal da planta, ocasionando hiperplasia e hipertrofia dos tecidos das raízes e como consequência tem-se um aumento no volume e no peso do tecido atacado. Como pode ser observado na Figura 2, a severidade da doença foi maior nos tratamentos com pH 4,3 quando comparada em pH 7,3, confirmando que o patógeno é favorecido pela acidez.

Inserir Figura 2

O efeito do pH sobre a severidade da doença foi mais expressivo em concentrações médias (1.2×10^7 e 2.5×10^7 esporos mL⁻¹) que em concentrações elevadas de inóculo, corroborando com os dados citados por Webster & Dixon (25), os quais utilizaram como menor concentração de inóculo 5×10^5 esporos mL⁻¹ e como maior concentração 5×10^7 esporos mL⁻¹ concluíram que a manipulação de valores de pH teve efeitos maiores no desenvolvimento da doença em pressões de inóculo mais baixas. Os autores argumentam que o pH alcalino reduz a infecção de pêlos radiculares e a taxa de maturação dos esporângios no interior destes pêlos. No presente trabalho constatou-se também, que a manipulação dos valores de pH teve efeito representativo na severidade da doença em menores concentrações de inóculo. Portanto, para solos altamente infestados o uso da calagem poderá ser insuficiente para controlar a doença. Contrário aos resultados observados neste trabalho, Wang & Hsieh (24) utilizando concentrações de 10^5 , 10^6 , 10^7 e 10^8 esporos/g de solo verificaram que a severidade da doença causada por *P. brassicae*, independente da concentração de inóculo, foi maior até pH 5,7. Já entre pH 5,8 e 6,2 a severidade da doença decresceu acentuadamente sendo o patógeno completamente inibido em pH acima de 7,8 e Chattopadhyay (1) ao trabalhar com *P. brassicae* em colza verificou que a correção do solo com calcário para pH 7,2 e 7,3 reduziu a incidência da doença e a severidade de *P. brassicae*, independente da quantidade de inóculo. Porém, anteriormente a estes autores, Colhoun (3) constatou que em solos com alta concentração de inóculo e com pH 7,8 ocorre ataque intenso do patógeno. De modo semelhante, Samuel & Garret (19) observaram infecções nos pêlos das raízes utilizando uma mistura de areia e solo com pH 7,7, apenas com elevada concentração de esporos de *P. brassicae*.

O controle da hérnia das crucíferas por meio do aumento do pH do solo acima de 7,2 tem gerado controvérsias há vários anos. Uma corrente de pesquisadores como Smiley & Cook (20) e Hamilton & Crête (10) enfatizam que a controvérsia é devida às metodologias utilizadas na determinação do pH. Para uma mesma amostra de solo o pH em água é maior do que o pH em CaCl₂, mas esta diferença não tem um valor fixo. Em solos muito ácidos, a diferença pode chegar a 1,0 unidade. Entretanto, em solos próximos à neutralidade, os dois

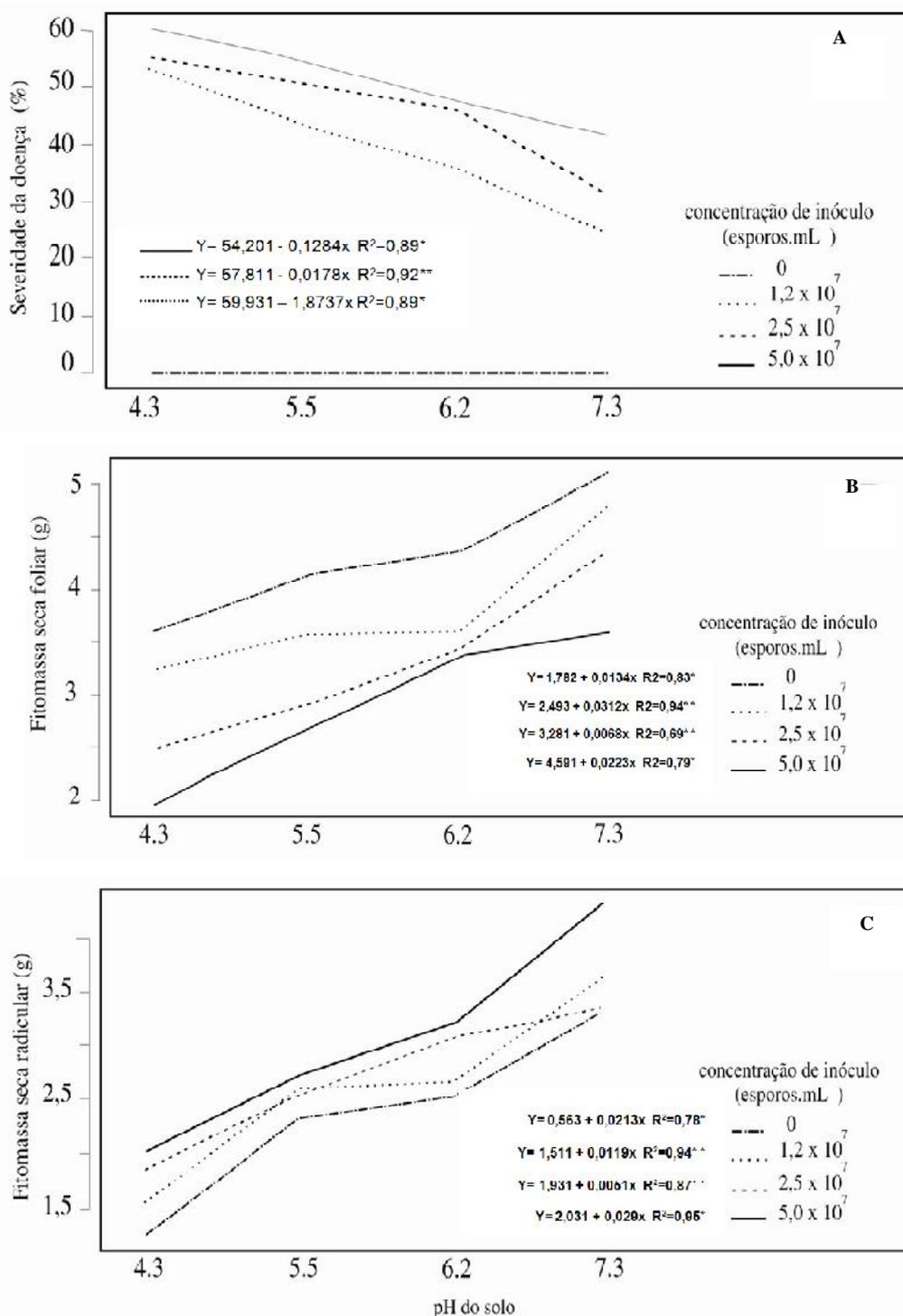


Figura 1. Interação entre concentração de inóculo de *Plasmodiophora brassicae* e níveis de pH do solo, na severidade da doença (A); na produção de fitomassa seca foliar (B) e na produção de fitomassa seca radicular (C) de plantas de couve chinesa.

valores podem ser iguais (21). Esta variação apresentada pelos valores de pH do solo, dependendo da metodologia utilizada, dificulta a comparação entre os dois índices (10, 20). Em experimentos com *P. brassicae*, Smiley & Cook (20) encontraram em amostra de solo valores de pH em água de 7,2 correspondente a um pH 6,7 em CaCl_2 , sendo essa diferença de 0,5 unidades de pH representativa para o controle do patógeno por meio da calagem.

Nos tratamentos com maior concentração de inóculo, onde a severidade da doença foi maior, não se observou aumento proporcional do peso das plantas com a elevação do pH do solo (Figura 1A e 1B). Verificou-se também, que para elevar o pH do solo utilizado de 5,5 para 7,3 foi necessário 25 t ha^{-1} de calcário, que representa uma quantidade de corretivo considerável. Conforme Raji (21) a necessidade de calcário para elevar o pH do solo está relacionada à sua capacidade



Figura 2. Severidade da doença em raízes de couve chinesa desenvolvidas em solos com diferentes concentrações de inóculo de *Plasmodiophora brassicae* versus níveis de pH do solo. **a:** testemunha; **b:** $1,2 \times 10^7$ esporos mL⁻¹ e pH 7,3; **c:** $1,2 \times 10^7$ esporos mL⁻¹ e pH 4,3; **d:** $2,5 \times 10^7$ esporos mL⁻¹ e pH 7,3; **e:** $2,5 \times 10^7$ esporos mL⁻¹ e pH 4,3.

tampão, ou seja, quão fortemente ele resiste às mudanças de pH. Essa capacidade tampão aumenta com as quantidades de matéria orgânica e de argila presentes no solo. Como se observa na Tabela 1 o solo utilizado apresenta níveis altos de matéria orgânica e de argila. Nestas condições, quantidades elevadas de calcário são necessárias para elevar o pH do solo. A relação custo/benefício no controle da doença deve ser mensurada quando envolver solos com altas concentrações de inóculo, e que ao mesmo tempo exijam grandes quantidades de calcário para a elevação dos seus níveis de pH., visando a supressividade do solo à *P. brassicae*.

Os resultados obtidos no presente trabalho indicaram que a elevação do pH do solo visando a supressividade do solo à *P. brassicae* apresenta resultados positivos em solos com concentrações baixas ou médias de inóculo do patógeno. Em solos com concentrações elevadas de inóculo a severidade da doença não é reduzida ao se modificar o pH do solo para níveis mais elevados como 6,2 e 7,3.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chattopadhyay, A. K. Soil amendment with lime and organic matter on the control of clubroot disease of rapeseed mustard. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.49, n.3, p.283-285, 1996.
2. Chupp, C.; Sherf, A.F. **Vegetable diseases and their control**. New York: Ronald Press., 1960. 693 p.
3. Colhoun, J. Spore load, light intensity and plant nutrition as factors influencing the incidence of clubroot of Brassicae. **Transactions of the British Mycological Society**, Kew, v.44, p.593-600, 1961.
4. Comissão de Química e Fertilidade do Solo. **Recomendações de adubação e de calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. 3.ed. Passo Fundo: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1995. 100 p.
5. Cruz, J.C.S.; Souza, N.L.; Nakatani, A.K.; Rosa, D.D.; Basseto, M.A.; Padovani, C.R.; Furtado, E.L. Caracterização patogênica e molecular de *Plasmodiophora brassicae*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.33, n.6, p.415-424, 2008.
6. Dylewski, D.P. Phylum Plasmodiophoro-mycota. p. 399-416. In: Margulis, L., Corliss, J.O., Melkonian, M., Chapman, D.J. (Ed.). **Handbook of protoctista**. Boston: Jones and Bartlett, 1990.
7. Dixon, G.R.; Robinson, D.L. The susceptibility of *Brassica oleracea* cultivars to *Plasmodiophora brassicae* (clubroot). **Plant Pathology**, Oxford, v.35, p.101-107, 1996.
8. Dixon, G.R. *Plasmodiophora brassicae* in its Environment. **Journal of Plant Growth Regulation**. DOI: 10.1007/s00344-009-9098-3. Disponível em: <http://www.springerlink.com/content/wk7415m6u1018082/>. Acesso em: 13 jun. 2009.
9. Dobson, R.L.; Gabrielson, R.L.; Baker A.S.; Bennett L. Effects of lime particle size and distribution and fertilizer formulation on clubroot disease caused by *Plasmodiophora brassicae*. **Plant Disease**, St. Paul, v.67, n.1, p. 50-52, 1983.
10. Hamilton, H.A.; Crete, R. Influence of soil mixture, soil pH and liming sources on the incidence of clubroot, the germination and growth conditions. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v.58, p. 45-53, 1978.
11. Ihaka, R.; Gentleman, R. A Language for data analysis and graphics. **Journal of Computational and Graphical Statistics**, v.5, p. 299 – 314, 1996.
12. Larson, R.H.; Walker, J.C. Soil treatment in relation to clubroot of cabbage. **Journal of Agricultural Research**, Punjab, v.48, p.749-759, 1934.
13. May, L.L. Avaliação de diferentes formas de controle de *Plasmodiophora brassicae* em couve-chinesa em condições de casa de vegetação. **Revista do Setor de Ciências Agrárias**. Curitiba, n. 1-2, p. 9 – 14, 1997.
14. Miller, S.A.; Rowe, R.C.; Riedel, R.M. Clubroot of crucifers. The Ohio State University Extension. **Plant Pathology**. Disponível em: <http://www.ohioline.osu.edu/hyg-fact>. Acesso em: 8 Fev. 2002.
15. Myers, D.F.; Campbell, R.N.; Greathead, A.S. Clubroot of crucifers in California: Soils respond differently to lime from clubroot control. **Phytopathology**, St. Paul, v.71, p.1005-1006, 1981. (Abstract).
16. Naiki, T.; Dixon, G.R. The effects of chemicals on developmental stages of *Plasmodiophora brassicae*. **Plant Pathology**, Bangor, v.36, p.316-327, 1987.
17. Niwa, R.; Nomura, Y.; Osaki, M.; Ezawa, T. Suppression of clubroot disease under neutral pH caused by inhibition of spore germination of *Plasmodiophora brassicae* in the rhizosphere. **Plant Pathol**, Bangor, v.57, p.445-452, 2008.
18. Ruaro, L.R.; Lima Neto, V.da C.; Nowacki, J.C. **Controle da hérnia das crucíferas na Região Metropolitana de Curitiba**. Relatório Técnico. Curitiba: UFPR/SEAB-PR. 2003. 87p.
19. Samuel, G.; Garret, S.D. The infected root-hair count for estimating the activity of *Plasmodiophora brassicae* Woron. in the soil. **Annals of Applied Biology**, Wellesbourne, v.32, p.96-101, 1945.
20. Smiley, R.W.; Cook, R.J. Use and abuse of the soil pH measurement. **Phytopathology**, St. Paul, v.62, p.193-194, 1972.
21. Raij, B.van **Fertilidade do solo e adubação**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1991. 343 p.
22. Vieira, F.C.S. Microrganismos e atividade microbiana em latossolo submetido a diferentes condições de conservação. Jaboticabal, 1995. 50p. Monografia (Graduação) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”.
23. Wallenhamar, A.C. Monitoring and control of *Plasmodiophora brassicae* in spring oilseed brassica crops. **Acta Universitatis Agriculturae Sueciae, Agraria** 183. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, p. 53, 1999.
24. Wang, J.F.; Hsieh, W.H. Studies on the suppressive factors and characteristics of suppressive soils of clubroot in crucifers. **Plant Protection Bulletin**, Cidade, v.28, p.363-370, 1986.
25. Webster, M.A.; Dixon, G.R. Calcium, pH and inoculum concentration influencing colonization by *Plasmodiophora brassicae*. **Mycological Research**, Amsterdam, v.95, n.1, p.80-85. 1991.
26. Zambolim, L.; Casa, R.T.; Reis, E.M. Sistema plantio direto e doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, p. 585 – 595, 2000.