



**PLANO DE AMOSTRAGEM PARA
QUANTIFICAÇÃO DA MURCHA
BACTERIANA DO TOMATEIRO NO
CAMPO E ANÁLISE DE SOLO PARA
DETECÇÃO DE RISCOS DE INFECÇÃO
POR *Ralstonia solanacearum* (SMITH)
YABUUCHI *et al.* 1996**

LUCIANA ANDRADE TAVARES

1999

LUCIANA ANDRADE TAVARES

**PLANO DE AMOSTRAGEM PARA QUANTIFICAÇÃO DA
MURCHA BACTERIANA DO TOMATEIRO NO CAMPO E
ANÁLISE DE SOLO PARA DETECÇÃO DE RISCOS DE
INFECCÃO POR**

***Ralstonia solanacearum* (SMITH) YABUCHI *et al.* (1996)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Lavras como parte das exigências do Curso de
Mestrado em Agronomia, área de concentração em
Fitopatologia, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Ricardo Magela de Souza

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL



Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA

Tavares, Luciana Andrade

Plano de amostragem para quantificação da murcha bacteriana do tomateiro no campo e análise de solo para detecção de riscos de infecção por *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* (1996) / Luciana Andrade Tavares. -- Lavras : UFLA, 2002.

74 p. : il.

Orientador: Ricardo Magela de Souza.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Lycopersicon esculentum. 2. Amostragem. 3. Edidemiologia. 4. *Ralstonia solanacearum*. 5. Previsão. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-635.642932

LUCIANA ANDRADE TAVARES

**PLANO DE AMOSTRAGEM PARA QUANTIFICAÇÃO DA
MURCHA BACTERIANA DO TOMATEIRO NO CAMPO E
ANÁLISE DE SOLO PARA DETECÇÃO DE RISCOS DE
INFECCÃO POR
Ralstonia solanacearum (SMITH) YABUUCHI et al. (1996)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Lavras como parte das exigências do Curso de
Mestrado em Agronomia, área de concentração em
Fitopatologia, para obtenção do título de "Mestre".


APROVADA em 25 de junho de 1999

Profª. Andréa Bittencourt Moura UFPEL

Prof. Edson Ampélio Pozza UFLA

Prof. José Rogério de Oliveira UFV

Prof. Sami Jorge Michereff UFRPE


Prof. Ricardo Magela de Souza
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

MEMORANDUM FOR THE RECORD

On 10/10/57, the following information was received from the [redacted] regarding the [redacted] of the [redacted] in the [redacted] area. The [redacted] was [redacted] and [redacted] on [redacted] at [redacted] hours. The [redacted] was [redacted] and [redacted] on [redacted] at [redacted] hours. The [redacted] was [redacted] and [redacted] on [redacted] at [redacted] hours.

The [redacted] was [redacted] and [redacted] on [redacted] at [redacted] hours. The [redacted] was [redacted] and [redacted] on [redacted] at [redacted] hours. The [redacted] was [redacted] and [redacted] on [redacted] at [redacted] hours.

Very truly yours,

[redacted]
[redacted]
[redacted]
[redacted]

[redacted]
[redacted]
[redacted]
[redacted]

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade na realização deste curso.

Ao Departamento de Fitossanidade da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pelo apoio no desenvolvimento deste trabalho.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Ricardo Magela de Souza, pela orientação, disponibilidade e compreensão durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Sami Jorge Michereff, pela orientação, apoio, incentivo e colaboração em mais uma etapa de minha vida.

À professora Rosa de Lima Ramos Mariano, pelo apoio fornecido na realização deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora Andréa Bittencourt Moura, Edson Ampélio Pozza e José Rogério de Oliveira, pelas sugestões apresentadas.

Aos companheiros Raquel Pedrosa, Ricardo Brainer, Dário Venâncio, Simone Azevedo, Marissônia Noronha, Ednaldo Silva, Norma Sobral e Domingos Eduardo, pelas incansáveis horas de trabalho.

Aos agricultores do município de Camocim de São Félix, PE, por permitirem a condução de experimentos em suas propriedades.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	i
ABSTRACT	ii
CAPÍTULO 1	01
1 Introdução geral	02
2 Referencial teórico	05
2.1 A cultura do tomateiro	05
2.2 Histórico da doença	06
2.3 Aspectos taxonômicos e caracterização do patógeno	07
2.4 Fisiologia do parasitismo e sintomatologia da doença	09
2.5 Ecologia e epidemiologia	10
2.6 Controle da doença	12
2.7 Amostragem da doença	14
2.8 Análise de riscos de infecção	15
3 Referências bibliográficas	18
CAPÍTULO 2: Plano de amostragem para quantificação da murcha bacteriana do tomateiro	28
1 Resumo	29
2 Abstract	30
3 Introdução	31
4 Material e métodos	34
4.1 Determinação do padrão de caminhamento para quantificação da murcha bacteriana do tomateiro	34

4.2 Determinação do tamanho da amostra para quantificação da murcha bacteriana do tomateiro	35
5 Resultados e discussão	37
5.1 Determinação do padrão de caminhamento para quantificação da murcha bacteriana do tomateiro	37
5.2 Determinação do tamanho da amostra para quantificação da murcha bacteriana do tomateiro	38
6 Conclusões	43
7 Referências bibliográficas	44
CAPÍTULO 3: Análise de solo para detecção de riscos de infecção de tomateiro por <i>Ralstonia solanacearum</i> (Smith) Yabuuchi <i>et al.</i> (1996).....	48
1 Resumo	49
2 Abstract	50
3 Introdução	51
4 Material e métodos	54
4.1 Plano de amostragem de solo para análise de riscos de infecção de tomateiro por <i>Ralstonia solanacearum</i>	54
4.2 Análise de riscos de infecção de tomateiro por <i>Ralstonia solanacearum</i> , em solos do Agreste de Pernambuco	56
5 Resultados e discussão	58
5.1 Plano de amostragem de solo para análise de riscos de infecção de tomateiro por <i>Ralstonia solanacearum</i>	58
5.2 Análise de riscos de infecção de tomateiro por <i>Ralstonia solanacearum</i> , em solos do Agreste de Pernambuco	61
6 Conclusões	66
7 Referências bibliográficas	67

DISCUSSÃO GERAL	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

RESUMO

TAVARES, Luciana Andrade. Plano de amostragem para quantificação da murcha bacteriana do tomateiro no campo e análise de solo para detecção de riscos de infecção por *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* (1996). 1999. 74p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

A produção do tomateiro tutorado apresenta expressiva importância na região agreste do estado de Pernambuco, onde a incidência da murcha bacteriana, causada por *Ralstonia solanacearum*, constitui um fator limitante. O presente estudo teve como objetivos determinar um plano de amostragem para quantificação da doença no campo e desenvolver um sistema de análise de solo para detecção de riscos de infecção de tomateiro por *R. solanacearum*. Na determinação do padrão de amostragem para quantificação da doença, somente o caminhamento em "X" propiciou estimativas da incidência da doença que não diferiram significativamente ($P=0,05$) das constatadas na amostragem integral das parcelas. Em relação ao tamanho da amostra, o número de sulcos a ser amostrado reduziu significativamente ($P=0,05$) com o aumento da incidência da doença e do erro aceitável e com a redução dos níveis de probabilidade. Uma amostra composta de 130 sulcos com 12 plantas/sulco parece ser apropriada para quantificar a incidência da murcha bacteriana em levantamentos de campo. Na análise para detecção de riscos de infecção de tomateiro por *R. solanacearum*, os diferentes padrões de caminhamento e tamanhos de amostra utilizados na coleta de solo não diferiram significativamente entre si ($P=0,05$) quanto aos níveis de incidência de murcha bacteriana no bioensaio com plântulas de tomateiro. Utilizando-se os dados da análise de 18 áreas de plantio de tomateiro do Agreste de Pernambuco, foi constatada uma correlação positiva ($r = 90,40\%$) significativa ($P = 0,05$) entre a incidência da murcha bacteriana estimada pelo bioensaio seis meses antes do plantio e a incidência real no campo. Esse resultado permite a determinação de uma equação de previsão de risco de infecção por *R. solanacearum* [$JRC = 3,393 + \exp(1,338 + (0,051) * IEB)$] com elevado nível de precisão ($R^2 = 98,68\%$).

*Comitê Orientador: Ricardo Magela de Souza – UFLA (Orientador), Sami Jorge Michereff – UFRPE e Rosa de Lima Ramos Mariano UFRPE.

ABSTRACT

TAVARES, Luciana Andrade. Sampling plan for quantifying tomato bacterial wilt in field and soil analysis for risk detection of infection *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* (1996). 1999. 74p. Dissertation (Master Program in Phytopathology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

The production of fresh tomato is very important in the Agreste Region of Pernambuco State, Brazil, where bacterial wilt incidence, caused by *Ralstonia solanacearum*, is a limiting factor. This study had the objectives to determine a sampling plan for quantifying this disease and to develop a system for detection of bacterial wilt infection risk in areas to be planted with tomato at regional level. In determination of the sampling model, only the "X" pattern presented estimates for disease incidence without significantly ($P=0,05$) difference from those found by sampling the entire unit in the areas. In relation to ideal sampling size, the number of rows to be sampled was significantly reduced ($P=0,05$) with the increasing of disease incidence and the level of acceptable error, and with the reduction of probability levels. A sample of 130 rows with 12 plants per row seems to be appropriated to quantify incidence of bacterial wilt in field surveys. In the detection of bacterial wilt infection risk, the different patterns and sampling sizes did not differ ($P=0,05$) in relation to disease incidence levels by this bioassay. By using the dates of 18 tomato planting areas analyzed, a significantly ($P = 0,05$) positive correlation was found ($r = 90,40\%$) between bacterial wilt incidence estimated by the bioassay six months before planting (IEB) and the real incidence in field (RIF). The regression analysis of the data determined an equation for forecasting the bacterial wilt risk [$RIF = 3,393 + \exp(1,338 + (0,051)*IEB)$], indicating the possibility elevated precision level estimates ($R^2 = 98,68\%$).

*Guidance Committee: Ricardo Magela de Souza – UFLA (Major Professor), Sami Jorge Michereff – UFRPE and Rosa de Lima Ramos Mariano – UFRPE.

CAPÍTULO 1

**PLANO DE AMOSTRAGEM PARA QUANTIFICAÇÃO DA MURCHA
BACTERIANA DO TOMATEIRO NO CAMPO E ANÁLISE DE SOLO
PARA DETECÇÃO DE RISCOS DE INFECCÃO POR *Ralstonia
solanacearum* (SMITH) YABUUCHI *et al.* (1996)**

1 INTRODUÇÃO GERAL

O tomateiro, *Lycopersicon esculentum* Mill., é a segunda hortaliça mais cultivada no mundo, sendo superado em produção apenas pela batata (*Solanum tuberosum* L.) (Camargo Filho & Mazzei, 1997). No mercado sul-americano, o Brasil destaca-se como maior produtor, com cerca de 2,6 milhões de toneladas (FAO, 1998). Considerando a distribuição regional da produção, o sudeste é responsável por 1,27 milhão de toneladas, seguido do nordeste, com 631 mil toneladas. O estado de Pernambuco ocupa o quinto lugar em área cultivada (7.290 ha) e produção (219 mil toneladas) em âmbito nacional (IBGE, 1998).

O cultivo de tomateiro tutorado é prática tradicional na região agreste do estado de Pernambuco. Ele constitui importante atividade na economia local, devido à movimentação de capital e mão-de-obra (EMATER-PE, 1996). A produção do tomateiro é significativamente reduzida pela ocorrência de doenças. Dentre elas destaca-se a murcha bacteriana, causada por *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* (1996), favorecida em cultivos sob temperaturas elevadas, o que ocorre normalmente no norte e nordeste do Brasil (Lopes & Santos, 1994). Em estudo realizado na safra 1996/1997, em tomateiro tutorado no Agreste de Pernambuco, Silveira *et al.* (1998) constataram prevalência de 60% da murcha bacteriana na região, com incidência média de 13,1% de plantas doentes.

Os sintomas da murcha bacteriana na parte aérea são evidenciados pela perda de turgidez das folhas mais novas, seguida pela flacidez do ponteiro e, posteriormente, pela murcha de toda a planta, enquanto internamente observa-se descoloração vascular a partir da base do caule. Esses sintomas são consequência da colonização dos vasos do xilema pelo patógeno, que provoca a obstrução dos

mesmos e impede a translocação de água na planta (Lopes & Santos, 1994; Bedendo, 1995; Lopes & Quezado-Soares, 1997).

A grande variabilidade de *R. solanacearum*, principalmente em termos de patogenicidade e de virulência, aliada a uma complexa interação patógeno-hospedeiro-ambiente (Quezado-Soares & Lopes, 1994b), torna a murcha bacteriana de difícil controle. Métodos eficientes e econômicos ainda não foram desenvolvidos. Normalmente, são recomendadas medidas preventivas e culturais, tais como plantio em áreas onde não existe histórico da doença, rotação de culturas com gramíneas e manejo correto para evitar a contaminação, dentre outras (Lopes & Santos, 1994; Kurozawa & Pavan, 1997).

A determinação de planos de amostragem da doença e a análise de riscos de infecção constituem importantes estudos para o desenvolvimento do manejo de doenças associadas a fitopatógenos habitantes do solo (Dijst *et al.*, 1997; Benson, 1994).

A amostragem é uma atividade relevante no estudo de epidemias de doenças de plantas. Seu objetivo é a obtenção de estimativas representativas da intensidade da doença, por um custo reduzido, com a maior exatidão e precisão possíveis (Campbell & Madden, 1990).

A qualidade do solo constitui importante componente no manejo do agroecossistema. Por esse motivo, a análise de riscos de infecção de plantas por patógenos radiculares visa contribuir para a seleção adequada de áreas de plantio, baseada no princípio da evasão (van Bruggen & Grünwald, 1996).

Apesar da importância da murcha bacteriana do tomateiro em âmbito mundial, não existem estudos envolvendo planos de amostragem para quantificação da doença no campo. Também como são escassos os estudos envolvendo a análise de solo para detecção de riscos de infecção por *R. solanacearum*. Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivos:

a) determinar um plano de amostragem para quantificação da murcha bacteriana em plantios de tomateiro tutorado do Agreste de Pernambuco;

b) desenvolver um sistema de análise de solo para detecção de riscos de infecção de tomateiro por *Ralstonia solanacearum*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura do tomateiro

O fruto de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) é um alimento que conseguiu proeminência e ampla popularidade devido, entre outros fatores, à sua versatilidade de consumo tanto na forma fresca, quanto na processada (Jones *et al.*, 1993). A expansão da cultura do tomateiro nos últimos anos promoveu o aumento da área cultivada e da produtividade, sendo a produção mundial destinada ao consumo *in natura* (mesa) e ao processamento industrial (Camargo Filho & Mazzei, 1997).

No estado de Pernambuco, a produção de tomate de mesa, cultivado no sistema tutorado (Figura 1), concentra-se na mesorregião do Agreste, nos municípios de Camocim de São Félix, São Joaquim do Monte, Bezerros e Bonito (IBGE, 1998).

Os diferentes tipos de clima em que o tomateiro é cultivado e as diferentes formas de condução da cultura, entre outros fatores, contribuem para o desenvolvimento de doenças associadas a agentes bióticos ou abióticos (Lopes & Santos, 1994). A murcha bacteriana, cujo agente etiológico é *Ralstonia solanacearum*, é uma das doenças mais importantes do tomateiro e outras solanáceas nas regiões tropicais e subtropicais no mundo (Hayward, 1991).

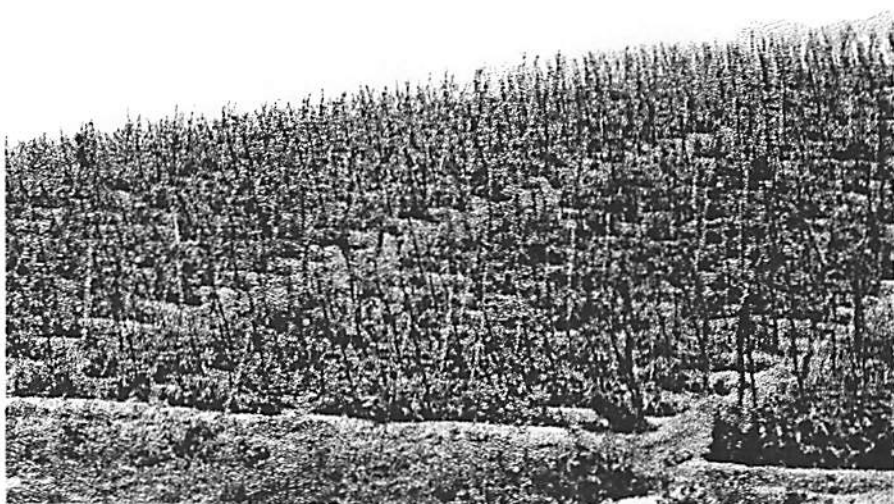


FIGURA 1 Aspecto geral do plantio de tomateiro cultivado no sistema tutorado

2.2 Histórico da doença

O primeiro registro da murcha bacteriana em solanáceas no mundo foi realizado por Burril, em 1890, embora a doença tenha sido descrita apenas em 1896, por E. Smith (Vaughan, 1944). No Brasil, essa doença foi relatada pela primeira vez por von Parseval, em 1922, em fumo (*Nicotiana tabacum* L.) e batata, no Rio Grande do Sul (Kramer & Amaral, 1944). Atualmente, encontra-se distribuída em todo o território nacional (Silveira et al., 1996). Em Pernambuco, a murcha bacteriana do tomateiro foi relatada pela primeira vez por

McCormack (1937) e, em 1953, já era considerada a doença mais importante desta cultura, constituindo fator limitante à produção (Batista, 1953).

2.3 Aspectos taxonômicos e caracterização do patógeno

O gênero *Ralstonia* é classificado no reino Procariotae, divisão Bacteria, classe Proteobacteria, subclasse β , ordem Pseudomonadales, família Pseudomonadaceae (Palleroni, 1984; Stackebrandt et al., 1988). A espécie *R. solanacearum* foi descrita inicialmente como *Pseudomonas solanacearum*, por Smith, em 1896 (Palleroni, 1984). Estudos baseados na hibridização rRNA-DNA recomendaram a divisão do gênero *Pseudomonas* em cinco grupos, sendo que *P. solanacearum* foi colocada no grupo de homologia II (Palleroni et al., 1973). Posteriormente, baseados em estudos da seqüência de rRNA 16S, valores da homologia DNA-DNA, composição de lipídios, de ácidos graxos celulares e características fenotípicas, Yabuuchi et al. (1992) propuseram a criação do gênero *Burkholderia* para acomodação de sete espécies do gênero *Pseudomonas*, dentre as quais *P. solanacearum*. A classificação atual é decorrente da proposta de Yabuuchi et al. (1995), na qual foi criado o gênero *Ralstonia*, sendo *R. picketti* a espécie tipo e *R. solanacearum* uma nova combinação.

Isolados de *R. solanacearum* diferem em gama de hospedeiros, distribuição geográfica, patogenicidade, relações epidemiológicas e propriedades fisiológicas (Hayward, 1991), originando sistemas de classificação subespecíficos, tais como raças e biovars (Hayward, 1994a).

Ralstonia solanacearum possui uma ampla gama de hospedeiros, que abrange cerca de 53 famílias botânicas, incluindo espécies de valor econômico, como tomate, batata, pimentão (*Capsicum annuum* L.), banana (*Musa* spp.), fumo, plantas perenes e ornamentais (Hayward, 1994b), além de diversas ervas daninhas (Quezado-Soares & Lopes, 1994a). Com base no círculo de

hospedeiros, três raças foram propostas por Buddenhagen et al. (1962): a raça 1, que afeta batata, tomate, berinjela (*Solanum melongena* L.), fumo e outras solanáceas, além de outras espécies de plantas; a raça 2, que afeta banana e *Heliconia* spp. e a raça 3, que afeta, principalmente, batata e outras espécies de solanáceas. Essa classificação foi complementada com a inclusão das raças 4 e 5, que afetam o gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e a amoreira (*Morus alba* L.), respectivamente (Buddenhagen, 1986).

A classificação em biovares é baseada na utilização e/ou oxidação de açúcares e álcoois como fonte única de carbono e formação de ácidos a partir desses carboidratos, além da produção de nitrito e gás a partir de nitrato, o que torna possível a separação de isolados em cinco biovares (Hayward, 1995a).

A grande diversidade de *R. solanacearum*, refletida pela existência de diferentes biovares e patogenicidade a vários hospedeiros, foi confirmada nos trópicos brasileiros. Assim, em 1982, Martin et al. avaliando as características de isolados provenientes de diferentes hospedeiros, condições climáticas e regiões geográficas, constataram a presença das biovares 1, 2 e 3 no Brasil, os quais diferiram quanto a distribuição em regiões climáticas. Em levantamentos conduzidos em diversas regiões brasileiras, com ênfase em solanáceas, Reischnider & Takatsu (1985) confirmaram os resultados de Martin et al. (1982), relatando a ocorrência de três raças e três biovares. A biovar 1 é encontrada em todas as regiões, a biovar 2 com predominância em climas amenos (sul, sudeste e centro-oeste) e a biovar 3 no norte e nordeste. Estudos realizados por Silveira et al. (1998) em diferentes áreas do município de Camocim de São Félix, região agreste do estado de Pernambuco, sugerem a prevalência da biovar 3, embora a biovar 1 tenha sido encontrada.

2.4 Fisiologia do parasitismo e sintomatologia da doença

A produção de polissacarídeos extracelulares, de fitohormônios e de enzimas que degradam tecidos, são os principais fatores que contribuem para a sintomatologia da murcha causada por *R. solanacearum*. Os polissacarídeos extracelulares são os determinantes primários de virulência, induzindo a oclusão dos feixes vasculares, interferindo na translocação de fluidos na planta e levando ao desenvolvimento dos sintomas de murcha característicos da doença (Hayward & Mariano, 1997). O excesso de ácido indol acético (IAA) induz o desenvolvimento de sintomas secundários, como formação de raízes adventícias, colapso dos vasos, proliferação do parênquima e tiloses (Hayward, 1995b). As enzimas extracelulares são importantes fatores de virulência de *R. solanacearum*, sendo responsáveis pela degradação dos componentes das paredes celulares de plantas.

Os sintomas da murcha bacteriana podem variar de acordo com a espécie, cultivar e estágio de crescimento do hospedeiro, bem como com as condições ambientais (Kelman, 1953; Goto, 1990). Em tomateiro, os sintomas externos consistem em murcha acentuada das folhas mais novas, que à noite, ou nas horas mais frias do dia, podem recuperar a turgidez. Quando, em condições favoráveis, a murcha atinge toda planta e torna-se irreversível (Lopes & Santos, 1994; Lopes & Quezado-Soares, 1997). As plantas murchas apresentam uma progressiva descoloração vascular, mais intensa na base, ocasionada pela colonização dos vasos lenhosos. A colonização promove a obstrução dos vasos em grande extensão, dificultando o fluxo de água e elementos minerais absorvidos pelo sistema radicular. A exsudação bacteriana do tecido vascular cortado constitui o sinal característico da murcha bacteriana (Lopes & Santos, 1994; Kurozawa & Pavan, 1997). Na maioria das vezes, a evolução da doença é rápida, podendo ocasionar a morte da planta em um curto período após o aparecimento dos

primeiros sintomas (Kelman, 1953). Entretanto, plantas infectadas podem não desenvolver o sintoma de murcha, apresentando crescimento lento e raízes aéreas na base do caule (Lopes & Santos, 1994).

2.5 Ecologia e epidemiologia

A sobrevivência de *R. solanacearum* nas áreas infestadas, as formas de disseminação e o efeito da temperatura, podem ser considerados como os aspectos mais importantes dentro da epidemiologia da murcha bacteriana, (Takatsu & Lopes, 1997).

A sobrevivência de *R. solanacearum* no solo e em restos de cultura é pouco conhecida (Persley, 1986; Pereira & Normando, 1993; Lopes, 1994), havendo divergências quanto à longevidade deste patógeno no solo (Persley 1986). Essas divergências são mais evidentes quando ocorrem comparações entre sobrevivência no campo e em casa-de-vegetação, sendo atribuída à primeira situação uma maior longevidade (Granada & Sequeira, 1983).

Segundo Granada & Sequeira (1983), a bactéria não sobrevive propriamente no solo, mas em raízes de plantas, infectando continuamente plantas suscetíveis ou colonizando a rizosfera de plantas não suscetíveis. A sobrevivência em raízes de várias espécies de plantas cultivadas, bem como de plantas invasoras, tem sido relatada (Oliveira et al., 1982; Melo et al., 1994; Monteiro & Takatsu, 1993, 1994; Viana, 1995; Orozco & Takatsu, 1997). A sobrevivência de *R. solanacearum* no sistema radicular indica que este organismo pode permanecer em populações elevadas no solo (Melo et al., 1994; Monteiro & Takatsu, 1994). Entretanto, a sobrevivência por longos períodos parece estar correlacionada com a habilidade de infectar plantas (Granada & Sequeira, 1983).

Ralstonia solanacearum pode ser disseminada por tubérculos e mudas infectadas, água de superfície, práticas culturais, contato entre raízes,

implementos agrícolas, pelo solo, insetos, nematóides e pelo homem (Kelman, 1953; Persley *et al.*, 1986; Hayward, 1991; Elphinstone, 1996). Embora existam evidências sobre a disseminação de *R. solanacearum* por sementes de tomateiro (Devi & Menon, 1980; Moffett *et al.*, 1981; Shakya, 1993), investigações adicionais são necessárias (Takatsu & Lopes, 1997).

Em relação às condições ambientais, a temperatura é considerada a variável que afeta mais diretamente a interação patógeno-hospedeiro e a sobrevivência de *R. solanacearum* no solo (Hayward, 1991). Em geral, a elevação da temperatura ambiente para 30 ou 35°C aumenta a incidência e a severidade da murcha bacteriana, ainda que ocorram variações conforme o isolado do patógeno. Embora Persley (1986) tenha relatado que a murcha bacteriana pode ocorrer em locais onde a média mensal de temperatura é menor que 10°C, maior incidência e severidade da doença são constatadas em regiões tropicais. Nas regiões de clima subtropical ou temperado, a doença manifesta-se nos períodos mais quentes (Takatsu & Lopes, 1997). A umidade do solo também constitui importante fator na sobrevivência de *R. solanacearum*. Na maioria dos casos, a alta umidade favorece a sobrevivência devido à sensibilidade ao dessecação contribuir para a redução das populações da bactéria (Buddenhagen & Kelman, 1964; Nesmith & Jenkins, 1985; Hayward, 1991). Apesar disso, a sobrevivência de *R. solanacearum* em solos secos foi relatada por Moffett *et al.* (1983), desde que o potencial hídrico do solo permaneça constante.

O tipo e as características químicas do solo podem influenciar a sobrevivência de *R. solanacearum* (Hayward, 1991). Analisando a influência de diferentes tipos de solo, Moffett *et al.* (1983) verificaram que as populações da bactéria declinaram mais rapidamente em solo franco-argiloso do que em solos franco-arenoso e argiloso. A quantidade de matéria orgânica também pode influenciar na sobrevivência, pois solos com elevados níveis de matéria orgânica

apresentam maior atividade microbiana, promovendo um declínio na população de *R. solanacearum* (Nesmith & Jenkins, 1985; Akiew, 1986).

Segundo Hayward (1991), informações sobre os aspectos epidemiológicos da murcha bacteriana são escassas. Parâmetros epidemiológicos foram utilizados por Noda et al. (1986) e Noda & Machado (1993), na avaliação da resistência de progênies de tomateiro à murcha bacteriana nas condições da Amazônia. Estudos envolvendo a análise temporal da murcha bacteriana em genótipos de tomateiro no estado de Pernambuco foram efetuados por Gomes (1997), ficando evidente a adequação do modelo monomolecular para descrever a epidemia. Ao analisarem o progresso e o arranjo espacial da murcha bacteriana em quatro áreas de plantio de tomateiro tutorado no Agreste de Pernambuco, Silveira et al. (1998) verificaram que o modelo monomolecular foi o mais apropriado para descrever o progresso da incidência da doença em duas áreas. As outras duas áreas foram melhor representadas pelos modelos Gompertz e logístico. O arranjo espacial de plantas doentes diferiu entre as áreas, havendo uma variação no arranjo ao longo do tempo, com tendência à agregação em duas áreas e aleatoriedade em outra.

2.6 Controle da doença

A adoção de medidas isoladas de controle da murcha bacteriana tem se mostrado pouco eficaz e/ou dispendiosa, sendo fundamental a combinação de diferentes métodos. As principais estratégias preconizadas para o manejo integrado da doença incluem medidas preventivas ou culturais, tais como: plantio em solo livre do patógeno, rotação de culturas, uso de cultivares resistentes, plantio em solos bem drenados, eliminação de plantas doentes, manejo adequado da água, manuseio adequado de ferramentas durante as capinas e transplantios

evitando ferimentos (Hayward, 1991; French, 1994; Lopes & Santos, 1994; Kurosawa & Pavan, 1997; Takatsu & Lopes, 1997).

O desenvolvimento de cultivares resistentes à murcha bacteriana tem sido reconhecido como importante estratégia de controle (Hayward, 1991; Lopes & Santos, 1994), embora os programas de melhoramento devam ser estabelecidos em áreas específicas, considerando a variabilidade do patógeno e a influência das condições ambientais (Lopes & Giordano, 1983; Takatsu & Lopes, 1997). Praticamente não existem genótipos comerciais de tomateiro tutorado com bom nível de resistência às variantes do patógeno, sendo recomendado o híbrido C38-D e a cultivar Caraíba para a região norte do Brasil (Lopes & Santos, 1994; Kurosawa & Pavan, 1997).

Enquanto não existirem cultivares resistentes de boa aceitação comercial, a rotação de culturas e a eliminação de plantas capazes de manter a população de *R. solanacearum* por longo tempo nas áreas infestadas são as práticas mais importantes dentro de um conjunto de medidas integradas de controle (Takatsu & Lopes, 1997). A rotação de culturas com gramíneas, tais como, milho (*Zea mays* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), arroz (*Oryza sativa* L.) e pastagens, tem se mostrado eficiente na redução da população do patógeno no solo (Jabuonski & Hidalgo, 1987; Kurozawa & Pavan, 1997), embora Robbs (1960) tenha alertado que esta medida é insuficiente para erradicá-lo da área afetada, uma vez que a bactéria pode sobreviver em plantas remanescentes no campo ou em plantas nativas hospedeiras, durante os anos de rotação.

O controle químico da murcha bacteriana é economicamente inviável em extensas áreas (McCarter, 1991) e a utilização de produtos químicos, incluindo antibióticos e fungicidas, tem sido testada sem sucesso no controle da doença em condições de campo (Hartman & Elphinstone, 1994).

O controle biológico tem se mostrado efetivo em reduzir populações de *R. solanacearum* em condições controladas (Hartman & Elphinstone, 1994). Porém, os resultados obtidos representam apenas os primeiros passos para a aplicação deste método em diferentes condições de campo (Takatsu & Lopes, 1997).

2.7 Amostragem da doença

A amostragem constitui uma das mais importantes atividades no estudo de epidemias de doenças de plantas, cujo objetivo seja a obtenção de estimativas representativas das características de epidemias por um custo reduzido, com a maior exatidão e precisão possíveis (Campbell & Madden, 1990).

Para o sucesso de um plano de amostragem é necessário que: a) os objetivos sejam definidos de forma clara e concisa; b) a unidade amostral seja claramente definida e a amostra razoável do ponto de vista biológico; c) o método de amostragem permita a obtenção de dados de estimativa da doença exatos, precisos e reproduzíveis para toda a população; d) a amostragem seja efetuada eficientemente dentro do custo e tempo determinados (Campbell & Duthie, 1989).

A escolha da técnica de amostragem depende da distribuição espacial da doença no campo. As técnicas utilizadas para avaliação de doenças em plantas incluem amostragens ao acaso, sistemática, estratificada e seqüencial (Amorim, 1995). A amostragem sistemática é a mais recomendada para doenças radiculares, sendo as unidades amostrais selecionadas em diagonal, zigue-zague, “V”, “X” ou “W” (Campbell & Neher, 1994).

O tamanho da amostra em um experimento normalmente determina a qualidade ou a confiabilidade dos dados de quantificação da doença obtidos e o custo da iniciativa. Poucas amostras poderão resultar em dados não confiáveis e não representativos, enquanto muitas amostras poderão oferecer dados de melhor qualidade, mas desperdiçar recursos valiosos. Para estimar o tamanho de amostras

existem pelo menos três métodos disponíveis, os quais dependem da definição operacional da confiabilidade e dos custos impostos na coleta das amostras. No primeiro método, confiabilidade é definida pelo erro padrão ou coeficiente de variação da média. No segundo, confiabilidade é definida por equações de probabilidade. O terceiro usa componentes da variância e funções de custo para otimizar o número de amostras, considerando que cada amostra tem um custo associado (Campbell & Madden, 1990).

Apesar da importância da murcha bacteriana em todo o mundo, não existem estudos envolvendo planos de amostragem para avaliação da doença no campo.

2.8 Análise de riscos de infecção

O plantio em solos livres de patógenos enquadra-se no princípio da evasão. Este princípio objetiva a prevenção da doença pelo escape ao patógeno e tem efeito predominante sobre a quantidade inicial de inóculo e a taxa de progresso da doença (Zadoks & Schein, 1979).

A presença de patógenos no solo muitas vezes determina se certas culturas podem ou não ser estabelecidas no campo. A qualidade do solo é determinada parcialmente pelo risco de infecções de raízes, sendo este dependente da densidade populacional de patógenos no solo, que resulta do processo de aumento e declínio ao longo dos anos, e da habilidade da comunidade biológica em suprimir o patógeno e o desenvolvimento da doença (van Bruggen & Grünwald, 1996). Nesse contexto, para a seleção de áreas de plantio, torna-se fundamental a análise de riscos de infecção por patógenos radiculares. Essa análise pode envolver estimativas qualitativas ou quantitativas, dependendo da finalidade de utilização da informação obtida. Estimativas qualitativas envolvem a detecção da presença de inóculo, enquanto que estimativas quantitativas envolvem a

determinação direta da densidade de inóculo no solo ou através de bioensaios (Dijst et al., 1997).

No manejo da murcha bacteriana, o plantio em solos livres do patógeno constitui uma das principais medidas a serem adotadas (Takatsu & Lopes, 1997). Entretanto, a falta de métodos rápidos, precisos e rotineiros para a detecção de *R. solanacearum* em numerosas amostras de solo, tem sido um dos fatores limitantes ao desenvolvimento de estratégias para o controle da murcha bacteriana (Elphinstone, 1994).

Alguns métodos têm sido propostos para a detecção de *R. solanacearum* no solo. Entre eles destacam-se a diluição em placas com meios semi-seletivos, bioensaios com plantas indicadoras, técnicas sorológicas e de imunocaptura, sondas de DNA e amplificação do DNA por PCR (Elphinstone, 1994; Seal & Elphinstone, 1994).

A decisão sobre o método de detecção a ser utilizado depende de fatores como o grau de sensibilidade requerido, o número de amostras a serem utilizadas, a experiência do usuário, a disponibilidade de estrutura de apoio e a proporção entre custo e benefício (Elphinstone, 1994; Campbell & Neher, 1996). Considerando esses aspectos, a análise de riscos de infecção por *R. solanacearum*, baseada em bioensaios, parece ser adequada para as áreas destinadas ao cultivo de tomateiro tutorado no Agreste de Pernambuco.

Na análise de riscos de infecção por *R. solanacearum* baseada em bioensaios, a planta hospedeira atua como eficiente meio para a multiplicação seletiva do patógeno (Granada & Sequeira, 1983). Nessa análise, amostras de solo são coletadas nas áreas destinadas ao plantio, acondicionadas em vasos e mantidas em casa-de-vegetação, à temperatura de 25 a 30°C e alta umidade. Como plantas indicadoras, têm sido utilizadas brotações de batata extraídas de tubérculos sadios (Graham et al., 1979) ou sementes de tomate desinfestadas de cultivares suscetíveis (Felix & Ricaud, 1978; Ramesh & Brandyopadhyay, 1993). Plântulas

de tomateiro também têm sido recomendadas como indicadoras para detectar a presença de *R. solanacearum* em sedimentos de centrifugação provenientes de tecidos homogeneizados de tubérculos de batata, pela injeção dos sedimentos nos talos (Janse, 1988).

Embora existam poucas informações sobre o efeito de estratégias de amostragem na precisão dos métodos de detecção de *R. solanacearum* em solo, o método de amostragem é provavelmente tão importante quanto a sensibilidade da técnica empregada na detecção (Elphinstone, 1994).

Análises de riscos baseadas em bioensaios também têm sido utilizadas com sucesso para patógenos radiculares em ervilha (*Pisum sativum* L.), incluindo *Aphanomyces euteiches* Drechs., *Fusarium solani* (Mart.) Appel & Wr. f. sp. *pisi* (Jones) Snyd. & Hans. e *Thielaviopsis basicola* (Berk. & Br.) Ferraris (Sherwood & Hagedorn, 1958; Reiling et al. 1960; Oyarzun, 1993; Oyarzun et al., 1994).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKIEW, E.B. Influence of soil moisture and temperature on the persistence of *Pseudomonas solanacearum*. In: PERSLEY, G.J. (ed.). **Bacterial wilt disease in Asia and the South Pacific**. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 1986. p.77-79. (ACIAR Proceedings, 13).

AMORIM, L. Avaliação de doenças. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p.647-670.

BATISTA, A.C. Doenças causadas por bactérias. In: BATISTA, A.C. **Tratado de fitopatologia**. Recife: Escola Superior de Agricultura de Pernambuco, 1953. p.754-836.

BEDENDO, I.P. Doenças vasculares. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p.838-847.

BENSON, D.M. Inoculum. In: CAMPBELL, C.L.; BENSON, D.M. (ed.). **Epidemiology and management of root diseases**. Berlin: Springer-Verlag, 1994. p.1-33.

BUDDENHAGEN, I.W. Bacterial wilt revisited. In: PERSLEY, G.J. (ed.)... **Bacterial wilt disease in Asia and the South Pacific**. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 1986. p.126-143. (ACIAR Proceedings, 13).

BUDDENHAGEN, I.W.; KELMAN, A. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.54, p.203-230, 1964.

BUDDENHAGEN, I.W.; SEQUEIRA, L.; KELMAN, A. Designation of races in *Pseudomonas solanacearum*. **Phytopathology**, Worcester, v.52, n.8, p.726, July 1962.

CAMARGO FILHO, W.P.; MAZZEI, A.R. Mercado mundial de tomate e o mercosul. *Informações Econômicas*, São Paulo, v.27, n.10, p.25-38, out. 1997.

CAMPBELL, C.L.; DUTHIE, J.A. Special report: Sampling for disease assessment. *Biological and Cultural Tests for Control of Plant Diseases*, St. Paul, v.4, p.5-8, 1989.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. *Introduction to plant disease epidemiology*. New York: J. Willey & Sons, 1990. 532p.

CAMPBELL, C.L.; NEHER, D.A. Estimating disease severity and incidence. In: CAMPBELL, C.L.; BENSON, D.M. (ed.). *Epidemiology and management of root diseases*. Berlin: Springer-Verlag, 1994. p.117-142.

CAMPBELL, C.L.; NEHER, D.A. Challenges, oportunities, and obligations in root disease epidemiology and management. In: HALL, R. (ed.). *Principles and practice of managing soilborne plant pathogens*. St. Paul: APS, 1996. p.20-49.

DEVI, L.K.; MENON, M.R. Transmission of *Pseudomonas solanacearum* through tomato seeds. *Agricultural Research Journal of Kerala*, Kerala, v.18, p.120-122, 1980.

DIJST, G. et al. Risk assessment through quantitative detection of soil suppressiveness against plant diseases caused by *Rhizoctonia solani* AG 2-1, AG 2-t and AG 4, *Fusarium solani* f.sp. *pisi*, *Thielaviopsis basicola*, *Aphanomyces euteiches*, trichodorid nematodes *Meloidogyne hapla*. In: DEHNE, H.W.et al. (ed.). *Diagnosis and identification of plant pathogens*. Dordrecht: Kluwer, 1997. p.247-251.

ELPHINSTONE, J.G. Métodos de detección de *Pseudomonas solanacearum* en cultivos de papa. In: LOPES, C.A.; ESPINOZA, N.R. (ed.). *Enfermedades bacterianas de la papa*. Lima: Centro Internacional de la Papa, 1994. p.23-32.

ELPHINSTONE, J.G. Survival and possibilities for extinction of *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith in cool climates. *Potato Research*, Orono, v.39, p.403-410, July 1996.

EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO. Sistema integrado de produção de tomate de mesa de crescimento indeterminado no Estado de Pernambuco. Recife: IPA/CEAGEPE/EMATER-PE, 1996. 42p. (Sistema Integrado de Produção, 3).

FAO. FAOSTAT - Agricultural Statistics Database. Rome: World Agricultural Information Centre, 1998. Disponível em: <<http://www.fao.org/waicent/agricult.htm>>. Acesso em: 14 fev. 1999.

FELIX, S.; RICAUD, C. A practical method for the assessment of the bacterial wilt potential of soils in Mauritius. In: CENTRO INTERNACIONAL DE LA PAPA. Pathogens and pests of the potato in the tropics. Los Baños: Centro Internacional de la Papa. 1978, p.139-159.

FRENCH, E.R. Control integrado de la marchitez bacteriana de la papa. CIP Circular, Lima, v.20, n.2, p.8-11, jun. 1994.

GOMES, A.M.A. Identificação de progênies de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) industrial resistentes à *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.*, e progresso da murcha bacteriana. 1997. 96p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade)-Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

GOTO, M. Fundamentals of bacterial plant pathology. San Diego: Academic, 1990. 342p.

GRAHAM, J.; JONES, D.A.; LLOYD, A.B. Survival of *Pseudomonas solanacearum* race 3 in debris and latently infected potato tubers. *Phytopathology*, St. Paul, v.69, n.11, p.1100-1103, Nov. 1979.

GRANADA, G.A.; SEQUEIRA, L. Survival of *Pseudomonas solanacearum* in soil, rhizosphere, and plant roots. *Canadian Journal of Microbiology*, Ottawa, v.29, p.433-440, 1983.

HARTMAN, G.L.; ELPHINSTONE, J.G. Advances in the control of *Pseudomonas solanacearum* race 1 in major food crops. In: HAYWARD, A.C.; HARTMAN, G.L. (ed.). Bacterial wilt: the disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*. Wallingford: CAB International, 1994. p.157-177.

HAYWARD, A.C. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v.29, p.65-87, 1991.

HAYWARD, A.C. Systematics and phylogeny of *Pseudomonas solanacearum* and related bacteria. In: HAYWARD, A.C.; HARTMAN, G.L. (ed.). *Bacterial wilt: the disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum*. Wallingford: CAB International, 1994a. p.123-135.

HAYWARD, A.C. The hosts of *Pseudomonas solanacearum*. In: HAYWARD, A.C.; HARTMAN, G.L. (ed.). *Bacterial wilt: the disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum*. Wallingford: CAB International, 1994b. p.9-24.

HAYWARD, A.C. Phenotypic methods for the differentiation of *Pseudomonas solanacearum*: biovars and supplementary observations. In: MEHAN, V.K.; McDONALD, D. (ed.). *Techniques for diagnosis of Pseudomonas solanacearum and for resistance screening against groundnut bacterial wilt*. Patancheru: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, 1995a. p.27-34.

HAYWARD, A.C. *Pseudomonas solanacearum*. In: SINGH, R.P.; KOHMOTO, K. (eds.) *Pathogenesis and host specificity in plant diseases: histopathological, biochemical, genetic and molecular bases*. Amsterdam: Elsevier, 1995b. v.1, p.139-151.

HAYWARD, A.C.; MARIANO, R.L.R. Mecanismos de virulência e patogenicidade de procariontes em plantas. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, Passo Fundo, v.5, p.199-234, 1997.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **SIDRA 97 - Sistema IBGE de recuperação automática**. Rio de Janeiro, 1998. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 15 fev. 1999.

JABUONSKI, R.E.; HIDALGO, O.A. Doenças bacterianas. In: REIFSCHNEIDER, F.J.B. (coord.). *Produção de batata*. Brasília: Linha Gráfica. 1987. p.85-93.

JANSE, J.D. A detection method for *Pseudomonas solanacearum* in symptomless potato tubers and some data on its sensitivity and specificity. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, Paris, v.18, p.343-351, 1988.

JONES, J.B. et al. (ed.). *Compendium of tomato diseases*. St. Paul: APS, 1993.73p.

KELMAN, A. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. Raleigh: North Carolina State University, 1953. 194p. (North Carolina Agricultural Experiment Station Technical Bulletin, 99).

KRAMER, M.; AMARAL, J.F. A identificação da "murcha bacteriana" presente em culturas de batatinha do Estado de São Paulo. *O Biológico*, São Paulo, v.10, n.7, p.199-207, jul. 1944.

KUROSAWA, C.; PAVAN, M.A. Doenças do tomateiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L. et al. (ed.). *Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas*. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, p.690-719.

LOPES, C.A. Ecologia de *Pseudomonas solanacearum*. In: LOPES, C.A.; ESPINOZA, N.R. (ed.). *Enfermedades bacterianas de la papa*. Lima: Centro Internacional de la Papa, 1994. p.17-22.

LOPES, C.A.; GIORDANO, L.B. Avaliação da resistência de oito clones e três cultivares de batata (*Solanum tuberosum* L.) à murcha bacteriana causada por *Pseudomonas solanacearum*. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.1, n.1, p.33-35, maio 1983.

LOPES, C.A.; SANTOS, J.R.M. *Doenças do tomateiro*. Brasília: EMBRAPA-CNPQ/SPI, 1994. 67p.

LOPES, C.A.; QUEZADO-SOARES, A.M. *Doenças bacterianas das hortaliças: diagnose e controle*. Brasília: EMPRAPA/CNPQ, 1997. 70p.

MARTIN, C.; FRENCH, E.R.; NYDEGGER, U. Strains de *Pseudomonas solanacearum* affecting solanaceae in the Americas. *Plant Disease*, St. Paul, v.66, n.6, p.458-460, June 1982.

McCARTER, S.M. Bacterial Wilt. In: JONES, J.B. et al. (ed.). *Compendium of tomato diseases*. St. Paul: APS, 1991. p.28-29.

McCORMACK, R.B. Algumas observações sobre as moléstias das plantas em Pernambuco. *Boletim da Secretaria de Agricultura, Indústria e Comércio*. Recife, v.2, n.1, p.99-104, 1937.

MELO, M.S.; TAKATSU, A.; UESUGI, C.H. Triagem de espécies de plantas cultivadas quanto à capacidade de manter alta população de *Pseudomonas solanacearum* no sistema radicular. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.19, p.273, ago. 1994. Suplemento.

MOFFETT, M.L.; GILES, J.E.; WOOD, B.A. Survival of *Pseudomonas solanacearum* biovars 2 and 3 in soil: effect of moisture and soil type. *Soil Biology & Biochemistry*, Oxford, v.15, n.5, p.587-591, 1983.

MOFFETT, M.L.; WOOD, B.A.; HAYWARD, A.C. Seed and soil sources of inoculum for the colonization of the foliage of solanaceous host of *Pseudomonas solanacearum*. *Annals of Applied Biology*, London, v.98, n.3, p.403-411, Aug. 1981.

MONTEIRO, E.C.G.; TAKATSU, A. Murcha bacteriana em coentro (*Coriandrum sativum*) causada por *Pseudomonas solanacearum*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.18, p.317, ago. 1993. Suplemento.

MONTEIRO, E.C.G.; TAKATSU, A. Sobrevivência de *Pseudomonas solanacearum* em raízes de plantas cultivadas. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.19, p.302, ago. 1994. Suplemento.

NESMITH, W.C.; JENKINS, JR. S.F. Influence of antagonists and controlled matric potential on the survival of *Pseudomonas solanacearum* in four North Carolina soils. *Phytopathology*, St. Paul, v.75, n.11, p.1182-1187, Nov. 1985.

NODA, H.; von der PAHLEN, A.; SILVA-FILHO, D.F. Avaliação da resistência de progênies de tomate à murcha bacteriana em solo naturalmente infestados por *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Dows. *Revista Brasileira de Genética*, São Paulo, v.9, n.1, p.55-66, mar. 1986.

NODA, H.; MACHADO, F.M. Progresso na seleção de progênies de tomate resistentes à murcha bacteriana através da avaliação epidemiológica da doença. *Acta Amazônica*, Manaus, v.23, n.2-3, p.107-114, abr./set. 1993.

OLIVEIRA, G.H.N. et al. *Erethites hieracifolia* (Compositae), novo hospedeiro selvagem de *Pseudomonas solanacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.7, n.3, p.551, out. 1982.

OROZCO, M.E.; TAKATSU, A. Colonização *in vitro* de raízes de plantas daninhas por *Ralstonia solanacearum* biovars I, II e III. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.22, p.237, ago. 1997. Suplemento.

OYARZUN, P.J. Bioassay to assess root rot in pea and effect of root rot on yield. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, Wageningen, v.99, p.61-75, 1993.

OYARZUN, P.J.; DIJST, G.; MAAS, P.W.Th. Determination and analysis of soil receptivity to *Fusarium solani* f. sp. *pisi* causing dry root rot of peas. **Phytopathology**, St. Paul, v.84, n.8, p.834-842, Aug. 1994.

PALLERONI, N.J. Genus I. *Pseudomonas* Migula 1894. In: KRJEG, N.R.; HOLT, J.G. (ed.) **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984. v.1, p.141-199.

PALLERONI, N.J. et al. Nucleic acid homologies in the genus *Pseudomonas*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v.23, p.333-339, 1973.

PEREIRA, L.V.; NORMANDO, M.C.S. Sobrevivência de *Pseudomonas solanacearum* raça 2 em solos de terra-firme do Estado do Amazonas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, n.2, p.137-142, jun. 1993.

PERSLEY, G.J. Ecology of *Pseudomonas solanacearum*, the causal agent of bacterial wilt. In: PERSLEY, G.J. (ed.) **Bacterial wilt disease in Asia and the South Pacific**. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 1986. p.71-76. (ACIAR Proceedings, 13).

PERSLEY, G.J. et al. Summary of discussion and recommendations. In: PERSLEY, G.J. (ed.) **Bacterial wilt disease in Asia and the South Pacific**. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 1986. p.7-13. (ACIAR Proceedings, 13).

QUEZADO-SOARES, A.M.; LOPES, C.A. Murcha bacteriana (*Pseudomonas solanacearum*) em duas espécies de plantas daninhas da família Labiatae. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.19, n.4, p.581-584, dez. 1994a.

QUEZADO-SOARES, A.M.; LOPES, C.A. Resistência de genótipos de tomateiro a biovars I e III de *Pseudomonas solanacearum*. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.12, n.2, p.161-165, nov. 1994b.

RAMESH, C.R.; BANDYOPADHYAY, A.K. Bacterial wilt potential of soil of Andaman and Nicobar Islands. In: HARTMAN, G.L.; HAYWARD, A.C. (ed.). *Bacterial wilt*. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 1993. p.355-357. (ACIAR Proceedings, 45).

REILING, T.P.; KING, T.H.; FIELDS, R.W. Soil indexing for pea root rot and the effect of root rot on yield. *Phytopathology*, Lancaster, v.50, n.2, p.287-290, Feb. 1960.

REISFCHNEIDER, F.J.B.; TAKATSU, A. *Pseudomonas solanacearum* no Brasil - aspectos macroepidemiológicos. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.10, n.2, p.213, jun. 1985.

ROBBS, C.F. Contribuição ao estudo da "murcha bacteriana" das solanáceas no Brasil. In: ROBBS, C.F. (ed.). *Bacterioses fitopatogênicas no Brasil*. Itaguaí: IER/Universidade Rural, 1960. p.26-27. (IER. Série Divulgação de Pesquisa, 2).

SEAL, S.E.; ELPHINSTONE, J.G. Advances in identification and detection of *Pseudomonas solanacearum*. In: HAYWARD, A.C.; HARTMAN, G.L. (ed.). *Bacterial wilt: the disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum*. Wallingford: CAB International, 1994. p.35-57.

SHAKYA, D.D. Occurrence of *Pseudomonas solanacearum* in tomato seeds imported into Nepal. In: HARTMAN, G.L.; HAYWARD, A.C. (ed.). *Bacterial wilt*. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 1993. p.371-372. (ACIAR Proceedings, 45).

SHERWOOD, R.T.; HAGEDORN, D.J. Determining common root rot potential of pea fields. Madison: University of Wisconsin, 1958. 12p. (Wisconsin Agricultural Experiment Station Bulletin, 531).

SILVEIRA, E.B.; GOMES, A.M.A.; MICHEREFF, S.J.; et al. Variability of *Ralstonia solanacearum* populations causing wilt on tomato in Agreste of Pernambuco, Brazil. *Bacterial Wilt Newsletter*, Brisbane, n.15, p.8-10, May 1998.

SILVEIRA, E.B.; MICHEREFF, S.J.; MARIANO, R.L.R. Epidemiology of tomato bacterial wilt in Agreste region of Pernambuco State, Brazil, in 1996/1997. In: PRIOR, P.H.; ALLEN, C.; ELPHINSTONE, J. (ed.). *Bacterial wilt disease: molecular and ecological aspects*. Berlin: Springer-Verlag/INRA, 1998. p.358-363.

SILVEIRA, N.S.S.; MARIANO, R.L.R.; MICHEREFF, S.J. *Pseudomonas solanacearum* no Brasil. *Summa Phytopathologica*, Jaboticabal, v.22, n.2, p.97-111, abr./jun. 1996.

STACKEBRANDT, E.; MURRAY, R.G.E.; TRÜPER, H.G. Proteobacteria classis nov., a name for the phylogenetic taxon including the "purple bacteria and their relatives". *International Journal of Systematic Bacteriology*, Washington, v.38, p.321-325, 1988.

TAKATSU, A.; LOPES, C.A. Murcha-bacteriana em hortaliças: avanços científicos e perspectivas de controle. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.15, p.170-177, 1997. Suplemento.

VAN BRUGGEN, A.H.C.; GRÜNWARD, N.J. Tests for risk assessment of root infection by plant pathogens. In: DORAN, J.W.; JONES, A.J. (ed.). *Methods for assessing soil quality*. Madison: Soil Science Society, 1996. p.293-310.

VAUGHAN, E.K. Bacterial wilt of tomato caused by *Phytomonas solanacearum*. *Phytopathology*, Madison, v.34, n.5, p.443-458, May 1944.

VIANA, E.C.G.M. Estudo da sobrevivência de um isolado variante de *Pseudomonas solanacearum* em raízes de plantas cultivadas. 1995. 61p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade de Brasília, Brasília.

YABUUCHI, E.; KOSAKO, Y.; OYAIZU, H.; et al. Proposal of *Burkholderia* gen. nov. and transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology Grupo II to the New Genus, with the type species

Burkholderia cepacia (Palleroni and Holmes 1981) comb. nov.
Microbiological Immunology, New York, v.36, n.12, p.1251-1275, 1992.

YABUUCHI, E. et al. Transfer of two *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. nov.: proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973) comb. nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. nov.
Microbiological Immunology, New York, v.39, n.11, p.897-904, 1995.

ZADOKS, J.C.; SCHEIN, R.D. **Epidemiology and plant disease management**. New York: Oxford University, 1979. 427p.

CAPÍTULO 2

PLANO DE AMOSTRAGEM PARA QUANTIFICAÇÃO DA MURCHA BACTERIANA DO TOMATEIRO NO CAMPO

1 RESUMO

TAVARES, Luciana Andrade. Plano de amostragem para quantificação da murcha bacteriana do tomateiro no campo. In: Plano de amostragem para quantificação da murcha bacteriana do tomateiro no campo e análise de solo para detecção de riscos de infecção por *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* (1996). Lavras: UFLA, 1999. p.28-47. (Dissertação - Mestrado em Fitopatologia).*

A produção do tomateiro tutorado apresenta expressiva importância na região agreste de Pernambuco, onde a incidência da murcha bacteriana, causada por *Ralstonia solanacearum*, constitui um fator limitante. O presente estudo teve como objetivo determinar um plano de amostragem para quantificação da doença em âmbito regional. Na safra 1997/98, áreas de plantio de tomateiro tutorado, localizadas em Camocim de São Félix (PE), com plantas nos estádios vegetativo ou de floração/frutificação, foram submetidas a amostragem da incidência de murcha bacteriana. Na determinação do padrão de amostragem, a incidência da doença foi avaliada em duas áreas de plantio, considerando uma parcela de 50 linhas e 10 sulcos por linha, com 12 plantas/sulco, em cada área. No interior dessa parcela foram testados os padrões de caminhamento em "X", "V", diagonal e aleatório, sendo avaliados 50 sulcos por caminhamento. Apenas o caminhamento em "X" propiciou estimativas da incidência da doença que não diferiram significativamente ($P=0,05$) das constatadas na amostragem integral das parcelas nas duas áreas. Para determinação do tamanho ideal das amostras foi utilizado o método da amostragem-piloto, sendo efetuado o levantamento da incidência da doença em 15 áreas de plantio. Em cada área, utilizando o caminhamento em "X", foram avaliados 40 sulcos, com 12 plantas/sulco. Baseado no coeficiente de variação da média, o número de sulcos a ser amostrado reduziu significativamente ($P=0,05$) com o aumento da incidência da doença e do erro aceitável. Com base em equações de probabilidade, o tamanho da amostra também diminuiu com a redução dos níveis de probabilidade. Considerando-se a média das áreas de plantio, uma amostra de 130 sulcos com 12 plantas/sulco parece ser apropriada para quantificar a incidência da murcha bacteriana quando o erro aceitável é de 10%, considerado ideal em levantamentos de campo.

*Comitê Orientador: Ricardo Magela de Souza - UFLA (Orientador), Sami Jorge Michereff - UFRPE e Rosa de Lima Ramos Mariano - UFRPE.

2 ABSTRACT

TAVARES, Luciana Andrade. Sampling plan for quantifying tomato bacterial wilt in field. In: Sampling plan for quantifying tomato bacterial wilt in field and soil analysis for risk detection of infection *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. (1996). Lavras: UFLA, 1999. p.28-47. (Dissertation - Master Program in Phytopathology). *

The production of fresh tomato is very important in the Agreste Region of Pernambuco State, Brazil, where bacterial wilt incidence, caused by *Ralstonia solanacearum*, is a limiting factor. This study had the objective to determine a sampling plan for quantifying this disease at regional level. In the 1997-1998 tomato stacking planting areas located in Camocim de São Félix (PE), having plants in the vegetative or flowering/fructification stages were submitted to sampling for bacterial wilt incidence. To determine the sampling model, disease incidence was evaluated in two planting areas considering one sampling unit with 50 lines, 10 rows per line and 12 plants per row, in each area. Inside this units the patterns "X", "V", diagonal and random were tested and 50 rows were evaluated for pattern. Only the "X" pattern presented estimates for disease incidence without significantly difference from those found by sampling the entire unit in the two planting areas. To determine the ideal sampling size the method of pilot-sampling was used and the disease incidence was measured in 15 planting areas. In each area 40 rows with 12 plants per row were evaluated by the "X" pattern. Based on the coefficient of average variation the number of rows to be sampled was significantly reduced ($P=0,05$) with the increasing of disease incidence and the level of acceptable error. Based on the probability equations the sample size was also reduced with the reduction of probability levels. Considering the average of planting areas, a sample of 130 rows with 12 plants per row seems to be appropriated to quantify incidence of bacterial wilt when the acceptable error is 10%, found ideal in field surveys.

*Guidance Committee: Ricardo Magela de Souza – UFLA (Major Professor), Sami J. Michereff – UFRPE and Rosa de Lima Ramos Mariano – UFRPE.

3 INTRODUÇÃO

A murcha bacteriana, causada por *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.*, 1996, é uma das doenças mais destrutivas à cultura do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) em regiões tropicais e subtropicais (Hayward, 1991; Quezado-Soares & Lopes, 1994).

No estado de Pernambuco, a produção de tomate sob tutoramento, destinada ao consumo *in natura*, concentra-se na mesorregião do Agreste (IBGE, 1998). Nessa região a murcha bacteriana é considerada uma das mais importantes doenças desde 1953 (Batista, 1953), constituindo fator limitante ao cultivo desta solanácea em muitas áreas (Mariano & Michereff, 1994; Silveira *et al.*, 1998).

Apesar dos esforços para o desenvolvimento de medidas eficientes de controle à murcha bacteriana, algumas são de aplicação limitada, geralmente específicas à cultura e ao local onde foram desenvolvidas (Hayward, 1991; Quezado-Soares & Lopes, 1994). Diante destas dificuldades, o desenvolvimento do manejo integrado aplicando diferentes medidas tem sido o mais adequado (Takatsu & Lopes, 1997).

No desenvolvimento do manejo de doenças de plantas associadas a fitopatógenos habitantes do solo, estudos, que possibilitem a compreensão plena do patossistema, devem ser realizados. Dentre esses estudos, ressalta-se a determinação da incidência da doença, que requer planos de amostragem da doença no campo (Benson, 1994).

A amostragem é uma das mais importantes atividades no estudo de epidemias de doenças de plantas. Com um plano de amostragem adequado, estimativas representativas das características da epidemia podem ser obtidas por

um custo reduzido, com a maior exatidão e precisão possíveis (Campbell & Madden, 1990; Campbell & Neher, 1994; Neher & Campbell, 1997).

Para o desenvolvimento de um plano de amostragem são requeridos um detalhado conhecimento do patossistema a ser amostrado, uma definição clara de quais dados serão obtidos e o uso realístico do tempo e/ou dos recursos financeiros disponíveis. Este plano deverá também representar um ajuste entre o que é biológica e estatisticamente razoável (Campbell & Duthie, 1989).

As técnicas utilizadas para avaliação de doenças em plantas incluem amostragens ao acaso, sistemática, estratificada e seqüencial (Amorim, 1995). A amostragem sistemática é a mais recomendada para doenças radiculares, sendo as unidades amostrais selecionadas pelos caminhamentos em diagonal, zigue-zague, "V", "X" ou "W" (Campbell & Neher, 1994).

O tamanho da amostra em um experimento ou levantamento de campo normalmente determina a qualidade ou a confiabilidade dos dados de quantificação da doença obtidos e o custo da iniciativa. Poucas amostras poderão resultar em dados não confiáveis e não representativos, enquanto muitas amostras poderão oferecer dados de melhor qualidade, mas desperdiçar recursos valiosos. O objetivo da amostragem é alocar os recursos sabiamente e, ao mesmo tempo, determinar o número de amostras que pode ser tomado para atingir um certo nível de confiabilidade e precisão (Campbell & Duthie, 1989; Campbell & Madden, 1990).

Para estimar-se o tamanho de amostras a serem tomadas na quantificação de doenças, existem, pelo menos, três métodos disponíveis, os quais dependem da definição operacional da confiabilidade e dos custos impostos na coleta das amostras. No primeiro método, confiabilidade é definida pelo erro padrão ou coeficiente de variação da média. No segundo, confiabilidade é definida por equações de probabilidade. O terceiro usa componentes da variância

e funções de custo para otimizar o número de amostras, considerando que cada amostra tem um custo associado (Campbell & Madden, 1990).

Apesar da importância mundial, não existem estudos envolvendo a determinação de planos de amostragem para quantificação da murcha bacteriana do tomateiro no campo. Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo determinar um plano de amostragem, envolvendo padrões de caminhamento e tamanhos de amostra, para quantificação da incidência da murcha bacteriana em plantios de tomateiro tutorado no Agreste de Pernambuco.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados na safra 1997/1998, em áreas de plantio de tomateiro tutorado, cv. Santa Clara, localizadas no município de Camocim de São Félix, agreste do estado de Pernambuco.

4.1 Determinação do padrão de caminhamento para quantificação da murcha bacteriana do tomateiro

Duas áreas de plantio com aproximadamente 1 ha e plantas no estágio de floração-frutificação foram submetidas à amostragem para avaliação da incidência da murcha bacteriana. Em cada área, a incidência da doença foi avaliada numa parcela de 50 linhas contíguas e 10 sulcos por linha, com 12 plantas/sulco, considerando-se a porcentagem de plantas com sintomas no sulco em relação ao total avaliado. Posteriormente, no interior dessa parcela foram testados os padrões de caminhamento em “X”, “V”, diagonal e alcatório (Cochran, 1977), representados esquematicamente na Figura 1. Foram avaliados 50 sulcos por caminhamento, com 12 plantas/sulco.

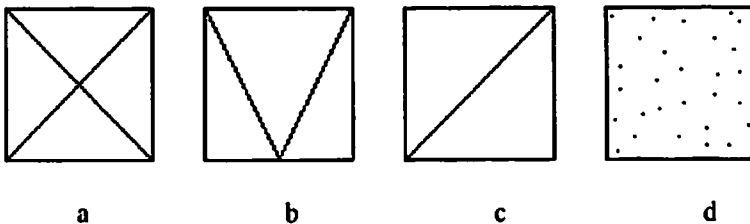


FIGURA 1 Padrões de caminhamento utilizados na amostragem de plantas de tomateiro para avaliação da incidência da murcha bacteriana: “X” (a), “V” (b), diagonal (c) e alcatório (d).

A seleção do melhor padrão de caminhamento foi efetuada pelo teste *t* para amostras independentes, a 5% de probabilidade comparando-se os valores de incidência de murcha obtidos na parcela integral (geral) com os verificados pelos diferentes caminhamentos.

4.2 Determinação do tamanho da amostra para quantificação da murcha bacteriana do tomateiro

Levantamentos da incidência de murcha bacteriana foram realizados em 15 áreas de plantio, quando as plantas se encontravam nos estádios vegetativo ou de floração-frutificação. Em cada área, utilizando o padrão de caminhamento em "X", a incidência da murcha bacteriana foi avaliada em 40 sulcos com 12 plantas/sulco, totalizando uma população de 480 plantas.

Os dados obtidos foram utilizados como amostragens-piloto, sendo estimado o tamanho ideal da amostra para cada área, baseado no coeficiente de variação da média e em equações de probabilidade, conforme a metodologia descrita por Campbell & Madden (1990).

Na análise baseada no coeficiente de variação da média, o tamanho da amostra (*n*) foi estimado para confiabilidades (erros padrões da média) preestabelecidas de 3%, 5%, 8% e 10%, determinadas pelo coeficiente de variação da média ($CV_x = 0,03; 0,05; 0,08; \text{ e } 0,10$), utilizando-se a equação: $n = S^2 / (x^2 \cdot CV_x^2)$, em que *x* corresponde à porcentagem de incidência da doença na média de 40 sulcos com 12 plantas e S^2 corresponde à variância da média amostral.

Na análise baseada em equações de probabilidade, o tamanho da amostra (*n*) foi determinado para obter estimativas em torno de 3%, 5%, 8% e 10%, ($D = 0,03; 0,05; 0,08; \text{ e } 0,10$) da média populacional, a 5% e 10% de

probabilidade ($P = 0,05$ e $0,10$), utilizando-se a equação: $n = (S^2 \cdot Z_{P/2}^2) / (D^2 \cdot x^2)$, em que $Z_{P/2}$ é o valor tabelado de Z da distribuição normal padrão, considerando $P/2$ e os graus de liberdade ($n-1$) da amostra.

Visando comparar a influência dos níveis de incidência da murcha bacteriana nos tamanhos de amostra, foi efetuada a análise de correlação de Pearson, a 5% de probabilidade.

Todas as análises estatísticas foram efetuadas com o auxílio do programa STATISTICA for Windows 5.1 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA, 1996).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação do padrão de caminhamento para quantificação da murcha bacteriana do tomateiro

Na área C-1, as estimativas de incidência da murcha bacteriana do tomateiro obtidas pelos padrões de caminhamento em "X" (14,0%) e diagonal (23,3%) não diferiram significativamente ($P=0,05$) da constatada na amostragem integral da parcela (20,4%). Na área C-6, apenas o caminhamento em diagonal (42,9%) apresentou estimativa significativamente ($P=0,05$) diferente da obtida na amostragem geral da parcela (33,3%) (Tabela 1).

O propósito de um plano de amostragem é aumentar a precisão de uma amostra com o mínimo de custo. Cada padrão de amostragem tem seus benefícios específicos e pode ser apropriado sob uma gama de circunstâncias (Cochran, 1977). As boas estimativas da incidência da murcha bacteriana do tomateiro propiciadas pelo padrão de caminhamento em "X" nas duas áreas de plantio podem estar associadas ao fato de que esse procedimento, diferentemente dos caminhamentos em "V", diagonal e aleatório, permite que diferentes locais dentro de uma área sejam amostrados. Isso reflete numa melhor adaptação a diferentes condições de arranjo espacial da doença (Campbell & Madden, 1990). Embora a escolha do padrão de amostragem dependa da distribuição espacial da doença no campo (Kranz, 1988; Amorim, 1995), este aspecto não foi considerado no presente estudo. Isso porque, em estudo realizado no Agreste de Pernambuco, na safra 1996/97, Silveira et al. (1998) verificaram que o arranjo espacial de plantas de tomateiro com murcha bacteriana variava conforme a área de plantio e o progresso da doença.

TABELA 1 Incidência de murcha bacteriana em duas áreas de plantio de tomateiro tutorado, estimada com a utilização de vários padrões de caminhamento.

Tratamento	Área	
	C-1	C-6
Caminhamento ¹ em X	14,0 ²	38,2
Caminhamento em V	33,6*	40,6
Caminhamento diagonal	23,3	42,9*
Caminhamento aleatório	42,6*	33,4
Amostragem geral	20,4	33,3

¹Conforme Cochran (1977), representados esquematicamente na Figura 1.

²Média de 50 sulcos nos caminhamentos e 500 sulcos na parcela integral (geral), considerando a porcentagem de plantas com sintomas no sulco em relação ao total de 12 plantas avaliadas. Médias seguidas de asterisco (*) no sentido vertical diferem significativamente da obtida pela amostragem geral, considerando o teste t para amostras independentes, a 5% de probabilidade.

A adequação do padrão de caminhamento em "X", na avaliação de doenças de plantas, principalmente quando considerada a incidência e/ou condições de arranjo agregado de plantas doentes, tem sido evidenciada em vários patossistemas (Basu et al. 1977; Lin et al. 1979; Hau et al. 1982; Poushinsky & Basu, 1984; Delp et al. 1986; Shepard & Ferrer, 1990; Disthaporn & Kranz, 1991; Disthaporn et al., 1993).

5.2 Determinação do tamanho da amostra para quantificação da murcha bacteriana do tomateiro

Na estimativa do tamanho da amostra baseada no coeficiente de variação da média com confiabilidades preestabelecidas, o número de sulcos a serem amostrados reduziu significativamente ($P=0,05$) com o aumento da

incidência da doença ($r = -0,66$) e do erro aceitável ($r = -0,90$) (Tabela 2). Considerando-se a média das 15 áreas de plantio, uma amostra de 130 sulcos com 12 plantas/sulco parece ser apropriada para quantificar a incidência da murcha bacteriana quando o erro aceitável é de 10%, considerado ideal em levantamentos de campo (Southwood, 1978). No entanto, esse valor se eleva para 208, 533 e 1.484 sulcos, quando os erros aceitáveis reduzem para 8%, 5% e 3%, respectivamente.

TABELA 2 Tamanho da amostra, em número de sulcos, para quantificação da incidência da murcha bacteriana do tomateiro, com a confiabilidade definida pelo coeficiente de variação da média (erro padrão), em 15 áreas de plantio.

Área	Incidência ¹ (%)	Erro padrão (%)			
		3	5	8	10
C-1	14,0	4.182 ²	1.505	588	376
C-2	18,6	1.630	587	229	147
C-3	49,2	729	262	102	66
C-4	16,6	421	151	59	38
C-5	7,2	1.565	563	220	141
C-6	38,2	930	335	131	34
C-7	4,0	2.760	993	388	248
C-8	51,3	430	155	60	39
C-9	6,6	2.074	746	292	187
C-10	29,7	1.390	500	195	125
C-11	68,8	141	51	20	13
C-12	14,2	1.344	484	189	121
C-13	10,3	1.979	712	278	178
C-14	32,1	1.483	534	208	133
C-15	36,0	1.205	424	169	108
Média	26,2	1.484	533	208	130
Desvio padrão		1.020	367	143	94

¹Média de 40 sulcos, considerando a porcentagem de plantas com sintomas no sulco em relação ao total de 12 plantas avaliadas.

²Tamanho da amostra calculado conforme Campbell & Madden (1990).

Na análise baseada em equações de probabilidade, em que o tamanho da amostra foi estabelecido em função de níveis de probabilidade e porcentagens pré-fixadas da média, o número de sulcos a ser amostrado foi superior ao estimado quando a análise foi efetuada somente pelo coeficiente de variação da média e aumentou com a redução dos níveis de probabilidade (Tabela 3). Portanto, considerando a média das 15 áreas avaliadas, uma amostra de 284 sulcos parece ser apropriada quando um erro de 10% e uma probabilidade de 90% são aceitáveis na quantificação da murcha bacteriana do tomateiro. No caso do erro ser reduzido para 5%, mantendo-se o mesmo nível de probabilidade, seria necessária a amostragem de 1.115 sulcos.

TABELA 3 Tamanho da amostra, em número de sulcos, para quantificação da incidência da murcha bacteriana do tomateiro, com a confiabilidade definida por equações de probabilidade (P) e pelo coeficiente de variação da média (erro padrão), em 15 áreas de plantio.

Área	Erro padrão (%)							
	3		5		8		10	
	P=0,05	P=0,1	P=0,05	P=0,1	P=0,05	P=0,1	P=0,05	P=0,1
C-1	6.517 ¹	4.182	2.346	1.505	917	588	587	376
C-2	6.260	4.017	2.254	1.116	880	565	563	362
C-3	2.799	1.796	1.008	647	394	253	252	162
C-4	1.515	1.036	582	373	227	146	145	93
C-5	6.011	3.857	2.164	1.389	845	542	541	347
C-6	1.450	930	522	335	204	131	130	84
C-7	10.596	6.799	3.815	2.448	1.490	956	954	612
C-8	1.651	1.059	594	381	232	149	149	95
C-9	7.966	5.111	2.868	1.840	1.120	719	717	460
C-10	5.339	3.425	1.922	1.233	751	482	481	308
C-11	541	347	195	125	76	49	49	31
C-12	5.162	3.312	1.858	1.192	726	466	465	298
C-13	7.599	4.876	2.736	1.755	1.069	686	684	439
C-14	5.695	3.654	2.050	1.316	801	514	512	329
C-15	4.630	2.971	1.667	1.070	651	418	417	267
Média	4.915	3.158	1.772	1.115	692	444	443	284

¹Tamanho da amostra calculado conforme Campbell & Madden (1990).

A escolha do nível de erro tolerável evidenciou ser um fator preponderante na determinação do tamanho da amostra para quantificação da murcha bacteriana do tomateiro. Entretanto, a quantidade de erro aceitável depende do propósito da amostragem (Cochran, 1977; Kranz, 1988).

A redução do número de amostras necessárias com o aumento da incidência da doença indica que os valores dispersos ao redor da média também diminuem, como verificado em outros patossistemas por Delp et al. (1986); Rossi & Battilani (1989); Jong (1995); Michereff (1998) e Andrade (1999).

Os resultados confirmaram as observações de vários pesquisadores, em que o tamanho da amostra para quantificação da doença depende, além do objetivo do levantamento, do nível de exatidão e precisão desejados (Kranz, 1988; Campbell & Duthie, 1989; Rossi & Battilani, 1989). A determinação do tamanho de amostras com o uso de diferentes níveis de probabilidade, além da definição do erro aceitável, possibilita estimativas mais precisas (Cochran, 1977; Campbell & Madden, 1990). Esse pressuposto foi evidenciado pelo incremento no número de sulcos a ser amostrado com a elevação dos níveis de probabilidade.

Outro aspecto importante a considerar, é que o tamanho da amostra para quantificação da doença necessita ser dinâmico, uma vez que pode variar com o progresso da doença (Kranz, 1988; Duthie et al., 1991) e com as mudanças do arranjo espacial de plantas doentes no campo durante o desenvolvimento da epidemia (Delp et al., 1986; Kranz, 1988; Campbell & Duthie, 1989; Campbell & Madden, 1990; Disthaporn et al., 1993; Jong, 1995).

Um pressuposto básico na definição do plano de amostragem de determinada doença é que os dados dos locais analisados são representativos do que poderia ocorrer em outros campos. A validade desses pressupostos é variável entre patossistemas (Campbell & Madden, 1990; Perry, 1994). Portanto, os resultados obtidos neste estudo servem como base para futuros levantamentos

epidemiológicos da murcha bacteriana do tomateiro no agreste do estado de Pernambuco. Isso porque os dados foram originados de campos sob diferentes condições e estimados considerando-se necessidades crescentes de precisão.

6 CONCLUSÕES

Somente o caminhar em "X" propiciou estimativas da incidência da murcha bacteriana do tomateiro que não diferiram das constatadas na amostragem integral das parcelas nas duas áreas de plantio.

O número de sulcos a ser amostrado reduziu com o aumento da incidência da doença e do erro aceitável, bem como a redução dos níveis de probabilidade.

Uma amostra composta de 130 sulcos com 12 plantas/sulco evidenciou ser apropriada para quantificar a incidência da murcha bacteriana do tomateiro em levantamentos de campo na região agreste do estado de Pernambuco.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, D.E.G.T. *Murcha-de-fusário do tomateiro: levantamento da intensidade, amostragem, arranjo espacial, variabilidade de isolados de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* e seleção de cultivares resistentes.* 1999. 113p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade)-Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- AMORIM, L. Avaliação de doenças. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (ed.). *Manual de fitopatologia: princípios e conceitos.* São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p.647-670.
- BASU, P.K.; LIN, C.S.; BINNS, M.R. A comparison of sampling methods for surveying alfafa foliage diseases. *Canadian Journal of Plant Science*, Ottawa, v.57, p.1091-1097, Oct. 1977.
- BATISTA, A.C. Doenças causadas por bactérias. In: BATISTA, A.C. *Tratado de fitopatologia.* Recife: Escola Superior de Agricultura de Pernambuco, 1953. p.754-836.
- BENSON, D.M. Inoculum. In: CAMPBELL, C.L.; BENSON, D.M. (ed.). *Epidemiology and management of root diseases.* Berlin: Springer-Verlag, 1994. p.1-33.
- CAMPBELL, C.L.; DUTHIE, J.A. Sampling for disease assessment. *Biological and Cultural Tests for Control of Plant Diseases*, St. Paul, v.4, p.5-8, 1989.
- CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. *Introduction to plant disease epidemiology.* New York: John Wiley & Sons, 1990. 532p.
- CAMPBELL, C.L.; NEHER, D.A. Estimating disease severity and incidence. In: CAMPBELL, C.L.; BENSON, D.M. (ed.). *Epidemiology and management of root diseases.* Berlin: Springer-Verlag, 1994. p.117-142.
- COCHRAN, W.G. *Sampling techniques.* 3. ed. New York: J. Willey & Sons, 1977. 428p.

DELP, B.R.; STOWELL, L.J.; MAROIS, J.J. Evaluation of field sampling techniques for estimation of disease incidence. *Phytopathology*, St. Paul, v.76, n.12, p.1299-1305, Dec. 1986.

DISTHAPORN, S.; HAU, B.; KRANZ, J. Comparison of sampling procedures for two rice diseases: leaf blast and tungro. *Plant Pathology*, London, v.42, n.2, p.313-323, Apr. 1993.

DISTHAPORN, S.; KRANZ, J. Spatial distributions of rice diseases. *Thai Phytopathology*, Bangkok, v.11, n.1-2, p.18-25, Jan./June 1991.

DUTHIE, J.A.; CAMPBELL, C.L.; NELSON, L.A. Efficiency of multistage sampling for estimating of intensity of leaf spot diseases of alfalfa in field experiments. *Phytopathology*, St. Paul, v.81, n.9, p.959-964, Sept. 1991.

HAU, F.C.; CAMPBELL, C.L.; BEUTE, M.K. Inoculum distribution and sampling methods for *Cylindrocladium crotalariae* in a peanut field. *Plant Disease*, St. Paul, v.66, n.7, p.568-571, July 1982.

HAYWARD, A.C. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v.29, p.65-87, 1991.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. SIDRA 97 - Sistema IBGE de recuperação automática. Rio de Janeiro, 1998. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 14 fev. 1999.

JONG, P.D. Sampling for detection: leek rust as an example. *International Journal of Pest Management*, Oxford, v.41, n.1, p.31-35, Jan./Mar. 1995.

KRANZ, J. Measuring plant disease. In: KRANZ, J.; ROTEM, J. (ed.). *Experimental techniques in plant disease epidemiology*. Heidelberg: Springer-Verlag, 1988. p.35-50.

LIN, C.S.; POUHINSKY, G.; MAUER, M. An examination of five sampling methods under random and clustered disease distributions using simulation. *Canadian Journal of Plant Science*, Ottawa, v.59, p.121-130, 1979.

MARIANO, R.L.R.; MICHEREFF, S.J. Lista comentada de bactérias fitopatogênicas registradas c/ou estudadas no Estado de Pernambuco - Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.19, n.4, p.499-509, dez. 1994.

MICHEREFF, S.J. *Queima das folhas do inhame: quantificação, levantamento da intensidade e dinâmica espaço-temporal*. 1998. 91p. Tese (Doutorado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

NEHER, D.A.; CAMPBELL, C.L. Determining sample size. In: FRANCL, L.J.; NEHER, D.A. (ed.). *Exercises in plant disease epidemiology*. St. Paul: The American Phytopathologica Society, 1997. p.12-15.

PERRY, J.N. Sampling and applied statistics for pests and diseases. *Aspects of Applied Biology*, London, v.37, p.1-14, Jan. 1994.

POUSHINSKY, G.; BASU, P.K. A study of distribution and sampling of soybean plants naturally infected with *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*. *Phytopathology*, St. Paul, v.74, n.3, p.319-326, Mar. 1984.

QUEZADO-SOARES, A.M.; LOPES, C.A. Resistência de genótipos de tomateiro a biovars I e III de *Pseudomonas solanacearum*. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.12, n.2, p.161-165, nov. 1994.

ROSSI, V.; BATTILANI, P. Assessment of intensity of *Cercospora* disease on sugarbeet. II. *Journal of Phytopathology*, Berlin, v.124, n-1, p.67-70, Jan. 1989.

SHEPARD, B.M.; FERRER, E.R. Sampling insects and diseases in rice. In: INTERNACIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE (ed.). *Crop loss assessment in rice*. Manila: IRRI, 1990. p.107-130.

SILVEIRA, E.B.; MICHEREFF, S.J.; MARIANO, R.L.R. Epidemiology of tomato bacterial wilt in Agreste region of Pernambuco State, Brazil, in 1996/1997. In: PRIOR, P.H.; ALLEN, C.; ELPHINSTONE, J. (ed.). *Bacterial wilt disease: molecular and ecological aspects*. Berlin: Springer-Verlag/INRA, 1998, p.358-363.

SOUTHWOOD, T.R.E. *Ecological methods*. 2. ed. London: Chapman & Hall, 1978. 524p.

TAKATSU, A.; LOPES, C.A. Murcha-bacteriana em hortaliças: avanços científicos e perspectivas de controle. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.15, p.170-177, 1997. Suplemento.

CAPÍTULO 3

**ANÁLISE DE SOLO PARA DETECÇÃO DE RISCOS DE
INFECCÃO DE TOMATEIRO POR *Ralstonia solanacearum*
(SMITH) YABUCHI *et al.* (1996)**

1 RESUMO

TAVARES, Luciana Andrade. Análise de solo para detecção de riscos de infecção de tomateiro por *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* 1996. In: Plano de amostragem para quantificação da murcha bacteriana do tomateiro no campo e análise de solo para detecção de riscos de infecção por *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* 1996. Lavras: UFLA, 1999. p.48-70. (Dissertação - Mestrado em Fitopatologia).*

A murcha bacteriana, causada por *Ralstonia solanacearum*, é uma das mais importantes doenças do tomateiro no agreste do estado de Pernambuco. O presente estudo teve como objetivo desenvolver um sistema para detecção de riscos de infecção de tomateiro por *R. solanacearum* em áreas destinadas ao plantio no Agreste de Pernambuco. Na determinação do plano de amostragem foram utilizadas duas áreas sem plantio, localizadas em Camocim de São Félix (PE), com incidência de murcha bacteriana de 94,3% (A-1) e 75,0% (A-2) na safra 1996/97. Em cada área foi estabelecida uma subárea de aproximadamente 1 ha, onde foram testados os padrões de caminamento em “X”, “<”, “V”, “W” e aleatório, sendo coletadas 10, 20, 40, 60 e 80 amostras de solo por caminamento, com aproximadamente 300g. As amostras foram depositadas em copos plásticos e mantidas em casa-de-vegetação sob alta umidade, sendo submetidas ao bioensaio com plântulas de tomateiro (cv. Santa Clara) e incubadas por 28 dias, quando a incidência de murcha bacteriana foi avaliada. Para aferição do método do bioensaio, 18 áreas destinadas ao cultivo de tomateiro tutorado na safra 1998/99 foram submetidas à análise de riscos de infecção por *R. solanacearum* seis meses antes do plantio. Em cada área, utilizando o padrão de caminamento em “W”, foram coletadas 40 amostras de solo, sendo processadas e analisadas pelo bioensaio. Na safra 1998/99, foi efetuado o levantamento da incidência da murcha bacteriana nas 18 áreas cultivadas com tomateiro e analisadas previamente quanto aos riscos de infecção por *R. solanacearum*. Foi constatada uma correlação positiva ($r = 90,40\%$) significativa ($P = 0,05$) entre a incidência da murcha bacteriana estimada pelo bioensaio (IEB) e a incidência real no campo (IRC). Quando aplicada a análise de regressão aos dados, foi determinada uma equação de previsão de risco de infecção por *R. solanacearum* [$IRC = 3,393 + \exp(1,338 + (0,051) * IEB)$], indicando a possibilidade de estimativas com elevado nível de precisão ($R^2 = 98,68\%$).

*Comitê Orientador: Ricardo Magela de Souza - UFLA (Orientador), Sami Jorge Michereff - UFRPE e Rosa de Lima Ramos Mariano - UFRPE.

2 ABSTRACT

TAVARES, Luciana Andrade. Soil analysis for risk detection of *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* 1996 infection in tomato plants. In: Sampling plan for quantifying tomato bacterial wilt in field and soil analysis for risk detection of *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* 1996 infection in tomato plants. Lavras: UFLA, 1999. p.48-70. (Dissertation - Master Program in Phytopathology). *

Bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* is one of the most important tomato diseases in the Agreste Region of Pernambuco (PE) State, Brazil. This study had the objective to develop a system for detection of bacterial wilt infection risk in areas to be planted with tomato in Agreste of PE. For determination of the sampling plan two areas without tomato plants were used, both located in Camocim de S. Félix (PE) with previous histories of bacterial wilt incidence in 1996/97 (94,3%, A-1 and 75%, A-2). In each area was established one sub-area with approximately 1 ha where the patterns "X", "<", "V", "W" and random were tested. In each pattern 10, 20, 40, 60 and 80 soil samples with 300g were collected. Soil samples were placed in plastic cups and maintained in greenhouse under high humidity before and during the 28-day bioassay with tomato plants (cv. Santa Clara) to evaluate disease incidence. In order to verify the efficiency of the bioassay method 18 areas reserved to tomato stacked planting in 1998/99 were submitted to analysis of risk infection by *R. solanacearum* six months before planting. In each area by using the "W" pattern 40 soil samples were collected, processed and analyzed by the bioassay method. In 1998-99 these 18 areas were evaluated for bacterial wilt incidence and a significantly ($P = 0,05$) positive correlation was found ($r = 90,40\%$) between bacterial wilt incidence estimated by the bioassay (IEB) and the real incidence in field (RIF). The regression analysis of the data determined an equation for forecasting the bacterial wilt risk [$RIF = 3,393 + \exp(1,338 + (0,051)*IEB)$], indicating the possibility good precision level estimates ($R^2 = 98,68\%$).

* Guidance Committee: Ricardo Magela de Souza - UFLA (Major Professor), Sami Jorge Michereff - UFRPE and Rosa de Lima Ramos Mariano - UFRPE.

3 INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) situa-se entre as hortaliças mais cultivadas no mundo (Camargo Filho & Mazzei, 1997). No nordeste brasileiro, sobretudo no estado de Pernambuco, apresenta expressiva importância econômica, devido à movimentação de capital e mão-de-obra (EMATER-PE, 1996). Nesse estado, a produção de tomate destinada ao consumo *in natura* concentra-se na mesorregião do Agreste, onde o município de Camocim de São Félix se destaca como o principal produtor (IBGE, 1998). Paralelamente à intensificação da cultura, os problemas fitossanitários têm se destacado, sendo a murcha bacteriana, causada por *Ralstonia solanacearum*, relatada como uma das mais importantes doenças do tomateiro no norte e nordeste, ocasionando perdas totais quando as condições ambientais são favoráveis ao patógeno (Lopes & Santos, 1994; Lopes & Quezado-Soares, 1997).

Com o crescente interesse no manejo de doenças, a escolha do local de plantio tem sido relatada como importante opção de controle, tanto para escapar ao patógeno quanto às condições predisponentes à ocorrência de epidemias (Kimati & Bergamin Filho, 1995; Takatsu & Lopes, 1997). Isso, principalmente para aquelas doenças, como a murcha bacteriana do tomateiro, em que nenhum controle químico eficiente ou cultivar resistente encontra-se disponível para o agricultor (French, 1994; Lopes & Quezado-Soares, 1997).

Por ser o solo um sistema dinâmico, compreendendo uma vasta e diversificada comunidade de organismos, a estimativa da presença ou densidade de inóculo de patógenos no solo pode determinar os riscos de infecção das plantas (van Bruggen & Grünwald, 1996; Dijst *et al.*, 1997). Diferentes métodos para detecção de *R. solanacearum* têm sido propostos, envolvendo plaqueamento em

meio semi-seletivo, bioensaio com plantas indicadoras, técnicas sorológicas e moleculares. Meios semi-seletivos são freqüentemente empregados na estimativa de densidades populacionais de *R. solanacearum*, embora, não permitam a distinção entre isolados patogênicos e não patogênicos. As técnicas sorológicas e moleculares, apesar de permitirem maior precisão na detecção da bactéria, até o momento são somente qualitativas e não permitem a distinção dos isolados em relação a patogenicidade (Elphinstone, 1994; Scal & Elphinstone, 1994).

O uso de bioensaio com plantas indicadoras, visando analisar os riscos de infecção por fitopatógenos habitantes do solo teve início com o estudo realizado por Fink (1948). Esse pesquisador empregou plântulas de beterraba açucareira (*Beta vulgaris* L.) para prognosticar os níveis da podridão radicular causada por *Aphanomyces cochlioides* Drechs. em solos provenientes do campo. Posteriormente, com os estudos desenvolvidos por Johnson (1957) e Sherwood & Hagedorn (1958), visando determinar os riscos de infecção por *Aphanomyces euteiches* Drechs. em campos destinados ao plantio com ervilha (*Pisum sativum* L.), o bioensaio com plantas indicadoras teve um grande impulso como sistema de previsão de doenças radiculares baseado no inóculo inicial do patógeno (Campbell & Madden, 1990; van Bruggen & Grünwald, 1996). Em relação a *R. solanacearum*, este método é relativamente sensível, tendo como vantagem detectar apenas células viáveis e fornecer informações sobre patogenicidade (Elphinstone, 1994). Utilizando plântulas de tomateiro como indicadoras, Felix & Ricaud (1978), nas Ilhas Maurício e Ramesh & Bandyopadhyay (1993), na Índia, determinaram com sucesso a capacidade infectiva de *R. solanacearum* em amostras de solo.

Existem poucas informações sobre o efeito de estratégias de amostragem na precisão dos métodos de detecção de *R. solanacearum* (Elphinstone, 1994). A amostragem visa à obtenção de estimativas

representativas da população por um custo reduzido, com a maior precisão possível (Campbell & Madden, 1990). O desenvolvimento de um plano de amostragem envolve, entre outros aspectos, a determinação de padrões de caminamento e tamanhos de amostra, requerendo o conhecimento minucioso do patossistema a ser amostrado e um claro conceito de como serão avaliados os dados obtidos (Campbell & Duthie, 1989). Embora diferentes estratégias de amostragem sejam empregadas na avaliação de doenças de plantas (Amorim, 1995), a amostragem sistemática parece ser a mais apropriada para doenças radiculares, sendo recomendada a coleta de amostras por meio de vários padrões de caminamento ao longo da área (Campbell & Neher, 1994).

O presente trabalho teve como objetivo determinar planos de amostragem de solo para análise de riscos de infecção de tomateiro por *R. solanacearum*, bem como aplicar esta análise em solos do Agreste de Pernambuco, destinados ao plantio desta solanácea.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Plano de amostragem de solo para análise de riscos de infecção de tomateiro por *Ralstonia solanacearum*

Os ensaios foram conduzidos em duas áreas (A-1 e A-2) que encontravam-se sem plantio, localizadas no município de Camocim de São Félix, em janeiro de 1998. Essas áreas haviam sido cultivadas com tomateiro na safra 1996/97, quando foram submetidas ao levantamento da incidência de murcha bacteriana, evidenciando níveis de 94,3% (A-1) e 75,0% (A-2) de doença (Silveira et al., 1998). A área A-1 havia sido mantida em pousio desde a colheita (janeiro de 1997) até a realização do ensaio, enquanto a área A-2 havia sido cultivada sucessivamente com milho, repolho e tomate, sendo este último colhido em dezembro de 1997.

Em cada área foi estabelecida uma subárea de aproximadamente 1 ha, onde foram testados diferentes padrões de caminamento e tamanhos de amostra. Foram testados os padrões de caminamento em “X”, “<”, “V”, “W” e aleatório (Cochran, 1977), representados esquematicamente na Figura 1. Para cada padrão de caminamento foram coletadas 10, 20, 40, 60 e 80 amostras de solo, com aproximadamente 300g cada, retiradas à profundidade de 10 a 15 cm. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos perfurados e devidamente etiquetados. Posteriormente, as amostras, dentro de cada combinação padrão de caminamento x tamanho de amostra, foram misturadas, constituindo amostras compostas e peneiradas em malha de 0,8 cm. Em seguida, cada amostra composta foi dividida em subamostras, conforme o respectivo tamanho e depositada em copos plásticos descartáveis com capacidade para 300 ml, sendo

mantidas em casa-de-vegetação sob alta umidade, obtida pela manutenção destes copos em pratos plásticos contendo água.

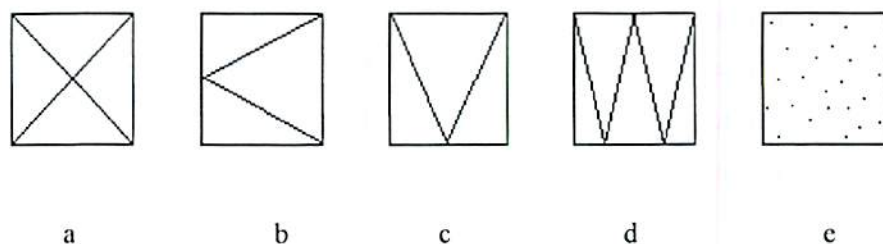


Figura 1 Padrões de caminhamento utilizados na coleta de amostras de solo para detecção de riscos de infecção por *Ralstonia solanacearum*: “X” (a), “<” (b), “V” (c), “W” (d) e aleatório (e).

Para analisar o risco de infecção de tomateiro por *R. solanacearum* nas amostras de solo coletadas, foi utilizado o método do bioensaio com planta indicadora (Elphinstone, 1994). Plântulas de tomateiro da cv. Santa Clara, com 21 dias de idade, cultivadas sob condições de casa-de-vegetação em substrato Plantmax®, foram removidas de bandejas tipo plantágio, submetidas à lavagem para remoção do substrato e ao corte das raízes com tesoura flambada. Em seguida, as plântulas foram transplantadas, individualmente, para os copos plásticos contendo as amostras de solo e mantidas em condições de alta umidade em casa-de-vegetação. As plântulas foram observadas diariamente quanto ao aparecimento de sintomas externos da murcha bacteriana, até 28 dias após o transplante. Os caules das sobreviventes foram, então seccionados longitudinalmente desde o colo até o meristema apical, sendo avaliada a presença de descoloração vascular e retirados fragmentos para realização do teste do copo (Kelman, 1953), visando a confirmação do diagnóstico de murcha bacteriana.

Durante o período de realização dos ensaios, a temperatura na casa-de-vegetação foi de $36 \pm 3,5^{\circ}\text{C}$ e a umidade relativa de $65 \pm 11,6\%$.

A seleção do melhor método de caminhamento e do tamanho ideal de amostra foi baseada nos valores de incidência verificados no bioensaio com plântulas de tomateiro em casa-de-vegetação, empregando o teste Z para diferença entre proporções.

4.2 Análise de riscos de infecção de tomateiro por *Ralstonia solanacearum* em solos do Agreste de Pernambuco

Dezoito áreas destinadas ao cultivo comercial de tomateiro tutorado na safra 1998/99, localizadas no município de Camocim de São Félix, foram submetidas à análise de riscos de infecção por *R. solanacearum* em maio de 1998, seis meses antes do plantio. Em cada área foi estabelecida uma subárea de aproximadamente 1 ha, onde, utilizando o padrão de caminhamento em “W”, foram coletadas 40 amostras de solo, à profundidade de 10 a 15 cm, com aproximadamente 300g cada. As amostras de solo foram processadas e a análise efetuada pelo método da planta indicadora, conforme descrito previamente. Durante o período de realização dos ensaios, a temperatura na casa-de-vegetação foi de $27 \pm 3,5^{\circ}\text{C}$ e a umidade relativa de $78 \pm 2,5\%$.

Em janeiro de 1999, foi efetuada o levantamento da incidência da murcha bacteriana nas 18 áreas cultivadas com tomateiro tutorado (cv. Santa Clara), analisadas previamente quanto aos riscos de infecção por *R. solanacearum*. Em cada área foi avaliada a incidência da doença em 130 sulcos com 12 plantas/sulco, utilizando o caminhamento em “X”.

Com os valores da incidência estimada pelo bioensaio (IEB) e de incidência real no campo (IRC) das 18 áreas amostradas, foi efetuada a análise de

correlação de Pearson a 5% de probabilidade. Os mesmos dados foram submetidos à análise de regressão linear e não-linear, tendo a IEB como variável independente e IRC como variável dependente.

As análises estatísticas foram efetuadas com o auxílio do programa STATISTICA for Windows Release 5.1 (StatSoft Inc., Tulsa - OK, USA, 1996).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Plano de amostragem de solo para análise de risco de infecção de tomateiro por *Ralstonia solanacearum*

Na área A-1, onde a incidência real de murcha bacteriana na safra 1996/97 foi de 94,3%, a coleta de amostras de solo utilizando o padrão de caminhamento em “V” diferiu significativamente do “<” e do “X”, pelo bioensaio com plântulas de tomateiro (Tabela 1). Considerando-se a média dos diferentes caminhamentos, os diferentes tamanhos de amostras não diferiram entre si.

Na área A-2, onde a incidência real de murcha bacteriana foi de 75,0% na safra 1996/97, a coleta de amostras pelo caminhamento em “W” diferiu significativamente do “<” e do aleatório, quando considerada a média dos diferentes tamanhos de amostra (Tabela 1). Nessa área, considerando-se as médias dos diferentes caminhamentos, os tamanhos de amostras analisados não diferiram dos demais.

TABELA 1 Valores de Z para diferença entre proporções da incidência no bioensaio, para detecção de riscos de infecção por *Ralstonia solanacearum* em diferentes padrões de caminhamento e tamanho de amostra (número de amostras de solo).

Área	Número de amostras de solo				
	20	40	60	80	
	10	- 0,68	- 1,48	- 1,04	- 1,34
	20		- 0,87	- 0,31	- 0,65
	40			0,75	0,37
	60				- 0,47
A - 1	Padrão de caminhamento				
	<	V	W	Aleatório	
	X	2,3*	- 0,64	0,58	1,13
	<		- 2,92*	- 1,72	- 1,2
	V			1,22	1,75
	W				0,52
	Número de amostras de solo				
	20	40	60	80	
	10	1,32	0,97	1,15	0,75
	20		- 0,61	- 0,45	- 1,05
	40			0,25	- 0,49
	60				- 0,87
A - 2	Padrão de caminhamento				
	<	V	W	Aleatório	
	X	1,62	- 0,87	- 0,51	0,04
	<		- 2,47*	- 3,54b*	- 1,27
	V			- 1,05	1,19
	W				2,22*

* Significativamente diferente pelo teste Z, para diferença entre proporções (P=0,05).

O desenvolvimento de um plano de amostragem adequado é, provavelmente, tão importante quanto a sensibilidade da técnica empregada na detecção de *R. solanacearum* (Elphinstone, 1994). Como os procedimentos de amostragem dependem do arranjo espacial do inóculo do patógeno na área (Oyarzun, 1993; Benson, 1994), a ausência de diferenças significativas entre os tamanhos de amostra testados para detecção de *R. solanacearum* no campo pode estar associada ao arranjo espacial do inóculo desta bactéria nas áreas. Os elevados níveis de incidência de murcha bacteriana verificados nas áreas, na safra 1996/1997, indicam que a densidade do inóculo de *R. solanacearum* apresentava-se igualmente elevada, refletindo num arranjo espacial próximo ao homogêneo. Esse resultado se assemelha ao relatado por Benson (1994) em relação a outros fitopatógenos habitantes do solo.

Em virtude da semelhança dos resultados obtidos para os padrões de caminhamento utilizados na coleta das amostras de solo, visando à detecção de *R. solanacearum*, o caminhamento em "W" foi escolhido por ser considerado o mais seguro para estudos envolvendo amostragem de fitopatógenos habitantes do solo (Oyarzun, 1993; Benson, 1994; Campbell & Neher, 1994).

A semelhança dos resultados obtidos em relação ao tamanho da amostra a ser considerada para detecção de *R. solanacearum* indica que qualquer número de amostras testado é representativo nas condições em que o ensaio foi realizado. Entretanto, embora a precisão dos métodos de detecção de fitopatógenos habitantes do solo seja efetiva com o aumento do número de amostras avaliadas, os custos devem ser considerados na definição do nível de precisão aceitável para amostragem em larga escala (Benson, 1994). Nesse sentido, 40 amostras de solo a serem coletadas em 1 ha parecem constituir uma boa escolha em termos de padronização da metodologia. Este representa um valor intermediário entre os tamanhos analisados, assemelhando-se ao adotado na amostragem de solo para

detecção de *R. solanacearum* em áreas destinadas ao plantio de batata (Saumtally *et al.*, 1993) e outros fitopatógenos habitantes do solo (Wilhelm, 1957; Sherwood & Hagedorn, 1958; Tu, 1987; Oyarzun & Dijst, 1991).

Desde que populações de patógenos são dinâmicas, o período de amostragem do solo é de fundamental importância para estimar a densidade de inóculo (van Bruggen & Grünwald, 1996). Os menores níveis de incidência de murcha bacteriana constatados no bioensaio, comparados aos verificados em campo 11 meses antes nas duas áreas em que os diferentes padrões de caminhamento e tamanhos de amostra foram testados, indica que o inóculo de *R. solanacearum* pode ter sofrido uma grande redução na quantidade ou eficiência. A redução mais drástica da incidência de murcha bacteriana na área A-1 pode estar associada ao pousio a que esta área foi submetida desde a colheita da safra 1996/97 até a coleta das amostras na safra 1997/98. Na área A-2, as reduções nos níveis de incidência da doença no bioensaio não foram tão elevadas como na área A-1. Esse fato está relacionado, provavelmente, ao plantio intensivo da área com outras culturas e com tomate no período imediatamente anterior à coleta das amostras. Além disso, essa área não foi submetida à estresse de umidade entre as duas safras.

5.2 Análise de riscos de infecção de tomateiro por *Ralstonia solanacearum* em solos do Agreste de Pernambuco

As amostras de solo provenientes de 18 áreas destinadas ao plantio de tomateiro e avaliadas quanto aos riscos de infecção por *R. solanacearum*, pelo método do bioensaio, aos seis meses antes do plantio, evidenciaram níveis de incidência de murcha bacteriana entre 0 e 57,5%. A maioria (55,6%) apresentou incidência inferior a 10%. Na safra 1998/99, a incidência de murcha bacteriana

nos plantios efetuados nessas áreas variou entre 0 e 70%, tendo a maioria (61,1%) evidenciado incidência inferior a 10% (Tabela 2). Esses níveis de incidência de murcha bacteriana em plantios de tomateiro do Agreste de Pernambuco assemelham-se aos verificados por Silveira et al. (1998), na safra 1996/97.

Tabela 2 Incidência da murcha bacteriana estimada em bioensaio com plântulas de tomateiro seis meses antes do plantio e incidência real da doença em 18 áreas cultivadas com tomateiro na safra 1998/99.

Área	Incidência estimada pelo bioensaio (%) ¹	Incidência real no campo (%) ²
B-1	45,0	38,2
B-2	7,5	0,0
B-3	27,5	14,0
B-4	57,5	70,0
B-5	10,0	4,1
B-6	40,0	21,1
B-7	0,0	2,0
B-8	2,5	0,0
B-9	0,0	0,0
B-10	0,0	0,0
B-11	2,5	0,0
B-12	0,0	1,6
B-13	0,0	0,0
B-14	32,5	18,9
B-15	5,0	0,0
B-16	12,5	7,2
B-17	30,0	14,1
B-18	27,5	11,1

¹Para cada área foram coletadas 40 amostras de solo com aproximadamente 300g, utilizando o padrão de caminamento em "W" numa subárea com 1 ha.

²Média de 130 sulcos com 12 plantas/sulco, utilizando caminamento em "X".

A população de determinado patógeno no solo freqüentemente determina a viabilidade econômica da cultura na área (van Bruggen & Grünwald, 1996). No bioensaio com plântulas de tomateiro não foram constatados sintomas de outras doenças radiculares importantes desta solanácea no Agreste de Pernambuco, tais como murcha-de-fusário e meloidoginose. Esse resultado indica que o método foi mais sensível e seletivo para a murcha bacteriana e/ou as áreas não estavam infestadas pelos agentes causais dessas doenças, *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hans. e *Meloidogyne* spp., respectivamente. O bioensaio permitiu a detecção de riscos de infecção por *R. solanacearum* em vários níveis, pois, em apenas duas áreas (B-7 e B-12) com baixos níveis de incidência de murcha bacteriana, o método não detectou previamente a infestação do solo com o patógeno.

Na maioria das áreas analisadas, a incidência de murcha bacteriana foi maior no bioensaio que, no campo, assemelhando-se ao constatado em outros estudos de análise de risco de infecção por patógenos radiculares (Reiling et al., 1960; Kobriger & Hagedorn, 1983; Oyarzun, 1993). Isto é esperado devido ao bioensaio ser desenvolvido para propiciar condições ambientais ótimas para o desenvolvimento da doença, enquanto grandes flutuações ambientais ocorrem no campo (Kobriger & Hagedorn, 1983). No bioensaio utilizado neste trabalho, as amostras de solo oriundas do campo foram mantidas durante todo o período de análise sob condições de alta umidade e as plântulas de tomateiro transplantadas tiveram suas raízes cortadas para facilitar a penetração de *R. solanacearum*, o que não ocorre no campo.

O desenvolvimento de um sistema de previsão para fitopatógenos habitantes do solo depende de numerosos fatores. Dentre eles o mais importante é o desenvolvimento de um método quantitativo para avaliar o potencial destrutivo

do patógeno (Stanghellini & Kronland, 1985). A incidência da murcha bacteriana em uma planta de tomateiro representa a perda total da produção desta planta, que raramente atinge o estágio de frutificação. Portanto, diferentemente do que normalmente ocorre em outros patossistemas envolvendo doenças radiculares (Oyarzun, 1993), as perdas de produção de tomateiro são diretamente proporcionais à incidência da murcha bacteriana.

Foi constatada uma correlação positiva ($r = 90,40\%$) significativa ($P = 0,05$) entre a incidência da murcha bacteriana estimada pelo bioensaio e a incidência real no campo. Resultados semelhantes foram obtidos na detecção de riscos de infecção por patógenos radiculares em beterraba açucareira (Fink, 1948), ervilha (Johnson, 1957; Sherwood & Hagedorn, 1958; Reiling et al., 1960; Tu, 1987; Oyarzun & Dijst, 1991; Oyarzun, 1993), feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) (Kobriger & Hagedorn, 1983) e couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.) (Oyarzun & Dijst, 1991).

Quando aplicada a análise de regressão aos dados de incidência de murcha bacteriana estimada pelo bioensaio (IEB) e de incidência real no campo (IRC), foi determinada uma equação de previsão de risco de infecção por *R. solanacearum* [$IRC = 3,393 + \exp(1,338 + (0,051)*IEB)$], indicando a possibilidade de estimativas com elevado nível de precisão ($R^2 = 98,68\%$) (Figura 2). O nível de precisão obtido é superior ao adotado em sistemas de previsão de risco de infecção por patógenos radiculares em âmbito mundial (Tu, 1987; Oyarzun & Dijst, 1991; Oyarzun, 1993; Dijst et al., 1997).

Respeitando-se os desvios das estimativas geradas pela equação de previsão, os níveis de risco de infecção por *R. solanacearum* detectados em amostras de solo pelo bioensaio são proporcionais às futuras perdas de produtividade de determinada área, devido à incidência de murcha bacteriana.

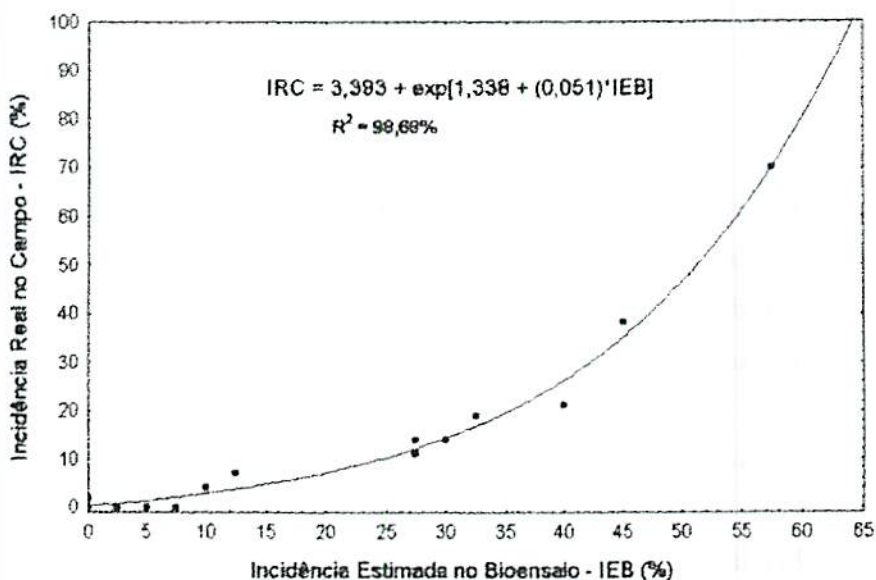


FIGURA 2 Relação entre incidência de murcha bacteriana estimada em bioensaio com plântulas de tomateiro aos seis meses antes do plantio e a incidência real da doença em 18 áreas cultivadas do Agreste de Pernambuco.

Os testes para avaliar os riscos de infecção por patógenos radiculares são considerados trabalhosos e relativamente demorados (van Bruggen & Grünwald, 1996). Apesar disso, constituem importante componente de programas de manejo integrado de doenças radiculares, como evidenciado em batata (Saumtally *et al.*, 1993), ervilha (Tu, 1987; Oyarzun, 1993) e feijociro (Kobriger & Hagedorn, 1983).



6 CONCLUSÕES

Os diferentes padrões de caminhamento e tamanhos de amostra utilizados na coleta de solo para detecção de riscos de infecção por *R. solanacearum* não deferiram entre si quanto aos níveis de incidência de murcha bacteriana em plântulas de tomateiro.

O bioensaio com plântulas de tomateiro proporcionou a detecção de riscos de infecção por *R. solanacearum* em áreas com diferentes níveis de incidência da doença.

A correlação positiva entre a incidência da murcha bacteriana estimada pelo bioensaio e a incidência real no campo permitiu a determinação de uma equação de previsão de risco de infecção por *R. solanacearum* com elevado nível de precisão.

A análise de riscos de infecção por *R. solanacearum* em áreas destinadas ao plantio de tomateiro pode constituir um importante componente do manejo da murcha bacteriana na região Agreste de Pernambuco. Isso porque ele possibilita a seleção de áreas de plantio com até seis meses de antecedência.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMORIM, L. Avaliação de doenças. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p.647-670.
- BENSON, D.M. Inoculum. In: CAMPBELL, C.L.; BENSON, D.M. (ed.). **Epidemiology and management of root diseases**. Berlin: Springer-Verlag, 1994. p.1-33.
- CAMARGO FILHO, W.P.; MAZZEI, A.R. Mercado mundial de tomate e o Mercosul. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.27, n.10, p.25-38, out. 1997.
- CAMPBELL, C.L.; DUTHIE, J.A. Sampling for disease assessment. **Biological and Cultural Tests for Control of Plant Diseases**, St. Paul, v.4, p.5-8, 1989.
- CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: J. Willey & Sons, 1990. 532p.
- CAMPBELL, C.L.; NEHER, D.A. Estimating disease severity and incidence. In: CAMPBELL, C.L.; BENSON, D.M. (ed.). **Epidemiology and management of root diseases**. Berlin: Springer-Verlag, 1994. p.117-142.
- COCHRAN, W.G. **Sampling techniques**. 3. ed. New York: J. Willey & Sons, 1977. 428p.
- DIJST, G. et al. Risk assessment through quantitative detection of soil suppressiveness against plant diseases caused by *Rhizoctonia solani* AG 2-1, AG 2-t and AG 4, *Fusarium solani* f.sp. *pisi*, *Thielaviopsis basicola*, *Aphanomyces euteiches*, trichodoriid nematodes *Meloidogyne hapla*. In: DEHNE, H.W.; ADAM, G.; DIEKMANN, M.; FRAHM, J. (ed.). **Diagnosis and identification of plant pathogens**. Dordrecht: Kluwer, 1997. p.247-251.
- ELPHINSTONE, J.G. Métodos de detección de *Pseudomonas solanacearum* en cultivos de papa. In: LOPES, C.A.; ESPINOZA, N.R. (ed.). **Enfermedades bacterianas de la papa**. Lima: Centro Internacional de la Papa, 1994. p.23-32.
- EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO. **Sistema integrado de produção de tomate de mesa de crescimento indeterminado no Estado de Pernambuco**. Recife: IPA/CEAGEPE/EMATER-PE, 1996. 42p. (Sistema Integrado de Produção, 3).

FELIX, S.; RICAUD, C. A practical method for the assessment of the bacterial wilt potential of soils in Mauritius. In: CENTRO INTERNACIONAL DE LA PAPA. *Pathogens and pests of the potato in the tropics*. Los Baños: Centro Internacional de la Papa. 1978. p.139-159.

FINK, H. C. Correlation between sugar beet crop losses and greenhouse determinations of soil infestations by *Aphanomyces cochilioides*. *Phytopathology*, Lancaster, v.38, n.1, p.9, Jan. 1948.

FRENCH, E.R. Control integrado de la marchitez bacteriana de la papa causada por el biovar 2-A/raza 3 de *Pseudomonas solanacearum*. In: LOPES, C. A.; ESPINOSA, N.R.(ed.). *Enfermedades bacterianas de la papa*. Lima: Centro Internacional de la Papa, 1994. p.39-41.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *SIDRA 97 - Sistema IBGE de recuperação automática*. Rio de Janeiro, 1998. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 14 fev. 1999.

JOHNSON, H.G. A method for determining the degree of infestation by pea root-rot organisms in soil. *Phytopathology*, [Baltimore, v.47, n.1, p.18, Jan. 1957.

KELMAN, A. *The bacterial wilt caused by Pseudomonas solanacearum*. Raleigh: North Carolina State University, 1953. 194p. (North Carolina Agricultural Experiment Station Technical Bulletin, 99).

KIMATI, H.; BERGAMIN FILHO. Principios gerais de controle. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (ed.). *Manual de fitopatologia: princípios e conceitos*. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p.692-709.

KOBRIGER, K.M.; HAGEDORN, D.J. Determination of bean root rot potential in vegetable production fields of Wisconsin's Central Sands. *Plant Disease*, St. Paul, v.67, n.2, p.177-178, Feb. 1983.

LOPES, C. A. ; QUEZADO-SOARES, A. M. *Doenças bacterianas das hortaliças: diagnose e controle*. Brasília: EMBRAPA/CNPH, 1997. 70p.

LOPES, C.A.; SANTOS, J.R.M. *Doenças do tomateiro*. Brasília: EMBRAPA-CNPH/SPI, 1994. 67p.

OYARZUN, P.J. Bioassay to assess root rot in pea and effect of root rot on yield. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, Wageningen, v.99, p.61-75, 1993.

OYARZUN, P.J.; DIJST, G. Assessment of site-specific receptivity of soil to soilborne diseases of pea and cauliflower. In: BEEMSTER, A.B.R. et al. (ed.). **Biotic interactions and soil-borne diseases**. Amsterdam: Elsevier, 1991. p.322-328.

RAMESH, C.R.; BANDYOPADHYAY, A.K. Bacterial wilt potential of soil of Andaman and Nicobar Islands. In: HARTMAN, G.L.; HAYWARD, A.C. (ed.). **Bacterial wilt**. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 1993. p.355-357. (ACIAR Proceedings, 45).

REILING, T.P.; KING, T.H.; FIELDS, R.W. Soil indexing for pea root rot and the effect of root rot on yield. *Phytopathology*, Lancaster, v.50, n.2, p.287-290, Feb. 1960.

SAUMTALLY, S. et al. Disease management strategies for the control of bacterial wilt disease of potato in Mauritius. In: HARTMAN, G.L.; HAYWARD, A. C. (ed.). **Bacterial wilt**. Canberra: Australian Centre for international Agricultural Reserach, 1993. p. 289-293. (ACIAR Proceedings, 45).

SEAL, S.E.; ELPHINSTONE, J.G. Advances in identification and detection of *Pseudomonas solanacearum*. In: HAYWARD, A.C.; HARTMAN, G.L. (ed.) **Bacterial wilt: the disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum***. Wallingford: CAB International, 1994. p.35-57.

SHERWOOD, R.T.; HAGEDORN, D.J. **Determining common root rot potential of pea fields**. Madison: University of Wisconsin, 1958. 12p. (Wisconsin Agricultural Experiment Station Bulletin, 531).

SILVEIRA, E.B.; MICHEREFF, S.J.; MARIANO, R.L.R. Epidemiology of tomato bacterial wilt in Agreste region of Pernambuco State, Brazil, in 1996/1997. In: PRIOR, P.H.; ALLEN, C.; ELPHINSTONE, J. (ed.). **Bacterial wilt disease: molecular and ecological aspects**. Berlin: Springer-Verlag/INRA, 1998, p.358-363.

STANGHELLINI, M.E.; KRONLAND, W.C. Bioassay for quantification of *pythium aphanidermatum* in soil. **Phytopathology**, St. Paul, v.75, n.11, p.1242-1245, Nov. 1985.

TAKATSU, A.; LOPES, C.A. Murcha-bacteriana em hortaliças: avanços científicos e perspectivas de controle. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.15, p.170-177, 1997. Suplemento.

TU, J.C. Integrated control of pea root rot disease complex in Ontario. **Plant Disease**, St. Paul, v.71, n.1, p.9-13, Jan. 1987.

VAN BRUGGEN, A.H.C.; GRÜNWARD, N.J. Tests for risk assessment of root infection by plant pathogens. In: DORAN, J.W.; JONES, A.J. (ed.). **Methods for assessing soil quality**. Madison: Soil Science Society, 1996. p.293-310.

WILHELM, S. Determining the inoculum potential of *Verticillium* in soil and predicting subsequent wilt losses in strawberry. **Phytopathology**, Baltimore, v.47, n.1, p.37, Jan. 1957.

DISCUSSÃO GERAL

No desenvolvimento do manejo integrado de doenças de plantas causadas por patógenos habitantes do solo devem ser realizados vários estudos que possibilitem a compreensão plena do patossistema. Dentre esses estudos, se destacam a determinação de planos de amostragem da doença e a análise de riscos de infecção (Dijst et al., 1997; Benson, 1994).

Embora a amostragem constitua uma das mais importantes atividades no estudo de epidemias de doenças de plantas, poucos procedimentos têm sido desenvolvidos em cultivos comerciais (Seem et al., 1985). Um plano de amostragem adequado tem como propósito obter estimativas representativas das características de epidemias, com maior exatidão e precisão possíveis. As estimativas da incidência da murcha bacteriana do tomateiro propiciadas pelo padrão de caminhamento em "X" nas duas áreas de plantio podem estar associadas ao fato de que esse procedimento, diferentemente dos caminhamentos em "V", diagonal e alcatório, permite que diferentes locais dentro de uma área sejam amostrados. Isso resulta numa melhor adaptação a diferentes condições de arranjo espacial da doença (Campbell & Madden, 1990).

Em relação ao tamanho da amostra para quantificação da murcha bacteriana do tomateiro, a escolha do nível de erro tolerável evidenciou-se como um fator preponderante, embora este dependa do propósito da amostragem (Cochran, 1977; Kranz, 1988; Campbell & Duthie, 1989; Rossi & Battilani, 1989). Além disso, a redução do número de sulcos a serem amostrados com o aumento da intensidade da doença indica que os valores dispersos ao redor da média também diminuem, como verificado em outros patossistemas (Delp et al., 1986; Rossi & Battilani, 1989; Jong, 1995; Michereff, 1998; Andrade, 1999).

No manejo integrado da murcha bacteriana, o plantio em solos livres do patógeno constitui uma das principais medidas a serem adotadas (Takatsu & Lopes, 1997). Esse método objetiva a prevenção da doença pelo escape ao patógeno e tem efeito predominante sobre a quantidade inicial de inóculo e a taxa de progresso da doença (Zadoks & Schein, 1979). Nesse contexto, para a seleção de áreas de plantio, torna-se fundamental a análise de riscos de infecção por patógenos radiculares (Dijst et al., 1997).

Os procedimentos de amostragem dependem do arranjo espacial do inóculo do patógeno na área (Oyarzun, 1993; Benson, 1994). Por isso a ausência de diferenças significativas entre os padrões de caminhamento e tamanhos de amostra testados para detecção de *R. solanacearum* no solo pode estar associada aos elevados níveis de incidência da murcha bacteriana verificados nas áreas na safra 1996/1997. Isso indica que a densidade de inóculo do patógeno apresentava-se igualmente elevada, refletindo num arranjo espacial próximo ao homogêneo.

O bioensaio com plântulas de tomateiro demonstrou ser um eficiente método para detecção de riscos de infecção por *R. solanacearum* em amostras de solo na região Agreste do estado de Pernambuco, permitindo estimativas precisas do potencial destrutivo do patógeno. Portanto, esse método pode constituir um importante componente do manejo integrado da murcha bacteriana do tomateiro, permitindo a seleção de áreas de plantio com até seis meses de antecedência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, D.E.G.T. **Murcha-de-fusário do tomateiro**: levantamento da intensidade, amostragem, arranjo espacial, variabilidade de isolados de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* e seleção de cultivares resistentes. 1999. 113p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade)-Universidade Federal Rural de Pernambuco.

BENSON, D.M. Inoculum. In: CAMPBELL, C.L.; BENSON, D.M. (ed.). **Epidemiology and management of root diseases**. Berlin: Springer-Verlag, 1994. p.1-33.

CAMPBELL, C.L.; DUTHIE, J.A. Special report: Sampling for disease assessment. **Biological and Cultural Tests for Control of Plant Diseases**, St. Paul, v.4, p.5-8, 1989.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: J. Willey & Sons, 1990. 532p.

COCHRAN, W.G. **Sampling techniques**. 3. ed. New York: J. Willey & Sons, 1977. 428p.

DELP, B.R.; STOWELL, L.J.; MAROIS, J.J. Evaluation of field sampling techniques for estimation of disease incidence. **Phytopathology**, St. Paul, v.76, n.12, p.1299-1305, Dec. 1986.

DIJST, G. et al. Risk assessment through quantitative detection of soil suppressiveness against plant diseases caused by *Rhizoctonia solani* AG 2-1, AG 2-t and AG 4, *Fusarium solani* f.sp. *pisi*, *Thielaviopsis basicola*, *Aphanomyces euteiher*, trichodorid nematodes *Meloidogyne hapla*. In: DEHNE, H.W. (ed.). **Diagnosis and identification of plant pathogens**. Dordrecht: Kluwer, 1997. p.247-251.

JONG, P.D. Sampling for detection: leek rust as an example. **International Journal of Pest Management**, Oxford, v.41, n.1, p.31-35, 1995.

KRANZ, J. Measuring plant disease. In: KRANZ, J.; ROTEM, J. (ed.). **Experimental techniques in plant disease epidemiology**. Heidelberg: Springer-Verlag, 1988. p.35-50.

MICHEREFF, S.J. **Queima das folhas do inhame: quantificação, levantamento da intensidade e dinâmica espaço-temporal**. 1998. 91p. Tese (Doutorado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

OYARZUN, P.J. Bioassay to assess root rot in pea and effect of root rot on yield. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, Wageningen, v.99, p.61-75, 1993.

ROSSI, V.; BATTILANI, P. Assessment of intensity of *Cercospora* disease on sugarbeet. II. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.124, p.67-70, 1989.

SEEM, R.C. et al. Sampling procedure to detect grapevine downy mildew. **Phytopathology**, St. Paul, v.75, n.11, p.1252-1257, Nov. 1985.

TAKATSU, A.; LOPES, C.A. Murcha-bacteriana em hortaliças: avanços científicos e perspectivas de controle. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.15, p.170-177, 1997. Suplemento.

ZADOKS, J.C.; SCHEIN, R.D. **Epidemiology and plant disease management**. New York: Oxford University, 1979. 427p.