**INTERAÇÕES ENTRE *Fusarium oxysporum* (Schlecht)
f. sp. *phaseoli* (Kendrick & Snyder) E *Meloidogyne
incognita* (Kofoid & White) Chitwood OU *M. javanica*
(Treub) Chitwood (Nemata: Tylenchoidea) EM
CULTIVARES DE FEIJOEIRO COMUM**

JOÃO PEDRO PIMENTEL

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. LUIZ CARLOS C.B. FERRAZ

**Tese apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”,
Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Doutor em
Agronomia, Área de Concentração:
Fitopatologia.**

**PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Fevereiro – 1998**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Pimentel, João Pedro

Interações entre *Fusarium oxysporum* (Schlecht) f. sp. *phaseoli* (Kendrick & Snyder) e *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood ou *M. javanica* (Treub) Chitwood (Nemata: Tylenchoidea) em cultivares de feijoeiro comum / João Pedro Pimentel. - - Piracicaba, 1998.

87 p. : il.

Tese (doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1998.
Bibliografia.

1. Fitopatologia 2. Fungo fitopatogênico 3. Fusariose-do-feijão 4. Nematóide-das-galhas 5. Nematóide parasito de planta I. Título

CDD 635.652

**INTERAÇÕES ENTRE *Fusarium oxysporum* (Schlecht)
f. sp. *phaseoli* (Kendrick & Snyder) E *Meloidogyne
incognita* (Kofoid & White) Chitwood OU *M. javanica*
(Treub) Chitwood (Nemata: Tylenchoidea) EM
CULTIVARES DE FEIJOEIRO COMUM**

JOÃO PEDRO PIMENTEL

Aprovada em: 17.04.1998

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Luiz Carlos C. Barbosa Ferraz

ESALQ/USP

Prof. Dr. Ailton Rocha Monteiro

ESALQ/USP

Prof^a. Dra. Marineide Mendonça Aguilera

UFSCar/Araras

Prof. Dr. Anário Jaehn

FCA/UNESP

Dra. Leila Luci Dinardo-Miranda

Est. Exp. de Piracicaba/IAC

Prof. Dr. Luiz Carlos C. Barbosa Ferraz

- Orientador -

***À Alessandra, companheira de todas as
horas e
ao Vitor, meu filho***

DEDICO

AGRADECIMENTOS

- Ao Professor Luiz Carlos C.B. Ferraz, pela orientação e colaboração na elaboração deste trabalho.
- Aos Professores Mario Massayuki Inomoto e Ailton Rocha Monteiro, pelas lições nematológicas e amizade.
- Aos colegas e amigos Hélio, João Batista, Paulo Chagas, Raquel e Solismar, pela ajuda no processamento das amostras.
- Às bibliotecárias Eliana Maria Garcia Sabino e Kátia Maria de Andrade Ferraz, pelo auxílio na revisão e correção das referências bibliográficas deste trabalho.
- À Andrea Padovani Matiel e a Maria Celia Rodrigues pelo trabalho de digitação e normatização do texto.
- Ao Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) e ao Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAF/EMBRAPA), pelo fornecimento das sementes utilizadas.
- Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Maringoni e à Dra. Solange M. T. Pizza, pelo fornecimento de isolados do fungo.
- À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela oportunidade concedida.

- À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro.
- À todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para o êxito deste trabalho, incluindo colegas, professores e funcionários dos Departamentos de Fitopatologia e Zoologia da ESALQ/USP pela atenção e amizade durante o curso.

SUMÁRIO

	Pagina
LISTA DE FIGURAS.....	iv
LISTA DE TABELAS.....	v
LISTA DE QUADROS.....	viii
RESUMO.....	ix
SUMMARY.....	xi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 Importância da cultura do feijoeiro.....	4
2.2 A murcha ou amarelecimento de <i>Fusarium</i>	5
2.3 Nematóides das galhas radiculares em feijoeiro.....	10
2.4 Doenças complexas envolvendo nematóides e fungos.....	13
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 Seleção do isolado de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>phaseoli</i> para os estudos de interação com <i>Meloidogyne incognita</i> raça 2 ou <i>M. javanica</i> em feijoeiro comum.....	17
3.2 Seleção de cultivares para os estudos de interação entre <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>phaseoli</i> e <i>M. incognita</i> ou <i>M. javanica</i> em feijoeiro.....	20
3.3 Seleção do método de inoculação das plantas com o fungo para os estudos de interação com os nematóides.....	20
3.4 Efeito de dois níveis de inóculo de <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>phaseoli</i> e da temperatura na severidade da murcha.....	22

3.5	Obtenção e preparo dos inóculos dos nematóides.....	24
3.5.1	Obtenção de culturas monoespecíficas de <i>M. incognita</i> e <i>M. javanica</i>	24
3.5.2	Multiplicação e preparo do inóculo.....	25
4	Estudos da interação entre <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>phaseoli</i> , <i>M. javanica</i> ou <i>M. incognita</i> em feijoeiro comum.....	26
4.1	Efeito de níveis de inóculo de <i>M. javanica</i> associado ou não a <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> , em cultivar de feijoeiro suscetível ao nematóide e resistente ao fungo....	26
4.2	Interação entre <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> , <i>M. incognita</i> raça 2 ou <i>M. javanica</i> em cultivares comerciais de feijoeiro comum.....	29
4.2.1	Preparo das plantas para a inoculação.....	31
4.2.2	Preparo do inóculo do fungo.....	31
4.2.3	Preparo dos inóculos dos nematóides.....	32
4.2.4	Inoculações.....	32
4.2.5	Avaliação.....	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
5.1	Seleção do isolado de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>phaseoli</i> para os estudos de interação com <i>Meloidogyne incognita</i> raça 2 ou <i>M. javanica</i> em feijoeiro comum.....	35
5.2	Seleção de cultivares para os estudos de interação entre <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> e <i>M. incognita</i> ou <i>M. javanica</i>	37

5.3	Seleção do método de inoculação das plantas com o fungo para os estudos de interação com os nematóides..	40
5.4	Efeito de dois níveis de inóculo de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> e da temperatura na severidade da murcha fusariana.....	43
5.5	Efeitos de níveis de inóculo de <i>M. javanica</i> , associado ou não a <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>Phaseoli</i> , na cultivar IAPAR 14.....	46
5.6	Efeito da interação entre <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> e <i>M. incognita</i> ou <i>M. javanica</i> em cultivares comerciais de feijoeiro comum.....	55
5.6.1	Efeito da interação na severidade da doença (SD) baseado nos sintomas externos (SE), infecção vascular (IV) e recuperação do fungo <i>in vitro</i> (RF).....	55
5.6.2	Efeito da interação na severidade da doença baseado na massa seca da parte aérea (MSPA) das plantas.....	63
5.6.3	Efeito de inoculações simples ou combinada de <i>M. incognita</i> ou <i>M. javanica</i> com <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> no índice de massas de ovos (IMO) e nos fatores de reprodução (FR) em cultivares de feijoeiro comum.....	69
6	CONCLUSÕES.....	74
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75

LISTA DE FIGURAS

		Página
1	Interação entre <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> e <i>Meloidogyne javanica</i> (Mj) em feijoeiro 'IAPAR 14'. A. Sintomas externos em plantas; T, testemunha; 11, fungo + 5000 J ₂ de Mj; 12, fungo + 10000 J ₂ de Mj; F, plantas inoculadas somente com o fungo. B. Recuperação do fungo <i>in vitro</i> ; 2, segmentos de caules de plantas inoculadas com o fungo; 12, fungo + 10000 J ₂ de Mj e 11, fungo + 5000 J ₂ de Mj.....	50
2	Efeito de níveis de inóculo de <i>Meloidogyne javanica</i> em combinação com <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> na severidade da murcha do feijoeiro 'IAPAR 14', pelos sintomas externos, 45 dias após a inoculação.....	51
3	Efeito de níveis de inóculo de <i>Meloidogyne javanica</i> em combinação com <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> na severidade da murcha do feijoeiro 'IAPAR 14', pela infecção vascular, 45 dias após a inoculação.....	51
4	Efeito de níveis de inóculo de <i>Meloidogyne javanica</i> em combinação com <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> no acúmulo de massa seca da parte aérea em feijoeiro 'IAPAR 14', 45 dias após a inoculação.....	54

LISTA DE TABELAS

	Página
1 Patogenicidade de isolados de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> em feijoeiro 'Rosinha' avaliada aos 28 dias após a inoculação.....	36
2 Reação de cultivares e linhagem de feijoeiro comum ao isolado Fop 4 de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Phaseoli</i> selecionado para o estudo, avaliada aos 28 dias após a inoculação.....	38
3 Efeito de métodos de inoculação de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> na severidade da murcha em feijoeiro 'IPA 6' em câmara climatizada mantida a 26°C.....	42
4 Efeito da temperatura e de dois níveis de inóculo de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Phaseoli</i> na severidade da murcha avaliada pelos sintomas externos (SE) em feijoeiro 'Rosinha' aos 30 dias após inoculação.....	43
5 Efeito da temperatura e do inóculo de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> na severidade da murcha em feijoeiro 'Rosinha' baseada na infecção vascular (IV) e recuperação do fungo <i>in vitro</i> (RF) aos 30 dias após a inoculação.....	44

6	Efeito de níveis de inóculo de <i>Meloidogyne javanica</i> na frequência de recuperação <i>in vitro</i> de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> aplicados conjuntamente em feijoeiro 'IAPAR 14'.....	53
7	Efeito de níveis de inóculo de <i>Meloidogyne javanica</i> na massa seca da parte aérea, em gramas, de feijoeiro 'IAPAR 14' inoculado conjuntamente com <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i>	53
8	Efeito de níveis de inóculo de <i>Meloidogyne javanica</i> no índice de massas de ovos (IMO) em inoculações simples ou combinadas com <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Phaseoli</i> aplicados em feijoeiro 'IAPAR 14'.....	54
9	Efeito da interação entre <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> (F) e <i>Meloidogyne incognita</i> (Mi) ou <i>M. javanica</i> (Mj) na severidade da murcha fusariana em feijoeiro comum baseada nos sintomas externos (SE).....	57
10	Efeito da interação entre <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> (F) e <i>Meloidogyne incognita</i> (Mi) ou <i>M. javanica</i> (Mj) na severidade da murcha fusariana em feijoeiro comum baseada na infecção vascular (IV).....	59
11	Recuperação <i>in vitro</i> de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>phaseoli</i> (RF) de plantas de feijoeiro comum inoculadas com o fungo (F) ou em combinação com <i>Meloidogyne incognita</i> (Mi) ou <i>M. javanica</i> (Mj).....	60

Página

12	Massa seca da parte aérea em gramas de feijoeiros inoculados com <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> (F) combinado ou não com <i>Meloidogyne incognita</i> raça 2 (Mi) 55 dias após a inoculação e respectivas reduções percentuais (R) em relação à testemunha.....	67
13	Massa seca da parte aérea em gramas de feijoeiros inoculados com <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> (F) combinado ou não com <i>Meloidogyne javanica</i> (Mj) 55 dias após a inoculação e respectivas reduções percentuais (R) em relação à testemunha.....	68
14	Efeito da interação entre <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> (F) e <i>Meloidogyne incognita</i> (Mi) ou <i>M. javanica</i> (Mj) no índice de massa de ovos (IMO) em cultivares de feijoeiro comum.....	72
15	Efeito da interação entre <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> (F) e <i>Meloidogyne incognita</i> (Mi) ou <i>M. javanica</i> (Mj) no fator de reprodução dos nematóides (FR) em cultivares de feijoeiro comum.....	73

LISTA DE QUADROS

	Página
1 Isolados de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> testados em feijoeiro comum 'Rosinha', em câmara climatizada com temperatura mantida a 26°C.....	19
2 Cultivares de feijoeiro comum usadas no ensaio de interação com <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> e <i>Meloidogyne incognita</i> raça 2 ou <i>M. javanica</i> com indicação das respectivas reações à murcha fusariana.....	30

**INTERAÇÕES ENTRE *Fusarium oxysporum* (Schlecht)
f. sp. *phaseoli* (Kendrick & Snyder) E *Meloidogyne
incognita* (Kofoid & White) Chitwood OU *M. javanica*
(Treub) Chitwood (Nemata: Tylenchoidea) EM
CULTIVARES DE FEIJOEIRO COMUM**

Autor: JOÃO PEDRO PIMENTEL

Orientador: Dr. LUIZ CARLOS C.B. FERRAZ

RESUMO

Estudaram-se diferentes aspectos das interações entre *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *Meloidogyne incognita* raça 2 ou *M. javanica* em feijoeiro. Em experimento em câmara de crescimento, a doença manifestou-se a 20, 24 e 28°C, mas com maior severidade nesta última. A avaliação da severidade da murcha fusariana mostrou-se mais precisa quando baseada no índice de infecção vascular, muitas vezes complementado pela recuperação do fungo *in vitro*; a aferição com base apenas nos sintomas externos exibidos pela planta, embora útil, não se mostrou segura. Em outro estudo, utilizando cultivar resistente ao fungo, verificou-se correlação positiva entre a severidade da doença e os níveis de inóculo do nematóide (0; 625; 1250; 2500; 5000 e 10000 J₂ de *M. javanica*/planta) empregados; com 625 J₂/planta, recuperou-se o fungo em 20% das plantas e, a partir de 2500 J₂/planta, a frequência foi de 100%.

Reduções significativas na massa seca da parte aérea das plantas foram observadas principalmente nas inoculações conjuntas do fungo e dos nematóides. Em casa de vegetação com temperatura controlada (20 a 29°C), num ensaio que incluiu as principais cultivares atualmente plantadas no país, verificou-se que, para a maioria dos materiais (IAPAR 14, Goiano Precoco, Jalo Precoco, Aporé, Pérola, Rudá, Rosinha G2, IAPAR 20, IAPAR 44 e FT Nobre), a combinação entre o fungo e cada uma das espécies de nematóide promoveu redução ou quebra da resistência ao fungo. Apenas na cultivar do Rio Tibagi a estabilidade da resistência foi mantida, mesmo na presença e com alta reprodução dos nematóides. Nas combinações fungo-nematóide, predominou a ação sinérgica entre os parceiros, mas houve caso de antagonismo.

**INTERACTIONS BETWEEN *Fusarium oxysporum*
(Schlecht) f. sp. *phaseoli* (Kendrick & Snyder) AND
Meloidogyne incognita (Kofoid & White) Chitwood OR
M. javanica (Treub) Chitwood (Nemata: Tylenchoidea)
ON COMMON BEAN CULTIVARS**

Author: JOÃO PEDRO PIMENTEL

Adviser: Dr. LUIZ CARLOS C.B. FERRAZ

SUMMARY

The effects of *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* and *Meloidogyne incognita* race 2 or *M. javanica* interactions on common bean cultivars were studied. In a trial carried out in a growth chamber, disease symptoms were reported at 20, 24 and 28°C, the most severe ones occurring at 28°C. Disease severity was more adequately assessed by evaluating the plant vascular infection and by fungus recovery *in vitro*; the evaluation based only on external symptoms proved to be useful but should not be used alone. In another trial, by including a fungus-resistant cultivar, a positive correlation between disease severity and nematode (*M. javanica*) inoculum level was observed; $P_i = 625 \text{ J}_2/\text{plant}$ allowed to fungus recovery in 20% of the plants while at $P_i = 2500$ levels or at higher ones a

100% frequency was achieved. Significant reductions in plant top dry weight values were observed mainly for the fungus-nematode combinations. In a greenhouse trial, with the temperature ranging from 20 to 29°C, and comprising the most important cultivars growing in Brazil, the combination fungus-nematode caused a reduction or breaking resistance to the fungus in most of the cultivars tested (IAPAR 14, Goiano Precoce, Jalo Precoce, Aporé, Pérola, Rudá, Rosinha G2, IAPAR 20, IAPAR 44 e FT Nobre). Only for 'Rio Tibagi' cultivars resistance to the fungus was not affected by the interaction with the root-knot nematode species, although high reproduction rates of these parasites occurred in the plant roots. Antagonism and synergism were observed for the fungus-nematode combinations, the latter one largely prevailing.

1 INTRODUÇÃO

O feijão figura entre os alimentos de maior importância para o povo brasileiro, constituindo-se na principal e mais barata fonte protéica da dieta alimentar, tanto para a população rural quanto para a urbana.

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de feijão, provavelmente devido à boa adaptação da cultura às mais diferentes condições edafoclimáticas do país, sendo cultivado em até três épocas em certas regiões, mas com médias de produtividade muito baixas. A inadequação das tecnologias empregadas, como também os problemas fitossanitários, incluindo-se entre estes, os devidos a organismos do solo, destacando-se os patógenos incitantes de doenças como a murcha ou amarelecimento de *Fusarium* e as nematoses, explicam em parte as produtividades obtidas .

A adoção de tecnologias, como a utilização de cultivares melhoradas e o plantio sob irrigação, tem possibilitado um incremento na produtividade e propiciado aos produtores brasileiros ganhos substanciais com a cultura.

Paralelamente ao verificado com o desenvolvimento da cultura, doenças como a murcha ou amarelecimento incitada pelo fungo *F. oxysporum* (Schlecht) f. sp. *phaseoli* Kendrick & Snyder, que se encontra disseminada nas principais regiões produtoras do Brasil, têm

aumentado de importância em função dos plantios consecutivos praticados nas áreas irrigadas. Da mesma forma, como têm ocorrido com certas doenças incitadas por fungos de solo, naquelas causadas pelos nematóides tanto a incidência quanto a severidade estão sendo agravadas, ainda que não existam levantamentos sistemáticos a respeito. Destacam-se, nesse particular, as galhas radiculares, incitadas por espécies do gênero *Meloidogyne*, referidas como nematóides das galhas radiculares.

A murcha fusariana do feijoeiro, pelas características biológicas de seu agente etiológico, é uma enfermidade de difícil controle e torna-se praticamente limitante à produção quando o potencial de inóculo é elevado e sua distribuição é uniforme na área, restando, nesses casos, o uso da resistência genética como única estratégia viável de controle.

Os nematóides fitoparasitos atuam isoladamente causando danos severos às culturas, podendo por vezes associar-se a outros organismos fitopatogênicos, como os fungos de solo, agindo sinergisticamente nas chamadas doenças complexas.

Quando espécies de *Meloidogyne* parasitam plantas hospedeiras provocam nestas profundas modificações tanto morfológicas quanto fisiológicas. Tais modificações podem levar inclusive à “quebra da resistência” de cultivares resistentes a um determinado patógeno. Entre esses patógenos, incluem-se as espécies de *Fusarium* causadoras de traqueomicoses.

Tendo em vista a importância da murcha ou amarelecimento de *Fusarium* e dos nematóides *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood e *M. javanica* (Treub) Chitwood para a cultura do feijoeiro comum, bem

como da possibilidade de atuação destes organismos em doenças complexas, este trabalho teve como objetivos:

- 1- Avaliar o efeito da temperatura na severidade da murcha em cultivar de feijoeiro suscetível ao fungo;
- 2- Avaliar o efeito da densidade do inóculo de *M. javanica* na severidade da murcha fusariana em cultivar de feijoeiro resistente ao fungo;
- 3- Determinar o efeito de cada espécie de nematóide, isoladamente e em conjunto com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, sobre cultivares comerciais de feijoeiro comum;
- 4- Avaliar os efeitos da infecção concomitante de *M. incognita* raça 2 ou *M. javanica* na expressão da resistência de variedades de feijoeiro à murcha fusariana.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância da cultura do feijoeiro

O feijão é uma das mais importantes fontes de proteínas na dieta da população brasileira. Está incluída entre as culturas agrícolas mais cultivadas no país. Devido à boa adaptação às mais variadas condições edafoclimáticas do Brasil, o feijoeiro faz parte da maioria dos sistemas produtivos tanto de pequenos quanto de médios produtores, sendo a produção direcionada ao consumo familiar e o excedente à comercialização (Yokoyama et al., 1996). Considerando todos os gêneros e espécies de feijão, o Brasil é o segundo maior produtor, ficando abaixo apenas da Índia; levando-se em conta apenas o gênero *Phaseolus*, é o maior produtor do mundo, seguido pelo México (FAO, 1993). Paradoxalmente, a produtividade média da cultura no Brasil é bastante baixa, estando em torno de 500 kg/há (Banno, 1994).

No final dos anos 70, verificou-se na região Centro Sul do Brasil mudanças radicais nos sistemas de produção da cultura, passando a mesma a ser desenvolvida em escala empresarial. Nos mais tecnificados, em que se empregam irrigação e variedades selecionadas resistentes a patógenos, essa média eleva-se, podendo ser alcançados 3000 kg/ha ou mais (Menezes, 1997).

A baixa produtividade média observada no Brasil pode ser atribuída a vários fatores, incluindo-se os problemas fitossanitários, destacando-se dentre estes os danos ocasionados por enfermidades como a murcha ou amarelecimento de *Fusarium* e as nematoses devidas a espécies do gênero *Meloidogyne*.

2.2 A murcha ou amarelecimento de *Fusarium*

Em 1929, Harter descreveu brevemente uma doença vascular em feijoeiro comum (*P. vulgaris* L.) ocorrendo no Vale de Sacramento, Califórnia, EUA. A doença foi observada na mesma região ainda em 1929 e novamente em 1933. Nessa ocasião, foi chamada de amarelecimento de *Fusarium* e ficou demonstrado que era transmitida pela semente (Kendrick, 1934).

Mais tarde, a enfermidade foi novamente detectada na Califórnia em duas grandes plantações de feijão, causando perdas estimadas em torno de 50% em uma delas (Kendrick & Snyder, 1942). Devido à variação na sintomatologia, além de amarelecimento de *Fusarium*, a enfermidade tem sido chamada também de “murcha”, “podridão seca” ou simplesmente “fusariose”. (Kendrick, 1934; Kendrick & Snyder, 1942; Armstrong & Armstrong, 1963 e Dongo & Müller, 1969).

No Brasil, a murcha fusariana foi detectada pela primeira vez ocorrendo na região de Laranjal Paulista em plantas de feijoeiro comum da cultivar Rosinha (Cardoso et al., 1966). Estes autores informaram que a incidência, em dois campos de cultivo com cerca de 4 ha cada, era de

50 e 100%. Logo depois, foi constatada a ocorrência da doença em feijão de vagem também da espécie *P. vulgaris* (Cardoso, 1967).

Piza (1993) afirmou que a murcha de *Fusarium* é encontrada em todas as regiões produtoras do Paraná. Ainda segundo esta autora, o plantio sucessivo do feijoeiro na mesma área tem provocado um aumento da incidência da doença em algumas regiões produtoras desse estado. Já Rava et al. (1996), citando diferentes autores, informaram que a ocorrência da murcha está relacionada com a distribuição da cultura do feijoeiro.

De acordo com Kendrick & Snyder (1942), a murcha ou amarelecimento de *Fusarium* tem como agente etiológico o fungo *F. oxysporum*, pertencente à família Tuberculariaceae. Esses autores demonstraram que o fungo apresenta especialização fisiológica, sendo patogênico para cultivares de feijoeiro da espécie *P. vulgaris*, mas não ao feijão lima (*P. limensis* Macf. var. *limenanus* Bailey), ao caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] ou à soja [*Glycine max* (L.) Merr.]. Com base nisso, propuseram a designação *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

A murcha fusariana do feijoeiro manifesta-se inicialmente pela perda da turgescência das folhas, sintoma que geralmente é acompanhado de amarelecimento. Em seguida, pode haver seca e queda progressiva das folhas, começando pelas mais velhas e seguindo em direção ascendente. Às vezes, pode ocorrer também nanismo e epinastia (Dongo & Müller, 1969). Secções longitudinais nas hastes das plantas afetadas revelam um escurecimento dos vasos, podendo variar de intensidade em função da reação da cultivar, severidade da infecção e condições ambientes. Quando a infecção se dá no estágio de plântula, há um desenvolvimento anormal e, quando adultas, as plantas tornam-se

raquíticas. No caso de plantas mais velhas severamente afetadas, pode ocorrer murcha e desfolha prematura (Abawi, 1989).

Duque & Müller (1969) demonstraram que, de 12 a 24 horas da inoculação, os esporos do fungo emitem um ou mais tubos germinativos, os quais crescem em direção às raízes ou ao hipocótilo, dependendo do local em que o inóculo é depositado. A penetração ocorre de 24 a 36 horas após a inoculação, através de ferimentos naturais ou artificiais. Mace et al. (1981) relataram que, após a penetração, o fungo move-se inter e intracelularmente até invadir os vasos do xilema. O micélio cresce dentro desses vasos produzindo esporos, os quais germinam e podem penetrar em células de vasos adjacentes. Em cultivares resistentes, há uma restrição ao desenvolvimento e progresso da doença, provavelmente devido a alterações químicas e/ou estruturais dos tecidos do hospedeiro, incluindo-se obstrução vascular por tampões de gel, tiloses, deposição de camadas adicionais nas paredes dos vasos e infusões com substâncias fenólicas e outros metabólitos (Duque & Müller, 1969; Mace et al., 1981).

Nos estádios finais da doença, o patógeno cresce na camada de tecido cortical, produzindo, nesse local, grande número de clamidósporos. Nas plantas mortas, em condições de alta umidade, o fungo pode emergir na superfície do tecido infectado, produzindo conídios e micélio de cor branca (Cardoso et al., 1966) ou rosada (Abawi, 1989). Estes sinais são mais freqüentes na região do hipocótilo.

A disseminação da enfermidade a longas distâncias dá-se por meio de sementes contaminadas (Kendrick, 1934). Entre lavouras próximas, ou dentro de uma mesma lavoura, a dispersão do patógeno acontecerá pela movimentação de solo infestado, fragmentos dos tecidos

do hospedeiro infectado e água de irrigação ou drenagem (Rava et al., 1996).

A murcha fusariana do feijoeiro tem aumentado de importância no Brasil Central, principalmente em áreas onde a cultura é praticada consecutivamente com irrigação por aspersão sob pivô central (Piza, 1993; Rava et al., 1996).

Estimativas das perdas no rendimento da cultura devidas a essa enfermidade têm sido pouco estudadas. Entretanto, sabe-se que os danos provocados são variáveis, havendo referências a 50% (Kendrick & Snyder, 1942), 80% (Echandi, 1967) ou até 100% de perdas (Cardoso et al., 1966). A extensão dos prejuízos dependerá de vários fatores tais como potencial de inóculo, manejo cultural e nível de resistência da cultivar, entre outros. Sendo uma doença de juro simples (Vanderplanck, 1963), a partir dos focos iniciais, após alguns anos de cultivo, dissemina-se por toda a área.

Tratando-se de um patógeno que sobrevive eficientemente no solo devido à produção de clamidósporos, seu controle torna-se bastante difícil e a erradicação praticamente impossível e antieconômica. As medidas mais eficazes são aquelas de caráter preventivo, evitando-se a introdução do patógeno em novas áreas de cultivo com resíduos de culturas infectadas, sementes infectadas, água de irrigação contaminada e partículas de solo aderidas aos equipamentos agrícolas (Abawi, 1989; Cardoso et al., 1996).

Sementes de boa qualidade, solos bem drenados e adequada fertilização promovem um bom desenvolvimento das plantas, contribuindo para que sofram menos com a doença (Cardoso et al., 1996).

O controle químico para essa enfermidade deve ser direcionado apenas ao tratamento de sementes, podendo ser útil ainda para o controle de outros patógenos do solo, e visa basicamente proteger as plântulas nos estágios iniciais de desenvolvimento (Cardoso et al., 1996).

A rotação de culturas também é uma medida recomendada, como sugerem os resultados do trabalho de Kendrick & Snyder (1942). O plantio de gramíneas por longos períodos é recomendado (Abawi, 1989).

Uma vez instalada na área, em função das características biológicas do patógeno, como a formação de clamidosporos, a medida mais eficaz de controle da enfermidade é o uso de cultivares resistentes. A esse respeito, Shands et al. (1964) afirmaram que a criação de cultivares com resistência ao patógeno é uma boa estratégia para o aumento da produtividade em países em desenvolvimento.

Nessa linha, Cruz et al. (1974) foram os primeiros pesquisadores no Brasil a demonstrar a resistência de cultivares de feijoeiro comum e de vagem, ambos da espécie *P. vulgaris*, à murcha fusariana.

A forma da herança da resistência do feijoeiro à murcha fusariana foi determinada por Ribeiro & Hagedorn (1979a), sendo que a resistência genética à chamada raça brasileira do patógeno é governada por um gene dominante designado Fop1, enquanto que para o patótipo europeu é governada por um com dominância incompleta chamado Fop 2. Esses mesmos autores efetuaram testes subseqüentes de resistência em cultivares comerciais de feijoeiro comum e em linhagens de *P. coccineus*, encontrando resistência em alguns materiais avaliados (Ribeiro & Hagedorn, 1979b).

Diversas pesquisas foram desenvolvidas nessa linha, tanto no Brasil quanto no exterior, visando fornecer subsídios aos trabalhos de melhoramento genético e proporcionar aos agricultores a indicação de variedades adequadas para o plantio em áreas contaminadas com o patógeno (Echandi, 1967; Dongo & Müller, 1969; Cruz et al., 1974; Pastor-Corrales & Abawi, 1987; Piza, 1993; Nascimento et al., 1995; Rava et al., 1996).

2.3 Nematóides das galhas radiculares em feijoeiro

O nome “nematóides das galhas radiculares” é a forma como são conhecidas vulgarmente as espécies do gênero *Meloidogyne*. Este gênero é considerado o mais importante dentre os nematóides fitoparasitos por apresentar ampla distribuição geográfica, pela polifagia de algumas espécies e pelos severos danos impostos a culturas de grande interesse econômico (Taylor & Sasser, 1978). Lordello (1964) afirmou que *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood e *M. javanica* (Treub) Chitwood figuram entre as espécies mais nocivas para a nossa agricultura, não sendo suplantadas em importância por nenhum outro agente de doença ou praga.

Entre as espécies do gênero *Meloidogyne*, merecem destaque *M. incognita* e *M. javanica*, que têm sido encontradas com freqüência atacando o feijoeiro em várias regiões produtoras do mundo (Lordello & Santos, 1960; Lordello, 1964; Ngundo & Taylor, 1974; López, 1980; Abawi, 1989).

O primeiro relato de nematóides fitoparasitos atacando *P. vulgaris* no Brasil foi publicado por Carvalho (1955), que observou a presença de *M. incognita* em raízes de feijoeiro e outras plantas no estado de São Paulo. Desde então, tem sido noticiada a ocorrência de *M. incognita* ou *M. javanica* nessa cultura em outros estados do Brasil (Lordello & Santos, 1960; Lordello & Mello, 1970; Freire & Ferraz, 1977; Menten et al., 1980).

A partir do final da década de 70, com o plantio do feijão irrigado por aspersão sob pivô central, a cultura passou a representar uma excelente alternativa para o agricultor. Da mesma forma que a nova tecnologia proporcionou a obtenção de produtividades nunca alcançadas, concorreu também para o agravamento de problemas fitossanitários antes negligenciados, entre os quais os nematóides das galhas radiculares. De fato, tem sido freqüente o aparecimento de nematóides das galhas em feijoeiro irrigado já no primeiro ano do plantio em várias áreas recém derrubadas de cerrado no Brasil Central, e os problemas tendem a se agravar nos plantios seguintes, podendo inclusive inviabilizar a cultura na área. Lordello & Santos (1960) e Menten et al. (1980), já haviam mencionado o aparecimento desses nematóides em áreas recém derrubadas e plantadas com feijão no Estado de São Paulo.

Inventários dos danos causados por espécies de *Meloidogyne* ao feijoeiro são escassos. Normalmente não chegam a causar a morte das plantas hospedeiras pela ação parasitária; podem, no entanto, ocasionar maior ou menor redução na produção, dependendo do grau de infecção (Vieira, 1960). Além do nível populacional, outros fatores são importantes, incluindo-se o equilíbrio hídrico e nutricional da planta e

características do solo como textura, composição da microfauna e microflora.

Lordello & Mello (1970) destacaram *M. incognita* como um dos responsáveis pelo fraco desenvolvimento vegetativo de plantas de feijoeiro e possíveis causas do declínio da cultura no estado do Paraná.

De acordo com Ngundo & Taylor (1974), os nematóides das galhas radiculares, *M. javanica* e *M. incognita*, são responsáveis por severas reduções na produção do feijoeiro no Quênia, África.

Segundo Lordello (1976), as perdas em feijoeiro no Brasil causadas pelo gênero *Meloidogyne* atingem 5%, podendo chegar a 10% quando se incluem outros nematóides.

Freire & Ferraz (1977), sob condições de casa de vegetação, obtiveram reduções em torno de 65% no número de vagens e peso de sementes por planta na cultivar Rico 23, em razão do parasitismo de *M. javanica* ou *M. incognita*.

López (1980) estudou a suscetibilidade comparativa de dez cultivares de feijoeiro comum ao ataque de *M. incognita* na Costa Rica. Verificou, aos 60 dias após a inoculação com 10000 ovos por planta, diferenças significativas entre as cultivares na massa fresca das partes aéreas, das vagens e das raízes.

Sharma (1982), estudando a patogenicidade de *M. javanica* ao feijoeiro, cultivar Roxinho, mostrou que há uma redução significativa na massa seca da parte aérea e massa fresca das raízes quando as plantas são inoculadas individualmente com 1000 ovos ou mais.

Sharma & Guazelli (1982) afirmaram que os nematóides das galhas radiculares, *M. incognita* e *M. javanica*, representam um dos mais graves problemas para a produção do feijoeiro em regiões de cerrado no

Brasil. Os dados desses autores indicaram, geralmente, uma acentuada redução percentual nas variáveis massa seca da parte aérea, número de vagens e altura de plantas inoculadas em relação às não inoculadas.

De acordo com Melakeberham et al. (1987), *M. incognita* interfere em processos fisiológicos do feijoeiro, sendo a mudança na concentração de nutrientes um dos primeiros efeitos observados. Ainda de acordo com esses autores, alterações na fotossíntese devem ser a principal causa da redução na produção.

2.4 Doenças complexas envolvendo nematóides e fungos

De acordo com Mai & Abawi (1987), em condições naturais, as raízes das plantas são constantemente expostas a diversos microrganismos do solo. Dessa forma, raramente estão sujeitas ao ataque de um único agente patogênico; tal assertiva já havia sido mencionada por outros autores (Fawcett, 1931; Powell, 1971).

A grande diversidade de organismos do solo, incluindo microrganismos e nematóides, possibilita o surgimento de muitas interações na zona das raízes. Assim, vários pesquisadores têm concluído que muitas doenças radiculares têm etiologia complexa (Mai & Abawi, 1987). De fato, a atuação conjunta de dois ou mais patógenos pode resultar em efeito aditivo ou sinérgico no hospedeiro, originando as chamadas doenças complexas (Powell & Nusbaum, 1960; Powell, 1963; Pitcher, 1965; Powell, 1971).

A participação de nematóides em doenças complexas com fungos e outros patógenos tem sido amplamente revisada (Powell, 1963; Pitcher, 1965; Powell, 1971).

Entre os nematóides fitoparasitos envolvidos em doenças com outros patógenos, destacam-se os endoparasitos sedentários e, dentre estes, as espécies de *Meloidogyne* são as mais pesquisadas (Powell, 1971).

Provavelmente, Atkinson, em 1892, citado por vários autores como Powell (1971) e Mai & Abawi (1987), entre outros, tenha sido um dos primeiros pesquisadores a noticiar uma doença complexa envolvendo um nematóide de galha e um fungo de solo em algodoeiro.

Bookbinder & Bloom (1980) verificaram efeitos aditivos entre *M. incognita* e *Uromyces phaseoli* em feijoeiro quando os patógenos atuaram em conjunto, afetando significativamente a massa seca da parte aérea das plantas. A reprodução dos dois patógenos também foi alterada quando presentes na mesma planta.

Interações envolvendo formas de *Fusarium* causadoras de murcha e espécies de *Meloidogyne* têm sido as combinações de fungos e nematóides mais estudadas (Powell, 1971). Os nematóides das galhas radiculares induzem profundas modificações na estrutura e função dos tecidos de vasos do xilema, nos quais estabelecem os sítios de alimentação. Essas alterações têm sido associadas a um aumento tanto na incidência quanto na severidade da murcha fusariana em um grande número de hospedeiras (Powell, 1971; Hilloks & Marley, 1995).

Um dos mais dramáticos efeitos da interação entre *Fusarium* causador de murcha e nematóide causador de galha é a “quebra da

resistência” de cultivares normalmente resistentes ao fungo isoladamente. Este fenômeno tem sido chamado de predisposição (Powell, 1971).

Bowman & Bloom (1966) verificaram a “quebra da resistência” à murcha fusariana em variedades de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.), quando as plantas eram inoculadas com o nematóide duas semanas antes de o ser com o fungo. Goode & Mcguire (1967) também verificaram “quebra da resistência” nessa mesma planta na variedade Bradely, resistente à raça 2 de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, quando as plantas estavam em presença do fungo e de *M. incognita*.

Bergeson et al. (1970) verificaram um aumento de propágulos de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* na rizosfera de tomate infectado com *M. javanica*. Os resultados mostraram ainda que a infecção combinada propiciou um aumento de crescimento do fungo nas raízes.

Newhall (1958), estudando a incidência do mal do Panamá na presença de *Meloidogyne* sp. e *Radopholus similis*, (Cobb) Thorne verificou que 100% de plantas de bananeira da cultivar Gros Michel tornavam-se doentes quando *R. similis* era adicionado ao solo, enquanto que a adição de *Meloidogyne* não causava aumento significativo da doença em igual período.

Mesmo não interferindo na especificidade patogênica de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* em feijoeiro cv. Gordo e melancia cv. Charleston Gray, *M. incognita* interagiu com o fungo produzindo doença do tipo complexa (Assunção & Moura, 1982).

Sharma & Cerkauskas (1985), estudando a interação entre *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* e *M. javanica* em grão-de-bico, verificaram que os danos causados à planta, pela associação do nematóide com o fungo,

foram maiores quando comparados aos devidos a cada organismo separadamente. Verificaram, ainda, que havia uma maior severidade da doença, medida pelo índice de descoloração vascular e pela recuperação do fungo, quando as plantas foram inoculadas conjuntamente com os dois patógenos.

Maheshwari et al. (1995), estudando a co-infecção de *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* e *M. javanica* em genótipos de grão-de-bico, verificaram que todos os genótipos testados foram susceptíveis ao nematóide. Quando analisaram o comportamento das cultivares resistentes ao fungo, verificaram que havia “quebra da resistência” em um genótipo, redução da resistência em outros quatro e que em outros 48 não houve alteração.

Segundo Singh et al. (1981), ocorre um aumento da severidade da murcha fusariana do feijoeiro quando as plantas são inoculadas simultaneamente com o fungo e *M. incognita* ou quando são inoculadas com o nematóide pelo menos duas semanas antes do fungo.

A interação *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *M. javanica* foi também estudada (Ribeiro, 1982; Ribeiro & Ferraz, 1984) tendo sido verificado aumento da severidade da murcha em cultivares de feijoeiro comum.

France & Abawi (1994) verificaram “quebra da resistência” à murcha fusariana em cultivar de feijoeiro resistente quando as plantas foram inoculadas com *M. incognita* duas semanas antes do fungo. Por outro lado, verificaram que um dos genótipos testados, resistente a ambos os patógenos, mantinha a estabilidade da resistência ao fungo, havendo quebra desta quando as plantas foram incubadas à 27°C por duas semanas após a inoculação.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Seleção do isolado de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* para os estudos de interação com *Meloidogyne incognita* raça 2 ou *M. javanica* em feijoeiro comum

Para seleção do isolado do fungo que seria usado posteriormente nos diferentes experimentos foram testados sete (Quadro 1), buscando-se o mais agressivo. Culturas puras desses isolados foram mantidas em tubos de ensaio contendo substrato formado por uma mistura de solo mais esterco na proporção de 1:1, modificado de Cardoso (1967), e acondicionados em geladeira à temperatura aproximada de 13°C até o momento da utilização.

Para o preparo do inóculo, pequenas porções do substrato dos diferentes isolados foram transferidas, separadas e assepticamente, para meio B.D.A. em placas de Petri e incubadas à 24°C por quatro dias. Após isto, foram retirados discos de cinco milímetros de diâmetro das colônias desenvolvidas e colocados em frascos erlenmeyers contendo 100 ml de meio B.D., sendo, a seguir, incubados à temperatura de 26°C sob agitação constante, por quatro dias. Tais procedimentos são semelhantes aos de Ribeiro & Hagdorn (1979 a), apenas que, no presente trabalho, o período de incubação foi estendido de três para quatro dias.

Após o crescimento dos fungos, procedeu-se ao preparo dos inóculos. Para tanto, os conteúdos dos erlenmeyers de cada isolado foram filtrados separadamente com auxílio de gaze e em seguida centrifugados a 5000 rpm por dez minutos. O sedimentado formado foi ressuspenso em água destilada e esterilizada, e a suspensão de esporos quantificada com o auxílio de um hemacitômetro. A concentração final da suspensão conidial, para cada isolado, foi ajustada em 10^6 esporos. ml^{-1} .

Sementes de feijão 'Rosinha', sabidamente suscetível ao patógeno (Pastor-Corrales & Abawi, 1987), foram semeadas em caixas de sementeiras contendo areia lavada esterilizada. Após isto, foram mantidas em casa de vegetação. Sete dias a contar da semeadura, já completada a emergência, as plântulas com as folhas primárias 1/3 expandidas foram arrancadas cuidadosamente e tiveram suas raízes lavadas em água corrente e cortadas uniformemente em seus terços distais. Finalmente, procedeu-se à inoculação mergulhando-se as raízes nos inóculos por dez minutos, conforme método de Costa et al. (1989), separadamente para cada isolado do patógeno.

Efetuada a inoculação, as plântulas foram transplantadas em número de quatro para vasos de alumínio de 1,5 litros de capacidade contendo uma mistura autoclavada de solo, areia e esterco na proporção de 2 : 2 : 1; cada recipiente constituiu-se numa parcela experimental e cada um dos tratamentos, representados pelos isolados do fungo, foi repetido quatro vezes, em delineamento inteiramente casualizado. Plantas preparadas como descrito, porém com as raízes mergulhadas em água esterilizada, serviram como testemunhas.

O experimento foi conduzido em laboratório do Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

(ESALQ), Universidade de São Paulo (USP) em câmara com temperatura mantida a 26°C e fotoperíodo programado para 14 horas de luz e 10 de escuro. Aos 28 dias, a contar da inoculação, as plantas foram avaliadas para severidade da doença (SD) pelos sintomas externos (SE), segundo o critério do CIAT (1987), que consiste na atribuição de notas baseadas na seguinte escala: 1- plantas sem sintomas; 3- poucas folhas murchas (1 a 3 que representam até 10% da folhagem), sintoma acompanhado de descoloração vascular limitada dos tecidos radiculares e do hipocótilo; 5- aproximadamente 25% das folhas apresentando murcha e clorose; 7- aproximadamente 50% de folhas e hastes murchas, clorose e necrose limitada e às vezes nanismo; e 9- aproximadamente 75% das folhas e hastes apresentam murcha, nanismo severo, necrose e desfolha prematura, que frequentemente levam à morte da planta.

Quadro 1. Isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* testados em feijoeiro comum 'Rosinha', em câmara climatizada com temperatura mantida a 26°C.

Isolado	Procedência/ Instituição	Número de Registro
FOP 1	IAPAR – Fitopatologia	9.837
FOP 2	IAPAR – Fitopatologia	9.891
FOP 3	IAPAR – Fitopatologia	10.005
FOP 4	UNESP/Botucatu Departamento Defesa Fitossanitária	1.678
FOP 5	Plantas de feijão, Goiânia- GO	FITO 1- ESALQ/USP
FOP 6	Sementes de feijão 'Carioca', Itapeva- SP	FITO 2- ESALQ/USP
FOP 7	Sementes de feijão 'Carioca', Paranapanema- SP	FITO 3- ESALQ/USP

3.2 Seleção de cultivares para os estudos de interação entre *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *Meloidogyne incognita* raça 2 ou *M. javanica* em feijoeiro

Avaliaram-se 15 genótipos (14 cultivares comerciais e uma linhagem) de feijoeiro comum em relação à murcha fusariana. O preparo das plantas, o método de inoculação, a avaliação, bem como o local de condução do ensaio foram idênticos ao descrito no item 3.1. O isolado utilizado foi o FOP 4, escolhido no ensaio para seleção de isolados (item 3.1).

As cultivares que receberam notas médias de severidade de doença (SD) de 1,0-3,0; 3,1-6,0 e 6,1-9,0 foram consideradas respectivamente resistentes, intermediárias e suscetíveis à murcha fusariana, como proposto por Pastor-Corrales & Abawi (1987).

As cultivares testadas, agrupadas pela cor da sementes segundo CIAT (1987), foram as seguintes: grupos diversos creme-bege, IAC Carioca, Aporé, IAPAR 31 e IAPAR 14; grupo rosado, Rosinha; grupo roxo, RAB 60 e Roxo 90; grupo amarelo, Goiano Precoce e Jalo Precoce; grupo preto, A 211, FT Tarumã, Rio Tibagi, IAPAR 44, Capixaba Precoce e Ouro Negro.

3.3 Seleção do método de inoculação das plantas com o fungo para os estudos de interação com os nematóides

Objetivando selecionar um método exeqüível para os estudos de interação com os nematóides, que melhor simulasse as condições de

campo, foi montado um experimento num delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2 (dois métodos de inoculação e dois volumes de inóculo) com quatro repetições, sendo a parcela experimental constituída de um vaso com quatro plantas.

Foram utilizados vasos de 1,5 litros de capacidade contendo substrato autoclavado constituído da mistura terra, areia e esterco curtido na proporção 2:2:1. Sementes de feijão 'IPA 6', suscetível ao fungo (Nascimento et al., 1995), foram semeadas em quatro pontos nos vasos, colocando-se duas por local e efetuando-se a irrigação em seguida. Após sete dias, completada a emergência, fez-se o desbaste deixando-se uma planta por ponto.

Utilizando-se o isolado FOP 4, procedeu-se ao preparo do inóculo como descrito anteriormente (item 3.1), sendo que para este experimento a concentração foi aferida para 3×10^6 esporos. ml^{-1} . As inoculações foram realizadas dez dias a contar da semeadura, estabelecendo-se os seguintes tratamentos:

- b) Plantas irrigadas individualmente ao redor do colo com 10 ml de uma suspensão conidial contendo 3×10^6 esporos. ml^{-1} ;
- c) Plantas irrigadas individualmente ao redor do colo com 20 ml de uma suspensão contendo 3×10^6 esporos. ml^{-1} ;
- d) Plantas com sistema radicular ferido e irrigadas individualmente ao redor do colo com 10 ml de uma suspensão contendo 3×10^6 esporos. ml^{-1} ;
- e) Plantas com sistema radicular ferido e irrigadas individualmente ao redor do colo com 20 ml de uma suspensão contendo 3×10^6 esporos. ml^{-1} .

Quatro vasos como os descritos anteriormente, cujas plantas tiveram as raízes feridas, foram irrigadas individualmente ao redor do colo com 20 ml de água esterilizada, serviram como testemunhas. Os ferimentos nos sistemas radiculares das plântulas citados, foram produzidos pela inserção de uma espátula metálica até 8 cm de profundidade no solo em sentido vertical, de modo a formar um quadrado em torno do colo, a cerca de 3 cm deste. Em todos os tratamentos, logo após a inoculação, cobriu-se o local com substrato.

O local do ensaio e o método de avaliação da severidade da doença foram os mesmos do item 3.1.

3.4 Efeito de dois níveis de inóculo de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e da temperatura na severidade da murcha

Visando a conhecer a faixa de temperatura que poderia ser admitida nos estudos de interação envolvendo o fungo e os nematóides e dirimir dúvidas a respeito da temperatura ideal para o desenvolvimento da murcha fusariana, foi realizado um experimento em câmaras de crescimento marca Conviron modelo E-7 do Departamento de Fitopatologia da ESALQ/USP.

Plantas de feijão 'Rosinha' foram preparadas e inoculadas como descrito no item 3.1. Entretanto, neste ensaio, o inóculo preparado com o isolado FOP 4 foi calibrado para as concentrações finais de 10^4 e 10^6 esporos. ml^{-1} . Imediatamente após a inoculação, efetuou-se o transplante de duas plantas para cada vaso com 1,5 litros de substrato autoclavado, contendo uma mistura de terra, areia e esterco curtido na

proporção 2:2:1. Após esta última operação, os vasos foram colocados nas câmaras com temperatura calibrada para 20°C, 24°C, e 28°C, respectivamente. As temperaturas se referem às diurnas, já que as noturnas foram sempre 1°C mais baixas. As câmaras foram ajustadas para manter um fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 de escuro. Para cada combinação temperatura/dose de inóculo, que correspondiam às parcelas, foram preparados seis vasos. Em cada câmara, foram mantidos seis vasos com plantas tratadas apenas com água, que serviram como testemunhas. O experimento foi delineado no modelo inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x3 (três temperaturas, dois níveis de inóculo e uma testemunha para cada câmara).

As avaliações foram feitas 30 dias após a inoculação pela escala do CIAT, mencionada no item 3.1. Determinou-se o grau de infecção vascular (IV), usando-se a seguinte escala de notas: 1- plantas com ausência de necrose vascular ao nível do colo; 3- plantas com presença de necrose vascular ao nível do colo; 5- plantas com necrose vascular acima do primeiro nó; 7- plantas com necrose vascular acima do segundo nó; 9- plantas com necrose vascular acima do terceiro nó .

No dia da avaliação, foram coletados três segmentos do caule de cada planta, entre o primeiro e o segundo nó, e colocados em tubos de polipropileno ("Eppendorff") para posterior isolamento do patógeno. As tentativas de isolamento foram feitas pelo método de implantação de tecido em placas de Petri contendo meio de cultura B.D.A. acrescido de antibiótico (penicilina). Antes do plaqueamento, as amostras foram desinfestadas pela passagem em solução aquosa de hipoclorito de sódio (água sanitária marca Candura) na proporção 1:1 V/V, por 5 segundos, seguido de dois enxágües em água destilada esterilizada. As

placas foram mantidas por quatro dias em estufa com temperatura controlada à 26°C. Após isto, efetuou-se a avaliação do crescimento do fungo pelas características das colônias. Os resultados foram computados pelos sinais: “+” para presença ou “-” para ausência de crescimento.

3.5 Obtenção e preparo dos inóculos dos nematóides

3.5.1 Obtenção de culturas monoespecíficas de *M. incognita* raça 2 e *M. javanica*

A população original de *M. incognita* raça 2 utilizada foi obtida junto ao Setor de Nematologia do Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), enquanto que a de *M. javanica* pertencia à coleção do Departamento de Zoologia da ESALQ/USP, sendo que ambas vinham sendo mantidas sobre tomateiro ‘Rutgers’.

Para a obtenção de culturas monoespecíficas de cada espécie, massas de ovos foram colocadas, individualmente, ao lado do sistema radicular de plantas de tomateiro ‘Rutgers’ com aproximadamente 3 semanas de idade, crescidas em recipientes plásticos contendo 250 ml de uma mistura autoclavada de solo e areia na proporção 1:1. A seguir, foram mantidas em casa de vegetação com temperatura mínima de 18°C e máxima de 29°C por cerca de 6 semanas.

Para a confirmação da identidade das espécies, foram preparados cortes perineais de fêmeas adultas e examinados ao microscópio (Hartman & Sasser, 1985). A identificação da raça de *M.*

incognita foi feita conforme Taylor & Sasser (1978), empregando-se hospedeiros diferenciais padronizados.

3.5.2 Multiplicação e preparo do inóculo

Os inóculos de *M. incognita* raça 2 e *M. javanica*, para os estudos de interação com o fungo, foram constituídos por juvenis de segundo estágio (J₂). Para a obtenção destes, extraíram-se ovos de raízes de tomateiros 'Rutgers' infectados, conforme o método de Hussey & Barker (1973), modificado por Bonetti & Ferraz (1981).

Os ovos recém coletados foram colocados para incubar em B.O.D. à 28°C, mediante adaptação do método do funil de Baermann para recipiente raso (Hooper, 1986). A cada 24 horas, os J₂ eclodidos eram recolhidos e transferidos para uma suspensão aquosa mantida em B.O.D. à 16°C; após isto, a água do recipiente era substituída. Este processo foi repetido durante seis a sete dias consecutivos.

A calibração do inóculo foi realizada em lâmina de contagem de Peters, sob microscópio. A concentração final foi estabelecida e aferida em função do objetivo de cada experimento.

4 Estudos da interação entre *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *M. javanica* ou *M. incognita* em feijoeiro comum

4.1 Efeito de níveis de inóculo de *M. javanica* associado ou não a *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, em cultivar de feijoeiro suscetível ao nematóide e resistente ao fungo

Sementes de feijão da cultivar IAPAR 14, resistente a *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e com indicação de suscetibilidade a *M. javanica*, em ensaios preliminares não incluídas neste trabalho, foram acondicionadas em rolos de papel tipo “germitest” umedecido, mantidos à 25°C por 48 horas. Em seguida, com as raízes primárias já em desenvolvimento, foram selecionadas e transplantadas individualmente para recipiente de plástico contendo um litro de um substrato esterilizado com brometo de metila (150 cc/m³) constituído de uma mistura de terra, areia e serapilheira na proporção 2:2:1. O transplante foi efetuado logo após a irrigação do substrato, com a umidade mantida em torno de 70% da capacidade de campo (C.c.). Quando as plantas completaram a emergência (cinco dias a contar do transplante), foram novamente selecionadas e inoculadas.

Tanto o preparo do inóculo do nematóide quanto a sua calibração, foram realizados de acordo com os procedimentos descritos no item 3.5.2, sendo que as doses foram ajustadas para zero; 625; 1250; 2500; 5000 e 10000 juvenis/planta.

Usando-se o isolado FOP 4 do fungo, realizou-se o preparo do inóculo segundo os procedimentos mencionados no item 3.1, sendo que a concentração final foi aferida para 3x10⁶ esporos.ml⁻¹.

O experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação, no Departamento de Zoologia ESALQ/USP, com temperatura variando entre 14 e 26°C; o desenho experimental foi inteiramente casualizado com 5 repetições em arranjo fatorial 6 x 2 (seis níveis de inóculo do nematóide com ausência ou presença do fungo). As plantas, com 8 dias de idade, receberam os seguintes tratamentos:

- a) Plantas com ferimentos nas raízes recebendo 20 ml de água;
- b) Plantas com ferimentos nas raízes recebendo 20 ml de uma suspensão conidial de 3×10^6 esporos.ml⁻¹;
- c) Plantas sem ferimentos nas raízes recebendo 625 J₂ de *M. javanica*;
- d) Plantas sem ferimentos nas raízes recebendo 1250 J₂ de *M. javanica*;
- e) Plantas sem ferimentos nas raízes recebendo 2500 J₂ de *M. javanica*;
- f) Plantas sem ferimentos nas raízes recebendo 5000 J₂ de *M. javanica*;
- g) Plantas sem ferimentos nas raízes recebendo 10000 J₂ de *M. javanica*;
- h) Plantas sem ferimentos nas raízes recebendo 625 J₂ de *M. javanica* + 20ml da suspensão conidial de 3×10^6 esporos.ml⁻¹;
- i) Plantas sem ferimentos nas raízes recebendo 1250 J₂ de *M. javanica* + 20ml da suspensão conidial de 3×10^6 esporos.ml⁻¹;
- j) Plantas sem ferimentos nas raízes recebendo 2500 J₂ de *M. javanica* + 20ml da suspensão conidial de 3×10^6 esporos.ml⁻¹;
- k) Plantas sem ferimentos nas raízes recebendo 5000 J₂ de *M. javanica* + 20ml da suspensão conidial de 3×10^6 esporos.ml⁻¹;
- l) Plantas sem ferimentos nas raízes recebendo 10000 J₂ de *M. javanica* + 20ml da suspensão conidial de 3×10^6 esporos.ml⁻¹.

Os ferimentos aqui referidos foram produzidos como descrito no item 3.3. As inoculações das plantas foram efetuadas despejando-se a

suspensão do fungo ao redor do colo das plântulas com o auxílio de uma pipeta automática. O inóculo do nematóide foi aplicado imediatamente após o do fungo, vertendo-se a suspensão com os J₂ em quatro orifícios de 3 cm de profundidade abertos em cada quadrante ao redor do colo das plântulas e afastados 3 cm deste.

Após 45 dias, a contar da inoculação, foi feita a avaliação do experimento baseada nas seguintes variáveis: 1- severidade da doença pelos sintomas externos (SE); 2- infecção vascular (IV); 3- recuperação do fungo *in vitro* (RF); 4- massa seca da parte aérea (MSPA); 5- índice de massa de ovos (IMO).

A incidência da murcha foi computada pelo número de plantas com os sintomas da doença; já a severidade foi determinada pelas escalas de notas mencionadas nos itens 3.1 (sintomas externos) e 3.4.(infecção vascular).

Das parcelas que receberam fungo, isoladamente ou associado ao nematóide, foram coletadas amostras para a recuperação do fungo *in vitro* (RF), que foram processadas e avaliadas conforme descrito no item 3.4.

As plantas foram cortadas ao nível do solo e as suas partes aéreas foram colocadas em sacos de papel e mantidas em estufa de secagem com ventilação forçada à 70°C até valor constante. Em balança eletrônica, foram determinadas as massas secas da parte aérea (MSPA).

Nos tratamentos com nematóides, com ou sem o fungo, os sistemas radiculares foram tratados com Floxina B a 0,15% por 20 minutos, determinando-se em seguida por contagem sob lupa os índices de massas de ovos segundo Taylor & Sasser (1978).

4.2 Interação entre *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *M. incognita* raça 2 ou *M. javanica* em cultivares comerciais de feijoeiro comum

Visando estudar o efeito de *M. incognita* raça 2 ou *M. javanica*, isoladamente ou em associação com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* em feijoeiro comum, foi conduzido um experimento em casa de vegetação no Departamento de Zoologia da ESALQ/USP, com temperatura mantida entre 20 e 29°C. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 11x6 (onze cultivares e seis tratamentos) com cinco repetições, sendo cada parcela experimental constituída de um vaso com duas plantas cada.

As cultivares utilizadas neste estudo estão incluídas no Quadro 2, tendo sido algumas delas selecionadas no teste de resistência listadas no item 3.2. Representam os grupos de maior interesse comercial para o mercado brasileiro de feijão comum e apresentam diferentes reações à murcha fusariana. Incluíram-se, ainda, outras de lançamento recente e de grande potencial produtivo.

Quadro 2. Cultivares de feijoeiro comum usadas no ensaio de interação com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *Meloidogyne incognita* raça 2 ou *M. javanica*, com indicação das respectivas reações à murcha fusariana.

Cultivar	Grupo ³	Reação à Murcha	Fonte
IAPAR- 14	Creme/bege	R	Nascimento et al., 1995; Pimentel & Ferraz (não publicado)
Goiâno Precoce	Amarelo	R	Nascimento et al., 1995 ;Pimentel & Ferraz (não publicado)
Jalo Precoce	Amarelo	R	Nascimento et al., 1995; Pimentel & Ferraz (não publicado)
Aporé	Creme/bege	I	Rava et al., 1996; Pimentel & Ferraz (não publicado)
Pérola	Creme/bege	I	Rava et al., 1996
Rudá	Creme/bege	I	Rava et al., 1996
Rosinha G2	Rosado	S	Rava et al., 1996
IAPAR 20	Preto	R	Nascimento et al., 1995
IAPAR 44	Preto	R	Nascimento et al., 1995 ;Pimentel & Ferraz (não publicado)
FT-Nobre	Preto	nv	
Rio Tibagi	Preto	R	Nascimento et al., 1995; Pimentel & Ferraz (não publicado)

¹R- Resistente; I- Intermediária; S- Suscetível.

²nv- Reação não verificada.

³Baseado na cor das sementes conforme CIAT (1987).

4.2.1 Preparo das plantas para a inoculação

Sementes das 11 cultivares foram submersas em água de torneira por três minutos e, a seguir, em solução aquosa de hipoclorito de sódio (água sanitária, marca Candura) na proporção 1:1 V/V, por três minutos. Após vários enxágües em água de torneira, foram postas para secar e, a seguir, distribuídas em rolos de papel tipo “germitest”. Os rolos foram colocados em germinador com temperatura constante de 25°C por dois dias.

As sementes com as raízes primárias em desenvolvimento foram selecionadas e transplantadas, em número de duas, para vasos de plástico contendo 2 kg de um substrato, constituído de uma mistura de terra, areia e serapilheira na proporção 2:2:1, previamente esterilizado com brometo de metila (150 cc/m³).

Seis dias após o transplante, as plântulas com os folíolos primários 1/3 expandidos foram novamente selecionadas e inoculadas.

4.2.2 Preparo do inóculo do fungo

O preparo do inóculo do fungo com o isolado FOP 4 foi feito de acordo com o item 3.1. A concentração final da suspensão inoculante foi calibrada com o auxílio de um hemacitômetro, ajustando-se para 3x10⁶ esporos.ml⁻¹.

4.2.3 Preparo dos inóculos dos nematóides

Os inóculos, suspensões de juvenis de segundo estágio (J_2) de *M. incognita* raça 2 (Mi) ou *M. javanica* (Mj), foram preparados a partir de populações puras mantidas, multiplicadas e preparadas conforme descrito no item 3.5.2. As suspensões foram aferidas em lâmina de contagem de Peters, sob microscópio, para uma concentração final de $1250 J_2.ml^{-1}$.

4.2.4 Inoculações

As plântulas receberam os seguintes tratamentos:

- 0 - Plantas com as raízes feridas e inoculadas com 20 ml de água;
- 1 - Plantas com as raízes feridas e inoculadas com 20 ml de uma suspensão com 3×10^6 esporos. ml^{-1} ;
- 2 - Plantas inoculadas com 4 ml de uma suspensão contendo $1250 J_2$ de Mi. ml^{-1} ;
- 3 - Plantas inoculadas com 4 ml de uma suspensão contendo $1250 J_2$ de Mj. ml^{-1} ;
- 4 - Plântulas inoculadas com 20 ml de uma suspensão de concentração 3×10^6 esporos. ml^{-1} , seguida de 4 ml de uma suspensão contendo $1250 J_2$ de Mi. ml^{-1} ;
- 5 - Plântulas inoculadas com 20 ml de uma suspensão de concentração 3×10^6 esporos. ml^{-1} , seguida de 4 ml de uma suspensão contendo $1250 J_2$ de Mj. ml^{-1} .

A inoculação do fungo foi efetuada de acordo com o item 3.3, enquanto que para os nematóides, verteu-se 1 ml de inóculo em quatro orifícios de 2 cm de profundidade abertos ao redor do colo das plântulas e afastados 3 cm deste.

4.2.5 Avaliação

Após 55 dias, a contar da inoculação, foi feita a avaliação do experimento baseada nas seguintes variáveis: 1- severidade da doença pelos sintomas externos (SE); 2- infecção vascular (IV); 3- recuperação do fungo *in vitro* (RF); 4- massa seca da parte aérea (MSPA); 5- índice de massa de ovos (IMO) e 6- fator de reprodução dos nematóides (FR).

As plantas dos tratamentos que receberam fungo, com ou sem nematóide, foram avaliadas para SD pela escala descrita no item 3.1. Dessas mesmas plantas, foram coletadas amostras para tentativa de isolamento do patógeno para obtenção de dados referentes à variável RF, que foram processadas e avaliadas como descrito no item 3.4. Em cortes longitudinais do caule e observação destes sob microscópio estereoscópico, obtiveram-se os valores de IV, pela escala de notas de acordo com o item 3.4.

Para determinação da massa seca da parte aérea (MSPA), as plantas foram cortadas ao nível do solo e os órgãos aéreos acondicionados em sacos de papel, e postos em estufa de secagem à 70 °C com ventilação forçada até valor constante. Os dados de MSPA foram determinados em balança eletrônica.

Os sistemas radiculares nos tratamentos que receberam nematóides, com ou sem fungo, foram avaliados para obtenção do índice de massa de ovos (IMO) de acordo com os procedimentos descritos no item 4.2. Após isto, as raízes foram processadas para a extração dos ovos de acordo com o método de Hussey & Barker (1973), modificado por Bonetti & Ferraz (1981). Em lâminas de contagem de Peters, sob microscópio, foram feitas as estimativas dos números de ovos e juvenis, que representaram as populações finais (P_f). Pela relação P_f/P_i , em que P_i representa a população inicial, ou seja, 5000 juvenis/planta, foram calculados os fatores de reprodução dos nematóides dentro dos diferentes tratamentos, conforme Oostenbrink (1966).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Seleção do isolado de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* para os estudos de interação com *Meloidogyne incognita* raça 2 ou *M. javanica* em feijoeiro comum

Os resultados do teste de patogenicidade para a seleção do isolado de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, que seria utilizado nos experimentos subseqüentes, estão contidos na Tabela 1. A avaliação da severidade da doença (SD), baseada na escala de notas do CIAT e efetuada aos 28 dias após a inoculação, mostrou que seis, dos sete isolados testados, foram virulentos ao feijoeiro comum cultivar Rosinha. Apenas um dos isolados, designado FOP 5, foi considerado avirulento, já que apenas quatro, das dezesseis plantas (25%), apresentaram algum sintoma que poderia ser atribuído à doença ou, então, ser de causa diferente, sendo tão somente um erro de interpretação.

O isolado FOP 4 foi o mais agressivo de todos ao apresentar média de SD = 7,15, não diferindo estatisticamente ($p > 0,05$) do isolado FOP 1, que apresentou SD = 4,30; entretanto, foi diferente dos demais. O valor observado para o isolado FOP 4 está de acordo com os de Pastor-Corrales & Abawi (1987), os quais, usando a mesma escala, observaram SD = 8,9 na referida cultivar, inoculada com um isolado do fungo obtido

de plantas com sintomas da enfermidade, coletadas na região próxima a Belém de São Francisco, PE.

Tabela 1. Patogenicidade de isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em feijoeiro 'Rosinha' avaliada aos 28 dias após a inoculação.

Isolado	Nº de plantas inoculadas	Nº de plantas com sintoma	% de plantas com sintomas	SD ¹
FOP 1	16	15	93	4,3 ab ²
FOP 2	16	14	87	3,5 b
FOP 3	16	15	93	4,2b
FOP 4	16	16	100	7,1a
FOP 5	16	4	25	1,4c
FOP 6	16	11	68	2,7bc
FOP 7	16	11	68	2,7bc
Testemunha	16	0	0	--- --
Cv= 12,01%				

¹ SD: Severidade de doença (média de quatro repetições) baseada na escala de notas: 1 Ausência de sintomas) a 9 (>75% das folhas com sintomas ou plantas mortas). Transformação: $\sqrt{x+0.5}$.

² Médias seguidas por uma mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Embora tenham sido patogênicos à cultivar Rosinha, os isolados FOP 2, FOP 6 e FOP 7 induziram, em geral, uma baixa severidade de doença.

Rava et al. (1996), adotando escala semelhante à do presente trabalho, também verificaram altos valores de SD na mesma cultivar usando dois isolados do fungo, sendo um originário de Belém de São Francisco, PE, e outro de Santa Helena de Goiás, GO, em pesquisa

visando à seleção de variedades para resistência à doença. As diferenças encontradas podem ser atribuídas a variações de agressividade dos isolados.

Outro aspecto a se considerar é o fato de a avaliação ser baseada numa escala de notas e, portanto, subjetiva. Além disso, tratando-se de um ensaio preliminar visando tão somente à seleção de um isolado para os estudos subseqüentes, pode ter ocorrido um maior rigor por parte do avaliador.

Embora não tenha sido computado, as plantas das parcelas inoculadas com o isolado FOP 4 exibiram os sintomas da doença mais precocemente. Piza (1993) já havia observado que alguns isolados de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* começam a induzir sintoma da murcha fusariana a partir de sete dias a contar da inoculação, enquanto outros necessitam de períodos mais prolongados para induzir os sintomas da enfermidade.

As plantas que serviram como testemunhas desenvolveram-se normalmente até o encerramento do experimento e não foram consideradas na análise estatística.

5.2 Seleção de cultivares para os estudos de interação entre *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *M. incognita* ou *M. javanica*

Os resultados da reação da linhagem e das 14 cultivares testadas, em relação ao *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, estão apresentados na Tabela 2. Baseado na severidade da doença, determinada pela escala do CIAT, computada aos 28 dias a contar da inoculação, foi possível discriminar três grupos de comportamento. Num primeiro grupo,

incluiram-se as cultivares Capixaba Precoce, IAPAR 44, IAPAR 14, Jalo Precoce, Rio Tibagi, Goiano Precoce e FT Tarumã, consideradas resistentes (R), com todas apresentando severidade de doença (SD) $\leq 3,0$. Num segundo grupo, incluiram-se Aporé, Ouro Negro e IAPAR 31, consideradas de reação intermediária (I), SD 3,1 - 6,0 e, finalmente, o grupo das cultivares suscetíveis (S), SD $\geq 6,1$, incluindo-se Rosinha, Roxo 90, RAB 60, IAC Carioca e a linhagem A 211.

Tabela 2. Reação de cultivares e linhagem de feijoeiro comum ao isolado FOP 4 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* selecionado para o estudo, avaliada aos 28 dias após a inoculação.

Cultivar/Linhagem	S.D ¹ .	C.R ² .
A 211	9,0	S
Rosinha	9,0	S
RAB 60	9,0	S
Roxo 90	9,0	S
IAC Carioca	6,6	S
Aporé	6,0	I
Ouro Negro	5,5	I
IAPAR 31	5,1	I
FT. Tarumã	2,1	R
Goiano Precoce	1,6	R
Rio Tibagi	1,5	R
Jalo Precoce	1,0	R
IAPAR 14	1,0	R
IAPAR 44	1,0	R
Capixaba Precoce	1,0	R

¹ S.D.: Severidade de doença segundo CIAT (1987), média de quatro repetições, escala de notas de 1 (ausência de sintomas externos) a 9 (> 75% de folhas com sintomas ou plantas mortas).

² C.R.: Classe de reação R (resistente)= 1,0 a 3,0; I (intermediária)= 3,1 a 6,0 e S (suscetível)= 6,1 a 9,0, segundo Pastor- Corrales & Abawi (1987).

As reações de resistência observadas em 'FT Tarumã', 'Goiano Precoce', 'Rio Tibagi', 'IAPAR 14' e 'IAPAR 44' e a suscetibilidade da 'IAC Carioca' e da linhagem A 211, obtidas no presente trabalho, concordam com os dados de Nascimento et al. (1995). Esses autores verificaram reação de resistência na cultivar IAPAR 31, ao passo que, no presente trabalho, a mesma apresentou reação intermediária. Tal discordância pode ser atribuída às diferenças nas condições ambientes nas quais foram conduzidos os dois trabalhos; neste, trabalhou-se em câmara climatizada com temperatura mantida a $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$, o que poderia, em tese, ser mais favorável à doença, enquanto que aqueles autores trabalharam em condições de casa de vegetação, onde a temperatura oscila durante o dia e a noite e a luminosidade aproxima-se mais das condições naturais, assim, as plantas seriam mais resistentes ao fungo.

Piza (1993) também já havia verificado resistência à murcha fusariana em 'Rio Tibagi', destacando, ainda, o bom desempenho da cultivar quando plantada em campos sabidamente infestado com o patógeno.

A resistência aqui observada nas cultivares FT Tarumã e IAPAR 44 (duas cultivares de feijão do grupo preto) também foi verificada por Rava et al. (1996), os quais destacaram o potencial de uso dessas cultivares como fonte de resistência à murcha fusariana. Esses autores verificaram, ainda, reação intermediária e de suscetibilidade ao fungo em 'Capixaba Precoce' e 'Rio Tibagi', respectivamente. Considerando-se a reação dessa última cultivar, os resultados desses autores estão em desacordo com os do presente trabalho. A existência de especialização fisiológica no patógeno, conforme demonstrada por Ribeiro & Hagedorn (1979b) e Salgado et al. (1995), pode ser uma explicação para as

discrepâncias apontadas, já que o isolado usado no presente trabalho é de origem diferente dos usados por aqueles autores.

Reforçando a tese da existência de patótipos diferentes no Brasil, no trabalho de Ito et al. (1997) foi detectada a presença de variação fisiológica em isolados de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Esses autores utilizaram sete isolados do fungo procedentes de Capão Bonito, SP, e os genótipos diferenciadores propostos pelo CIAT (Bat 477, A211, Mortinho, HF 465-63-1, Frijolica 0-3-1, RIZ 30, Diacol Calima, TIB 3042, IPA 1, BBL-274, Preto Berabinha, Tenderette e o controle suscetível IPA 6), que foram inoculados pelo método da imersão das raízes no inóculo, em plântulas com sete dias de emergência e mantidas em casa de vegetação. A avaliação foi feita por uma escala de notas semelhante àquela mencionada no item 3.1. Baseados na reação das plantas diferenciadoras, os autores incluíram três isolados na raça brasileira, dois na raça americana e um outro num terceiro grupo de reação. Esses autores admitem, entretanto, serem seus dados preliminares, havendo necessidade de estudos mais detalhados a esse respeito.

5.3 Seleção do método de inoculação das plantas com o fungo para os estudos de interação com os nematóides

O método de inoculação das plantas com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* pela deposição de suspensão fúngica contendo 3×10^6 esporos. ml^{-1} ao redor do colo das plantas, com ou sem ferimento nas raízes, tanto com 10 ou 20 ml de inóculo, permitiu a indução dos sintomas da doença (Tabela 3) na cultivar IPA 6, suscetível ao fungo. Os valores das médias de severidade de doença (SD = 5,6 - 8,5) observados numa escala

variando de 1,0 a 9,0, podem ser considerados de médios a altos, demonstrando adequação do método de inoculação. Nascimento et al. (1995), em trabalho visando à seleção de materiais de feijoeiro comum resistentes à murcha fusariana, já utilizaram 'IPA 6' como padrão de suscetibilidade ao fungo e, embora utilizando outro método de inoculação, também encontraram médias de SD altas.

Observou-se uma relação direta entre o volume de inóculo e a severidade de murcha, independentemente de serem as inoculações feitas com ou sem ferimento nas raízes.

Os tratamentos com ferimentos nas raízes, tanto com 10 ou 20 ml de suspensão de esporos, foram os que induziram os valores mais altos de SD; entretanto, não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$) daquele cujas plantas foram inoculadas com 20 ml de inóculo, sem ferimentos nas raízes. O tratamento em que as plantas foram inoculadas com 10 ml de inóculo, sem ferimento nas raízes, foi o que apresentou a menor média de SD, tendo diferido estatisticamente dos demais ($p \leq 0,05$).

É provável que todos os trabalhos de interação envolvendo *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *M. incognita* ou *M. javanica* em feijoeiro, desenvolvidos até o momento, tenham adotado métodos que incluíram o ferimento nas raízes antes da inoculação das plantas com o fungo. Isto é compreensível, uma vez que Duque & Müller (1969) já haviam mencionado ser necessário ferimentos nas raízes para o sucesso da penetração do fungo.

Assim, nos trabalhos de seleção de materiais de feijoeiro comum visando resistência à murcha fusariana, quase sempre usa-se a técnica conhecida como "deep tip roots" ou "dipping", com variações. Tal método consiste em mergulhar as raízes das plantas, após o corte de

seus terços distais, em uma suspensão inoculante; nesses casos, trabalha-se, no geral, com 10^6 esporos. ml^{-1} . De fato, de acordo com Costa et al. (1989), em trabalho visando estabelecer metodologia de inoculação para fins de seleção de materiais resistentes, esse método mostrou-se bastante adequado e confiável.

No entanto, como em condições de cultivo no campo, o sistema radicular do feijoeiro é submetido, com muita frequência, a ferimentos naturais nos locais de emissão de raízes e artificiais devido aos tratos culturais ou provocados por pragas do solo, como larvas de besouros crisomelídeos, ou ainda pela penetração de juvenis de nematóides endoparasitas sedentários, como nas espécies de *Meloidogyne*, não se justificam, nos estudos das doenças complexas envolvendo fungos de solo e nematóides, os ferimentos artificiais nas raízes.

Tabela 3. Efeito de métodos de inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* na severidade da murcha em feijoeiro 'IPA 6' em câmara climatizada mantida a 26°C.

Volume de inóculo ¹	Severidade de doença (SD)		
	Com fermento	Sem fermento	Média
10 ml	8,11 ² aA	5,60 ² bB	6,80
20 ml	8,50 aA	7,50 aA	7,99
Média	8,30	6,52	
Cv= 4,44%			

¹ Concentração do inóculo de $3 \cdot 10^6$ esporos. ml^{-1}

² Média de severidade de doença em quatro repetições pela escala de notas: 1 (plantas sem sintomas) a 9 (75% das plantas com sintomas ou mortas); Transformação: $\sqrt{x+0,5}$, médias seguidas por uma mesma letra na linha ou na coluna não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

5.4 Efeito de dois níveis de inóculo de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e da temperatura na severidade da murcha fusariana

Os resultados da inoculação na cultivar Rosinha com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, com dois níveis de inóculo em três temperaturas de incubação (Tabelas 4 e 5), mostraram que as plantas inoculadas com o nível mais alto (10^6 esporos. ml^{-1}) apresentaram sempre graus de severidade de doença (SD) mais elevados, baseado tanto nos sintomas externos (SE) quanto nos internos (IV) ou pela recuperação do fungo *in vitro* (RF).

A análise estatística revelou, ainda, que os dois fatores agiram independentemente ($p \geq 0,05$) quando se consideraram os valores de SE (Tabela 4). Para essa variável, as plantas incubadas nas temperaturas extremas foram as que apresentaram os maiores valores.

Tabela 4. Efeito da temperatura e de dois níveis de inóculo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* na severidade da murcha avaliada pelos sintomas externos (SE) em feijoeiro 'Rosinha' aos 30 dias após inoculação.

Inóculo esporos ml^{-1}	Sintomas externos (SE)			
	Temperatura			
	20° C	24° C	28° C	média
10^4	4,57	2,93	3,93	3,97 b ¹
10^6	5,42	3,98	5,37	4,90 a
testemunha	1,00	1,00	1,00	1,00 c
média	3,39 a	2,50 b	3,18 ab	

C.v. = 13,07%

SE: Média de seis repetições pela escala de notas: 1(Ausência de sintomas externos) a 9 (>75% de folhas com sintomas ou plantas mortas); Transformação $\sqrt{x+0,5}$,

¹ Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 5. Efeito da temperatura e do inóculo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* na severidade da murcha em feijoeiro 'Rosinha' baseada na infecção vascular (IV) e recuperação do fungo *in vitro* (RF) aos 30 dias após a inoculação.

Inóculo	20° C	R%	24° C	R%	28° C	R%	Média
Esporos ml ⁻¹	IV	RF	IV	RF	IV	RF	
10 ⁴	3,73 bB ¹	33,3	4,94 aB ¹	58,3	7,42 aA ¹	83,3	5,27
10 ⁶	7,31 aA	83,3	7,22 aA	91,6	7,59 aA	91,6	7,37
Testemunha	1,00 c A	0	1,00 bA	0	1,00 bA	0	1
média	3,60		3,96		4,77		
C.v.	14,95						

IV: Pela escala de notas, onde 1-ausência de necrose vascular na base da planta; 3-necrose na base da planta; 5-necrose acima do primeiro nó; 7-necrose acima do segundo nó e 9-necrose acima do terceiro nó. Transformação $\sqrt{x+0,5}$,

R%: Em relação ao total de plantas do tratamento (12).

¹ Médias seguidas das mesmas letras nas linhas e nas colunas não diferem entre si a 5% pelo teste Tukey.

Os valores médios de IV (Tabela 5), mostraram que houve interação significativa entre os fatores. Com o nível de inóculo mais alto, a severidade da doença medida pela IV foi sempre mais elevada em todos os tratamentos, independentemente da temperatura de incubação.

Nas inoculações com 10⁴ esporos ml⁻¹ e incubação a 28°C, observou-se um nível mais elevado de doença medido pela IV do que os valores obtidos para a mesma variável com igual nível de inóculo nas temperaturas de 20 e 24 °C. Analisando-se o efeito do nível de inóculo dentro do fator temperatura de incubação, naquelas mantidas a 20°C a severidade de doença medida pelo valor de IV foi significativamente ($p \leq 0,05$) maior no nível de inóculo mais elevado.

Os altos valores de IV observados nas parcelas inoculadas com 10^6 esporos. ml^{-1} nas três temperaturas de incubação testadas e com a confirmação da colonização do fungo através das altas taxas de recuperação *in vitro* verificadas (Tabela 5), nem sempre correspondendo aos computados para SE, indicam que a avaliação da murcha fusariana apenas pelos sintomas externos pode não ser a mais adequada para certos tipos de estudos. Esse critério de avaliação pode adaptar-se mais aos trabalhos de seleção de genótipos de feijoeiro visando resistência à murcha fusariana, como afirmaram Nascimento et al.(1995).

Os dados deste trabalho não confirmaram os de Ribeiro & Hagedorn (1979b) obtidos nos Estados Unidos, os quais mostraram que, na temperatura de 20 °C, a incidência e a severidade da murcha fusariana do feijoeiro são maiores. Segundo esses autores, tal característica explica, em parte, o fato de a doença nunca ter se tornado importante em certas regiões dos EUA. Esta explicação, parece plausível diante dos dados observados, entretanto, os referidos autores não confirmaram a ocorrência da infecção pela recuperação do patógeno *in vitro* que é em ultima análise a prova cabal do sucesso da colonização. Além disso seus dados não coincidem com as observações de Pastor-Corrales & Abawi (1987), que verificaram severas epidemias da doença em 1985 na região Nordeste do Brasil, particularmente nos estados da Bahia e Pernambuco, nos meses de julho e agosto, que coincidem com a época quente e seca naquela região.

O observado no presente trabalho, embora sem ter sido motivo de avaliação, foi que as plantas incubadas nas duas temperaturas extremas tiveram comportamentos diferenciados, tendo ocorrido desenvolvimento mais lento a 20°C enquanto a 28°C, o crescimento foi

mais rápido e as plantas ficaram estioladas. Por outro lado, a 24°C, o desenvolvimento foi “normal”; isto explica, pelo menos em parte, os valores menores para a variável SE. É interessante notar-se que a 24°C o valor médio de IV para o menor nível de inóculo foi maior do que a 20°C, embora não tenha diferido estatisticamente. Já confrontando-se as taxas de recuperação RF para estas duas temperaturas de incubação, a 24°C foram mais elevadas comparativamente aos dois níveis de inóculo. É possível que em tais condições as plantas poderiam expressar todo seu potencial genético sendo naturalmente mais resistentes ou tolerantes ao patógeno, com reflexos na expressão da doença externamente. Outro aspecto a se considerar é que vários trabalhos de seleção de cultivares feitos no Brasil e no exterior (Ribeiro & Ferraz, 1984; Pastor-Corrales & Abawi, 1987; Piza, 1993; Salgado et al., 1995; Nascimento et al. 1995 e Rava et al. 1996); foram realizados em condições de casa de vegetação, onde se observaram, quase sempre, temperaturas elevadas, o que indica serem condições adequadas para a expressão da doença, uma vez que se conseguiu nesses trabalhos discriminar materiais resistentes de suscetíveis.

5.5 Efeitos de níveis de inóculo de *M. javanica*, associado ou não a *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, na cultivar IAPAR 14

A seguir são apresentados os resultados do estudo dos efeitos de diferentes níveis de inóculo de *M. javanica* em inoculações simples ou combinadas com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* em feijoeiro comum cultivar IAPAR 14, resistente ao fungo, avaliados pela severidade

da doença (SD), baseada no sintomas externos (SE) (Figura 2), infecção vascular (IV) (Figura 3), recuperação do fungo *in vitro* (Tabela 6), pela massa seca da parte aérea (MSPA) (Figura 4, Tabela 7) e índice de massa de ovos (IMO) (Tabela 8).

Foi observada uma correlação positiva entre os valores de SE e IV, e os níveis de inóculo inicial de *M. javanica*. O ajustamento dos valores médios para esta variáveis estão apresentados nas Figuras 2 e 3, a equação de regressão que melhor se ajustou aos dados foi da forma $Y = a + bx$, onde Y representa o valor médio de SE ou de IV, a e b foram calculados pelo método dos mínimos quadrados.

Apesar de a cultivar IAPAR 14 ser considerada resistente (Nascimento et al. 1995), todas as plantas das parcelas inoculadas com 2500 ou mais J_2 de *M. javanica* em combinação com o fungo exibiram sintomas da doença em maior ou menor grau (Figura 1A, 11 e 12). Naquelas severamente atacadas, observaram-se folhas amareladas à partir das baixeiras e murcha reversível destas. Com o progresso da doença, a planta toda tornava-se amarelada e a murcha irreversível, culminando com a sua morte. O corte longitudinal do caule de tais plantas observado sob microscópio estereoscópico revelava uma intensa necrose vascular, ficando os feixes com cor vermelha a marrom escuro, que se estendia da base em direção ascendente. Observaram-se, com freqüência, plantas com nanismo, antes dos sintomas externos mais avançados terem sido evidentes. O quadro ora apresentado se assemelha ao descrito na literatura para essa enfermidade como por exemplo em Kendrick & Snyder (1942), Cardoso et al., (1966) e Echandi (1967).

A taxa de recuperação do fungo *in vitro* (Tabela 6) foi de 100% a partir de 2500 J₂ por planta, e de 20 e 60% nos tratamentos que receberam respectivamente 625 e 1250 J₂ por planta. Na Figura 1A, 11 e 12 são mostrados aspectos das plantas inoculadas com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e 5000 ou 10000 J₂ de *M. javanica* ao final do experimento. Em 1 B, 11 e 12, são vistos segmentos de caules de plantas em placas de Petri com meio de cultura BDA mostrando colonias típicas do fungo.

A taxa de 100%, obtida com a inoculação de 2500 J₂, sugere que o nível de inóculo de *M. javanica* para estudos de interação com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* possa ser diminuído.

Nas plantas inoculadas apenas com o fungo não foi possível a recuperação do patógeno *in vitro* (Figura 1B, 2) em nenhuma das repetições, indicando que a infecção não foi bem sucedida ou que a mesma ficou confinada às raízes da planta ou ainda à base do hipocótilo, já que, as tentativas de isolamento foram procedidas em amostras coletadas entre o primeiro e o segundo nó; esses dados confirmaram a resistência da cultivar utilizada no estudo. As plantas das parcelas que serviram como testemunha absoluta não exibiram qualquer sintoma até o final do experimento.

As plantas inoculadas apenas com o nematóide praticamente não exibiram sintomas externos, a não ser aquelas que receberam o maior nível de inóculo. Com efeito com 10000 J₂, observaram-se plantas com redução no crescimento e com folhas menores evidenciando carências nutricionais, sintomas que se refletiram no acúmulo de massa seca da parte aérea, discutido na sequência. .

Observou-se que os valores da massa seca da parte aérea (MSPA) apresentaram uma relação inversa aos níveis de inóculo, ou seja,

à medida que o inóculo cresceu ocorreu, quase sempre, uma redução nos valores médios desta variável, como ilustra a Figura 4.

Embora a interação entre os fatores não tenha sido significativa ($p>0,05$), houve uma tendência de redução dos valores de MSPA nos tratamentos que incluíram o fungo. Estes dados confirmam o que foi observado para a severidade da doença SD, medida pelos sintomas externos, infecção vascular e pela recuperação do fungo *in vitro* (Figuras 2 e 3; Tabela 6).

Pelos dados da Tabela 7, observa-se que a redução da MSPA é dependente do nível de inóculo do nematóide, sendo maior ou menor em função da presença ou não do fungo (Figura 4). Excetuando-se o maior nível de inóculo, onde a redução foi de cerca de 34% em relação à testemunha (nível 0), verifica-se que nos tratamentos que incluíram apenas o nematóide não houve uma redução significativa no valor da MSPA. Por outro lado, quando o fungo esteve presente a partir de 5000 J₂ por planta, verificou-se uma redução de 38% da MSPA, enquanto que no nível imediatamente superior foi de 59%. Verifica-se, então, que a contribuição do fungo no complexo foi notória quando se considera esta variável.

Figura 1. Interação entre *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *Meloidogyne javanica* (Mj) em feijoeiro 'IAPAR 14'. **A.** Sintomas externos em plantas; T, testemunha; 11, fungo + 5000 J₂ de Mj; 12, fungo + 10000 J₂ de Mj; F, plantas inoculadas somente com o fungo. **B.** Recuperação do fungo *in vitro*; 2, segmentos de caules de plantas inoculadas com o fungo; 12, fungo + 10000 J₂ de Mj e 11, fungo + 5000 J₂ de Mj.

Figura 2. Efeito de níveis de inóculo de *Meloidogyne javanica* em combinação com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* na severidade da murcha do feijoeiro 'IAPAR 14', medida pelos sintomas externos SE, 45 dias após a inoculação.

Figura 3. Efeito de níveis de inóculo de *Meloidogyne javanica* em combinação com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* na severidade da murcha do feijoeiro 'IAPAR 14', medida pela infecção vascular IV, 45 dias após a inoculação.

Os baixos valores obtidos para a variável MSPA, quando as plantas foram inoculadas apenas com o nematóide, estão em desacordo com a literatura. Uma explicação para esse fato é que o experimento foi conduzido em um período onde prevaleceram temperaturas com a média das noturnas e diurnas de 14°C e 26°C, respectivamente. Dessa forma, a maior contribuição do nematóide no complexo foi a de alterar fisiologicamente o hospedeiro, predispondo-o ao ataque pelo fungo. A predisposição é um fenômeno referido com frequência na literatura (Powell, 1971).

Em qualquer dos níveis de inóculo de *M. javanica* testados a presença de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* provocou uma redução nos valores de IMO. Verificou-se uma tendência de aumento nos valores de IMO em todos os tratamentos até o nível de 5000 J₂ por planta; já com o maior nível, houve uma redução nos valores médios desta variável tanto na inoculação simples quanto na combinada com o fungo.

Os menores valores de IMO foram obtidos com 625 J₂ por planta tanto na inoculação simples quanto na combinada com o fungo. Por outro lado, o maior valor observado para o tratamento conjunto foi com 5000 J₂ por planta (IMO=4,59), enquanto que na inoculação simples, com este mesmo nível de inóculo, obteve-se IMO=5,00.

Os dados do presente trabalho estão de acordo com a literatura. Segundo Harris & Ferris (1991), ocorre uma redução de fêmeas maduras de *M. incognita* em caupi quando o nematóide atua conjuntamente com *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, isto, conseqüentemente, provoca uma redução no valor de IMO.

Tabela 6. Efeito de níveis de inóculo de *Meloidogyne javanica* na frequência de recuperação *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* aplicados conjuntamente em feijoeiro 'IAPAR 14'.

Níveis de inóculos (J ₂)	Fo ¹	%	Fo ²	%
0	0	0	5	100
625	1	20	4	80
1.250	3	60	2	40
2.500	5	100	0	0
5.000	5	100	0	0
10.000	5	100	0	0
Média	19		11	

¹Número de casos positivos.

² Número de casos negativos.

Tabela 7. Efeito de níveis de inóculo de *Meloidogyne javanica* na massa seca da parte aérea, em gramas, de feijoeiro 'IAPAR 14' inoculado conjuntamente com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

Níveis de Inóculo (J ₂)	Massa seca da parte aérea (MSPA)	
	Com fungo	Sem fungo
0	14,49 ¹	14,61
625	10,58	12,16
1250	13,30	13,84
2500	10,89	14,43
5000	9,01	13,89
10000	6,01	9,67
média	10,71 b	13,12 a
C.v. % 20,03		

¹Médias de 5 repetições; dados computados 45 dias após as inoculações.

Figura 4. Efeito de níveis de inóculo de *Meloidogyne javanica* em combinação com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* no acúmulo de massa seca da parte aérea em feijoeiro 'IAPAR 14', 45 dias após a inoculação.

Tabela 8. Efeito de níveis de inóculo de *Meloidogyne javanica* no índice de massas de ovos (IMO) em inoculações simples ou combinadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* aplicados em feijoeiro 'IAPAR 14'.

Níveis de Inóculo (J ₂)	Índice de Massas de Ovos (IMO) ¹	
	Com fungo	Sem fungo
625	2,38	2,78
1250	3,00	3,19
2500	3,58	4,59
5000	4,59	5,00
10000	3,35	4,59

¹Pelo critério de Taylor & Sasser, 1978.

A tendência observada neste trabalho de aumento de IMO até o nível de 5000 J₂ por planta na presença ou ausência do fungo, está em desacordo com o observado por Sharma (1982) que verificou uma diminuição deste valor em feijoeiro 'Roxinho' à medida que aumentava o inóculo. Esta divergência pode ser explicada pelas diferenças no comportamento das cultivares em relação ao nematóide ou pelas condições experimentais, nas quais foram desenvolvidos os trabalhos.

5.6 Efeito da interação entre *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *M. incognita* ou *M. javanica* em cultivares comerciais de feijoeiro comum

5.6.1 Efeito da interação na severidade da doença (SD) baseado nos sintomas externos (SE), infecção vascular (IV) e recuperação do fungo *in vitro* (RF)

A inoculação simultânea de cultivares de feijoeiro comum com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *M. incognita* ou *M. javanica*, avaliada após 55 dias, resultou em distintas classes de reação com base na severidade da doença (SD), medida pelos sintomas externos (SE) (Tabela 9), pela infecção vascular (IV) (Tabela 10) e pela recuperação do fungo *in vitro* (RF) (Tabela 11).

Numa primeira classe, incluíram-se as cultivares IAPAR 14, Goiano Precoce, Jalo Precoce, Aporé, Pérola, Rudá, FT Nobre e IAPAR 44. O efeito de qualquer uma das espécies de nematóide foi marcante,

interagindo sinergisticamente com o fungo, promovendo um aumento na severidade da doença, com os valores de SE variando de 6,08 a 8,38 (Tabela 9). A inoculação destas mesmas cultivares, somente com o fungo, resultou em baixos valores de SE, sendo que a cultivar IAPAR 14 foi a que apresentou o menor valor (SE= 1,00) e Goiano Precoce, o maior (SE= 2,98). Considerando-se apenas esta variável, as cultivares relacionadas seriam classificadas como resistentes ao fungo de acordo com Pastor-Corrales & Abawi (1987) e Salgado et al. (1995). Portanto, a associação do fungo com os nematóides levou a “quebra da resistência” dessas cultivares.

As cultivares Rosinha G2 e IAPAR 20 formaram uma segunda classe de reação; nestas, a inoculação com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* isoladamente induziu reação intermediária em ‘Rosinha G2’ (SE= 6,05) e de suscetibilidade em IAPAR 20 (SE= 6,27). Por outro lado, a inoculação com as combinações fungo + *M. incognita* ou *M. javanica*, promoveu ora aumento, ora redução na severidade da doença em ambas as cultivares, não tendo entretanto, diferido estatisticamente dos tratamentos que envolveram apenas o fungo.

A cultivar Rio Tibagi ficou destacada numa terceira classe de reação; nesta, a inoculação de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, isoladamente, não induziu qualquer sintoma externo da doença. Por outro lado, a combinação fungo + *M. incognita* exerceu um pequeno efeito, passando o valor de SE= 1,00 no primeiro caso para 2,74 no caso da inoculação simultânea. Por sua vez, a associação fungo + *M. javanica* não exerceu qualquer efeito na severidade da doença, ficando o valor de SE igual ao observado para o caso do fungo sozinho.

Tabela 9. Efeito da interação entre *Fusarium oxysporum* f sp *phaseoli* (F) *Meloidogyne incognita* (Mi) ou *M. javanica* (MJ) na severidade da murcha fusariana em feijoeiro comum baseada nos sintomas externos (SE).

Cultivares	Fungo	Fungo+ <i>M. incognita</i>	Fungo+ <i>M. javanica</i>
IAPAR - 14	1,00 bB ¹	7,97 aA ¹	7,97 aA ¹
Goiano Precoce	2,98 abB	7,19 aA	6,57 aA
Jalo Precoce	1,55 bB	6,99 aA	6,99 aA
Aporé	1,94 bB	7,19 aA	6,22 aA
Pérola	1,55 bB	6,94 aA	6,98 aA
Rudá	1,44 bB	6,57 aA	6,99 aA
Rosinha G2	6,05 aA	6,19 abA	8,18 aA
IAPAR 20	6,27 aA	6,15 abA	6,59 aA
IAPAR 44	2,74 abB	6,08 abA	6,23 aA
FT- Nobre	2,33 bB	8,38 aA	8,00 aA
Rio Tibagí	1,00 bB	2,74 bA	1,00 bB
C.v.= 19,17%			

SE: Sintomas externos, média de cinco repetições pela escala de notas: 1 (plantas sem sintomas) a 9 (75% das folhas com sintomas ou plantas mortas). Dados transformados para $\sqrt{x}$.

¹ Médias seguidas pelas mesmas letras nas linhas e colunas não diferem entre si a 5 % de probabilidade pelos teste de Tukey.

Quando a severidade da doença foi avaliada pela infecção vascular (IV), observou-se que a maioria das cultivares testadas apresentaram valores sempre altos (Tabela 10), quando as plantas foram inoculadas com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *M. incognita* ou *M. javanica* tendo sido estatisticamente diferentes dos respectivos tratamentos que envolveram apenas o fungo. A cultivar Rosinha G2 foi a única que apresentou valor de IV menor na interação *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *M. incognita*, em relação ao mesmo valor observado nesta cultivar

inoculada apenas com o fungo, embora não tenha havido diferença estatística significativa entre ambos os tratamentos. Neste caso, pode-se admitir que houve um antagonismo entre os organismos.

Dentro de cada tratamento, a cultivar Rio Tibagi apresentou valores numéricos de IV mais baixos que todas as outras, confirmando comportamento mostrado pela variável SE (Tabela 9). Apesar disso, o valor observado de IV na associação *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *M. incognita* nesta cultivar não diferiu estatisticamente ($p>0,05$) daqueles observados em 'IAPAR 20', 'Rosinha G2', 'Rudá', 'Pérola', 'Jalo Precoce' e 'Goiano Precoce'; do mesmo modo, na interação fungo + *M. javanica* nessa cultivar, o valor de IV não diferiu estatisticamente ($p>0,05$) dos apresentados por 'Pérola', 'Aporé', 'Jalo Precoce' e 'Goiano Precoce'. Repetiu-se aqui a situação já discutida no item 5.4, qual seja a avaliação da severidade da doença pelo critério da infecção vascular (IV) é mais rigorosa que a feita pelos sintomas externos (SE), nem sempre conduzindo a classificação das cultivares dentro de uma mesma categoria de reação.

Os dados referentes à recuperação de *F. oxysporum* f.sp. *phaseoli in vitro* (RF) (Tabela 11) em geral confirmaram as observações relativas aos valores SE e IV (Tabelas 9 e 10). De fato, nas cultivares IAPAR 14, Rudá, FT Nobre, IAPAR 44, IAPAR 20, Jalo Precoce e Goiano Precoce, observaram-se taxas de RF de 60% ou mais nas interações do fungo com qualquer uma das duas espécies de nematóides estudadas. Dessas cultivares, FT Nobre e IAPAR 44, quando inoculadas apenas com o fungo já mostraram valores relativamente altos de severidade de doença representados pelas variáveis SE e IV; dessa forma, a presença

tanto de *M. incognita* como de *M. javanica* exacerbou os efeitos do fungo, sendo confirmado também pela RF.

Tabela 10. Efeito da interação entre *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (F) e *Meloidogyne incognita* (Mi) ou *M. javanica* (Mj) na severidade da murcha fusariana em feijoeiro comum baseada na infecção vascular (IV).

Cultivar	Fungo	Fungo + <i>M. incognita</i>	Fungo + <i>M. javanica</i>
IAPAR 14	1,56 bcB ¹	9,00 aA ¹	8,80 aA ¹
Goiano Precoce	2,10 bcB	5,96 a bcA	4,52 bcdA
Jalo Precoce	1,71 bcB	6,17 a bcA	4,58 bcdA
Aporé	1,51 bcB	6,37 abA	4,25 cdA
Pérola	1,86 bcB	5,98 abcA	5,94 abcdA
Rudá	1,44 bcB	6,16 abcA	7,00 abcA
Rosinha G2	5,14 aB	4,02 cB	8,18 abA
IAPAR 20	1,99 bcB	5,91 abcA	7,12 abcA
IAPAR 44	3,41 abB	7,38 abA	7,18 abcA
FT Nobre	2,40 abcB	7,38 abA	7,98 abcA
Rio Tibagi	1,00 cB	2,90 cA	2,97 dA
C.v = 18,02%			

IV: Índice de infecção vascular pela escala de notas: 1-ausência de sintomas na base da planta; 3-necrose vascular na base da planta; 5-necrose vascular acima do primeiro nó; 7-necrose acima do segundo nó e 9-necrose acima do terceiro nó. Dados transformados para $\sqrt{x}$.

¹Médias seguidas das mesmas letras nas linhas e colunas não diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

A inoculação da cultivar Aporé com a combinação fungo + *M. javanica* apresentou valor de RF relativamente baixo (40%) apesar de ter sido estatisticamente diferente do tratamento com a inoculação simples

pelo fungo. Por outro lado, em relação à interação fungo + *M. incognita*, este valor foi alto (80%), que pode significar uma maior suscetibilidade da cultivar ao nematóide.

Tabela 11. Recuperação *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* (RF) de plantas de feijoeiro comum inoculadas com o fungo (F) ou em combinação com *Meloidogyne incognita* (Mi) ou *M. javanica* (Mj).

Cultivar	RF					
	Fungo		Fungo + Mi		Fungo + Mj	
	Fo(+) ¹	Fo (-) ²	Fo (+) ¹	Fo (-) ²	Fo (+) ¹	Fo (-) ²
IAPAR 14	0	100	100	0	100	0
Goiano Precoce	0	100	70	30	60	40
Jalo Precoce	10	90	70	30	90	10
Aporé	0	100	80	20	40	60
Pérola	10	90	50	50	50	50
Rudá	10	90	100	0	80	20
Rosinha G2	60	40	50	50	80	20
IAPAR 20	0	100	80	20	70	30
IAPAR 44	40	60	100	0	90	10
FT Nobre	70	30	100	0	100	0
Rio Tibagi	0	100	0	100	10	90

RF: Recuperação do fungo.

¹ Frequência de casos positivos em 10 observações.

² Frequência de casos negativos em 10 observações.

A cultivar Rosinha G2 teve comportamento oposto ao observado em relação a Aporé, ou seja, apresentou valor de RF= 80% na interação fungo + *M. javanica* e de 50% quando o nematóide foi *M. incognita*. Vale ressaltar que Rosinha G2 já havia apresentado uma taxa

de RF de 60%, quando inoculada apenas com o fungo, mostrando claramente um antagonismo na interação envolvendo *M. incognita*. Como se trata de uma cultivar antiga, supõe-se ter havido, mesmo que de forma não dirigida, uma seleção positiva para resistência ao complexo, embora necessite de confirmação, uma vez que este assunto é pouco explorado pela pesquisa.

A estabilidade da resistência genética da cultivar Rio Tibagi evidenciada pelos valores de SE e IV (Tabelas 9 e 10), em relação ao isolado de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* utilizado neste estudo, mesmo na presença de *M. incognita* ou *M. javanica*, foi confirmada pelos baixos valores de RF observados (Tabela 11). Estes dados sugerem que a mesma pode ser uma importante fonte de resistência ao complexo.

Este trabalho confirma os resultados deste trabalho, Ribeiro & Ferraz (1984) verificaram aumento da severidade da murcha fusariana do feijoeiro quando o fungo estava associado a *M. javanica*, em cultivares suscetíveis e resistentes ao fungo. Esses autores obtiveram taxas maiores de recuperação do fungo *in vitro* no tratamento que envolveu os dois patógenos.

Os dados obtidos por France & Abawi (1994), referentes ao estudo da interação entre *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *M. incognita* em genótipos escolhidos de feijoeiro comum, são confirmados pela tendência verificada no presente trabalho, já que, em geral, esses autores verificaram aumento da severidade da doença com a interação em cultivares suscetíveis e redução na resistência em cultivar resistente ao fungo. Eles verificaram ainda que a incubação das plantas em altas temperaturas levou à “quebra da resistência” de um dos genótipos ao nematóide, o qual passou a apresentar uma maior severidade de murcha

quando comparado com tratamento no qual a temperatura de incubação pós-inoculação era baixa. Assim, ficou evidente que a resistência ao nematóide era dependente da temperatura e que a doença complexa com *Fusarium* era influenciada também por esta resistência.

Comportamento semelhante ao observado na cultivar Rio Tibagi, quanto à estabilidade da sua resistência ao complexo *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *M. incognita* ou *M. javanica*, foi relatado na associação *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* e *M. javanica* em grão-de-bico (Maheshwari et al., 1995). Esses autores verificaram comportamento desuniforme na resposta de 53 genótipos avaliados em relação à interação, sendo que em 45 deles a estabilidade da resistência foi mantida, em quatro foi reduzida e em uma delas foi quebrada.

Redução ou quebra na resistência à murcha fusariana quando em presença de *M. incognita* ou *M. javanica*, inoculados simultaneamente ao fungo ou a partir de duas semanas antes deste, tem sido relatada em várias culturas, incluindo a do tomateiro (Bowman & Bloom, 1966), a da batata (*Solanum tuberosum* L.) (Jacobsen et al., 1979), a do feijoeiro (Singh et al., 1981; Ribeiro & Ferraz, 1984 e France & Abawi, 1994), a do grão-de-bico (Sharma & Cerkauskas, 1985; Maheshwari et al., 1995 e Krishna Rao & Krishnappa, 1996), a do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) (Starr & Veech, 1986), a da alfafa (*Medicago sativa* L.) (Griffin & Thyr, 1988) e a do caupi (Harris & Ferris, 1991).

5.6.2 Efeito da interação na severidade da doença baseado na massa seca da parte aérea (MSPA) das plantas

O estudo da interação entre *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *M. incognita* ou *M. javanica* revelou que, em geral, ocorreu redução nos valores médios da massa seca da parte aérea (MSPA), tendo sido observadas diferentes tendências (Tabelas 12 e 13).

Nas cultivares IAPAR 14, Aporé, Pérola, Rudá e FT Nobre observou-se um efeito aditivo da presença dos nematóides, uma vez que, nos tratamentos combinados *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *M. incognita* ou *M. javanica* verificou-se uma redução acentuada na MSPA. A tendência verificada nessas cultivares reflete o ocorrido em relação à severidade da doença avaliada tanto pelos sintomas externos (SE), quanto pela infecção vascular (IV) (Tabelas 9 e 10), também confirmado pela alta frequência de recuperação do fungo *in vitro* (Tabela 11).

Em outro grupo de reação, incluíram-se as cultivares Goiano Precoce, Rosinha G2, IAPAR 20 e IAPAR 44, nas quais verificou-se, em geral, que as combinações *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *M. incognita* ou *M. javanica* levaram a uma redução na MSPA em relação aos mesmos valores relativos à testemunha; porém, a presença do nematóide não provocou efeito aditivo, uma vez que, nos tratamentos envolvendo a combinação, os valores médios para a mesma variável foram sempre menores em relação àqueles que incluíram apenas os nematóides.

As cultivares IAPAR 14, IAPAR 44 e Rio Tibagi não tiveram seus crescimentos suprimidos quando inoculadas apenas com o fungo, apresentando valores de MSPA muito próximos ou até superiores aqueles das respectivas testemunhas (Tabelas 12 e 13). As demais cultivares apresentaram valores numericamente mais baixos para esta variável, mas

não diferindo estatisticamente ($p > 0,05$) das respectivas testemunhas. As cultivares Rosinha G2 e IAPAR 20, apesar de terem apresentados valores de MSPA que não diferiram estatisticamente das correspondentes testemunhas, mostraram reduções elevadas de MSPA (32,75 e 42,68%, respectivamente). Esses dados já eram esperados, uma vez que a maioria das cultivares incluídas no experimento comportaram-se como resistentes ao fungo; além disso, o fato de a avaliação ter sido feita 55 dias após a inoculação pode ter refletido nesses valores observados, já que o tempo não seria suficiente para acentuar as diferenças de acúmulo de massa seca na parte aérea da planta naqueles cultivares com níveis de resistência mais baixos. Estes dados estão de acordo com os de Griffin & Thyr (1988) que, trabalhando com alfafa resistente e suscetível, não obtiveram redução no crescimento das plantas quando inoculadas apenas com *F. oxysporum* f. sp. *medicaginis*.

Os danos provocados pela ação parasitária de *M. incognita* e *M. javanica*, observados nas cultivares testadas neste trabalho e representados pelos valores da variável MSPA, estão de acordo com a literatura. Estudando a ação de *M. incognita* e *M. javanica* em feijoeiro 'Rico 23', Freire & Ferraz (1977) verificaram reduções quanto ao número de vagens por planta, peso de sementes por planta e altura média de plantas com ambas as espécies de nematóides. Esses dados mostram o potencial de danos dessas duas espécies para cultivares de feijoeiro, o que foi confirmado neste trabalho, pelos valores de MSPA obtidos nos tratamentos que envolveram a inoculação simples de uma das espécies de nematóides.

Embora no presente trabalho o tipo de inóculo tenha sido diferente e o número de cultivares mais abrangente, a tendência aqui

observada em relação aos danos provocados por *M. javanica* em feijoeiro está de acordo com os dados de Sharma (1982). Este autor verificou redução significativa na massa seca da parte aérea de feijoeiro cultivar Roxinho inoculado com esse nematóide, a partir de 1000 ovos por planta.

Analisando-se os efeitos da inoculação combinada de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* + *M. incognita* ou *M. javanica* na acumulação de matéria seca na parte aérea de plantas de feijoeiro, verifica-se que em algumas associações ocorreu uma maior redução do MSPA, havendo nesses casos, um efeito sinérgico entre os organismos. Isto foi verificado, por exemplo, em 'IAPAR 14' e 'Aporé' na interação fungo + *M. incognita* (Tabela 12) e em 'IAPAR 14', 'Jalo Precoce', 'Aporé', 'Pérola', 'Rudá' e 'FT Nobre' na combinação fungo + *M. javanica* (Tabela 13). Em todos esses casos, os valores de MSPA obtidos na inoculação combinada, independente da espécie de nematóide envolvida, foram maiores do que nas inoculações simples. Dados como estes foram obtidos por outros autores em outros patossistemas, como por exemplo, em *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* associado a *M. javanica* em grão-de-bico (Maheshwari et al., 1995).

Em geral, o efeito das interações *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *M. incognita* ou *M. javanica* no acúmulo de massa seca da parte aérea nas cultivares de feijoeiro comum usados neste trabalho foi de supressão do crescimento das plantas de acordo com os valores de MSPA apresentados nas Tabelas 12 e 13. Apesar de não ter ocorrido efeitos sinérgicos em muitos casos, os dados aqui verificados confirmaram as tendências observadas para os valores de SE e IV (Tabelas 9 e 10).

Os efeitos antagônicos observados em alguns tratamentos que envolveram o fungo e *M. incognita* ou *M. javanica*, relativos aos

valores de MSPA, podem ser atribuídos à competição entre os parceiros da interação, uma vez que ambos ocupam, num dado momento, os mesmos sítios de infecção e de alimentação (Griffin & Thyr, 1988).

Possivelmente, as alterações bioquímicas e fisiológicas produzidas no hospedeiro pelos nematóides levam à “quebra da resistência” ao fungo. As plantas, com seus mecanismos de defesa debilitados, tornam-se vulneráveis ao fungo. Assim, a invasão dos tecidos da planta pelo patógeno tenderia a reduzir o suprimento de alimentos para as raízes e, conseqüentemente, afetaria os nematóides, resultando menores danos em termos de acúmulo de massa seca na parte aérea.

Tabela 12. Massa seca da parte aérea, em gramas, de feijoeiros inoculados com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (F) combinado ou não com *Meloidogyne incognita* (Mi), 55 dias após a inoculação e respectivas reduções percentuais (R) em relação à testemunha.

Cultivar	T ¹	F ¹	F ² R%	Mi ¹	Mi ²		Mi+F ¹		Mi+F ²	
					R%	R%	R%	R%	R%	R%
IAPAR 14	21,62 A	21,43 A	0,88	11,41 B		47,22		8,22 B		61,98
Goiano Precoce	16,85 A	12,82 AB	23,92	5,04 C		70,09		4,43 C		73,71
Jalo Precoce	22,72 A	20,31 A	10,61	8,88 B		60,92		8,00 B		64,79
Aporé	24,47 A	21,88 AB	10,58	13,12 BCD		46,38		5,95 D		75,68
Pérola	22,47 A	18,96 AB	15,62	11,62 BBC		48,29		9,36 C		58,34
Rudá	23,70 A	21,20 A	10,55	11,78 BC		50,30		12,16 BC		48,69
RosinhaG2	22,47 A	15,11 B	32,75	6,23 C		72,27		14,94 AB		33,51
IAPAR 20	16,87 AB	9,67 B	42,68	4,67 B		72,32		8,28 B		50,92
IAPAR 44	21,08 A	24,11 A	(-14,37)	10,58 B		49,81		10,56 B		49,91
FT Nobre	21,16 A	20,22 A	4,44	5,16 B		75,61		5,06 B		76,09
Rio Tibagi	20,18 AB	22,90 A	(-13,48)	13,01 ABC		35,53		10,70 BC		46,98
CV = 19,36%										

Médias seguidas das mesmas letras nas linhas não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

1. Valores reais médios de 5 repetições, para análise estatística foram transformados para $\sqrt{x}$

2. Valores % médios relativos aos das respectivas testemunhas (T).

Tabela 13. Massa seca da parte aérea, em gramas, de feijoeiros inoculados com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (F) combinado ou não com *Meloidogyne javanica* (Mj), 55 dias após a inoculação e respectivas reduções percentuais (R) em relação à testemunha .

Cultivar	T ¹	F ¹	F ² R%	Mj ¹	Mj ² R%	Mj+F ¹	Mj+F ² R%
IAPAR 14	21,62 A	21,43 A	0,88	10,0 4B	53,56	5,51 B	74,51
Goiano Precoco	16,85 A	12,82 AB	23,92	6,32 BC	62,49	9,49 ABC	43,68
Jalo Precoco	22,72 A	20,31 A	10,61	13,91 AB	38,78	10,48 B	53,87
Aporé	24,47 A	21,88 AB	10,58	17,86 ABC	27,01	10,08 CD	58,81
Pérola	22,47 A	18,96 AB	15,62	13,55 ABC	39,70	6,56 C	70,81
Rudá	23,70 A	21,20 A	10,55	12,72 BC	46,33	8,33 C	64,85
Rosinha G2	22,47 A	15,11 AB	32,75	9,92 AB	55,85	6,82 C	69,65
IAPAR 20	16,87 AB	9,67 AB	42,68	9,95 AB	41,02	10,00 AB	40,72
IAPAR 44	21,08 A	24,11 A	(-14,70)	15,00 AB	28,84	17,55 AB	16,75
FT Nobre	21,16 A	20,22 A	4,44	10,32 B	51,23	6,40 B	69,75
Rio Tibagi	20,18 AB	22,90 A	(-13,48)	10,54 C	47,77	19,10 ABC	5,35
CV = 19,36%							

1. Valores médios de 5 repetições, transformados para $\sqrt{x}$

2. Valores % relativos aos das respectivas testemunhas (T).

3. Médias seguidas da mesmas letras na linha não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

5.6.3 Efeito de inoculações simples ou combinada de *M. incognita* ou *M. javanica* com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* no índice de massas de ovos (IMO) e nos fatores de reprodução (FR) em cultivares de feijoeiro comum

Os valores dos índices de massas de ovos (IMO) e os fatores de reprodução (FR) estão apresentados nas Tabelas 14 e 15, respectivamente.

Os valores de IMO determinados, indicaram ocorrência de infecções moderadas (médias entre 2,0 e 4,0 predominantes em 'Goiano Precoce', 'Jalo Precoce', 'Aporé', 'Pérola', 'Rosinha G2', 'Rudá' e 'FT Nobre') e altas (médias iguais ou superiores a 4,0 verificadas em 'IAPAR 14', 'IAPAR 20', 'IAPAR 44' e 'Rio Tibagi'). Todas as cultivares possibilitaram a reprodução dos nematóides nas inoculações simples ou em conjunto com o fungo. Todavia, considerando-se que o método empregado permite apenas a identificação das massas de ovos formadas externamente às raízes, e não das internas, que muitas vezes são comuns no interior das galhas conspícuas causadas no sistema radicular do feijoeiro, optou-se por tomar o critério do IMO somente como instrumento auxiliar de avaliação, priorizando-se a aferição dos efeitos das interações com base nos fatores de reprodução dos parasitos.

Tendo sido os valores obtidos neste estudo para os fatores de reprodução dos nematóides numericamente superiores a 1,0 de acordo com o critério de Oostenbrink (1966), foi possível classificar as cultivares como hospedeiras boas, favoráveis ou eficientes. Para facilitar a análise, elas foram reunidas arbitrariamente em três grupos em função

dos FR obtidos nas inoculações individuais de *M. incognita* ou *M. javanica* e nas combinações destes com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

No primeiro grupo incluiu-se a cultivar IAPAR 14, na qual observaram-se os maiores valores de FR. Quando inoculada apenas com *M. incognita*, obteve-se FR= 24,12, enquanto que, na combinação deste nematóide com o fungo houve uma queda acentuada no valor da variável, passando para 14,86. Tendência semelhante a essa foi verificada em relação a *M. javanica*, que inoculado isoladamente apresentou RF = 37,88 e, na combinação com o fungo, 13,92.

No segundo grupo incluíram-se, por ordem crescente de valores de FR, as cultivares Aporé, Rosinha G2, Pérola, Jalo Precoce, FT Nobre, IAPAR 20, e Rio Tibagi. Em geral, verificou-se que a inoculação simples com qualquer um dos nematóides resultou em maiores valores de FR quando comparado às inoculações de cada uma delas em associação com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Nesse grupo a cultivar Rio Tibagi foi a que apresentou os maiores valores de FR; nela, a inoculação de *M. incognita* resultou em FR= 5,74, enquanto que a associação desse nematóide com o fungo resultou em FR=2,30. Tendência semelhante foi verificada para *M. javanica*, onde os valores de FR observados foram 9,44 e 5,49, respectivamente, para as inoculações simples e combinada com o fungo.

O terceiro grupo foi constituído pelas cultivares Rudá, IAPAR 44 e Goiano Precoce. Na primeira e na segunda, a inoculação simples com *M. incognita* resultou em valores de FR inferiores aos observados na combinação do nematóide com o fungo. Por outro lado, na cultivar Goiano Precoce os resultados se inverteram uma vez que a inoculação simples com *M. javanica*, nesta cultivar resultou em valores de FR menores que

os obtidos na inoculação combinada com o fungo. Estes resultados podem atribuídos ao fato de que nas inoculações simples não haveria competição, assim em cultivares altamente suscetíveis e intolerantes ao nematóide ocorreria uma maior podridão nas raízes refletindo nos valores de FR. Por outro lado, na inoculação conjunta, haveria uma redução na infecção pelos nematóides devido à competição, possibilitando uma maior taxa de reprodução da população remanescente.

Os valores de FR, como os que foram obtidos no presente trabalho, estão de acordo com a literatura. Segundo Powell (1971), as populações de nematóides sedentários, como as espécies de *Meloidogyne*, são geralmente reduzidas quando atuam em doenças complexas com fungos de solo. As células gigantes nas quais os nematóides se alimentam são invadidas pelo fungo, comprometendo, conseqüentemente, a sua alimentação e prejudicando o desenvolvimento do parasito até a maturidade, o que acarreta uma redução nas populações finais.

É provável que 5000 J₂ por planta seja um nível de inóculo muito elevado. Alia-se a isto, o fato de as temperaturas por ocasião do experimento terem sido excepcionalmente favoráveis para os nematóides (médias de 20 e 29 °C, respectivamente, para as temperaturas noturna e diurna). Essas condições levaram, na maioria dos casos, a uma intensa podridão de raízes, que refletiu no acúmulo de MSPA (Tabelas 12 e 13). Dessa forma, é de se esperar também uma redução nas populações finais dos nematóides, como de fato ocorreu em muitos casos. Sharma & Guazelli (1982) também atribuíram os baixos valores de FR de *M. javanica* em linhagens de feijoeiro ao elevado nível de inóculo inicial (30000 ovos ou J₂ por planta).

Sharma (1982), trabalhando com *M. javanica* em feijoeiro 'Roxinho', verificou um decréscimo nos valores de FR à medida que aumentava o nível de inóculo do nematóide, sendo que com população inicial de 10000 ovos por planta este índice foi menor que 1,00 e, com 100 ovos por planta, obteve FR= 4,80.

Griffin & Thyr (1988) atribuíram a redução na população de *M. hapla* na interação com *F. oxysporum* f. sp. *medicaginis* em alfafa à competição entre os dois organismos por local de infecção ou por sítio de alimentação.

Tabela 14. Efeito da interação entre *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (F) e *Meloidogyne incognita* (Mi) ou *M. javanica* (Mj) no índice de massa de ovos (IMO) em cultivares de feijoeiro comum

Cultivar	M i IMO ¹	M j IMO	Mi + F IMO	M j + F IMO
IAPAR 14	4,36	4,40	4,36	3,95
Goiano Precoce	2,36	3,52	2,77	4,10
Jalo Precoce	3,00	2,70	3,33	3,15
Aporé	3,74	3,15	3,38	3,19
Pérola	2,93	4,29	2,37	2,96
Rudá	3,88	4,56	3,15	3,46
Rosinha G2	2,57	3,76	2,56	2,37
IAPAR 20	5,00	4,79	4,79	5,00
IAPAR 44	3,64	4,80	3,50	4,80
FT Nobre	2,69	3,89	2,54	3,89
Rio Tibagi	4,19	4,56	3,70	5,00

¹Índice de massas de ovos média de cinco repetições pelo critério de Taylor & Sasser, 1978.

Tabela 15. Efeito da interação entre *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (F) e *Meloidogyne incognita* (Mi) ou *M. javanica* (Mj) no fator de reprodução dos nematóides (FR) em cultivares de feijoeiro comum.

Cultivar	Mi	Mj	F + Mi	F + Mj
IAPAR 14	24,12	37,88	14,86	13,92
Goiano Precoce	3,99	3,58	2,24	4,48
Jalo Precoce	2,54	4,61	1,64	2,30
Aporé	2,02	2,15	1,85	1,97
Pérola	2,12	3,98	1,87	1,92
Rudá	1,71	8,86	1,81	2,50
Rosinha G2	1,74	2,42	1,00	1,98
IAPAR 20	1,79	5,46	3,27	4,11
IAPAR 44	1,70	4,19	1,76	6,14
FT Nobre	1,80	9,56	1,53	2,44
Rio Tibagi	5,74	9,44	2,30	5,49

FR: Valores médios de cinco repetições, calculados pela relação da população final (PF) sobre a população inicial (PI) PF/PI.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos e as observações procedidas permitiram concluir que:

- a) a severidade da murcha fusariana foi afetada pela temperatura;
- b) a avaliação mais precisa da severidade da doença resultou do uso do índice de infecção vascular, complementado, em certos casos, pela recuperação do fungo *in vitro*;
- c) embora a severidade da doença tenha sido afetada pela inoculação conjunta de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *Meloidogyne incognita* ou *M. javanica*, decorrendo, para a maioria das cultivares avaliadas, redução ou “quebra da resistência” ao fungo, houve pelo menos um caso em que a estabilidade foi mantida ; e
- d) quando uma ou outra espécie de nematóide atuou conjuntamente com o fungo, os danos foram exacerbados em algumas cultivares (sinergismo) e, em outras, diminuídos (antagonismo).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAWI, G.S. Root rots. In: SCHWARTZ, H.F.; PASTOR-CORRALES, M.A. (Ed.) **Bean production problems**. Cali: CIAT, 1989. p.105-157.
- ARMSTRONG, G. M.; ARMSTRONG, J.K. *Fusarium* wilt of bean in South Caroline and some host relations of the bean *Fusarium*. **Plant Disease Reporter**, v. 47, n.12, p. 1088-1091, 1963.
- ASSUNÇÃO, W.T.G. de; MOURA, R. M. Influência do parasitismo de *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 na patogenicidade das raças 1 e 2 de *Fusarium oxisporum* f. sp. *lycopersici* (SACC) Snyder & Hansen. **Publicação da Sociedade Brasileira de Nematologia**, n. 5, p.71-82, 1982.
- BANNO, K. Oferta e comercialização de feijão no Brasil. In: SEMINÁRIO SOBRE PRAGAS, DOENÇAS E PLANTAS DANINHAS DO FEIJOEIRO, 5. Piracicaba, 1994. **Anais**. Piracicaba, FEALQ, 1994. p.27-44.

- BERGESON, G.G; VAN GUNDY, S.D.; THOMASON, I.J. Effect of *Meloidogyne javanica* on rhizosphere microflora and *Fusarium* wilt of tomato. **Phytopathology**, v. 60, n. 8, 1245-1249, 1970.
- BONETI, J.I.S. & FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em mudas de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, n. 3, p. 553, 1981.
- BOOKBINDER, M.G.; BLOOM, J.R. An interaction of *Uromyces phaseoli* and *Meloidogyne incognita* on beans. **Journal of Nematology**, v.12, n. 3, p.177-182, 1980.
- BOWMAN, P.; BLOOM, J.R. Breaking the resistance of tomato varieties to *Fusarium* wilt by *Meloidogyne incognita*. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY; 58: DENVER, 1966. **Phytopathology**, v. 56, n. 8, p. 871, 1966 /Apresentado ao 58. Annual Meeting Phytopathological Society, Denver, 1966 – Abstracts/
- BRODIE, B.B.; COOPER, W.E. Relation of parasitic nematode to post emergence damping-off of cotton. **Phytopathology**, v.54, n. 8, p.1023-1027, 1964.
- CARDOSO, C.O.N. Contribuição ao estudo das relações entre *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e seu hospedeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Piracicaba, 1967. 67p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

- CARDOSO, C.O.N.; KIMATI, N.H.; FERNANDES, N.G. Nota sobre a ocorrência de *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *phaseoli* Kendrick & Snyder, causando murcha em feijoeiro. **Anais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**, v. 23, p. 273-276, 1966.
- CARDOSO, J.E.; RAVA, C.A. e SARTORATO, A., Doenças causadas por fungos de solo In: ARAÚJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M.J.O. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: POTAFÓS. 1996. seção 5, p.701-722.
- CARVALHO, J.C. O nematóide das galhas no algodoeiro e em outros hospedeiros. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 15, n.1, p. 173-179, 1955.
- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). **Sistema estándar para la evaluación de germoplasma de frijol**. Cali, 1987. 56p.
- COSTA, A.F.; COELHO NETO, R.A.; MIRANDA, P., Métodos de inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em feijão visando seleção de linhagens resistentes **Fitopatologia Brasileira**, v.14, p.135, 1989.
- CRUZ, B.P.N.; TERANISHI, J.; ISSA, E.; BERNARD, J.B.; ARRUDA, H.V. Resistência de cultivares de feijão vagem à murcha de *Fusarium*. **O Biológico**, v. 40, p. 25-32, 1974.

DONGO, S.L.D.; MÜLLER, L.E. Estudio sobre la patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* en el frijol. II. Pruebas varietales. **Turrialba**, v.19, n. 1, p. 82-90, 1969.

DUQUE , S.L.; MÜLLER, L.E. Estudio sobre la patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* en el frijol. I. Patogénesis e histología sintomatológica. **Turrialba**, v. 19, n. 1, p. 71-81, 1969.

ECHANDI, E. Amarillamiento del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) provocado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Turrialba**, v. 17, n. 4, p. 409-410, 1967.

FAO PRODUCTION YEARBOOK. – 1993, v. 47, - 1993.

FAWCETT, H.S. The importance of investigation on the effects of known mixtures of microorganisms. **Phytopathology**, v. 21, n. 5, p. 545-549, 1931.

FERRAZ, S.; LEAR, B. Internaction of four plant parasitic nematodes and *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* on carnation. **Experientiae**, v. 22 n. 11, p. 272-277, 1976.

FRANCE, R. A.; ABAWI, G.S. Interaction between *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* on selected bean genotypes. **Journal of Nematology**, v. 26, n. 4, p. 467-474, 1994.

- FREIRE, F.C.O.; FERRAZ, S. Nematóides associados ao feijoeiro, na Zona da Mata, Minas Gerais, e efeitos do parasitismo de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* sobre o cultivar "Rico 23". **Revista Ceres**, v. 24, n. 132, p. 141-149, 1977.
- GOODE, M.J.; McGUIRE, J.M. Relationship of root-knot nematodes to pathogenic variability in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Phytopathology**, v. 57, p. 812, 1967.
- GRIFFIN, G. D.; THYR, B. D. Interaction of *Meloidogyne hapla* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis* on alfalfa. **Phytopathology**, v. 78, n. 4, p. 421-425, 1988.
- HADISOEGANDA, W.W.; SASSER, J.N. Resistance of tomato, bean, southern pea and garden pea cultivars to root-knot nematodes based on host suitability. **Plant Disease Reporter**, v. 66, n. 2, p. 145-150, 1982.
- HARRIS, A. R.; FERRIS, H. Interactions between *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* and *Meloidogyne* spp. In *Vigna unguiculata*. 3. Pathogenesis by *F. o. tracheiphilum* as affected by *M. javanica* and host cultivar. **Plant Pathology**, v. 40, p. 465-475, 1991.
- HARTER, L.L. A *Fusarium* disease of beans. **Phytopathology**, v. 19, n. 1, p. 84, 1929.

- HARTMAN, K.M.; SASSER, J.N. Identificacion of *Meloidogyne* species on basis of differential host test and perineal pattern morfology. In: BARKER, K.R. CARTER, C.C. SASSER, J.N.. **An advanced treatise on *Meloidogyne*: methodology.** Raleigh: North Carolina State University, 1985. v. 2, p. 69-77.
- HILLOCKS, R. J.; MARLEY, P.S. Systemic effects of root-knot nematodes on mechanisms of resistance to fusarium wilt diseases. In: ASSOCIATION OF APPLIED BIOLOGISTS. **Physiological responses of plants to pathogens.** Wellesbourne, 1995. p. 267-275.
- HOOPER, D.J. Extraction of free-living stages from soil In: SOUTHEY J. F. **Laboratory methods for work with plant and soil nematodes.** London: Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 1986. p. 5-30.
- HUSSEY, R.S.; BARKER, K.R. A comparison of methods for collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter**, v.57, n. 12, p. 1025-1028, 1973.
- ITO, M.F.; CARBONELL, S.A.M.; POMPEU, A.S.; RAVAGNANI, S.; LOTE, R.C.; RODRIGUES, L.G.N. Variabilidade fisiológica de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 22, p. 270-271, 1997.

JACOBSEN, B.J.; MACDONALD, D.H.; BISSONETTE, H.L. Interaction between *Meloidoyne hapla* and *Verticillium albo-atrum* in the Verticillium wilt disease of potato. **Phytopathology**, v. 69 , n. 3, p. 288-292, 1979.

KENDRICK, J.B. Seed transmission of *Fusarium* yellows of beans. **Phytopathology**, v. 24, p. 1139, 1934.

KENDRICK, J.B.; SNYDER, W.C. *Fusarium* yellows of beans. **Phytopathology**, v. 32, p. 1010-1014, 1942.

KRISHNA RAO, V.; KRISNHAPPA, K. Interaction of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* with *Meloidogyne incognita* on chickpea in two soil types. **Indian Phytopathology**, v.49, n.2, p.142-147, 1996.

LÓPEZ, R. Susceptibilidad comparativa de diez cultivares de frijol comum (*Phaseolus vulgaris* L.) al ataque de *Meloidogyne incognita*. **Agronomia Costarricense**, v. 4, n. 1, p. 69-73, 1980.

LORDELLO, L.G.E. Contribuição ao conhecimento dos nematóides que causam galhas em raízes de plantas em São Paulo e estados vizinhos. **Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**, v. 21, p 181-218, 1964.

LORDELLO, L.G.E. Perdas causadas por nematóides **Revista Agricultura**, v. 51, n.3, p. 222, 1976.

- LORDELLO, L.G.E.; MELLO, A. T. F. Causas do declínio da cultura do feijão no norte do Paraná. **O Solo**, v. 62, n. 2, p. 15, 1970.
- LORDELLO, L.G.E.; SANTOS; C.F.O. Incidência de nematóides em culturas de feijão. **O Biológico**, v.26, n. 11, p. 213-217, 1960.
- MACE, M.E; BELL, A. A.; BECKMAN, C.H. (Ed.) **Fungal wilt diseases of plants**. New York: Academic Press, 1981. 640p.
- MAHESHWARI, T.U.; SHARMA, S.B.; REDDY, D.D.R.; HAWARE, M.P. Co-infection of wilt-resistant chickpeas by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v.27, suppl. 4, p.649-653, 1995.
- MAI, W.F. & ABAWI, G.S. Interactions among root-knot nematodes and *fusarium* wilt fungi on host plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 25, p. 317-338, 1987.
- MELAKEBERHAM, H.; WEBSTER, J.M.; BROOKE, R.S.; D'AURIA, J.M.; CACKETTE, M. Effect of *Meloidogyne incognita* on plant nutrient concentration and its influence on the physiology of beans. **Journal of nematology**, v. 19, n. 3, p. 324-330, 1987.
- MENEZES, J.R. Controle integrado de *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferr. em *Phaseolus vulgaris* L. irrigado por pivô central. Piracicaba, 1997. 120 p. Tese de Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

MENTEN, J.O.M.; LORDELLO, L.G.E.; TULMANN NETO, A.; ANDO, A.
Nematóides associados ao feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) no Estado de São Paulo: informações preliminares. **Publicação da Sociedade Brasileira de Nematologia**, n. 3, p. 206-212, 1980.

NASCIMENTO, S.R.C.; MARINGONI, A .C.; KUROSZAWA, C.
Comportamento de variedades e linhagens de feijoeiro ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 20, n. 3, p. 458-465, 1995.

NEWHALL, A.G. The incidence of Panamá disease of banana in the presence of the root knot and the burrowing nematodes (*Meloidogyne* and *Radopholus*). **Plant Disease Reporter**, v 47, n. 7, p. 853-857, 1958.

NGUNDO, B.W.; TAYLOR, D.P. Effects of *Meloidogyne* sp. on bean yields in Kenya. **Plant Disease Reporter**, v. 58, n. 11, p. 1020-1023, 1974.

OOSTENBRINK, M. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. **Mededelingen Landbouwhogeschool**, v. 66, p. 3-46, 1966.

PASTOR-CORRALES, M.A.; ABAWI, G.S. Reactions of selected bean germ plasms to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Plant Disease**, v. 71, n. 11, p. 990-993, 1987.

- PITCHER, R.W. Interrelationships of nematodes and other pathogens of plants. **Helminthological Abstracts**, v. 34, n. 1, p. 1-17, 1965.
- PIZA, S.M.T. Patogenicidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e reação de germoplasma de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). **Summa Phytopathologica**, v. 19, n. 3, p. 165-167, 1993.
- PORTER, D.M.; POWELL, N.T. Influence of certain *Meloidogyne* species on *Fusarium* wilt development in fluecured tobacco. **Phytopathology**, v. 57, n. 3, p. 282-285, 1967.
- POWELL, N.T. The role of plant parasitic nematodes in fungus diseases. **Phytopathology**, v. 53, n. 1, p. 28-35, 1963.
- POWELL, N.T. Interaction between nematodes and fungi in disease complexes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 9, n. 3, p. 253-274, 1971.
- POWELL, N.T.; NUSBAUM, C.J. The black shank root-knot complex in flue-cured tobacco. **Phytopathology**, v. 50, n. 12, p. 899-906, 1960.
- RAVA, C.A.; SARTORATO, A.; COSTA, J.G.C. Reação de genótipos de feijoeiro comum ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em casa de vegetação. **Fitopatologia Brasileira**, v. 21, n. 2, p. 296-300, 1996.

RIBEIRO, C.A.G. Resistência varietal do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Meloidogyne javanica* e a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e estudos da integração entre esses organismos. Viçosa, 1982. 70 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

RIBEIRO, C. A. G. ; FERRAZ, S. Estudos da interação entre *M. javanica* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). **Fitopatologia Brasileira**, v. 8, n. 3, p. 439-446, 1984.

RIBEIRO, R.L D.; HAGEDORN, D.J. Inheritance and nature of resistance in beans to *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. **Phytopathology**, v.69, n.8, p.859-861, 1979a.

RIBEIRO, R.L.D.; HAGEDORN, D.J. Screening for resistance to and pathogenic especialization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* the causal agent of bean yellows. **Phytopathology**, v. 69, n. 3, p. 272-276, 1979b.

SALGADO, M.O.;SCHWARTZ, H.F.; BRICK, M.A. Inheritance of resistance to a Colorado race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* in common beans. **Plant Disease**, v. 79, n. 3, p. 279-281, 1995.

SHANDS, H; VIEIRA, C.; ZAUMEYER, W.J., Observations on dry bean diseases in Brazil. **Plant Disease Reporter**, v.48, n. 10, p. 784-787, 1964.

- SHARMA, R.D. Patogenicity of *Meloidogyne javanica* to bean (*Phaseolus vulgaris* L.) **Publicação da Sociedade Brasileira de Nematologia**, n. 5, p.137-144, 1982.
- SHARMA, R.D.; CERKAUSKAS, R.F. Interação entre *Meloidogyne javanica* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* sobre grão-de-bico. **Nematologia Brasileira**, v. 9, p. 113-121, 1985.
- SHARMA, R.D.; GUAZELLI, R.J. Avaliação de algumas linhagens do feijoeiro resistentes ao nematóide da galhas *Meloidogyne javanica*. **Publicação da Sociedade Brasileira de Nematologia**, n.5, p.99-107, 1982.
- SHARMA, S.B.; SMITH, D.H.; MACDONALD, D. Nematode constraints of chickpea and pigeonpea production in the semiarid tropics. **Plant disease**, v. 76, n. 9, p. 867-874, 1992.
- SINGH, D.B.; PARVATHA REDDY, P.; SHARMA, S. R. Effect of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on *Fusarium* wilt of french beans. **Indian Journal of Nematology**, v.11, p. 84-85, 1981.
- STARR, J.L.; VEECH, J.A. Susceptibility to root-knot nematodes in cotton lines resistant to the *Fusarium* wilt/root-knot complex. **Crop Science**, v.26, n.3, p.543-546, 1986.

TAYLOR, A.L.; SASSER, J.N. **Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species).** Raleigh: North Carolina State University, 1978 111p.

VANDERPLANCK, J.E. **Plant disease: epidemics and control.** New York: Academic Press, 1963, 349 p.

VIEIRA, C. As doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) na Zona da Mata, Minas Gerais. **Revista Ceres**, v. 11, n. 62, p. 73-91, 1960.

YOKOYAMA, L.P.; BANNO, K.; KLUTHCOUSKI, J. Aspectos socioeconômicos da cultura In: ARAÚJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M.J.O. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil.** Piracicaba: POTAFÓS, 1996. seção 1, p. 1-21.