

MARIA MENEZES

Engenheiro Agrônomo

**Técnico da Superintendência do
Desenvolvimento do Estado do Ceará - SUDEC**

**RELAÇÕES ENTRE *Fusarium Oxysporum* f. sp. *vasinfectum*
(ATK) SNYD. & HANS. E DIFERENTES HOSPEDEIROS NÃO SUSCETIVEIS**

Orientador: Prof. Dr. ERIC BALMER

Dissertação apresentada à Escola Superior
de Agricultura "Luiz de Queiroz" da
Universidade de São Paulo, para obtenção
do título de Mestre

**PIRACICABA
ESTADO DE SÃO PAULO - BRASIL**

1972

À

memoria de meus pais,
dedico.

A G R A D E C I M E N T O S

Apresento os mais sinceros agradecimentos:

Ao Professor Dr. ERIC BALMER pela valiosa orientação, estímulo, apoio e sugestões prestadas durante a realização do presente trabalho e redação da tese.

Ao Professor Dr. FERDINANDO GALLI, Diretor da ESALQ, pelas atenções e estímulo no transcorrer do Curso de Pós-Graduação de Fitopatologia.

Aos professores: Dr. HASIME TOKESHI, Dr. HIROSHI KIMATI e Dr. CAIO O. N. CARDOSO pela prestimosa colaboração na revisão dos originais e sugestões.

À Coordenação do Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida, a qual tornou possível a participação no Curso de Pós-Graduação e realização deste trabalho.

À Escola Superior de Agricultura "LUIZ DE QUEIROZ" e ao Departamento de Fitopatologia pelas facilidades oferecidas para execução dos trabalhos inerentes ao curso.

Ao OSWALDO A. P. PEREIRA, estagiário do Departamento de Fitopatologia, pela imprescindível ajuda.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação de Fitopatologia.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia, especialmente ao Sr. SAMUEL MARTINS pelo auxílio nas instalações dos experimentos.

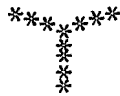
Aos funcionários da Biblioteca Central da E.S.A.L.Q.

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

Í N D I C E

| | <u>Página</u> |
|---|---------------|
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 2 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS | 7 |
| 3.1. Meios de cultura utilizados | 7 |
| 3.2. Isolamento e reisolamento de patógeno | 8 |
| 3.3. Manutenção das culturas | 8 |
| 3.4. Preparo do inóculo | 8 |
| 3.5. Inoculação | 9 |
| 3.5.1. Inoculação através de ferimentos no sistema radicular | 9 |
| 3.5.2. Inoculação através de ferimentos no caule | 9 |
| 3.6. O patógeno | 10 |
| 3.7. Obtenção dos isolados de <u>Fusarium</u> do algodoeiro | 13 |
| 3.7.1. Pressão de seleção exercida pelas diferentes plantas, quando cultivadas por ocasião da 1ª passagem, na presença de nematóides do gênero <u>Meloidogyne</u> | 13 |
| 3.7.2. Pressão de seleção exercida pelas diferentes plantas cultivadas na ausência de nematóides por ocasião da 1ª passagem | 18 |
| 3.8. O hospedeiro | 21 |
| 3.9. Substrato utilizado para obtenção das plantas | 23 |
| 3.10. Obtenção das plantas para inoculação | 23 |
| 3.10.1. Plantas utilizadas como possíveis hospedeiros não suscetíveis | 23 |
| 3.10.2. Variedade de algodão suscetível | 24 |
| 3.11. Avaliação dos sintomas | 24 |
| 3.11.1. Sintomas em algodoeiro | 24 |
| 3.11.2. Sintomas nas demais plantas | 24 |
| 4. RESULTADOS | 25 |
| 4.1. Resultados da pressão de seleção exercida pelos possíveis hospedeiros não suscetíveis, quando cultivados, por ocasião da 1ª passagem, em presença de nematóides do gênero <u>Meloidogyne</u> | 25 |

| | |
|---|----|
| 4.2. Resultados da pressão de seleção exercida pelos hospedeiros não suscetíveis quando cultivados, por ocasião da 1ª passagem na ausência de nematóides. | 32 |
| 5. DISCUSSÃO | 38 |
| 6. CONCLUSÕES | 43 |
| 7. RESUMO | 44 |
| 8. SUMMARY | 45 |
| 9. BIBLIOGRAFIA CITADA | 46 |



1. INTRODUÇÃO

A cultura do algodoeiro está incluída entre as principais do país , tendo contribuído para economia do Brasil, no ano de 1969, com uma produção de 2.110.775 toneladas, no valor de Cr\$ 1 048 687 861,00. Entre os estados produtores, destaca-se São Paulo, com uma produção de 551.493 t, correspondente ao valor de Cr\$ 299 973 990,00 (16). Entretanto, essa cultura tem sido muito prejudicada pela ocorrência de doenças. Entre as mais severas encontra-se a murcha do algodoeiro, causada pelo fungo Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum (Atk) Snyd & Hans., que tem causado sérios prejuízos aos cotonicultores. Muitos trabalhos foram desenvolvidos (26, 19 e 29) para obtenção de variedades resistentes, como medida de controle, tendo havido posteriormente relatos (14) da ocorrência de murcha em plantas de variedades resistentes.

A primeira constatação da doença, no país, foi feita em 1935 no Nordeste Brasileiro (24), tendo sido relatado no Estado de São Paulo somente em 1957 (15).

O agente causal é um patógeno cujo controle é dificultado em virtude do fungo viver saprofiticamente no solo e ser capaz de sobreviver a condições desfavoráveis, através das estruturas de resistência.

A descoberta de que o Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum também pode penetrar em plantas pertencentes a outras famílias além das malváceas (1, 4), causando ou não sintomas de murcha, fez com que muitos trabalhos fossem desenvolvidos a fim de pesquisar os possíveis hospedeiros comuns a este fungo.

A persistência do Fusarium do algodoeiro em determinado solo pode portanto resultar, em parte, da invasão e colonização de plantas não suscetíveis, plantas estas que não apresentam sintomas de murcha.

A presente pesquisa teve como finalidade conhecer o comportamento do

agente causador da murcha do algodoeiro em relação a diversas espécies vegetais cultivadas no Estado de São Paulo, bem como oferecer subsídios para pesquisas futuras que venham equacionar um programa de controle da doença através da prática de rotação de cultura com base em conhecimento científico.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O F.oxysporum, agente causal de doenças vasculares denominadas, vulgarmente, de murcha, apresenta várias "formae speciales" que são distinguidas pelo hospedeiro específico onde as mesmas ocorrem. Vários trabalhos têm sido desenvolvidos para verificação da especificidade hospedeira, existindo uma vasta bibliografia, principalmente para a "forma specialis" vasinfectum, objeto desta pesquisa.

Atkinson, segundo FAHMY (21), foi quem primeiro estudou a murcha do algodoeiro nos Estados Unidos em 1882, tendo isolado, naquela ocasião, o patógeno e descrito como Fusarium vasinfectum Atk. Posteriormente, SNYDER & HANSEN (28) denominaram-no de Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum (Atk) Snyd & Hans., daqui por diante simplesmente referido como Fusarium do algodoeiro.

ARMSTRONG (1) relatou a ocorrência, na Carolina do Sul, de murcha em fumo Burley (Nicotiana tabacum L.) em local onde anteriormente ocorrera murcha do algodoeiro (Gossypium hirsutum L.).

ARMSTRONG (2) iniciou seus estudos sobre inoculações cruzadas, utilizando os isolados de Fusarium spp., obtidos de algodão e fumo Burley que apresentaram sintomas de murcha, e variedades suscetíveis de algodão e fumo, respectivamente Farm Relief e Burley 5, e ainda variedades resistentes de

fumo Burley 31 e Gold Dollar. Devido a elevada percentagem de plantas com sintomas de murcha, tanto das variedades suscetíveis de algodão e fumo Burley como das variedades de fumo Burley 31 e Gold Dollar consideradas resistentes, após inoculação com os isolados de Fusarium spp, acima referidos, concluiu aquele autor que o Fusarium obtido do fumo era o mesmo que o Fusarium do algodoeiro, ou seja, F. oxysporum f. sp. vasinfectum.

Por outro lado, ARMSTRONG et al (12) considerando que o Fusarium do algodoeiro já havia sido isolado de Cassia tora L., em 1937, fizeram inoculações cruzadas utilizando "formae speciales" do fungo para diferentes espécies de plantas, tais como, cowpea (Vigna sinensis Endl) var. Cal. Black eye, quiabo (Hibiscus esculentus L.) var. Clemson Spineless, tomate (Lycopersicon esculentum Mill) var. Improved Earliana, melancia (Citrullus vulgaris Schrad) var. Florida Giant, e algodão (Gossypium hirsutum L.) var. Farm Relief 2. Com relação a "forma specialis" vasinfectum houve recuperação deste fungo em todos os casos, excetuando-se para melancia.

ARMSTRONG et al (13) relataram que o Fusarium do algodoeiro foi recuperado em percentagem relativamente alta, quando inoculado em variedade de algodoeiro resistente ao Fusarium, indicando, que a resistência não era devida a falta de penetração do patógeno no hospedeiro. Baseados no fato de que o fungo pode ser encontrado no caule de variedades resistentes de algodoeiro, sem contudo, causar sintomas externos ou internos da doença, ARMSTRONG & ARMSTRONG (4) investigaram a possibilidade da existência de hospedeiros não suscetíveis como portadores do Fusarium do algodoeiro, fazendo inoculações em plantas de batata-doce (Ipomoea batatas L.) var. Porto Rica. Embora as plantas inoculadas não apresentassem sintomas, o fungo foi recuperado e sua identidade evidenciada através do teste de patogenicidade em algodão suscetível.

Do mesmo modo, ARMSTRONG & ARMSTRONG (5), tendo em vista a falta de especificidade do Fusarium do algodoeiro, uma vez que o mesmo pode ocorrer

em fumo Burley, quiabo e Cassia, fizeram investigações com o F. oxysporum f. sp. tracheiphilum (E.F.S.) Snyder & Hans., agente causador da murcha de cowpea (Vigna sinensis Endl.). Nestas pesquisas foram incluídas as variedades de soja L.Z., Yelnando e Mammoth Yellow, pelo fato de haver relatos (20) de que a murcha da soja (Soja max (L) Piper) era causada pelo Fusarium do cowpea. Os resultados obtidos indicaram a existência de duas raças fisiológicas de F. oxysporum f. sp. tracheiphilum: a raça 1, que causava sintomas de murcha em algumas variedades de soja e cowpea, e a raça 2, que causava doença somente em cowpea.

Inoculações cruzadas, à procura de hospedeiros comuns para o Fusarium do algodoeiro, foram continuadas por ARMSTRONG & ARMSTRONG (6) com isolados de F. oxysporum f. sp. medicaginis (Weimer) Snyder & Hans., F. oxysporum f. sp. vasinfectum e F. oxysporum f. sp. cassiae Armstr., agentes causadores da murcha em alfafa (Medicago sativa L.), algodão (Gossypium hirsutum L.) e Cassia (Cassia tora L.), respectivamente, tendo chegado à conclusão de que a alfafa é um hospedeiro comum para as três "formae speciales" acima citadas, por causarem sintomas de murcha em alfafa.

Do mesmo modo, ARMSTRONG & ARMSTRONG (10) chegaram à conclusão que Lupinus spp é um hospedeiro comum para o Fusarium do algodoeiro, causando as raças 1 e 2, do citado fungo, sintomas externos e internos da doença, em Yellow (Lupine luteus) var. Neven da Holanda, var. Weiko III F. C. 3389, e var. Kilgore, como também em White (Lupine albus) var. Chilton F.C. 33849.

Os trabalhos de ARMSTRONG & ARMSTRONG (1, 2, 7, 8, 9 e 10) e ARMSTRONG et al (12) mostram que o Fusarium do algodoeiro não foi tão específico na sua relação patógeno-hospedeiro, como o foi o F. oxysporum f. sp. lycopersici (Sacc.) Snyder & Hans., causador da murcha do tomateiro (Lycopersicon esculentum L.).

SMITH & SHAW (27) alicerçados em ARMSTRONG (1, 2) e ARMSTRONG et al

(12) fizeram inoculações cruzadas envolvendo F. oxysporum f. sp. vasinfectum, F. oxysporum f. sp. nicotianae Johnson e Hans e F. oxysporum f. sp. batatas (Wr.) Snyder & Hans., e as variedades: Half and Half e Cookers 100-1 de algodão (Gossypium hirsutum L.); Flue-cured Jamaica e Burley Judy Pride de fumo (Nicotiana tabacum L.); e Porto Rico de batata-doce (Ipomoea batatas (L.) Lam.). Dos 19 isolados de Fusarium do algodoeiro testados, todos foram patogênicos em fumo Burley e algodão, uns levemente patogênicos e outros não patogênicos em fumo Flue-cured, e nenhum foi patogênico em batata-doce. Os testes, acima mencionados, foram conduzidos em casa de vegetação com uma temperatura variando de um máximo 43,3°C ao meio dia, a um mínimo de 15,5°C à noite e dias nublados de inverno. Verificaram ainda que os resultados obtidos para os testes conduzidos em épocas mais quentes, com a média das temperaturas máximas em torno de 38°C, foram o dobro daqueles obtidos em testes conduzidos em épocas com temperaturas baixas. Os mesmos autores observaram que no campo existem duas relações, ou sejam, a ocorrência de Fusarium causador da murcha do fumo Flue-cured associada com rotações de batata-doce, e a ocorrência de Fusarium da murcha do fumo Burley associada com rotações de algodão, o que foi confirmado posteriormente por ensaios de inoculação.

HENDRIX & NIELSEN (22) em suas investigações sobre o Fusarium da murcha de batata-doce, F. oxysporum f. sp. batatas, verificaram que o Fusarium do algodoeiro, quando inoculado em batata-doce da variedade Porto Rico, invadia e colonizava as raízes e caules, sem no entanto causar sintomas, e que o F. oxysporum f. sp. batatas é F. oxysporum f. sp. lycopersici, também podem perpetuar-se em plantas diferentes do hospedeiro típico sem que haja produção de sintomas. Entretanto, foi notado, para F. oxysporum f. sp. lycopersici, uma redução na virulência após passagem pela batata-doce.

ARMSTRONG & ARMSTRONG (7) verificaram um aumento de patogenicidade para o Fusarium do algodoeiro quando inoculado em soja (Glycine max (L.)

Merrill) var. Yelredo e nas variedades de fumo Flue-cured Gold Dollar e Burley Kentucky 5. Considerando que alguns isolados do Fusarium do algodoeiro (raça 1) causavam pequena percentagem de murcha em soja Yelredo (2,6%) e fumo Flue-cured Gold Dollar (5,6%), atribuíram o aumento de patogenicidade a uma mutação para a raça 2.

SMITH & SHAW (27) estudaram a estabilidade para a patogenicidade do Fusarium do algodoeiro, além de outros, durante repetidas inoculações e reisolamentos em plantas resistentes, isto é, hospedeiros não suscetíveis. Verificaram estes pesquisadores que o Fusarium do algodoeiro, após 7 passagens através de plantas de fumo Flue-cured, não apresentou aumento na sua patogenicidade com relação às plantas de fumo, uma vez que a reação dos isolados variou de patogenicidade intermediária a não patogênica. Entretanto, os isolados conservaram-se patogênicos para algodão. Os autores concluíram que não houve aumento de virulência para as plantas resistentes, durante as repetidas inoculações e reisolamentos, mas a patogenicidade para algodoeiro foi uma característica estável.

ARMSTRONG et al (13) estudando a variação da patogenicidade e características culturais do Fusarium do algodoeiro, observaram que não houve modificação quando os isolados foram passados uma só vez através do algodoeiro. Entretanto, Burkholder, citado por BALMER (14), verificou um aumento em patogenicidade de isolados de Fusarium martii phaseoli Burkholder, quando passados duas vezes através do hospedeiro, após longa permanência em meio de cultura.

MESSIAEN (25) considerando que Armstrong conseguiu reprodução de doença vascular em ervilha (Pisum sativum L.) pelo F. oxysporum f. sp. apii (Nels e Sherb) Snyd & Hans., e que Hendrix obteve o mesmo resultado em batata-doce quando inoculada com o F. oxysporum f. sp. nicotianae, chegou a supor que existe parentesco entre as formas biológicas de F. oxysporum que atacam hospedeiros diferentes. Este pesquisador concebe a espécie como um

agrupamento de formas cuja evolução morfológica e biológica se manifestam quando surgem novas condições ambientais.

Das observações feitas, nesta revisão, no tocante às relações patógeno-hospedeiro, foi constatado que algumas "formae speciales" de F. oxysporum apresentam uma multiplicidade de hospedeiros o que permite concluir que a falta de especificidade concorre para dificultar o reconhecimento rápido, do referido fungo, com base na patogenicidade seletiva.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Meios de cultura utilizados

O meio de cultura utilizado para os isolamentos e reisolamentos do patógeno foi o de agar-água (23) contendo 20 g de agar-agar para 1000 ml de água destilada.

Os isolados e reisolados obtidos foram mantidos em tubos de cultura contendo o meio inclinado de batata-dextrose-agar (23).

Para o preparo do inóculo foi utilizado o meio líquido de ARMSTRONG (7), com a seguinte composição: Glucose 20 g para 1000 ml de água destilada, e a concentração dos diferentes sais nas seguintes molaridades: $MgSO_4$ a 0,003M, KCl a 0,022M, KH_2PO_4 a 0,008M, $Ca(NO_3)_2$ a 0,0356M, enquanto que $FeCl_3$, $MnSO_4$ e $ZnSO_4$ na concentração de 0,2 p.p.m. para cada cation.

Os meios, acima mencionados, foram esterilizados em autoclave a 120°C 1 atmosfera de pressão, durante 15 minutos.

3.2. Isolamento e reisolamento do patógeno

Os isolamentos e reisolamentos do Fusarium do algodoeiro, tanto para os diferentes hospedeiros não suscetíveis testados como para o algodoeiro, foram efetuados após um período de 30 dias à inoculação. As plantas, apresentando ou não sintomas de murcha, foram removidas dos vasos, e suas raízes e caules bem lavados com água e sabão. O material foi, em seguida, desinfetado, durante um minuto em uma solução de hipoclorito de sódio, obtida mediante a diluição de uma parte de hipoclorito de sódio a 5% de cloro ativo (Quiboa), para 3 partes de água, e finalmente lavado em duas porções de água estéril. Assépticamente, o córtex, na região compreendida entre o colo e as folhas cotiledonares, foi removido com auxílio de uma pinça e escapecelo flambados, e partes do xilema das plantas foram transferidos para placas de Petri contendo agar-água. No caso de isolamentos e reisolamentos do patógeno nas raízes, foi utilizada a mesma técnica, removendo-se para tanto o córtex da raiz e fazendo-se o plaqueamento dos tecidos do cilindro central (xilema). As placas de Petri contendo os fragmentos de tecidos vegetais foram deixadas em condições ambientais de laboratório.

3.3. Manutenção das culturas

Quatro dias após o isolamento, fragmentos do micélio foram transferidos para tubos contendo meio inclinado de batata-dextrose-agar (BDA) onde o patógeno foi mantido por períodos curtos, variando de 6 a 16 dias, até preparo do inóculo.

3.4. Preparo do inóculo

A obtenção do inóculo consistiu no cultivo do fungo em meio líquido de Armstrong, distribuído em frascos Erlenmeyer de 125 ml, contendo cada frasco 50 ml do meio estéril. Em condições assépticas, foi removida, com auxílio de uma alça, uma pequena porção do meio contendo as estruturas da

cultura desejada e o material transferido para frascos Erlenmeyer.

Os frascos, assim preparados, foram mantidos à temperatura ambiente, em um agitador mecânico, durante 4 dias.

3.5. Inoculação

A inoculação, de um modo geral, foi feita 10 dias após germinação das sementes.

3.5.1. Inoculação através de ferimentos no sistema radicular

Este método de inoculação foi facilitado pela disposição das plantas em círculo nos vasos. Os ferimentos do sistema radicular foram produzidos através de escarificações feitas no solo, na parte interna correspondente ao círculo formado pelas plantas, tendo sido tomado o cuidado de ferir somente as raízes dirigidas para o centro do vaso. Em seguida, o inóculo foi vertido num sulco circular, feito na parte escarificada, e logo coberto com o solo.

Antes da inoculação, o conteúdo de cada frasco, onde foi produzido o inóculo, foi diluído para a metade da concentração inicial com água destilada (3).

3.5.2. Inoculação através de ferimentos no caule

Com uma seringa de 10cc e agulha 25/8, contendo o inóculo, foram feitos três ferimentos em volta do caule, a uma mesma altura de aproximadamente 2 cm a partir da linha do solo. A inoculação mediante injeção foi feita, conforme a técnica recomendada por BUGBEC & SAPPENFIELD (17), de modo que somente a gota da extremidade da agulha penetrasse no caule após o ferimento.

A concentração do inóculo foi ajustada, com água destilada estéril , para a metade da concentração inicialmente obtida nos frascos Erlenmeyer . O inóculo, assim diluído, foi passado em gaze esterilizado com a finalidade de se obter uma suspensão de conídios.

Em todos os casos, oito dias à primeira inoculação foi feita uma segunda inoculação, sendo o inóculo preparado da maneira descrita no item 3.4.

3.6. O Patógeno ..

Os isolados de Fusarium do algodoeiro utilizados no presente trabalho foram obtidos das diferentes espécies ou variedades de plantas cultivadas, umas na presença de nematóides do gênero Meloidogyne, e outras na sua ausência.

Entre os diversos isolamentos feitos durante o período de execução deste trabalho, foram selecionados os isolados apresentados nos quadros I e II.

QUADRO I - Origem e código dos isolados de Fusarium do algodoeiro obtidos de plantas cultivadas em presença de rematóides do gênero Meloidogyne, por ocasião da 1ª passagem.

| Origem dos isolados de F. do algodoeiro | CÓDIGO DOS ISOLADOS | | | | | | | |
|---|---------------------|----------------------------|-------------|-------------------------|-------------|-----------------|----------------------------|--|
| | 1ª Passagem | 1º Teste de Patogenicidade | 2ª Passagem | 2º Teste Patogenicidade | 3ª Passagem | 3º Test. Patog. | 4º Teste de Patogenicidade | |
| Feijão Preto | FPr-1 | FPr-1A | FPr-1B | FPr-1C | FPr-1D | FPr-1E | | |
| | FPr-2 | FPr-2A | FPr-2B | FPr-2C | FPr-2D | FPr-2E | | |
| Feijão Bico de Ouro | FBO-3 | FBO-3A | FBO-3B | FBO-3C | FBO-3D | FBO-3E | | |
| | FBO-4 | FBO-4A | FBO-4B | FBO-4C | FBO-4D | FBO-4E | | |
| Mamona | MA-5 | MA-5A | MA-5B | MA-5C | MA-5D | MA-5E | | |
| | MA-6 | MA-6A | MA-6B | MA-6C | MA-6D | MA-6E | | |
| Soja | SO-7 | SO-7A | SO-7B | SO-7C | SO-7D | SO-7E | | |
| | SO-8 | SO-8A | SO-8B | SO-8C | SO-8D | SO-8E | | |
| Tomate | TO-9 | TO-9A | TO-9B | TO-9C | TO-9D | TO-9E | | |
| | TO-10 | TO-10A | TO-10B | TO-10C | TO-10D | TO-10E | | |
| Ervilha | ER-11 | ER-11A | ER-11B | ER-11C | ER-11D | ER-11E | | |
| | ER-12 | ER-12A | ER-12B | ER-12C | ER-12D | ER-12E | | |
| Pepino | PE-13 | PE-13A | PE-13B | PE-13C | PE-13D | PE-13E | | |
| | PE-14 | PE-14A | PE-14B | PE-14C | PE-14D | PE-14E | | |
| Melancia | M-15 | M-15A | M-15B | M-15C | M-15D | M-15E | | |
| | M-16 | M-16A | M-16B | M-16C | M-16D | M-16E | | |
| | M-17 | M-17A | M-17B | M-17C | M-17D | M-17E | | |
| Algodão | AL-18 | AL-18A | | | | | | |

QUADRO II -- Origem e código para os isolados de Fusarium do algodoeiro obtidos de plantas cultivadas na ausência de nematóides, por ocasião da 1ª passagem

| Origem dos isolados de F. do algodoeiro | CÓDIGO DOS ISOLADOS | | | | |
|---|---------------------|----------------------------|----------------------------|-------------|----------------------------|
| | 1ª Passagem | 1º Teste de Patogenicidade | 2º Teste de Patogenicidade | 2ª Passagem | 3º Teste de Patogenicidade |
| Abóbora | A-19 | A-19A | A-19B | A-19B | A-19C |
| | A-20 | A-20A | A-20B | A-20B | A-20C |
| Abóbora de Moita | AB-21 | AB-21A | AB-21B | AB-21B | AB-21C |
| | AB-22 | AB-22A | AB-22B | AB-22B | AB-22C |
| Melão | ME-23 | ME-23A | ME-23B | ME-23B | ME-23C |
| | ME-24 | ME-24A | ME-24B | ME-24B | ME-24C |
| Quiabo | Q-25 | Q-25A | Q-25B | Q-25B | Q-25C |
| | Q-26 | Q-26A | Q-26B | Q-26B | Q-26C |
| Cowpea | CO-27 | CO-27A | CO-27B | CO-27B | CO-27C |
| | CO-28 | CO-28A | CO-28B | CO-28B | CO-28C |
| Amendoim | AM-29 | AM-29A | AM-29B | AM-29B | AM-29C |
| | AM-30 | AM-30A | AM-30B | AM-30B | AM-30C |
| | AM-31 | AM-31A | AM-31B | AM-31B | AM-31C |

3.7. Obtenção dos isolados de Fusarium do algodoeiro

A obtenção dos isolados de Fusarium do algodoeiro foi resultante da passagem do patógeno através das diferentes plantas, possíveis hospedeiros não suscetíveis, inicialmente cultivadas na presença do complexo Fusarium x Nematóide, e também da passagem do patógeno através das diferentes plantas cultivadas na ausência de nematóides. A cada passagem pelo hospedeiro não suscetível foi intercalado teste de patogenicidade no hospedeiro suscetível. Estas operações são aqui denominadas pressões de seleção.

3.7.1..Pressão de seleção exercida pelas diferentes plantas, quando cultivadas por ocasião da 1ª passagem, na presença de nematóides do gênero Meloidogyne.

O esquema para as diferentes pressões de seleção exercidas é apresentado na figura 1.

Primeira passagem - Os isolados obtidos na primeira passagem foram aqueles oriundos das diferentes espécies ou variedades de plantas, tais como, algodão, feijão preto, feijão Bico de Ouro, mamona, soja, tomate, ervilha, pepino e melancia, quando cultivadas em solo contaminado com Fusarium do algodoeiro e nematóides do gênero Meloidogyne.

Para esta primeira passagem foi seguido o delineamento de blocos casualizados, com duas repetições, constando cada uma de 9 tratamentos representados pelas diferentes plantas, acima citadas, distribuídas em linhas em uma bandeja metálica, com 200 cm de comprimento, 81 cm de largura e 15 cm de altura, dividida ao meio no sentido do seu maior eixo. As linhas, em sentido transversal, eram distanciadas uma da outra de 22 cm, aproximadamente. Cada linha representou uma parcela de 10 plantas de uma mesma espécie.

Primeiro teste de patogenicidade - Os isolados de Fusarium, do algo -

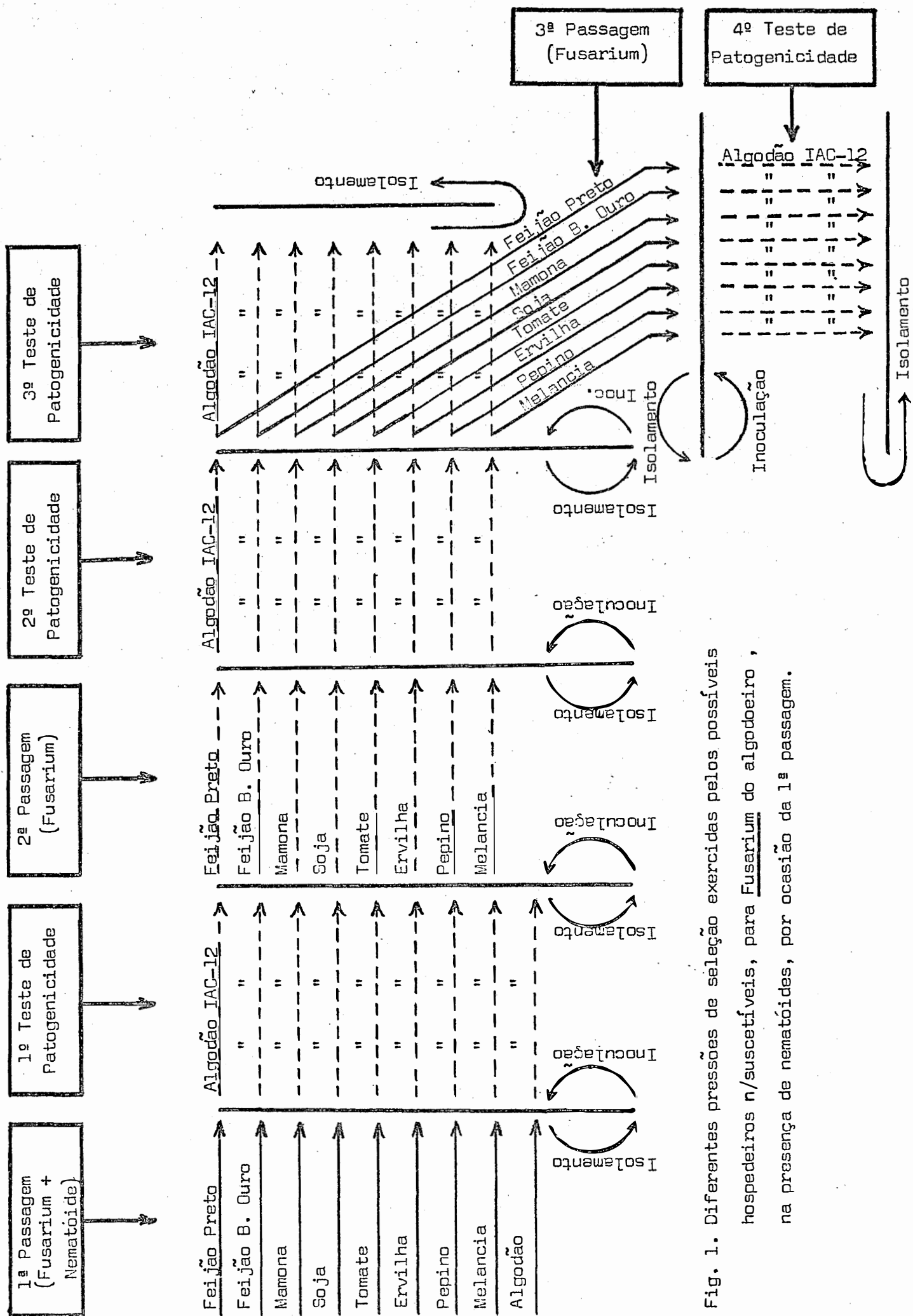


Fig. 1. Diferentes pressões de seleção exercidas pelos possíveis hospedeiros n/suscetíveis, para *Fusarium* do algodoeiro, na presença de nematóides, por ocasião da 1ª passagem.

doeiro provenientes de cada espécie de planta, por ocasião da primeira passagem, num total de 92, foram inoculados, separadamente, por meio de ferimentos em raízes, em plantas de algodoeiro da var. IAC-12, para constatação da patogenicidade.

Este teste consistiu de 92 tratamentos, representados pelos diferentes isolados, mais 6 vasos testemunhas não inoculados. O número de plantas, em cada tratamento, variou de 5 a 8 as quais eram distribuídas em círculo nos vasos.

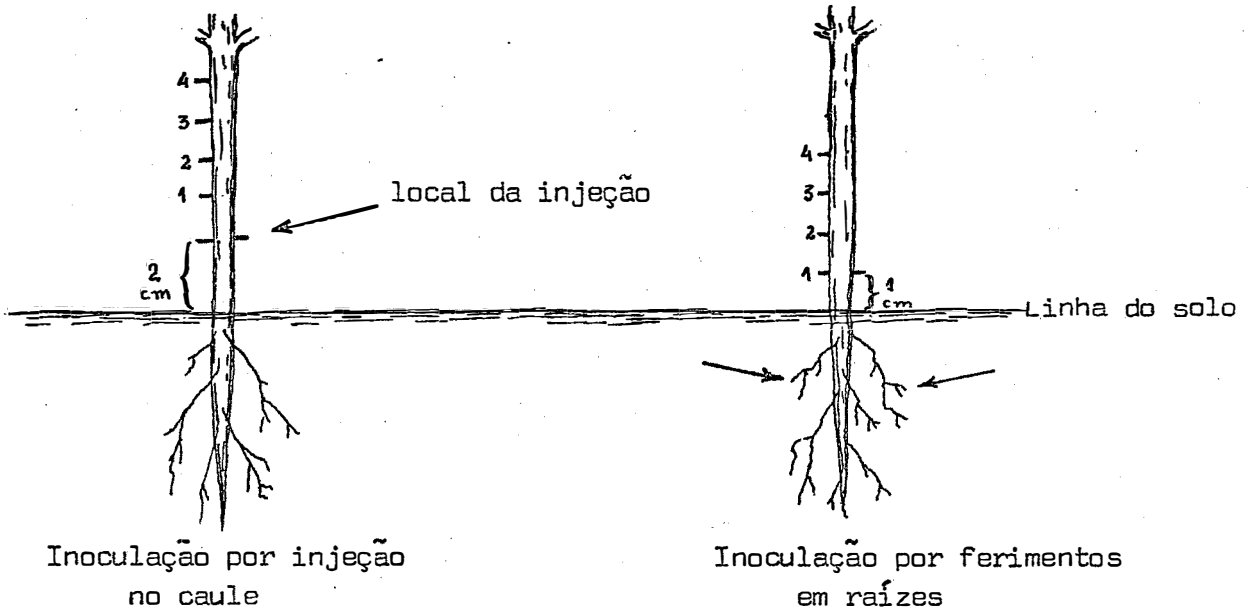
Segunda passagem - Dos 75 isolados obtidos do algodoeiro no primeiro teste de patogenicidade, foram selecionados, para cada espécie de planta em estudo, dois que apresentaram alta patogenicidade ao algodoeiro por ocasião do teste de patogenicidade, perfazendo um total de 18 isolados. Dêstes, 17 foram inoculados, separadamente e respectivamente nos hospedeiros correspondentes à primeira passagem, através de ferimentos em raízes e caule, constituindo então esta operação a segunda passagem.

A segunda e as demais passagens do Fusarium do algodoeiro pelos possíveis hospedeiros não suscetíveis foram feitas na ausência de nematóides.

Os isolados resultantes da segunda passagem foram obtidos de diferentes alturas do ponto de inoculação. Foram feitos isolamentos para as regiões compreendidas, aproximadamente, entre 1, 2, 3 e 4 cm, a partir da linha do solo para as inoculações feitas em raízes e acima do ponto de injeção para inoculações feitas por este método. Para os isolamentos efetuados em raízes, estas regiões foram consideradas a partir de 1 cm da extremidade da raiz principal. Os três casos são apresentados na figura 2.

Esta fase do trabalho consistiu de 34 tratamentos, representando 17 isolados inoculados nas respectivas plantas por dois métodos de inoculação, com duas repetições e um vaso testemunha não inoculado para cada tratamento. O número de plantas, por vaso, variou de 6 a 10.

- Isolamento do fungo da parte aérea da planta:



- Isolamento do fungo a partir de raízes:

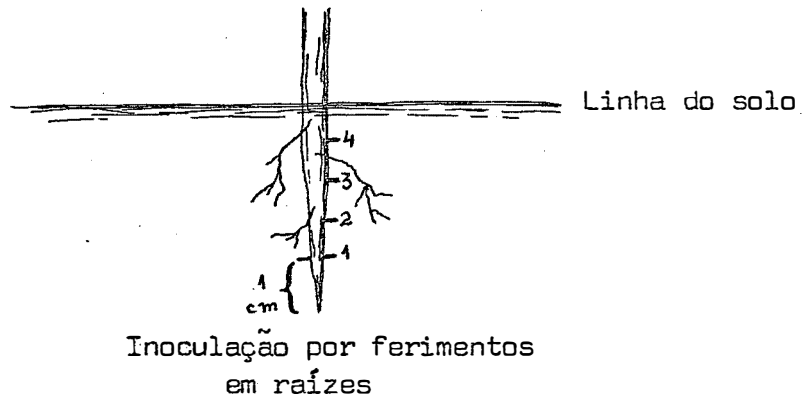


Fig. 2. Diferentes regiões utilizadas para isolamento do fungo por ocasião da segunda passagem.

Segundo teste de patogenicidade - Os isolados resultantes da segunda passagem somaram um total de 144, obtidos de diferentes alturas do ponto de inoculação, 1, 2, 3 e 4 cm, dos quais foram selecionados 59, sendo o critério de seleção baseado na maior distância, considerada a partir do ponto de inoculação, de onde foi isolado o fungo. Os 59 isolados selecionados foram testados, separadamente, em plantas de algodoeiro da variedade IAC-12, para constatação da patogenicidade, através de ferimentos em raízes, constituindo então esta fase o segundo teste de patogenicidade.

O teste de patogenicidade consistiu de 59 tratamentos, representando os diferentes isolados, mais três vasos testemunhas não inoculados. Para cada tratamento, o número de plantas distribuídas em círculo, por vaso, variou de 8 a 12.

Terceiro teste de patogenicidade - Dos isolados obtidos do algodoeiro, no 2º teste de patogenicidade, num total de 52, foram selecionados dois a três, correspondentes a cada possível hospedeiro não suscetível, fazendo um total de 17 isolados, que foram inoculados em algodão para novo teste de patogenicidade. Esta nova inoculação em plantas da variedade IAC-12 foi denominada de terceiro teste de patogenicidade. O critério de seleção foi baseado na maior e menor patogenicidade apresentada a plantas de algodoeiro var. IAC-12 por ocasião do segundo teste de patogenicidade. Portanto, os 17 isolados assim selecionados foram inoculados, separadamente, em plantas de algodoeiro var. IAC-12, por ferimentos em raízes, para verificação do comportamento dos isolados após duas passagens consecutivas através do hospedeiro suscetível, constituindo esta operação, o terceiro teste de patogenicidade.

Para o terceiro teste de patogenicidade, foi usado o delineamento de blocos inteiros casualizados, constando de 17 tratamentos, representados pelos isolados selecionados, mais dois vasos testemunhas não inoculados para cada uma das duas repetições. O número de plantas por vaso, distribuí-

das em círculo, variou de 10 a 16.

Terceira passagem - Os 17 isolados selecionados para o terceiro teste de patogenicidade, conforme descrito acima, foram inoculados, separadamente, nos possíveis hospedeiros não suscetíveis correspondentes, através de ferimentos em raízes, constituindo esta operação a terceira passagem.

Esta fase consistiu de 17 tratamentos, representando os diferentes isolados, repetidos duas vezes, e um vaso testemunha não inoculado para cada tratamento. O número de plantas por vaso, distribuídos em círculo, variou de 6 a 10.

Quarto teste de patogenicidade - Os 17 isolados obtidos da terceira passagem foram inoculados, separadamente, em plantas de algodoeiro var. IAC-12, através de ferimentos em raízes para comprovação final da patogenicidade.

O delineamento utilizado para o quarto teste de patogenicidade foi o de blocos inteiros ao acaso, consistindo de 17 tratamentos, representados pelos diferentes isolados, e dois vasos testemunhos não inoculados para cada uma das duas repetições. Em cada tratamento, o número de plantas por vaso, variou de 9 a 12.

3.7.2. Pressão de seleção exercida pelas diferentes plantas cultivadas na ausência de nematóides por ocasião da 1ª passagem.

O esquema para as diferentes pressões de seleção exercidas é apresentado na figura 3.

Primeira passagem - As plantas de amendoim, cowpea, melão, quiabo, abóbora e abóbora de moita, cultivadas em solo esterilizado, foram inoculadas, por ferimentos em raízes e caules, com um isolado de Fusarium do algodoeiro, sendo esta operação denominada primeira passagem.

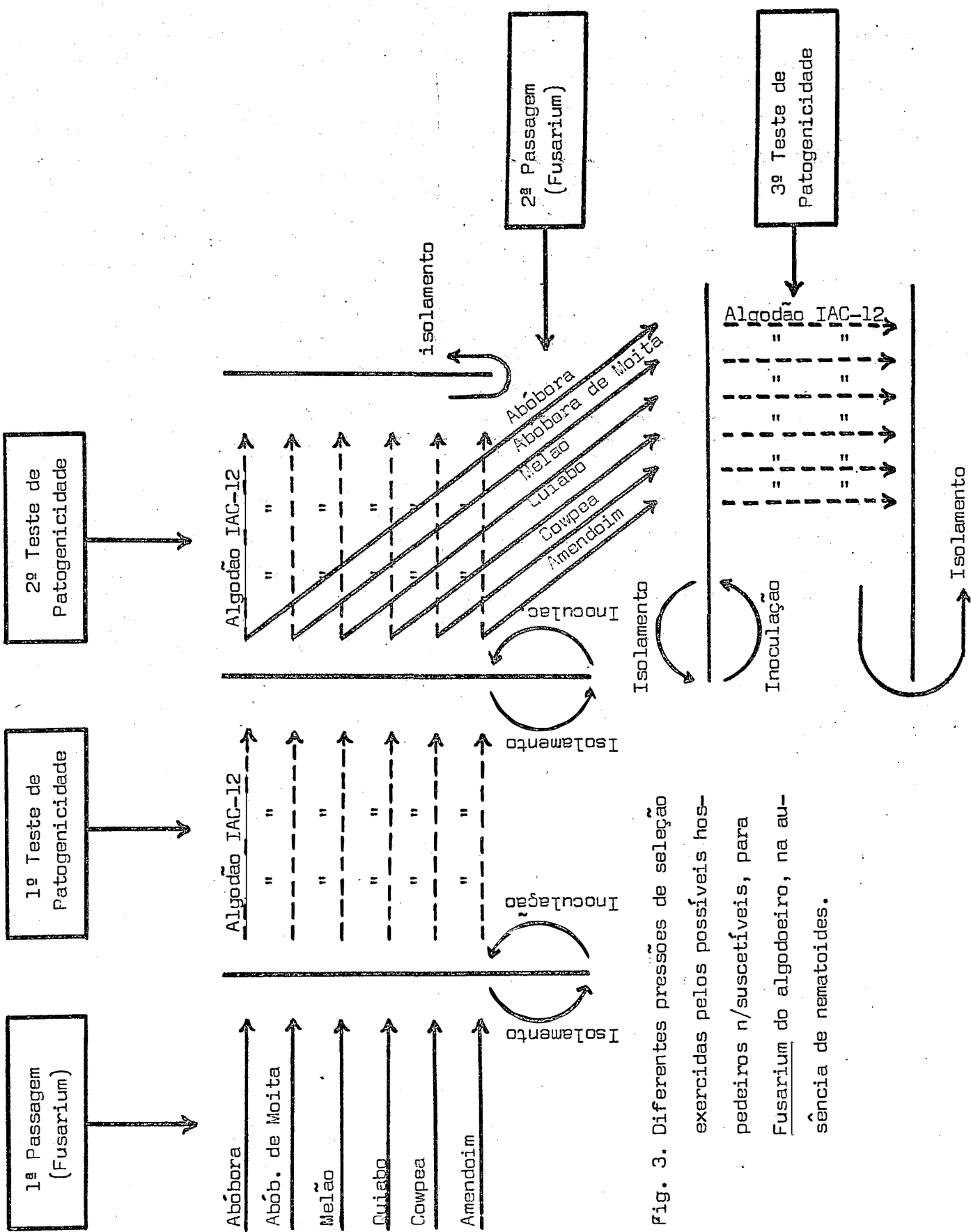


Fig. 3. Diferentes pressões de seleção exercidas pelos possíveis hospedeiros n/suscetíveis, para Fusarium do algodoeiro, na ausência de nematoides.

Esta fase consistiu de 12 tratamentos, representados pelas inoculações dos 6 possíveis hospedeiros não suscetíveis tanto por ferimentos no caule como em raízes, repetidos duas vezes, e um vaso testemunha não inoculado, para cada tratamento, em cada uma das repetições. O número de plantas por vaso foi de 10.

Primeiro teste de patogenicidade - Os isolados resultantes da primeira passagem, num total de 43, obtidos de diferentes alturas do ponto de inoculação, 1, 2, 3 e 4 cm, como mencionadas na figura 2, foram inoculados separadamente, em plantas de algodoeiro da variedade IAC-12, por ferimentos em raízes para constatação da patogenicidade dos mesmos, constituindo isto o primeiro teste de patogenicidade.

Consistiu este teste de 43 tratamentos, representando os diferentes isolados, e mais três vasos não inoculados que serviram como testemunhas. O número de plantas distribuídas em círculo, por vaso, variou de 6 a 10.

Segundo teste de patogenicidade - Dos isolados obtidos no primeiro teste de patogenicidade, num total de 39, foram selecionados dois a três, correspondentes a cada possível hospedeiro não suscetível utilizado nas passagens seriadas, somando um total de 13 isolados, os quais foram inoculados novamente em plantas de algodoeiro var. IAC-12 por ferimentos em raízes. Esta fase é denominada de 2º teste de patogenicidade. O critério de seleção foi baseado na maior e menor patogenicidade, apresentada pelos diferentes isolados, em plantas de algodoeiro da variedade IAC-12, por ocasião do primeiro teste de patogenicidade.

Para este segundo teste de patogenicidade, foi utilizado o delineamento de blocos inteiros casualizados, com duas repetições, constando cada bloco de 13 tratamentos, representados pelos diferentes isolados, e mais dois vasos testemunhas não inoculados. O número de plantas por vaso variou de 10 a 16.

Segunda passagem - Os 13 isolados selecionados e usados para o segundo teste de patogenicidade, conforme descrito acima, foram inoculados, separadamente, nos respectivos hospedeiros não suscetíveis por meio de ferimento em raízes, constituindo esta operação a segunda passagem.

Constou a segunda passagem de 13 tratamentos, representados pelos diferentes isolados, repetidos duas vezes, e mais um vaso não inoculado, testemunha, para cada tratamento. O número de plantas por vaso variou de 6 a 10.

Terceiro teste de patogenicidade - Os 13 isolados obtidos da segunda passagem foram inoculados, separadamente, em plantas de algodoeiro da var. IAC-12, para comprovação final da patogenicidade, através de ferimentos em raízes, sendo considerada esta fase como o terceiro teste de patogenicidade.

Para este teste, foi utilizado o delineamento de blocos inteiros ao acaso, constando o mesmo de 13 tratamentos representados pelos diferentes isolados e repetidos duas vezes. Para cada repetição foram empregados dois vasos testemunhas não inoculados. O número de plantas por vaso, variou de 9 a 12.

3.8. O hospedeiro

Para o estudo das relações existentes entre Fusarium do algodoeiro e outras plantas, possíveis hospedeiros não suscetíveis, foram testadas, nos ensaios preliminares, 29 espécies ou variedades de plantas, das quais foram selecionadas 14 para realização do presente trabalho. A relação e procedência das sementes das diferentes espécies e variedades de plantas, utilizadas nas diferentes pressões de seleção, são apresentadas no quadro III

QUADRO III - Espécies e variedades de plantas utilizadas como possíveis hospedeiros não suscetíveis e sua procedência

| Culturas | Nome científico | Variedade | Procedência das sementes |
|------------------|---|--------------------------------|---------------------------|
| Amendoim | <u>Arachis hypogaeae</u> L. | Tatu | Inst. Agr. Campinas |
| Abóbora | <u>Cucurbita pepo</u> L. | Menina | Agro-Indústria Piracicaba |
| Abóbora de Moita | <u>Cucurbita pepo</u> L. | Caserta IAC-1767 | Inst. Agr. Campinas. |
| Cowpea | <u>Vigna sinensis</u> Endl. | | Inst. Agr. Campinas |
| Ervilha | <u>Pisum sativum</u> L. | Russia Grano Amarillo I-735 | Inst. Agr. Campinas. |
| Feijão Preto | <u>Phaseolus vulgaris</u> L. | - | Inst. Agr. Campinas. |
| Feijão | <u>Phaseolus vulgaris</u> L. | Bico de Ouro | Inst. Agr. Campinas. |
| Mamona | <u>Ricinus communis</u> L. | IAC-38 | Inst. Agr. Campinas. |
| Melancia | <u>Citrullus vulgaris</u> Schrad | Yamato Sato IAC-2732 | Inst. Agr. Campinas. |
| Melão | <u>Cucumis melo</u> L. | Casca de carvalho | Agro-Indústria Piracicaba |
| Pepino | <u>Cucumis sativus</u> L. | Marketer I-2205 | Inst. Agr. Campinas. |
| Soja | <u>Glycine max</u> (L.) Merrill | Pelicano | Inst. Agr. Campinas. |
| Quiabo | <u>Hibiscus esculentus</u> L. | Campinas 1 IAC-4075 | Inst. Agr. Campinas |
| Tomate | <u>Lycopersicon esculentum</u> Mill. | Santa Cruz | Agro-Indústria Piracicaba |

Para comprovação da patogenicidade dos isolados de Fusarium, obtidos dos diferentes hospedeiros não suscetíveis quando inoculados com o Fusarium do algodoeiro, foram utilizadas plantas de algodoeiro (Gossypium hirsutum L.) variedade IAC-12.

3.9. Substrato utilizado para obtenção das plantas

O substrato utilizado para obtenção das plantas foi uma mistura de terra roxa, areia e esterco, respectivamente, na proporção aproximada de 8:6:1, esterilizado em autoclave a temperatura de 110°C, 0,5 atm de pressão, durante duas horas.

3.10. Obtenção das plantas para inoculação

3.10.1. Plantas utilizadas como possíveis hospedeiros não suscetíveis

As sementes das diferentes plantas a serem testadas como possíveis hospedeiros não suscetíveis para o Fusarium do algodoeiro foram tratadas com uma solução comercial de hipoclorito de sódio resultante da diluição de uma parte de hipoclorito de sódio a 5% (Quiboa), para 3 partes de água, e em seguida semeadas em vasos de barro, com 18 cm de diâmetro superior e 16 cms de altura, contendo o substrato previamente citado.

A semeadura foi feita em círculo, distanciada da periferia do vaso a proximadamente 3 cm, de modo a facilitar a posterior inoculação. Para que as plantas das diferentes espécies e variedades tivessem aproximadamente a mesma idade por ocasião da inoculação, o plantio foi efetuado em épocas diferentes conforme duração do período de germinação para cada espécie.

3.10.2. Variedade de algodão suscetível

Todos os testes de patogenicidade foram realizados em plantas de algodoeiro variedade IAC-12.

As sementes foram deslintadas com ácido sulfúrico concentrado e depois bem lavadas com água corrente. A semeadura, em círculo, como mencionado acima, foi feita em vasos, com 18 cm de diâmetro superior e 16 cm de altura, contendo o substrato. Após a germinação, em alguns casos, procedeu-se ao desbaste, a fim de reduzir o número de plantas para 10 em cada vaso.

Em todos os casos, as plantas foram mantidas em condições ambientais de casa de vegetação com controle parcial de temperatura e umidade.

3.11. Avaliação dos sintomas

3.11.1. Sintomas em algodoeiro

A avaliação foi feita através da manifestação de sintomas externos e pelo aparecimento de descoloração vascular.

Foi determinado a percentagem média, de duas repetições, para plantas com sintomas externos e plantas com sintomas internos, nos 3º e 4º testes de patogenicidade correspondentes a primeira pressão de seleção e também nos 2º e 3º testes de patogenicidade correspondentes a segunda pressão de seleção.

3.11.2. Sintomas nas demais plantas

A avaliação nos possíveis hospedeiros não suscetíveis foi feita através de sintomas externos, tais como, amarelecimento, e também através da

descoloração vascular produzida.

Em todos os casos, foi estabelecido para leitura final dos sintomas, nas plantas inoculadas, um período de quatro semanas a partir da primeira inoculação.

4. RESULTADOS

4.1. Resultados da pressão de seleção exercida pelos possíveis hospedeiros não suscetíveis quando cultivados, por ocasião da primeira passagem, em presença de nematóides do gênero Meloidogyne.

Os resultados obtidos para as 2ª e 3ª passagens do Fusarium do algodoeiro através das diferentes espécies e variedades de plantas testadas são apresentados no quadro IV.

Os resultados acima mostram que os diferentes isolados de Fusarium do algodoeiro, quando passados através das diferentes plantas, não apresentaram aumento em patogenicidade, mesmo após 3 passagens pelas respectivas plantas, quando estas passagens eram intercaladas com testes de patogenicidade em plantas de algodoeiro da variedade IAC-12.

O isolado FPr-28, na segunda passagem em feijão preto, produziu uma coloração verde-clara das folhas em algumas plantas quando comparadas com as testemunhas, além de provocar a queda das folhas inferiores, as quais exibiam uma clorose parcial. Quanto aos sintomas internos, apenas 10% das plantas apresentaram descoloração vascular. Entretanto, na 3ª passagem, não foi observado nenhum sintoma de murcha para o isolado derivado deste.

O isolado FBO-4B e FBO-4D induziram nas plantas de feijão Bico de

QUADRO IV - Percentagem de plantas com sintomas externos e internos para as 2ª e 3ª passagens dos isolados obtidos das diferentes plantas testadas

| Origem dos isolados de Fusarium do algodoeiro. | Isolado | 2ª Passagem | | | | Isolado | nº de plantas | 3ª Passagem | | | |
|--|---------|---------------|-----------|-----------|-----------------|---------|---------------|---------------|-----------|-----------|-----------------|
| | | nº de plantas | Sintomas | | Recup. do fungo | | | nº de plantas | Sintomas | | Recup. do fungo |
| | | | Externo % | Interno % | | | | | Externo % | Interno % | |
| Feijão Preto | FPr-1B | 20 | 0,00 | 0,00 | + | FPr-1D | 20 | 0,00 | 0,00 | + | |
| | FPr-2B | 20 | 20,00 | 10,00 | + | FPr-2D | 20 | 0,00 | 0,00 | + | |
| | Test. | 20 | 0,00 | 0,00 | - | | 17 | 0,00 | 0,00 | - | |
| Feijão Bico de Ouro | FBO-3B | 18 | 0,00 | 0,00 | + | FBO-3D | 20 | 0,00 | 0,00 | + | |
| | FBO-4B | 20 | 10,00 | 15,00 | + | FBO-4D | 20 | 20,00 | 10,00 | + | |
| | Test. | 20 | 0,00 | 0,00 | - | | 20 | 0,00 | 0,00 | - | |
| Ervilha | ER-11B | 19 | 0,00 | 0,00 | + | ER-11D | 20 | 0,00 | 0,00 | + | |
| | ER-12B | 20 | 0,00 | 0,00 | + | ER-12D | 20 | 0,00 | 0,00 | + | |
| | Test. | 17 | 0,00 | 0,00 | - | | 20 | 0,00 | 0,00 | - | |
| Mamona | MA-5B | 20 | 0,00 | 0,00 | + | MA-5D | 18 | 0,00 | 0,00 | + | |
| | MA-6B | 20 | 0,00 | 10,00 | + | MA-6D | 20 | 0,00 | 0,00 | + | |
| | Test. | 19 | 0,00 | 0,00 | - | | 18 | 0,00 | 0,00 | - | |

QUADRO IV -- Continuação

| Origem dos isolados de <u>Fusarium</u> do algodoeiro. | Isolado | 2ª Passagem | | | | Isolado | nº de plantas | 3ª Passagem | | | |
|---|---------|---------------|-----------|-----------|-----------------|---------|---------------|---------------|-----------|-----------|-----------------|
| | | nº de plantas | Sintomas | | Recup. do fungo | | | nº de plantas | Sintomas | | Recup. do fungo |
| | | | Externo % | Interno % | | | | | Externo % | Interno % | |
| Soja | S0-7B | 20 | 6,00 | 0,00 | + | S0-7D | 20 | 0,00 | 5,00 | + | |
| | S0-8B | 20 | 5,00 | 10,00 | + | S0-8D | 20 | 0,00 | 10,00 | + | |
| | Test. | 20 | 0,00 | 0,00 | - | | 20 | 0,00 | 0,00 | - | |
| Tomate | T0-9B | 20 | 0,00 | 0,00 | + | T0-9D | 20 | 0,00 | 0,00 | + | |
| | T0-10B | 17 | 0,00 | 0,00 | + | T0-10D | 20 | 0,00 | 0,00 | + | |
| | Test. | 20 | 0,00 | 0,00 | - | | 19 | 0,00 | 0,00 | - | |
| Pepino | PE-13B | 18 | 0,00 | 0,00 | + | PE-13D | 19 | 0,00 | 0,00 | + | |
| | PE-14B | 19 | 0,00 | 0,00 | + | PE-14D | 20 | 0,00 | 0,00 | + | |
| | Test. | 20 | 0,00 | 0,00 | - | | 19 | 0,00 | 0,00 | - | |
| Melancia | M-15B | 17 | 0,00 | 0,00 | + | M-15D | 19 | 0,00 | 0,00 | + | |
| | M-16B | 20 | 0,00 | 0,00 | + | M-16D | 19 | 0,00 | 0,00 | + | |
| | M-17B | 16 | 0,00 | 0,00 | + | M-17D | 18 | 0,00 | 0,00 | + | |
| | Test. | 20 | 0,00 | 0,00 | - | | 19 | 0,00 | 0,00 | - | |

+ = foi isolado o Fusarium do algodoeiro; - = não foi isolado Fusarium do algodoeiro

Ouro inoculadas, a formação de fôlhas menores com tonalidade verde mais clara, quando comparadas com as testemunhas, e ainda amarelecimento e queda das fôlhas inferiores. Do exame feito nos tecidos vasculares, o isolado FBO-4B induziu 15% de plantas com descoloração dos vasos na 2ª passagem, enquanto que o isolado FBO-4D produziu apenas 10% na 3ª passagem.

O isolado MA-6B não produziu sintomas externos de murcha em mamona, mas uma leve descoloração vascular foi observada em 10% das plantas, na 2ª passagem, quando foram feitos cortes em raízes. As plantas testemunhas apresentaram aspecto normal. Não foi observada descoloração dos vasos por ocasião da 3ª passagem, para o isolado MA-6D.

O isolado SO-8B induziu, na 2ª passagem, um aspecto clorótico em plantas de soja inoculadas, contrastando com a coloração verde mais escura das fôlhas das plantas testemunhas. Os isolados SO-8D e SO-7D, embora não causassem o aparecimento de sintomas externos, induziram, no entanto, a manifestação de sintomas internos em 10% e 5% de plantas, respectivamente.

Os demais isolados, provenientes de ervilha, tomate, pepino e melancia, respectivamente, ER-11B e ER-11D, ER-12B e ER-12D; TO-9B e TO-9D, TO-10B e TO-10D; PE-13B e PE-13D, PE-14B e PE-14D; M-15B e M-15D, M-16B, M-16D, M-17B e M-17D, não induziram nenhum sintoma de murcha, nas plantas correspondentes, por ocasião das 2ª e 3ª passagens.

Embora, na maior parte dos casos, não tenha havido manifestação de sintomas externos e internos, o fungo foi isolado das diferentes plantas inoculadas, o mesmo não ocorrendo com as plantas testemunhas. Os isolados obtidos, quando inoculados, separadamente, na variedade de algodoeiro IAC-12, mostraram-se patogênicos a este hospedeiro. Os resultados dos testes de patogenicidade efetuados para os diferentes isolados são apresentadas no quadro V.

Os resultados obtidos nos testes de patogenicidade revelaram uma res

QUADRO V - Resultados dos testes de patogenicidade na variedade de algodoeiro IAC-12 para os isolados obtidos das diferentes plantas testadas nas três passagens

| TESTES DE PATOGENICIDADE | | | | | | | | | | | | | |
|--|---------|---------------|-----------|-----------|---------|---------------|---------|--------|---------|---------------|---------|--------|-----------------|
| Origem dos isolados de <i>Fusarium</i> do algodoeiro | Isolado | 2º | | | Isolado | 3º | | | Isolado | 4º | | | |
| | | nº de plantas | Sintomas | | | nº de plantas | % Média | | | nº de plantas | % Média | | Recup. do fungo |
| | | | Externo % | Interno % | | | S.Ext. | S.Int. | | | S.Ext. | S.Int. | |
| Feijão Preto | FPr-1C | 8 | 25,00 | 75,00 | FPr-1D | 25 | 45,60 | 94,45 | FPr-1E | 20 | 50,00 | 90,00 | + |
| | FPr-2C | 8 | 75,00 | 100,00 | FPr-2D | 25 | 40,26 | 100,00 | FPr-2E | 20 | 45,00 | 90,00 | + |
| Feijão B.Ouro | FBO-3C | 10 | 60,00 | 80,00 | FBO-3D | 29 | 45,57 | 92,31 | FBO-3E | 22 | 45,00 | 64,17 | + |
| | FBO-4C | 8 | 100,00 | 100,00 | FBO-4D | 25 | 47,44 | 100,00 | FBO-4E | 22 | 55,00 | 95,84 | + |
| Ervilha | ER-11C | 8 | 0,00 | 75,00 | ER-11D | 17 | 46,43 | 96,00 | ER-11E | 21 | 76,82 | 90,46 | + |
| | ER-12C | 10 | 40,00 | 80,00 | ER-12D | 19 | 41,67 | 95,00 | ER-12E | 20 | 65,00 | 90,00 | + |
| Mamona | MA-5C | 10 | 20,00 | 80,00 | MA-5D | 22 | 31,82 | 86,37 | MA-5E | 19 | 52,78 | 83,89 | + |
| | MA-6C | 10 | 60,00 | 100,00 | MA-6D | 20 | 62,50 | 100,00 | MA-6E | 20 | 55,00 | 85,00 | + |
| Soja | SO-7C | 8 | 25,00 | 100,00 | SO-7D | 32 | 36,64 | 69,03 | SO-7E | 20 | 60,00 | 80,00 | + |
| | SO-8C | 8 | 75,00 | 100,00 | SO-8D | 22 | 57,50 | 95,00 | SO-8E | 19 | 62,22 | 89,45 | + |
| Tomate | TO-9C | 8 | 50,00 | 75,00 | TO-9D | 25 | 59,42 | 100,00 | TO-9E | 20 | 60,00 | 70,00 | + |
| | TO-10C | 10 | 80,00 | 100,00 | TO-10D | 29 | 37,86 | 86,19 | TO-10E | 20 | 50,00 | 95,00 | + |

QUADRO V -- Continuação

| Origem dos isolados de <u>Fusarium</u> do algodoeiro | Testes de Patogenicidade | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--------------------------|---------------|-----------|-----------|---------|---------------|---------|---------|---------|---------------|---------|---------|-----------------|--------|----|
| | 2º | | | | 3º | | | | 4º | | | | | | |
| | Isolado | nº de Plantas | Sintomas | | Isolado | nº de plantas | % Média | | Isolado | nº de plantas | % Média | | Recup. do fungo | | |
| | | | Externo % | Interno % | | | S. Ext. | S. Int. | | | S. Ext. | S. Int. | | | |
| Pepino | PE-13C | 8 | 50,00 | 75,00 | + | PE-13D | 26 | 39,29 | 85,72 | + | PE-13E | 21 | 48,18 | 76,37 | + |
| | PE-14C | 10 | 100,00 | 100,00 | + | PE-14D | 19 | 58,89 | 90,00 | + | PE-14E | 21 | 81,37 | 100,00 | + |
| Melancia | M-15C | 12 | 16,66 | 83,33 | + | M-15D | 18 | 55,00 | 95,00 | + | M-15E | 21 | 52,73 | 85,46 | + |
| | M-16C | 8 | 50,00 | 75,00 | + | M-16D | 17 | 46,53 | 93,75 | + | M-16E | 19 | 58,34 | 78,34 | + |
| | M-17C | 10 | 100,00 | 100,00 | + | M-17D | 16 | 43,75 | 93,75 | + | M-17E | 20 | 75,00 | 90,00 | + |
| Test. | | 35 | 0,00 | 0,00 | - | | 18 | 0,00 | 0,00 | - | | 20 | 0,00 | 0,00 | -- |

+ = Foi recuperado Fusarium do algodoeiro
 -- = não foi recuperado Fusarium do algodoeiro

posta variável na relação patógeno-hospedeiro.

Os isolados FPr-1C, ER-11C, ER-12C, MA-5C, SO-7C, TO-9C e M-15C, e seus respectivos derivados, nas três passagens pela variedade de algodoeiro IAC-12, tenderam para aumento em patogenicidade, enquanto que os isolados FPr-2C, FBO-3C, FBO-4C, SO-8C, TO-10C, PE-13C e seus derivados apresentaram uma tendência para decréscimo no grau de virulência.

Por outro lado, os isolados PE-14C e M-17C e seus derivados manifestaram um comportamento irregular com relação a virulência, por ocasião dos três testes de patogenicidade, enquanto que os resultados obtidos com os isolados MA-6C e M-16C e seus derivados foram relativamente estáveis.

É interessante notar que, de um modo geral, os isolados que apresentaram, por ocasião do segundo teste de patogenicidade, uma percentagem baixa de plantas de algodoeiro com sintomas externos de murcha, igual ou inferior a 50%, apresentaram no mesmo teste uma alta percentagem de plantas com descoloração vascular, variando de 75% a 83%.

Como os isolados, por ocasião do 2º teste de patogenicidade, foram selecionados pela maior e menor patogenicidade à variedade de algodoeiro IAC-12, foi verificado que os isolados FPr-1C, ER-11C, MA-5C, SO-7C e M-15C que apresentaram uma percentagem de plantas com sintomas externos, igual ou inferior a 25% deram origem a isolados mais virulentos nos testes de patogenicidade subsequentes. Entretanto, os isolados que apresentaram, no segundo teste de patogenicidade, um maior grau de virulência, somente ER-12C manifestou tendência para aumento em patogenicidade.

As duas passagens consecutivas para os diferentes isolados através da variedade de algodoeiro IAC-12, correspondentes aos 2º e 3º testes de patogenicidade, revelaram certa tendência para aumento em patogenicidade para os isolados FPr-1C, e FPr-1D provenientes de feijão preto; ER-11C, ER-11D, ER-12C e ER-12D de ervilha; MA-5C, MA-5D, MA-6C e MA-6D de mamona;

SO-7C e SO-7D de soja; TO-9C e TO-9D de tomate; e os isolados M-15C e M-15D provenientes de melancia, enquanto que os demais isolados não manifestaram a mesma tendência.

A percentagem de plantas que apresentaram sintomas externos de murcha, para os diferentes isolados testados nos 2º, 3º e 4º testes de patogenicidade, é apresentada na figura 4.

4.2. Resultados da pressão de seleção exercida pelos possíveis hospedeiros não suscetíveis quando cultivados, por ocasião da primeira passagem, na ausência de nematóides.

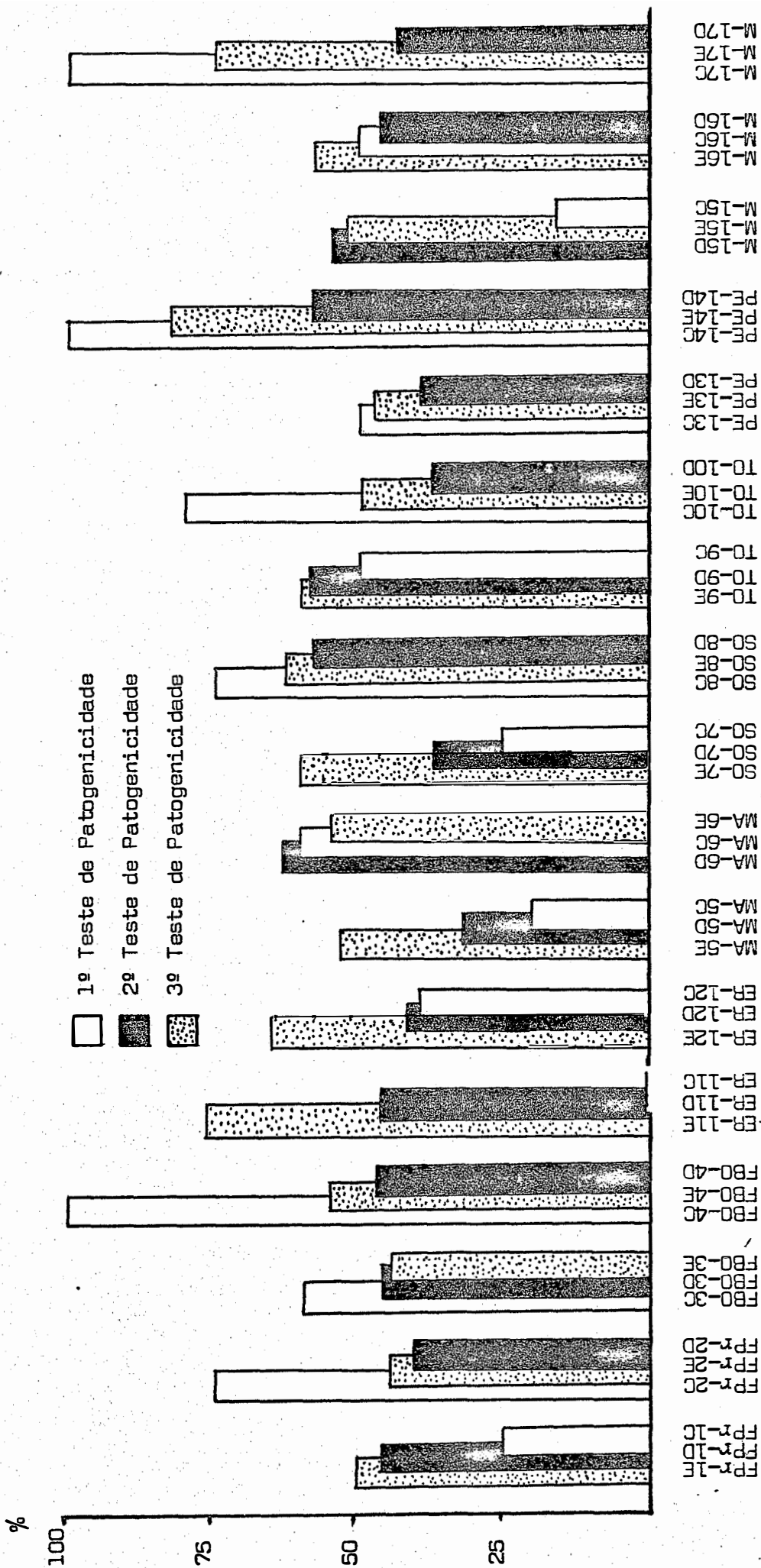
Os resultados obtidos para as 1ª e 2ª passagens do Fusarium do algodoeiro através das diferentes plantas são apresentadas no quadro VI.

Pelos resultados expressos no quadro VI, pode-se observar que a passagem de Fusarium do algodoeiro pelas diferentes plantas em estudo não mostrou tendência para aumento em patogenicidade às mesmas.

Os isolados Q-25, Q-25B, Q-26 e Q-26B induziram a mesma percentagem de descoloração vascular, sem contudo apresentar sintomas externos de murcha para quiabo, tanto na primeira passagem como na segunda.

Do mesmo modo, os isolados CO-27 e CO-27B induziram no cowpea uma pequena percentagem de plantas com sintomas internos, respectivamente, nas primeira e segunda passagens, sendo menor a percentagem de plantas com sintomas para a segunda passagem.

O Fusarium do algodoeiro quando inoculado em abóbora, abóbora de moita, amendoim e melão não produziu nenhum sintoma, no entanto, o fungo foi recuperado das diferentes plantas citadas, mostrando patogenicidade para algodoeiro, conforme dados apresentados no quadro VII.



I S O L A D O S

Fig. 4. Percentagem de plantas de algodoeiro var. IAC-12 com sintomas externos de murcha para os diferentes isolamentos de *Fusarium solani* nos 2º, 3º e no 4º testes de patogenicidade.

QUADRO VI - Percentagem de plantas com sintomas externos e internos nas 1ª e 2ª passagens dos isolados obtidos das diferentes plantas testadas.

| Origem dos isolados de Fusarium do algodoeiro. | Isolado | 1ª Passagem | | | | Isolado | nº de plantas | 2ª Passagem | | | | Recup. do fungo |
|--|---------|---------------|-----------|-----------|-----------------|---------|---------------|---------------|-----------|-----------|-----------------|-----------------|
| | | nº de plantas | Sintomas | | Recup. do fungo | | | nº de plantas | Sintomas | | Recup. do fungo | |
| | | | Externo % | Interno % | | | | | Externo % | Interno % | | |
| Abóbora | A-19 | 20 | 0,00 | 0,00 | + | A-19B | 18 | 0,00 | 0,00 | + | | |
| | A-20 | 19 | 0,00 | 0,00 | + | A-20B | 19 | 0,00 | 0,00 | + | | |
| | Test. | 19 | 0,00 | 0,00 | - | | 20 | 0,00 | 0,00 | - | | |
| Abóbora de Moita | AB-21 | 20 | 0,00 | 0,00 | + | AB-21B | 19 | 0,00 | 0,00 | + | | |
| | AB-22 | 20 | 0,00 | 0,00 | + | AB-22B | 20 | 0,00 | 0,00 | + | | |
| | Test. | 20 | 0,00 | 0,00 | - | | 17 | 0,00 | 0,00 | - | | |
| Amendoim | AM-29 | 19 | 0,00 | 0,00 | + | AM-29B | 20 | 0,00 | 0,00 | + | | |
| | AM-30 | 20 | 0,00 | 0,00 | + | AM-30B | 20 | 0,00 | 0,00 | + | | |
| | AM-31 | 20 | 0,00 | 0,00 | + | AM-31B | 20 | 0,00 | 0,00 | + | | |
| | Test. | 20 | 0,00 | 0,00 | - | | 18 | 0,00 | 0,00 | - | | |
| Cowpea | CO-27 | 20 | 0,00 | 10,00 | + | CO-27B | 20 | 0,00 | 5,00 | + | | |
| | CO-28 | 19 | 0,00 | 0,00 | + | CO-28B | 20 | 0,00 | 0,00 | + | | |
| | Test. | 19 | 0,00 | 0,00 | - | | 18 | 0,00 | 0,00 | - | | |
| Melão | ME-23 | 19 | 0,00 | 0,00 | + | ME-23B | 19 | 0,00 | 0,00 | + | | |
| | ME-24 | 20 | 0,00 | 0,00 | + | ME-24B | 20 | 0,00 | 0,00 | + | | |
| | Test. | 18 | 0,00 | 0,00 | - | | 20 | 0,00 | 0,00 | - | | |
| Quiabo | Q-25 | 20 | 0,00 | 100,00 | + | Q-25B | 20 | 0,00 | 100,00 | + | | |
| | Q-26 | 20 | 0,00 | 100,00 | + | Q-26B | 20 | 0,00 | 100,00 | + | | |
| | Test. | 20 | 0,00 | 0,00 | - | | 18 | 0,00 | 0,00 | - | | |

+ = foi recuperado Fusarium do algodoeiro; - = não foi recuperado Fusarium do algodoeiro

QUADRO VII -- Resultados dos testes de patogenicidade na variedade de algodoeiro IAC-12 para os isolados obtidos das diferentes plantas testadas

| Origem dos isolados de <u>Fusarium</u> do algodoeiro. | Testes de Patogenicidade | | | | | | | | | | | | | |
|---|--------------------------|---------------|-----------|-----------|---------|---------------|---------|--------|---------|---------------|---------|--------|-----------------|-----------------|
| | 1ª | | | | 2ª | | | | 3ª | | | | | |
| | Isolado | nº de plantas | Sintomas | | Isolado | nº de plantas | % Média | | Isolado | nº de plantas | % Média | | Recup. do fungo | Recup. do fungo |
| | | | Externo % | Interno % | | | S.Ext. | S.Int. | | | S.Ext. | S.Int. | | |
| Abóbora | A-19A | 8 | 50,00 | 75,00 | A-19B | 23 | 57,58 | 95,84 | A-19C | 20 | 55,00 | 80,00 | + | |
| | A-20A | 6 | 66,66 | 100,00 | A-20B | 24 | 63,99 | 100,00 | A-20C | 20 | 50,00 | 80,00 | + | |
| Abóbora Moita | AB-21A | 10 | 60,00 | 60,00 | AB-21B | 28 | 44,05 | 87,50 | AB-21C | 20 | 55,00 | 85,00 | + | |
| | AB-22A | 6 | 66,66 | 100,00 | AB-22B | 26 | 53,08 | 82,31 | AB-22C | 21 | 47,73 | 81,37 | + | |
| Amendoim | AM-29A | 8 | 0,00 | 75,00 | AM-29B | 22 | 38,11 | 92,31 | AM-29C | 20 | 35,00 | 85,00 | + | |
| | AM-30A | 8 | 0,00 | 50,00 | AM-30B | 24 | 31,82 | 68,19 | AM-30C | 20 | 35,00 | 70,00 | + | |
| | AM-31A | 7 | 0,00 | 0,00 | AM-31B | 22 | 36,36 | 72,73 | AM-31C | 19 | 46,67 | 95,00 | + | |
| Cowpea | CO-27A | 8 | 50,00 | 75,00 | CO-27B | 23 | 36,41 | 88,16 | CO-27C | 20 | 68,50 | 95,46 | + | |
| | CO-28A | 10 | 60,00 | 100,00 | CO-28B | 28 | 64,23 | 100,00 | CO-28C | 20 | 67,17 | 74,25 | + | |
| Melão | ME-23A | 9 | 33,33 | 100,00 | ME-23B | 25 | 41,67 | 77,09 | ME-23C | 19 | 47,78 | 74,44 | + | |
| | ME-24A | 9 | 66,66 | 100,00 | ME-24B | 20 | 49,98 | 90,91 | ME-24C | 19 | 31,11 | 78,34 | + | |
| Quiabo | Q-25A | 10 | 60,00 | 100,00 | Q-25B | 23 | 55,66 | 87,50 | Q-25C | 20 | 45,00 | 80,00 | + | |
| | Q-26A | 10 | 100,00 | 100,00 | Q-26B | 19 | 57,23 | 100,00 | Q-26C | 19 | 42,78 | 78,34 | + | |
| Testemunha | | 30 | 0,00 | 0,00 | | 18 | 0,00 | 0,00 | | 20 | 0,00 | 0,00 | - | |

+ = foi recuperado Fusarium de algodoeiro; - = não foi recuperado Fusarium de algodoeiro

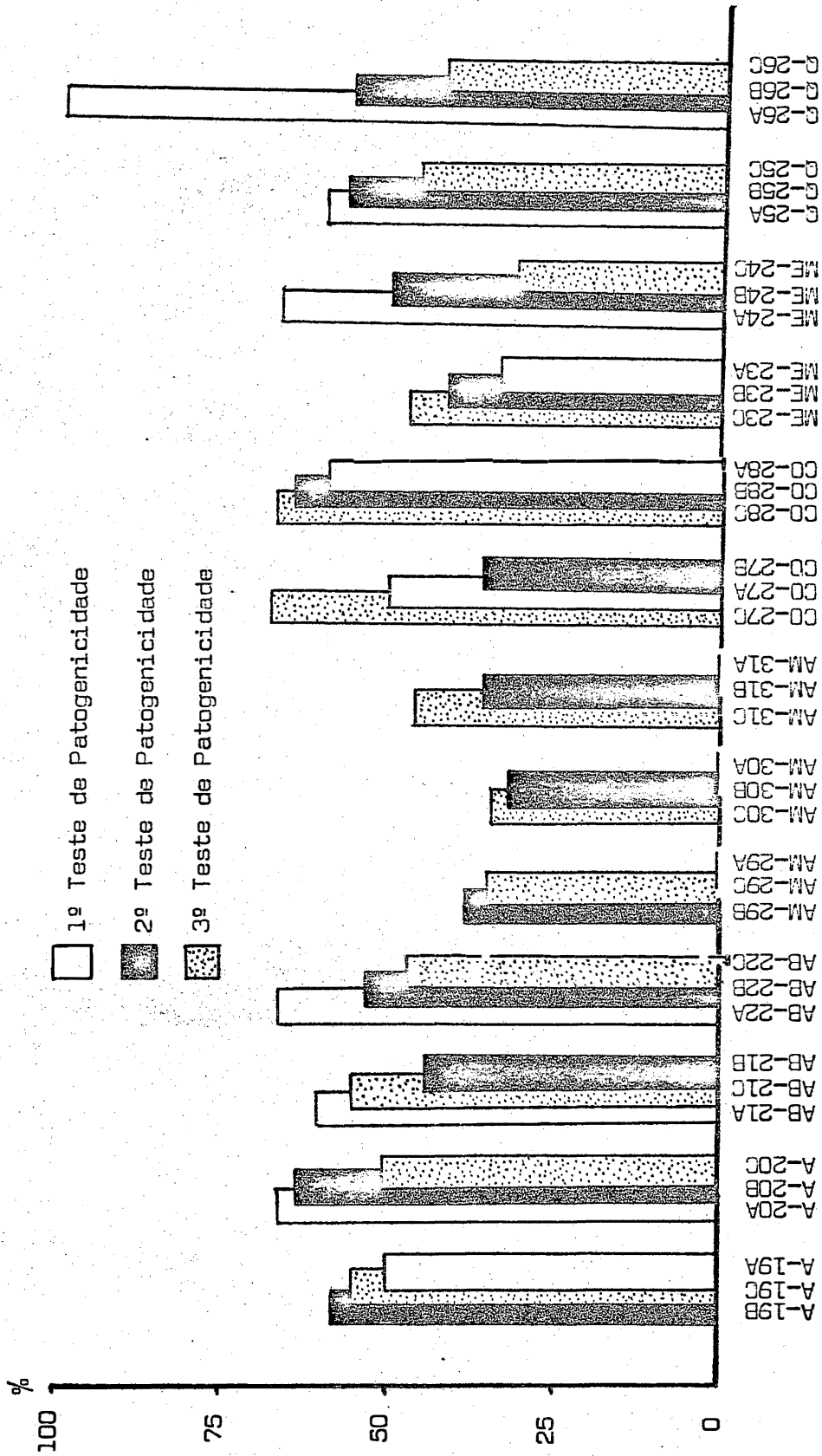
Dos resultados obtidos nos testes de patogenicidade em algodoeiro da var. IAC-12, para os isolados provenientes das diferentes plantas cultivadas na ausência de nematóides, foi observado uma resposta variável da relação patógeno-hospedeiro.

Os isolados resultantes de AM-29A, AM-30A e AM-31A, obtidos de amendoim manifestaram uma certa tendência para aumento na patogenicidade, após a 3ª passagem pelo hospedeiro suscetível, causando respectivamente 5%, 10% e 5% de plantas mortas. Mesmo tendo havido uma recuperação na patogenicidade destes isolados, os mesmos apresentaram uma percentagem baixa de plantas de algodoeiro com sintomas externos de murcha, não atingindo 50%.

Com relação aos isolados CO-28A, CO-28B, CO-28C, provenientes de cowpea; e ME-23A, ME-23B e ME-23C de melão, foi verificado uma tendência para aumento em patogenicidade. Entretanto, o mesmo não ocorreu com os isolados A-20A, A-20B e A-20C de abóbora; AB-22A, AB-22B, e AB-22C de abóbora de moita; ME-24A, ME-24B e ME-24C do melão; Q-25A, Q-25B, Q-25C, Q-26A, Q-26B e Q-26C do quiabo, os quais tenderam para um decréscimo em patogenicidade.

Por outro lado, os isolados AB-21A, AB-21B e AB-21C, da abóbora de moita, e CO-27A, CO-27B e CO-27C, do cowpea, manifestaram um comportamento irregular, com relação a virulência, por ocasião dos três testes de patogenicidade.

As duas passagens consecutivas dos diferentes isolados através do hospedeiro suscetível, nos 1º e 2º testes de patogenicidade, evidenciaram uma certa tendência para aumento em patogenicidade dos isolados A-19A e A-19B de abóbora; CO-28A e CO-28B do cowpea; ME-23A e ME-23B do melão; sendo mais acentuado para os isolados de amendoim; AM-29A e AM-29B, AM-30A e AM-30B, AM-31A e AM-31B, entretanto o mesmo não ocorreu, com relação aos demais isolados, após duas passagens consecutivas através da variedade de algodoeiro IAC-12. Na figura 5 são apresentados os resultados referentes aos testes de patogenicidade para os diferentes isolados.



I S O L A D O S

Fig. 5. Percentagem de plantas de algodoeiro var. IAC-12 com sintomas externos de murcha para os diferentes isolados de Fusarium do algodoeiro nos 1º, 2º e no 3º testes de patogenicidade

5. D I S C U S S Ã O

Do estudo feito acôrca das relaçoẽs patógeno-hospedeiro, foi verificado, nas pressões de seleçãõ utilizadas, que não houve tendênciã para aumento em patogenicidade dos diferentes isolados de Fusarium do algodoeiro, para as respectivas plantas testadas, mesmo após três passagens através das diferentes plantas, quando intercaladas com testes de patogenicidade na variedade de algodoeiro IAC-12. Êstes resultados são semelhantes àqueles obtidos por SMITH & SHAW (27), quando efetuaram 7 passagens do Fusarium do algodoeiro em fumo, sendo que êstes autores não notaram aumento em patogenicidade para fumo. Não foi, entretanto, possível saber se o esquema de pressão de seleçãõ adotado por Smith e Shaw, foi semelhante ao usado nesta pesquisa.

Certos isolados, resultantes da passagem do Fusarium do algodoeiro através de feijão preto, feijão bico de ouro e soja, causaram sintomas externos e internos de murcha, em uma pequena percentagem de plantas, sem que houvesse morte das mesmas. Por outro lado, os sintomas apresentados em mamona, quando inoculada com o Fusarium do algodoeiro, foram somente descoloraçãõ vascular de raízes, em duas plantas, na segunda passagem, não se repetindo na terceira passagem. Apesar dos sintomas apresentados pelas diferentes plantas não hospedeiras típicas, não foi observado nenhuma tendênciã para aumento em patogenicidade às mesmas.

Os resultados obtidos, no presente trabalho, para a planta de feijão são semelhantes aqueles obtidos por ARMSTRONG & ARMSTRONG (8), quando inocularam feijão (Phaseolus vulgaris L.) var. Mexican Pink e outras plantas, com o Fusarium do algodoeiro, não tendo observado, os autores, nenhuma produçãõ de sintomas de murcha, mesmo empregando uma concentraçãõ elevada do inóculo. Entretanto, notaram descoloraçãõ vascular em poucas plantas, na maioria das espécies testadas, omitindo, no entanto, quais as espécies

de plantas que apresentaram descoloração vascular.

Com relação a soja, ARMSTRONG & ARMSTRONG (7) mostraram que a raça 2 do Fusarium do algodoeiro produz sintomas de murcha em soja Yelredo, o mesmo não fazendo a raça 1, constituindo, portanto esta variedade de soja, um hospedeiro diferencial para as raças 1 e 2 do Fusarium do algodoeiro. O presente trabalho, embora não permitisse a classificação das raças, revelou que o patógeno pode ser isolado da variedade de soja testada.

Por outro lado, ervilha, tomate, pepino e melancia, quando inoculadas com o Fusarium do algodoeiro, não apresentaram sintomas de murcha. Resultados semelhantes foram obtidos por ARMSTRONG & ARMSTRONG (8) utilizando as espécies de plantas, acima citadas. Entretanto, no que concerne a melancia, cultivada em um substrato diferente, ARMSTRONG et al (12) não conseguiram isolar o fungo do algodão, o que foi feito com relativa facilidade neste trabalho. É provável que o material estudado por Armstrong tenha sido diferente.

É fato importante que os isolados utilizados, nos casos acima citados, são resultantes do isolamento de plantas inicialmente cultivadas na presença de nematóides do gênero Meloidogyne, sugerindo que em condições naturais, o mesmo poderá ocorrer, e que, a perpetuação do F. oxysporum f. sp. vasinfectum, dá-se também pela colonização de plantas não hospedeiras, fato já sugerido por HENDRIX & NIELSEN (22), para F. oxysporum f. sp. bata
tas.

Por sua vez, plantas de quiabo, cultivadas na ausência de nematóides do gênero Meloidogyne, quando inoculadas com o Fusarium do algodoeiro, mostraram uma elevada percentagem de plantas com sintomas internos, não havendo, no entanto, manifestação de sintomas externos, os quais são citados na literatura por ARMSTRONG & ARMSTRONG (7) quando trabalharam com a raça 1 do Fusarium do algodoeiro. Entretanto Fahmy, citado por ARMSTRONG et al

(12), não obteve produção de sintomas em quiabo, não se referindo especificamente a sintomas externos ou internos, quando inoculado com o Fusarium do algodão Egípcio.

O presente resultado, sugere a existência de uma raça diferente da aquela citada por Armstrong, para quiabo, ou então, a presença em quiabo, de um gen de resistência impedindo a manifestação da raça na exibição dos sintomas externos.

Cowpea não apresentou sintomas externos de murcha, quando inoculado com o Fusarium do algodoeiro, mas somente descoloração vascular, em um pequeno número de plantas, tanto na primeira passagem como na segunda. Resultados semelhantes foram obtidos por ARMSTRONG et al (12) quando inocularam o Fusarium do algodoeiro em cowpea var. Cal. Blackeye, sendo que a percentagem de plantas com sintomas internos foi em torno de 0,65%.

Entretanto, abóbora, abóbora de moita, amendoim e melão, quando inoculadas com o Fusarium do algodoeiro, não apresentaram sintomas externos ou internos de murcha, existindo na literatura resultados semelhantes com relação a melão e abóbora citados por ARMSTRONG & ARMSTRONG (11), não tendo sido encontrado algum relato acerca de amendoim.

Vale ressaltar, que os isolados provenientes de quiabo, cowpea, abóbora, abóbora de moita, amendoim e melão, foram obtidos através de isolamentos efetuados nas plantas, acima mencionadas, quando cultivadas, por ocasião da primeira passagem, na ausência de nematóides.

Os isolados obtidos de todos os hospedeiros não suscetíveis testados, com ou sem sintomas externos ou internos, conservaram patogenicidade para variedade de algodoeiro IAC-12, variando no entanto, quanto ao grau de virulência. Entretanto, esta variação em patogenicidade já foi observada por vários investigadores, tais como, WELLMAN (31), ARMSTRONG et al (13), TOKESHI (30) e BALMER (14), CARDOSO (18), quando trabalharam com diferen-

tes formas de Fusarium oxysporum.

Como os isolados de Fusarium do algodoeiro, provenientes das diferentes espécies de plantas, haviam sido selecionados, com base na sua maior ou menor patogenicidade em plantas de algodoeiro da var. IAC-12, foi observado que, nem sempre os isolados mais patogênicos ao algodoeiro, procedentes de uma determinada espécie de planta, apresentavam maior percentagem de plantas de algodoeiro com sintomas de murcha, nos testes de patogenicidade subsequentes, quando comparados, na mesma época, com os isolados de menor patogenicidade, o que possivelmente poderá ser atribuído a alterações na constituição genética dos isolados.

Com relação a possível influência do algodoeiro sobre o patógeno, foi verificado, no presente trabalho, que os isolados ER-11C, AM-29A, AM-30A e AM-31A, provenientes, o primeiro de ervilha e os três últimos de amendoim, por ocasião do 2º teste de patogenicidade em plantas de algodoeiro var. IAC-12, apresentaram uma virulência em torno de zero %, manifestando posteriormente, tendência para aumento em virulência, nos subsequentes testes de patogenicidade, embora esta tendência, no caso de amendoim, tenha sido baixa, quando comparada com os demais isolados. Resultados semelhantes obtiveram HENDRIX & NIELSEN (22) quando passaram o Fusarium do tomateiro através de batata-doce, mostrando este fungo, virulência atenuada para tomateiro, em dois testes de patogenicidade subsequentes.

Considerando que o amendoim pode ser colonizado pelo Fusarium do algodoeiro, sem contudo, apresentar sintomas externos ou internos de murcha, e que, o patógeno apresentou sua virulência atenuada para algodoeiro, após passagem pelo amendoim, provavelmente explicaria uma das maneiras, além de outras, pelas quais resultam os efeitos benéficos da utilização do amendoim num sistema de rotação de culturas.

De um modo geral, os isolados, procedentes de feijão preto, FPr-2C, FPr-2D e FPr-2E, e feijão bico de ouro, FBO-3C, FBO-3D, FBO-3E e FBO-4C,

FBO-4D, FBO-4E apresentaram tendência para decréscimo em virulência, para plantas de algodoeiro var. IAC-12, por ocasião dos testes de patogenicidade. Entretanto, os isolados provenientes de mamona, soja, tomate, pepino e melancia, de um modo geral, manifestaram tendência para aumento em virulência, acima de 50%, em variedade de algodoeiro IAC-12, por ocasião dos testes de patogenicidade. Estas variações de virulência, provavelmente, podem ser influenciadas ou por condições ambientais, uma vez que, os testes de patogenicidade foram efetuados em diferentes épocas, ou por condições intrínsecas do patógeno.

Como os resultados obtidos para feijão preto, feijão bico de ouro, ervilha, mamona, soja, tomate, pepino e melancia foram provenientes de isolados obtidos de plantas cultivadas, por ocasião da 1ª passagem, na presença do complexo Fusarium-Nematóide, e os resultados para abóbora, abóbora de moita, amendoim, cowpea, melão e quiabo foram provenientes de isolados obtidos de plantas cultivadas na ausência de nematóides, por ocasião da 1ª passagem, é possível pensar numa alteração na fisiologia das diferentes plantas, pelo nematóide, influenciando assim, provavelmente, na seleção dos isolados obtidos.

É interessante notar que, os isolados menos patogênicos ao algodoeiro no segundo teste de patogenicidade, foram os que manifestaram uma maior tendência para aumento em patogenicidade.

Tendo em vista a persistência do F. oxysporum f. sp. vasinfectum no solo, por período de 12 anos, mesmo na ausência da cultura do algodoeiro, havendo ainda, no fim deste período, ocorrência de murcha, e considerando os resultados obtidos no presente trabalho, pode-se supor que esta persistência seja devida, além do hábito saprofítico e patogênico do fungo, a invasão e colonização de outras espécies vegetais que podem ser denominadas de hospedeiros não suscetíveis.

6. CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir o que segue:

1. Os isolados de Fusarium do algodoeiro podem ser recuperados de amendoim (Arachis hypogaeae L.) var. Tatu, mamona (Ricinus communis L.) var. IAC-38, e melancia (Citrullus vulgaris Schrad) var. Yamato Sato IAC-2732, mostrando-se patogênicos em algodoeiro variedade IAC-12.

2. Não houve tendência para aumento de virulência dos isolados do Fusarium do algodoeiro, aos diferentes hospedeiros não suscetíveis, mesmo após três passagens através de diferentes espécies de plantas, tais como, amendoim (Arachis hypogaeae L.) var. Tatu, abóbora (Cucurbita pepo L.) var. Menina, abóbora de moita (Cucurbita pepo L.) var. Caserta IAC-1767, cowpea (Vigna sinensis Endl.), ervilha (Pisum sativum L.) var. Russia Grano Amarillo I-735, feijão preto (Phaseolus vulgaris L.), feijão (Phaseolus vulgaris L.) var. Bico de Ouro, mamona (Ricinus communis L.) var. IAC-38, melancia (Citrullus vulgaris Schrad) var. Yamato Sato IAC-2732, melão (Cucumis melo L.) var. Casca de Carvalho, pepino (Cucumis sativus L.) var. Marketer I-2205, soja (Glycine max (L.) Merrill) var. Pelicano, quiabo (Hibiscus esculentus L.) var. Campinas 1 IAC-4075, e tomate (Lycopersicon esculentum Mill) var. Santa Cruz.

3. A passagem do Fusarium do algodoeiro através do amendoim, manifestou tendência para atenuação de virulência para algodoeiro variedade IAC-12, por ocasião do 1º teste de patogenicidade, sendo que o grau de virulência aumentou ligeiramente nos testes de patogenicidade subsequentes.

4. O Fusarium do algodoeiro quando inoculado, por ferimentos de raízes, em mamona, foi recuperado somente das raízes.

5. Alguns isolados afins mostraram tendência para aumento em virulência, por ocasião dos testes de patogenicidade, enquanto que outros manifestaram tendência para decréscimo em virulência.

6. Os diferentes isolados de Fusarium do algodoeiro após duas passagens consecutivas através da variedade de algodoeiro IAC-12 de um modo geral, não revelaram tendência para aumento em patogenicidade.

7. RESUMO

O presente trabalho teve por finalidade precípua, estudar as relações patógeno-hospedeiro, utilizando diferentes espécies de plantas nas pressões de seleção, tais como, feijão preto (Phaseolus vulgaris L.), feijão (Phaseolus vulgaris L.) var. Bico de Ourço, ervilha (Pisum sativum L.) var. Russia Grano Amarillo I-735, mamona (Ricinus communis L.) var. IAC-38, soja (Glycine max (L.) Merrill) var. Pelicano, tomate (Lycopersicon esculentum, Mill) var. Sta. Cruz, pepino (Cucumis sativus L.) var. Marketer I-2205 e melancia (Citrullus vulgaris, Schrad) var. Yamato Sato IAC-2732, inicialmente cultivadas em presença de um complexo Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum e nematóides do gênero Meloidogyne, enquanto que, abóbora (Cucurbita pepo L.) var. Menina, abóbora de moita (Cucurbita pepo) L. var. Caserta IAC-1757, amendoim (Arachis hypogaeae L.) var. Tatu, cowpea (Vigna sinensis Endl.), melão (Cucumis melo L.) var. Casca de Carvalho e quiabo (Hibiscus esculentus L.) var. Campinas 1 IAC-4075, foram cultivadas na ausência de nematóides do gênero Meloidogyne e inoculadas com o Fusarium do algodoeiro. Em ambos os casos, acima mencionados, foi verificado que o Fusarium do algodoeiro pode penetrar e colonizar estas espécies de plantas pertencentes a outras famílias diferentes das malváceas, podendo em todos os casos o fungo ser recuperado das mesmas.

Os isolados de Fusarium do algodoeiro obtidos das diferentes plantas inoculadas, mostraram-se patogênicos a plantas de algodoeiro (Gossypium hirsutum, L.) var. IAC-12, variando, no entanto, quanto ao grau de patogenicidade. Entretanto, em nenhuma passagem através dos hospedeiros não suscetíveis testados, os isolados de Fusarium do algodoeiro, manifestaram tendência para aumento em patogenicidade aos mesmos.

B. S U M M A R Y

The main objective of the present work was to study the pathogen-host relationships using different species of plants in selection "pressions" such as black bean (Phaseolus vulgaris L.), bean (Phaseolus vulgaris L.) var. Bico de Ouro, pea (Pisum sativum L.) var. Russia Grano Amarillo I-735, castor bean (Ricinus communis L.) var. IAC-38, soybean (Glycine max (L) Merrill) var. Pelicano, tomato (Lycopersicon esculentum, Mill) var. Santa Cruz, cucumber (Cucumis sativus L) var. Marketer I-2205, and watermelon (Citrullus vulgaris, Schrad) var. Yamato Sato IAC-2732, initially grown in the presence of a complex Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum and Nematodes of the Meloidogyns genus, while pumpkin (Cucurbita pepo L.) var. Menina and pumpkin de moita (Cucurbita pepo L) var. Caserta IAC-1767, peanuts (Arachis hypogaeae L.) var. Tatu, cowpea (Vigna sinensis Endl.), melon (Cucumis melo L.) var. Casca de Carvalho, and okra (Hibiscus esculentus L.) var. Campinas 1 IAC-4075, were grown in the absence of nematodes of the Meloidogyns genus and were inoculated with isolates of the cotton Fusarium. In both cases it was observed that the Fusarium of cotton can penetrate and colonize these plant species belonging to other families, different from the cotton related species, and the fungus can be in every case recuperated from the same.

The isolates of the cotton Fusarium obtained from the different inc-

culated plants proved to pathogenic to cotton (Gossypium hirsutum L.) var. IAC-12, varying however as to the degree of pathogenicity. However, in no passage through the non-susceptible hosts tested showed the isolates of the cotton Fusarium a tendency to an increase in their pathogenicity to the same.

9. BIBLIOGRAFIA CITADA

1. ARMSTRONG, G. M. 1938. Fusarium wilt on Tobacco in Piedmont South Carolina. U. S. Dept. Agr., Bur. Pl. Ind., Pl. Dis. Repr. 22:326-327.
2. ARMSTRONG, G. M. 1940. Fusarium wilt of Cotton and Tobacco apparently caused by the same organism. *Phytopathology* 50:1-2 (Abstr.)
3. ARMSTRONG, G. M. 1941. A solution-culture infection method used in the study of Fusarium wilts. *Phytopathology* 31:549-553.
4. ARMSTRONG, G. M., and J. K. ARMSTRONG. 1948. Nonsusceptible hosts as carriers of wilt fusaria. *Phytopathology* 38:808-826.
5. ARMSTRONG, G. M., and J. K. ARMSTRONG. 1950. Biological races of the Fusarium causing wilt of cowpeas and soybeans. *Phytopathology* 40:181-193.
6. ARMSTRONG, G. M., and J. K. ARMSTRONG. 1954. Alfalfa a common host for the wilt Fusaria from Alfalfa, Cotton, and Cassia. *Pl. Dis. Repr.* 38:221-222.
7. ARMSTRONG, J. K., and G. M. ARMSTRONG. 1958. A race of the cotton-wilt Fusarium causing wilt of Yelredo Soybean and Flue-cured Tobacco. *Pl. Dis. Repr.* 42:147-151.
8. ARMSTRONG, G. M., and J. K. ARMSTRONG. 1960. American, Egyptian, and Indian cotton-wilt Fusaria: their pathogenicity and relationship to other wilt Fusaria. *U. S. Dep. Agr. Tec. Bull.* 1219-1-18.
9. ARMSTRONG, G. M., and J. K. ARMSTRONG. 1961. Some clovers susceptible to the Cassia, Cotton, and other wilt Fusaria. *Phytopathology* 51:642 (Abstr.)
10. ARMSTRONG, G. M., and J. K. ARMSTRONG. 1964. Lupinus species-common host for wilt fusaria from Alfalfa, Bean, Cassia, Cowpea, Lupine, and U. S. Cotton. *Phytopathology* 34:1232-1235.

11. ARMSTRONG, G. M., and J. K. ARMSTRONG. 1969. Relationships of Fusarium oxysporum formae speciales apii, asparagi, cassiae, melongenae, and vasinfectum race 3 as revealed by pathogenicity for common hosts. *Phytopathology* 59:1256-1260.
12. ARMSTRONG, G. M., B. S. HAWKINS, and C. C. BENNETT. 1942. Cross inoculations with isolates of fusaria from cotton, tobacco, and certain other plants subject to wilt. *Phytopathology* 32:685-698.
13. ARMSTRONG, G. M., J. D. MAC LACHLAN, and R. WEINDLING. 1940. Variation in pathogenicity and cultural characteristics of the cotton-wilt organism, Fusarium vasinfectum. *Phytopathology* 30:515-520.
14. BALMER, E. 1967. Contribuição ao estudo das relações entre Fusarium oxysporum f. vasinfectum (Atk) Snyder & Hans. e Gossypium hirsutum L. Tese de Doutorado apresentada à E.S.A. "Luiz de Queiroz" U.S.P. Piracicaba, 47 p.
15. BASTOS CRUZ, B. P. 1959. A fusariose do algodoeiro. *Biológico* 25:45-47
16. BRASIL. 1970. Instituto Brasileiro de Estatística. Anuário Estatístico do Brasil. Rio de Janeiro. 771 p.
17. BUGBEC, W.M., and W. P. SAPPENFIELD. 1968. Varietal reaction of cotton after stem or root inoculation with Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum. *Phytopathology* 58:212-214.
18. CARDOSO, CAIO O. N. 1967. Contribuição ao estudo das relações entre Fusarium oxysporum f. phaseoli (Schlecht) Kendr. & Snyder. e Phaseolus vulgaris L. Tese de Magister Scientiae apresentada à E.S.A. "Luiz de Queiroz" U.S.P. Piracicaba, 48 p.
19. CAVALERI, P. A. e C. A. M. FERRAZ. 1963. Estudo preliminar sobre o controle da fusariose do algodoeiro no Estado de São Paulo. *Ciência e Cultura*. 15:232
20. CROMWELL, R. O. 1917. Fusarium-blight, or wilt disease, of the Soybean. *Jour. Agr. Res.* VIII:421-441.
21. FAHMY, T. 1927. The Fusarium disease (wilt) of cotton and its control. *Phytopathology* 17:749-767
22. HENDRIX, F. F. Jr., and L. W. NIELSEN. 1958. Invasion and infection of crops other than the forma suscept by Fusarium oxysporum f. bata-tas and other formae. *Phytopathology* 48:224-228.
23. KELMAN, A., org. 1967. Sourcebook of laboratory exercises in plant pathology. San Francisco, Freeman. 387 p.
24. KRUG, H. P. 1936. Fusarium como causador da murcha do algodoeiro no Brasil. *Rodriguesia*, nº Especial (An. I Reunião de Fitopatologia do Brasil) 319-321.

25. MESSIAEN, C. M. 1959. La systématique du genre Fusarium selon Snyder et Hansen. Revue de Pathologie Végétale et D'Entomologie Agricole. 38:253-266.
26. SILVEIRA, A. P., B. P. BASTOS CRUZ, SALIMA G. P. SILVEIRA e W. B. TOFFANO. 1967. Resistência varietal de algodoeiro à murcha de Fusarium (F. oxysporum f. vasinfectum (ATK) Snyder & Hansen). Arq. Inst. Biol. S.Paulo 34:59-68.
27. SMITH, T. E., and K. J. SHAW. 1942. Pathogenicity studies with Fusaria isolated from tobacco, sweet-potato, and cotton. Phytopathology 33:469-483.
28. SNYDER, W. C., and H. N. HANSEN. 1940. The species concept in Fusarium. Amer. Jour. Bot. 27:64-67.
29. TÓFFANO, W. B. 1963. A Fusariose do algodoeiro e o comportamento das variedades do IAC. Biológico 29:92-96.
30. TOKESHI, H. 1966. Murcha de Fusarium em tomateiro. Tese de Livre Docência apresentada à E.S.A. "Luiz de Queiroz", U.S.P. Piracicaba. 64 p
31. WELLMAN, F. L. 1943. Increase of pathogenicity in Tomato Wilt Fusarium. Phytopathology 33:175-193.

