

# INFLUÊNCIA DO INÓCULO EM DIFERENTES NÍVEIS NA INTERAÇÃO ENTRE *GLOMUS ETUNICATUM* E *MELOIDOGYNE JAVANICA* EM FEIJOEIRO<sup>1</sup>

ANTONIO ALBERTO R. OLIVEIRA<sup>2</sup> e LAÉRCIO ZAMBOLIM<sup>3</sup>

**RESUMO** - Foi estudado, em casa de vegetação, o efeito da interação entre o fungo endomicorrízico *Glomus etunicatum* e o nematóide *Meloidogyne javanica*, em diferentes níveis de inóculo, sobre o desenvolvimento do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Costa Rica). A inoculação foi realizada no plantio com *G. etunicatum* nos níveis de inóculo de 0, 500, 1.000 e 2.000 clamidósporos/planta e *M. javanica* nos níveis de 0, 100, 1.000, 5.000 e 10.000 ovos/planta. Não houve diferença de infecção de raízes após 15 dias da inoculação com *G. etunicatum*. O aumento do nível de inóculo do nematóide ocasionou redução do crescimento das plantas, mas não afetou a colonização micorrízica. A inoculação com 10.000 ovos de *M. javanica* por planta foi similar ao nível de 5.000 ovos, nos danos causados ao feijoeiro. O aumento na densidade de inóculo do fungo micorrízico resultou em incremento significativo no peso da matéria seca do feijoeiro. Foi observado decréscimo na produção de ovos pelo nematóide quando *G. etunicatum* se encontrava presente na mesma planta. Os níveis de 1.000 e 2.000 clamidósporos de *G. etunicatum* por planta não diferiram no estímulo ao crescimento do feijoeiro e no efeito antagônico ao nematóide das galhas.

Termos para indexação: micorriza vesicular-arbuscular (MVA), nematóide das galhas, *Phaseolus vulgaris*.

## INFLUENCE OF INOCULUM LEVELS ON THE INTERACTION BETWEEN *GLOMUS ETUNICATUM* AND *MELOIDOGYNE JAVANICA* ON BEAN

**ABSTRACT** - The interaction of endomycorrhizal fungus *Glomus etunicatum* and the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*, was studied in the greenhouse using different inoculum levels on the bean (*Phaseolus vulgaris* cv. Costa Rica). Inoculation was performed at sowing, with *G. etunicatum* inoculum levels of 0, 500, 1,000 and 2,000 chlamydozoospores per plant and *M. javanica* levels of 0, 100, 1,000, 5,000 and 10,000 eggs per plant. Root infection rates did not differ 15 days after inoculation of *G. etunicatum*. With increasing inoculum density of the nematode, plant growth was reduced, but had no effect on mycorrhizal colonization or chlamydozoospore production by the fungus. There was no significant increase in damage to the bean plant when inoculum levels of *M. javanica* exceeded 5,000 eggs per plant. Decreased nematode egg production was observed in the presence of *G. etunicatum*. Levels above 1,000 chlamydozoospores of *G. etunicatum* did not differ in stimulating plant growth or in having an antagonistic effect on the root-knot nematode.

Index terms: vesicular mycorrhiza (VAM), root-knot nematode, *Phaseolus vulgaris*.

## INTRODUÇÃO

A baixa produtividade do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) pode ser atribuída a diversas causas e, dentre elas, ao grande número de doenças que incide sobre a cultura. O parasitismo de nematóides do gênero *Meloidogyne*, responsáveis pela formação de galhas em raízes, pode ocasionar perdas muito intensas no rendimento da cultura, quando as infestações são muito severas (Ribeiro & Ferraz

1983). Segundo Zaumeyer & Thomas (1957), em solo com elevados níveis populacionais a infestação severa das plantas pode ocasionar perdas culturais do feijoeiro de até 50%. Ngundo & Taylor (1974) verificaram, nessa cultura, que infestações severas com *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood e *M. javanica* (Treub) Chitwood acarretam reduções de até 60%.

Por outro lado, as raízes da maioria das plantas cultivadas formam associações simbióticas com fungos micorrízicos do tipo vesicular-arbuscular (MVA), que estimulam o crescimento destas, como reflexo da maior absorção de nutrientes, especialmente o fósforo (Mosse 1975). O sistema radicular das leguminosas normalmente apresenta densa infecção por MVA e, no caso específico do gênero

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 26 de fevereiro de 1987.

<sup>2</sup> Eng. - Agr., M.Sc., EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura (CNPMP), Caixa Postal 007, CEP 44380 Cruz das Almas, Bahia.

<sup>3</sup> Eng. - Agr., Ph.D., Prof., Dep. de Fitopat./UFV, CEP 36570 Viçosa, MG.

*Phaseolus*, pode variar a depender da cultivar testada (Hayman 1982).

As interações entre fungos micorrízicos VA e nematóides das galhas já foram registradas em diversas culturas de importância econômica (Dehne 1982a). A maioria dos relatos têm demonstrado que o fungo simbiote pode reduzir significativamente a atividade parasitária desses nematóides (Bagyaraj et al. 1979, Kellam & Schenck 1980, Roncadori & Hussey 1977, Strobel et al. 1982). De acordo com Schenck et al. (1975), a interação nematóides das galhas e fungo micorrízico VA em soja é complexa, variando com o endófito e a cultivar empregada. Na literatura, apenas Dehne (1982b) assinala o efeito da presença desses microrganismos em feijoeiro.

Visando determinar os efeitos de níveis de inóculo do fungo micorrízico *Glomus etunicatum* Becker & Gerd. e do nematóide das galhas *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood na interação destes microrganismos em feijoeiro, foi realizado o presente trabalho.

#### MATERIAL E MÉTODOS

O solo utilizado no ensaio foi coletado em campo de produção de feijão, da Universidade Federal de Viçosa. O solo foi misturado a igual volume de areia do rio, ambos previamente fumigados com brometo de metila, na dosagem de 80 cc/m<sup>3</sup> de substrato.

Da competição de sete espécies de MVA em feijoeiro selecionou-se *Glomus etunicatum*, cujo inóculo consistiu de suspensão de clamidósporos extraídos pela técnica de flutuação centrífuga em solução de sacarose (Jenkins 1964). Como inóculo de *Meloidogyne javanica* foi utilizada suspensão de ovos obtidos de tomateiro variedade Santa Cruz, extraídos por trituração e peneiramento de raízes em hipoclorito de sódio 0,5%, segundo metodologia modificada por Boneti (1981).

A inoculação do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* cv. Costa Rica) foi realizada por ocasião do plantio, adotando-se para *M. javanica* os seguintes níveis de inóculo: zero (testemunha), 100, 1.000, 5.000 e 10.000 ovos por planta. Para o fungo micorrízico *G. etunicatum* os níveis de inóculo foram: zero (testemunha), 500, 1.000 e 2.000 clamidósporos por planta. Os vasos não inoculados receberam 25 ml do filtrado das suspensões, após duas passagens em papel-de-filtro e peneira de 500 meshes.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, sendo os tratamentos dispostos num arranjo fatorial 5 x 4, com cinco repetições. Acrescentaram-se três repetições a cada tratamento, num total de 60 unidades experimentais, a fim de avaliar a percentagem de pene-

tração do fungo MVA, decorridos 15 dias da inoculação. Cada parcela foi constituída por duas plantas, destinando-se o sistema radicular de uma delas à determinação de infecção micorrízica e à extração de ovos de *M. javanica*.

Os efeitos dos tratamentos foram avaliados pela determinação dos sítios de penetração 15 dias após inoculação, produção de clamidósporos no solo, produção de ovos no sistema radicular, infecção micorrízica, produção de vagens por planta, e pela determinação do peso de matéria seca da parte aérea e raízes ao final de 60 dias. As médias das temperaturas mínimas e máximas na casa de vegetação, nesse período, foram 20,7°C e 34,9°C, respectivamente.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O peso da parte aérea seca e o número de vagens por planta foram significativamente afetados pelos níveis de inóculo de *M. javanica* e *G. etunicatum*. Na presença do nematóide obteve-se redução desses parâmetros à medida que se aumentava o nível de inóculo por planta; respostas crescentes no peso da matéria seca da parte aérea eram obtidas sempre que se elevava o nível de inóculo do fungo micorrízico (Fig. 1).

Esses resultados estão relacionados com os distúrbios fisiológicos provocados pela invasão do parasita nas raízes da planta hospedeira. Segundo Taylor & Sasser (1978), as modificações ocorridas na parte aérea de plantas infectadas por nematóides *Meloidogyne* sp. podem ser consequência das alterações ocorridas no sistema radicular, que apresentaram menor capacidade exploratória, além de apresentarem os elementos vasculares obstruídos, diminuindo, assim, a absorção e a translocação de nutrientes.

Essas indicações são confirmadas pelos resultados obtidos por Freire & Ferraz (1977), que encontraram extrema suscetibilidade do feijoeiro cv. Rico 23 a *M. javanica* e *M. incognita*, expressa por redução significativa no número de vagens por planta, peso das sementes e altura das plantas. Resultados semelhantes também foram obtidos por Sharma (1982), em feijoeiro cv. Roxinho, submetido a níveis crescentes de inóculo de *M. javanica*. O autor encontrou redução significativa no peso da parte aérea seca das plantas nos tratamentos com inóculo inicial de 1.000 ou mais ovos por quilo de solo.

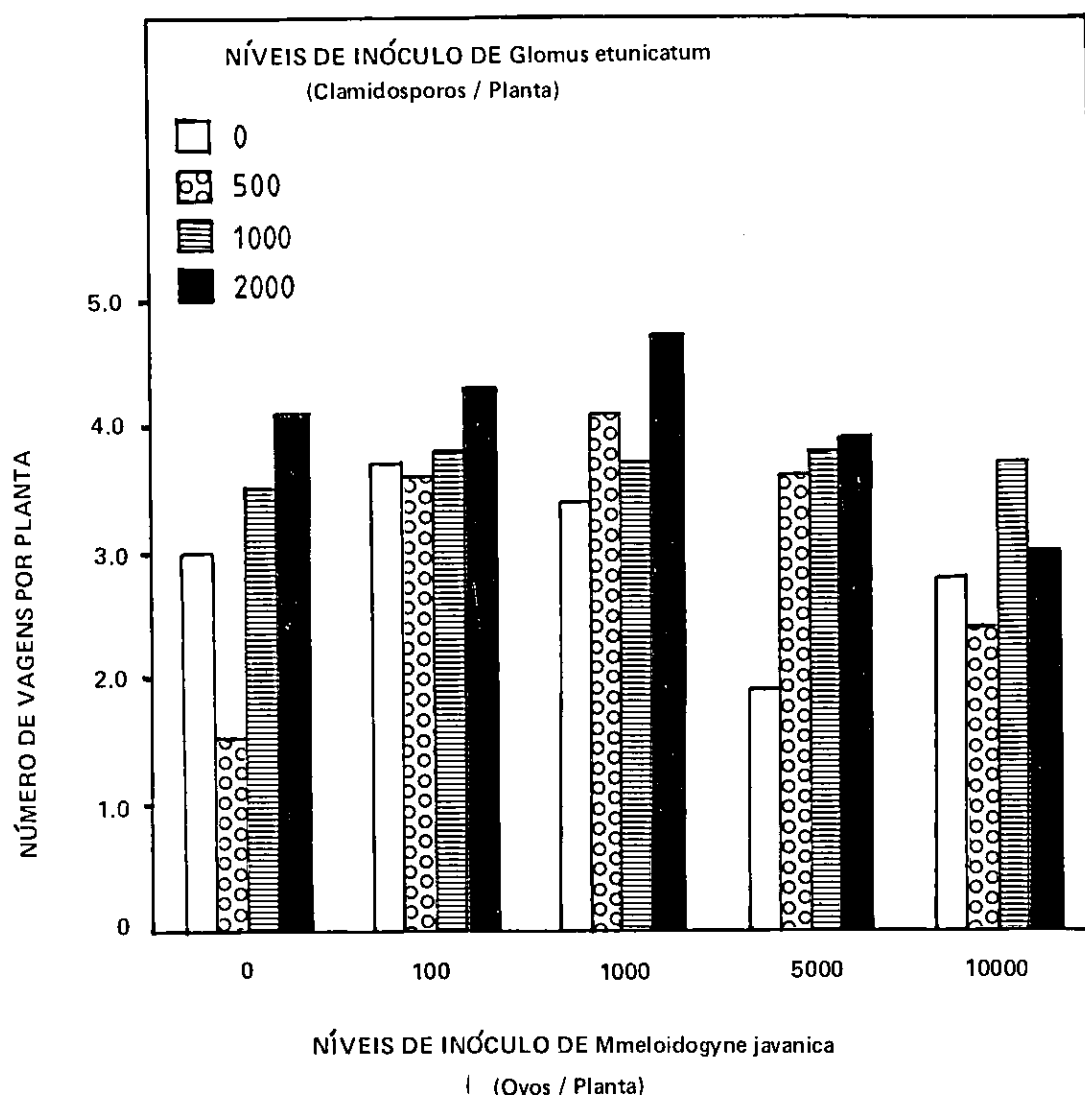


FIG. 1. Influência de níveis de inóculo de *M. javanica* e/ou *G. etunicatum* sobre o peso da parte aérea seca de feijoeiro.

Trabalhando com fungos micorrízicos vesicular-arbusculares, Nemec (1978) observou que um nível de inóculo com dez esporos por vaso pode ser tão efetivo para promover o crescimento de plantas quanto uma alta taxa de propágulos (superior a 2.000 esporos por vaso). Neste ensaio, a interação entre os níveis de inóculo dos dois organismos não se mostrou significativa para o peso da parte aérea seca e produção de vagens. Com relação ao peso do sistema radicular, obteve-se significância na interação dos níveis de inóculo de *M. javanica* e *G. etunicatum*. Aumentos da densidade de inó-

culo do fungo micorrízico refletiram-se em incremento significativo no peso do sistema radicular seco, apesar da ação parasitária do nematóide em todos os níveis de inóculo (Tabela 1).

A Fig. 2 mostra o aumento na produção de vagens à medida que se elevam os níveis de inóculo de *G. etunicatum*. O aumento dos níveis de inóculo de *M. javanica* ocasiona redução do número de vagens por planta, sendo esta redução menos acentuada quando o nematóide foi inoculado na presença do fungo MVA.

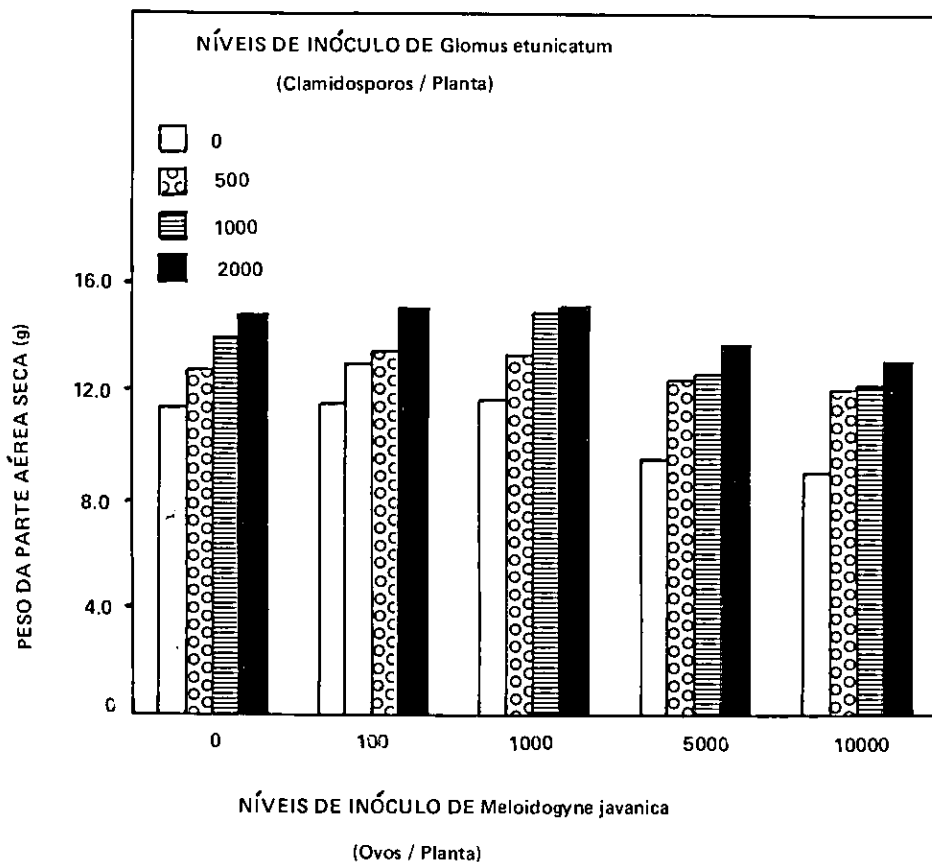
**TABELA 1.** Influência de níveis de inóculo de *Meloidogyne javanica* e/ou *Glomus etunicatum* sobre o peso do sistema radicular seco (g) do feijoeiro<sup>1</sup>.

| <i>G. etunicatum</i><br>(Clamidósporos/planta) | Níveis do inóculo                |         |        |         |         |
|------------------------------------------------|----------------------------------|---------|--------|---------|---------|
|                                                | <i>M. javanica</i> (Ovos/planta) |         |        |         |         |
|                                                | 0                                | 100     | 1.000  | 5.000   | 10.000  |
| 0                                              | 3,6 aA                           | 3,7 aA  | 3,6 aA | 3,4 aA  | 3,1 aA  |
| 500                                            | 4,0 abA                          | 4,2 abA | 4,2 aA | 4,6 aA  | 4,2 aA  |
| 1.000                                          | 5,1 abA                          | 3,9 abA | 4,5 aA | 5,1 abA | 6,7 bB  |
| 2.000                                          | 5,7 bA                           | 5,6 bA  | 6,7 bA | 5,9 abA | 5,9 abA |

C V (%) 21,24

<sup>1</sup> Os dados referem-se à média de cinco repetições.

Médias seguidas da mesma letra minúscula, dentro da mesma coluna ou seguidas da mesma letra maiúscula, dentro da mesma linha, não diferem, estatisticamente, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.



**FIG. 2.** Influência de níveis de inóculo de *M. javanica* e/ou *G. etunicatum* sobre a produção de vagens de feijoeiro.

O reduzido número de vagens observado na testemunha, em todos os ensaios deste trabalho, deve-se, em parte, à metodologia de avaliação desse parâmetro, que consistiu na contagem de somente vagens bem formadas com grãos viáveis. Além disso, a cultivar de feijão em estudo apresenta características de produção mais tardia.

Como se pode observar na Fig. 3, o aumento dos níveis de parasitismo de *M. javanica* induziu aumento da produção de ovos no sistema radicular do feijoeiro. Foi observado decréscimo significativo na produção de ovos pelo nematóide quando

*G. etunicatum* esteve presente na mesma planta, sugerindo efeito antagônico do fungo MVA sobre a reprodução de *M. javanica*, possivelmente devido a mudanças fisiológicas no hospedeiro. Níveis crescentes de inóculo de *G. etunicatum* proporcionaram maior produção de clamidósporos no solo e infecção micorrízica (Fig. 4 e 5).

Todavia, o aumento do nível de inóculo do nematóide não interferiu com a produção de clamidósporos no solo, nem com a penetração das hifas e infecção micorrízica, o que indica pouca influência de *M. javanica* sobre a evolução da infecção mi-

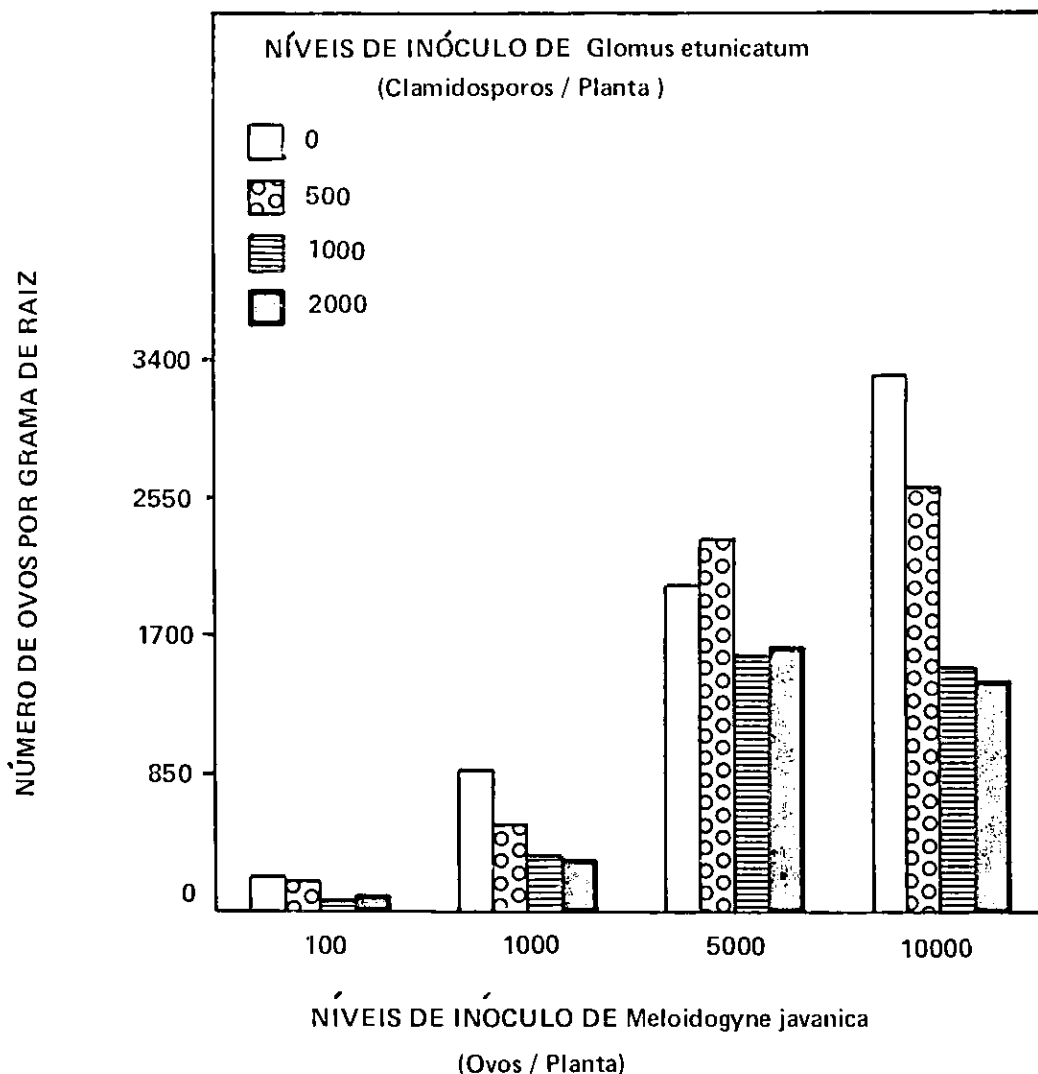


FIG. 3. Influência de níveis de inóculo de *M. javanica* e/ou *G. etunicatum* sobre a produção de ovos de *M. javanica*

corrizica. Vários pesquisadores (Dehne 1982b, Fox & Spasoff 1972, Kellam & Schenck 1980, Schenck 1981) relataram que na interação entre fungos MVA e nematóides endoparasitas, o fator preponderante na redução do parasitismo dos nematóides é a competição por sítio de penetração, indicando que a influência adversa do simbiote sobre a taxa de penetração e formação de galhas por *Meloidogyne* spp. está estritamente limitada às raízes colonizadas pelo fungo.

Nos níveis de inóculo testados não foi encontrada diferença entre os sítios de penetração de *G. etunicatum* avaliados após 15 dias da inoculação. Daniels et al. (1981) demonstraram, experimentalmente, que o nível de inóculo não afetava o progresso da infecção de quatro espécies de *Glomus* em sorgo. As diferenças da infecção micorrízica somente se tornavam mais evidentes entre três e quatro semanas após a inoculação.

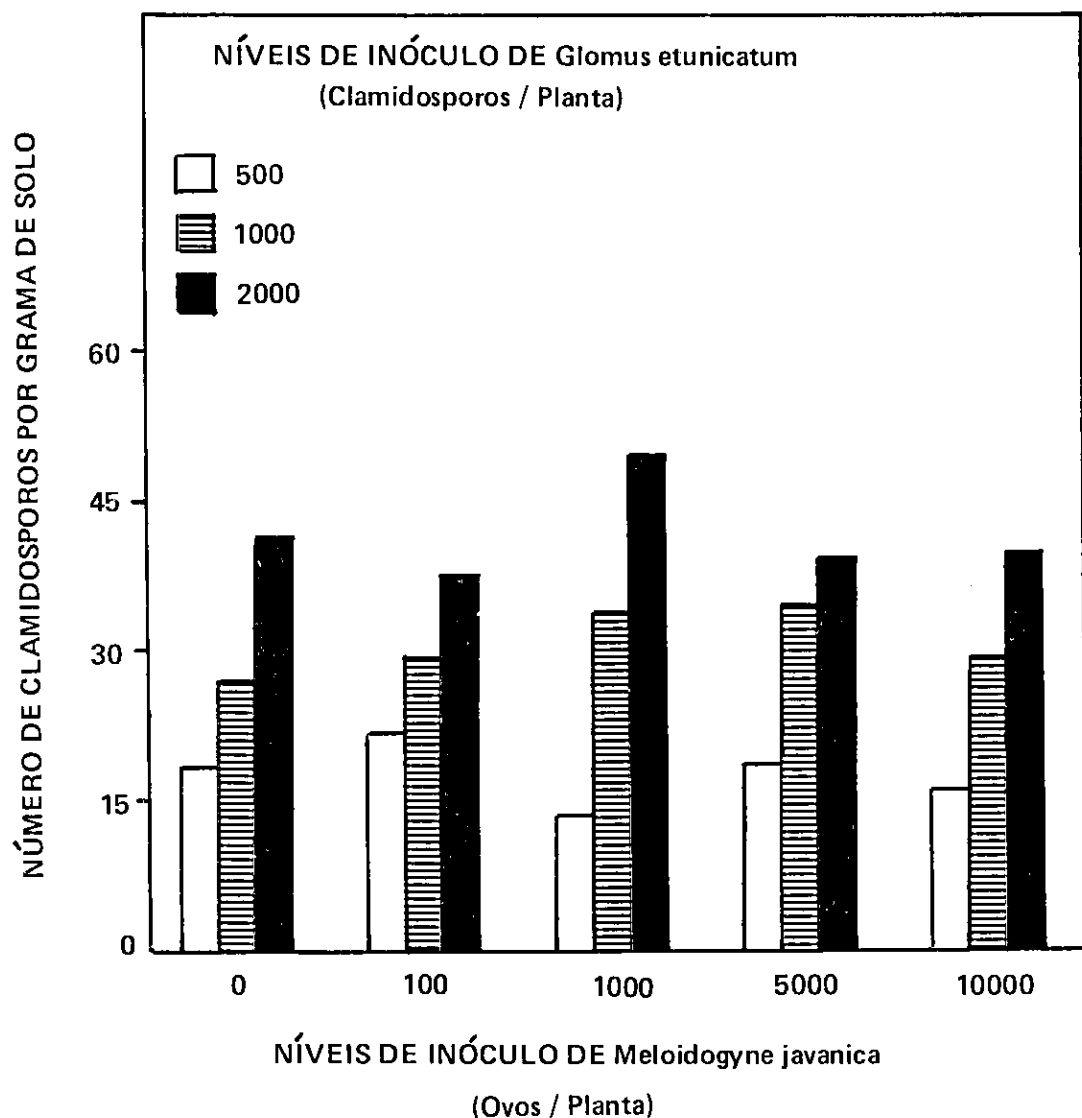


FIG. 4. Influência de níveis de inóculo de *M. javanica* e/ou *G. etunicatum* sobre a produção de clamidósporos de *G. etunicatum* em feijoeiro.

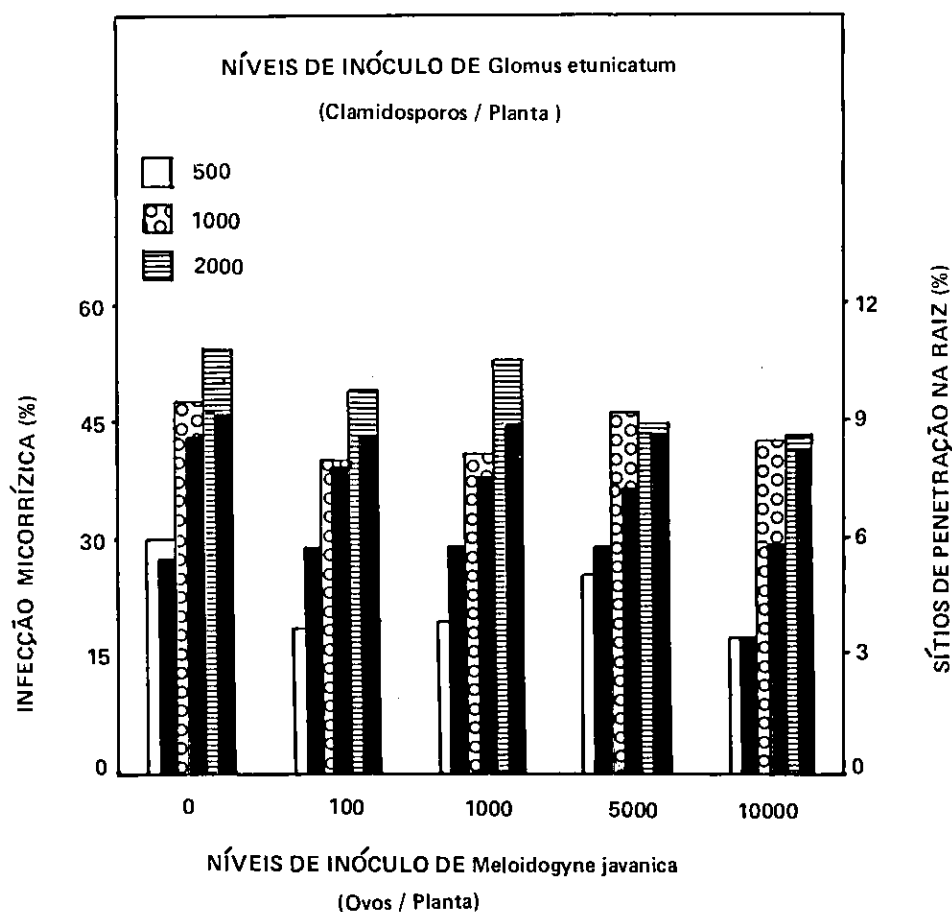


FIG. 5. Influência de níveis de inóculo de *M. javanica* e/ou *G. etunicatum* sobre a infecção micorrízica e os sítios de penetração de *G. etunicatum* em feijoeiro. As colunas escuras representam a percentagem de penetração de hifas de *G. etunicatum* 15 dias após a inoculação.

Verificou-se, no ensaio em apreço, que os níveis de 1.000 e 2.000 clamidósporos por planta em todos os parâmetros analisados não diferiram. Fato semelhante pôde ser observado com níveis de 5.000 e 10.000 ovos de *M. javanica* por planta que não foram diferentes nos danos causados ao feijoeiro.

#### CONCLUSÕES

1. Decorridos 15 dias da inoculação do feijoeiro cv. Costa Rica com *Glomus etunicatum* não se observou diferença entre os sítios de penetração nas densidades de inóculo estudadas.

2. O aumento do nível de inóculo de *Meloidogyne javanica* ocasionou redução no crescimento do feijoeiro, mas não interferiu na produção de

clamidósporos de *G. etunicatum*, nem no grau de infecção micorrízica.

3. Os níveis de 5.000 e 10.000 ovos de *M. javanica* por planta não diferiram nos danos causados ao feijoeiro.

4. O aumento da densidade de inóculo de *G. etunicatum* reduziu os danos provocados pelo nematóide nas raízes das plantas, independente da densidade de inóculo de *M. javanica*.

5. A inoculação com clamidósporos do fungo MVA *G. etunicatum* nos níveis de 1.000 e 2.000 por planta, teve comportamento semelhante em relação ao crescimento do feijoeiro cv. Costa Rica e no efeito antagônico ao nematóide das galhas *Meloidogyne javanica*.

#### REFERÊNCIAS

- BAGYARAJ, D.J.; MANJUNATH, A.; REDDY, D.D.R. Interaction of vesicular-arbuscular mycorrhiza with root knot nematodes in tomato. *Plant Soil*, 51: 397-403, 1979.
- BONETTI, J.I.S. Inter-relacionamento de micronutrientes com o parasitismo de *Meloidogyne exigua* em mudas de caféiro (*Coffea arabica* L.). Viçosa, UFV/Imprensa Universitária, 1981. 75p. Tese Mestrado.
- DANIELS, B.A.; MCCOOL, P.M.; MENGE, J.A. Comparative inoculum potential of spores of six vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.*, 89: 385-91, 1981.
- DEHNE, H.W. Interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. *Phytopathology*, 72:1115-9, 1982a.
- DEHNE, H.W. Morphologische Veränderungen unter dem Einfluss der Endotrophen Mycorrhiza. *Beitr. Biol. Pflanz.*, 56:209-15, 1982b.
- FOX, J.A. & SPASOFF, L. Interaction of *Heterodera solanacearum* and *Endogone gigantea* on tobacco. *J. Nematol.*, 4:224-5, 1972.
- FREIRE, F.C.O. & FERRAZ, S. Resistência de cultivares de feijoeiro a *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* e influência da temperatura e exudação radiculares sobre a eclosão de suas larvas. *R. Ceres*, 24(133): 247-60, 1977.
- HAYMAN, D.S. Practical aspects of vesicular-arbuscular mycorrhiza. In: RAO, N.S.S., ed. *Advances in agricultural microbiology*. London, Butterworth, 1982. p.325-73.
- JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Dis. Rep.*, Beltsville, 48:692, 1964.
- KELLAM, M.K. & SCHENCK, N.C. Interactions between a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and root-knot nematode on soybean. *Phytopathology*, 70: 293-6, 1980.
- MOSSE, B. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B., ed. *Endomycorrhizas*. London, Academic, 1975. p.171-96.
- NEMEC, S. Responses of six citrus rootstocks to three species of *Glomus*, a mycorrhizal fungus. *Proc. Fla. State Hortic. Soc.*, 91:10-4, 1978.
- NGUNDO, B.W. & TAYLOR, D.P. Effects of *Meloidogyne* sp. on bean yields in Kenya. *Plant Dis. Rep.* 58:1020-3, 1974.
- RIBEIRO, C.A.G. & FERRAZ, S. Resistência varietal do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Meloidogyne javanica*. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA, 7, Brasília, 1973. *Trabalhos apresentados*. Piracicaba, Sociedade Brasileira de Nematologia, 1983. p.261-70.
- RONCADORI, R.W. & HUSSEY, R.S. Interaction of the endomycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* and root-knot nematode on cotton. *Phytopathology*, 67:1507-11, 1977.
- SCHENCK, N.C. Can mycorrhizae control root disease? *Plant Dis.*, 65(3):230-4, 1981.
- SCHENCK, N.C.; KINLOCH, R.A.; DICKSON, D.W. Interaction of endomycorrhizal fungi and root-knot nematode on soybean. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B. & TINKER, P.B., ed. *Endomycorrhizas*. London, Academic, 1975. p.607-17.
- SHARMA, R.D. Pathogenicity of *Meloidogyne javanica* to bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In: REUNIÃO BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA, 5, Londrina, 1981. *Trabalhos apresentados*. Piracicaba, Sociedade Brasileira de Nematologia. 1982. p.137-44.
- STROBEL, N.E.; HUSSEY, R.S.; RONCADORI, R.W. Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi, *Meloidogyne incognita*, and soil fertility on peach. *Phytopathology*, 72:690-4, 1982.
- TAYLOR, A.L. & SASSER, J.N. Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). Raleigh, North Carolina State University, 1978. 11p. (International Meloidogyne Project)
- ZAUMEYER, W.J. & THOMAS, H.R. A monographic study of bean diseases and methods for their control. *U.S. Dep. Agric. Tech. Bull.*, (868), 1957.