



# Efeito da concentração inicial de inóculo do nematóide *Heterodera glycines* no desenvolvimento do feijoeiro comum

Walter Ferreira Becker<sup>1</sup> e Silamar Ferraz<sup>2</sup>

**Resumo** – A patogenicidade de *Heterodera glycines* ao feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) cultivar Ouro foi testada com seis concentrações de inóculo (0, 1.200, 2.400, 4.800, 9.600 e 19.200 ovos/planta) comparando-a com a soja (*Glycine Max*) cultivar FT-Cristalina. A redução na produção de grãos do feijoeiro foi de 14,9% quando inoculado com 5.600 ovos/planta e a redução no peso de raiz seca atingiu 40,8% na concentração de 12.660 ovos/planta. Os teores de clorofila e dos nutrientes fósforo, potássio, ferro, manganês, zinco e cobre não diferiram com a concentração de inóculo. Na soja, a maior concentração de inóculo (19.200 ovos/planta) provocou redução na produção de grãos de 84,1% e o peso de raiz seca foi reduzido em 46,8%.

**Termos para indexação:** nematóide de cisto; *Phaseolus vulgaris*, feijão.

## Initial inoculum concentration of nematode *Heterodera glycines* affecting the development of common bean

**Abstract** – To determine the effect of inoculum concentration on the patogenicity of *Heterodera glycines* to the common bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar Ouro six concentrations (0, 1,200; 2,400; 4,800; 9,600 and 19,200 eggs/plant) were tested in comparison to soybean cultivar FT-Cristalina. On common beans the largest yield reduction was 14,9% when inoculated with 5,600 eggs/plant. There was a reduction of 40,8% in the root dry weight at the level of 12,600 eggs/plant. The chlorophyll content and the amount of phosphorous, potassium, iron, manganese, zinc and copper did not differ with inoculum concentration. On soybean the largest reduction in grain production was 84,1% when the concentration was 19,200 eggs/plant and the largest reduction in the root weight was 46,8%.

**Index terms:** cyst nematode, *Phaseolus vulgaris*, common bean.

## Introdução

O nematóide de cisto da soja (NCS), *Heterodera glycines* Ichinohe, um importante patógeno na cultura da soja, pode infectar várias espécies de feijoeiro (Riggs & Hamblen, 1962). Nos Estados Unidos, a constatação da doença em campos comerciais de feijoeiro data de 1981, quando foram observados os sintomas de atrofiamento e clorose semelhantes aos ocorridos em soja. No Brasil, existe um risco potencial desta doença para o feijoeiro, uma vez que

este nematóide foi constatado nas principais regiões produtoras de soja (Lordello et al., 1992) que também se dedicam à produção de feijão.

A produtividade de culturas anuais em relação às populações de certas espécies de nematóides depende da infestação inicial, sendo que baixas infestações podem favorecer altos incrementos (Barker & Olthoff, 1976). Lownsbery & Peter (1955) observaram que baixas populações de *Heterodera rostochiensis* Wollenweber e *H. tabacum* Lownsbery & Lownsbery

podem incrementar o crescimento da planta hospedeira. Entretanto, na soja 'Forrest', Francl & Dropkin (1986) estimaram como sendo de três cistos ou 470 ovos/kg de solo o nível de tolerância ao NCS. O conhecimento das relações quantitativas entre a densidade do nematóide e o desenvolvimento da planta é essencial para o planejamento de programas de manejo integrado (Barker & Nusbaum, 1971). O objetivo deste trabalho foi determinar a eficiência do feijoeiro como hospedeiro e definir a relação

<sup>1</sup>Eng. agr., Dr., Epagri/Estação Experimental de Caçador, C.P. 591, 89500-000 Caçador, SC, fone: (049) 563-0211, fax: (049) 563-3211, e-mail: wbecker@epagri.rct-sc.br.

<sup>2</sup>Eng. agr., Dr., professor da Universidade Federal de Viçosa, 36571-000 Viçosa, MG.

entre a população inicial do patógeno no solo e o desenvolvimento da planta.

## Material e métodos

Em casa de vegetação da Universidade Federal de Viçosa – UFV – foi conduzido um experimento envolvendo o NCS e o feijoeiro ‘Ouro’, tendo a soja ‘FT-Cristalina’ como testemunha de suscetibilidade. O inóculo foi obtido a partir de uma população de *H. glycines*, raça 3, coletada no município de Nova Ponte, MG, e mantida sob constante multiplicação em plantas de soja ‘FT-Cristalina’. Após 35 dias da germinação, as raízes foram lavadas sob jato de água para remoção dos cistos e coleta em peneiras sobrepostas de 0,84mm (20Mesh) e 0,149mm (100Mesh). Os cistos retidos na peneira 100 foram esmagados por fricção, em almofariz, para liberação dos ovos. Este material foi suspenso em água e passado através de uma peneira de 0,025mm (500Mesh) e desta, com auxílio de uma solução de sacarose (480g/L de água), para tubos e centrifugado por 1 minuto a 420 gravidades. A calibragem da suspensão de ovos foi realizada em alíquotas de 1ml colocadas em câmara de Peters, sob microscópio estereoscópico.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos (concentrações de inóculo) e sete repetições. As sementes de feijoeiro e de soja foram desinfetadas externamente em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) 0,25% e após a germinação fez-se a seleção para uniformidade de comprimento de radícula (30 a 40mm) e transferência das plântulas selecionadas para vasos com capacidade de 3,5kg. O substrato dos vasos foi composto de uma mistura de solo e areia na proporção 3:1, corrigido com 6,8t/ha de calcário equivalente e adubado com a fórmula NPK 4-14-8, equivalente a 1,42t/ha. A inoculação foi realizada dois dias após o transplante e antes da abertura das folhas primárias. Os tratamentos consistiram na ausência da inoculação (concentração zero) e de suspensões cuja concentração final

correspondeu a de 1.200, 2.400, 4.800, 9.600 e 19.200 ovos e/ou juvenis de segundo estágio ( $J_2$ ) do nematóide/ml, colocados com auxílio de uma pipeta através de dois orifícios de 2,5cm de profundidade feitos no substrato, de cada lado da planta. As plantas foram avaliadas quanto ao número de vagens e ao peso das sementes, da parte aérea e das raízes. A quantidade de fêmeas nas raízes foi avaliada após a extração em jato de água e peneira e para os cistos foi usado o método de Dunn (1969) para uma amostra de 100ml de solo. As fêmeas e os cistos foram contados com auxílio de microscópio estereoscópico.

Aos 78 dias após o transplante foi avaliado o teor de clorofila total (CT) nas folhas do terço médio superior das plantas de feijoeiro e da soja. De quatro repetições por tratamento foi retirado, com auxílio de um furador de rolha, um disco de tecido foliar com 11mm de diâmetro de cada folíolo da penúltima folha trifoliolada. Os discos destacados foram colocados em tubos à prova de luz para prevenir a foto-oxidação e mantidos em geladeira por um período não-superior a 2 horas. Após a pesagem, os discos foram macerados em solução de acetona (80%) para extração da clorofila pelo método de Strain et al. (1971) e filtrados em papel Whatman nº 1, seguindo-se a leitura em espectrofotômetro Perkin-Elmer Coleman 11, com comprimento de onda de 663nm. O teor de clorofila foi calculado pelo método de Arnon (1946).

A análise foliar dos nutrientes foi realizada apenas para o feijoeiro, já que para a soja estes dados são citados na literatura. Cerca de cinco folhas trifolioladas, a partir da penúltima folha, de cima para baixo, foram secadas por três dias a 70°C e moídas. De cada amostra foi utilizado 0,5g em 50ml de extrato para o fósforo, potássio, ferro, cobre, zinco e manganês. A digestão do material vegetal foi processada pelo método nítrico-perclórico, sendo os elementos nutrientes avaliados através do espectrofotômetro de chama (Jones et al., 1991), exceto o fósforo, que foi avaliado pelo método colorimétrico (Braga & Defelipo, 1972).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância. Os modelos de regressão (linear e raiz quadrada) foram utilizados para determinar o comportamento das variáveis estudadas em função da concentração de inóculo, enquanto os teores dos elementos nutrientes foram submetidos à análise de variância.

## Resultados e discussão

As plantas de feijoeiro, quando inoculadas com o nematóide *H. glycines*, tiveram seu desenvolvimento reduzido (Figura 1). Houve um efeito significativo da concentração de inóculo (C) sobre o peso de grãos no feijão e na soja. No feijão, o modelo quadrático foi o que melhor se ajustou aos dados desta variável (Figura 2). O peso de grãos diminuiu em 14,9% com o incremento do inóculo até 5.600 ovos/planta e em apenas 4,1% a partir desta concentração até a inoculação máxima. Na soja, o modelo matemático que melhor se ajustou aos dados foi o da equação linear. Houve uma redução de 84,1% no peso de grãos na inoculação de 19.200 ovos/planta, confirmando uma correlação negativa ( $r = -0,93$ ) (Figura 2). Na cultivar Forrest de soja, o nível de tolerância em cultivo é de 470 ovos/kg de solo (Francl & Dropkin, 1986).

A importância da concentração inicial de inóculo em relação à produção tem sido demonstrada para muitas interações patógeno-hospedeiro (Wallace, 1971). A variação na concentração de inóculo de *H. glycines* proporcionou maiores danos na soja do que no feijoeiro. Epps & Chamber (1966) verificaram que a taxa de reprodução de *H. glycines* em vários hospedeiros, inclusive em feijoeiro cultivar Contender, foi similar àquela ocorrida em soja. Riggs & Hamblen (1962) relataram que, no caso do feijoeiro, a maior parte das cultivares testadas foi suscetível. A reação ao nematóide *H. glycines* em feijoeiro manifesta-se em cultivares tão suscetíveis quanto à soja e até naquelas mais resistentes (Melton et al, 1985). Por outro lado, como o ciclo vegetativo da soja foi completado



Figura 1. Desenvolvimento de plantas de feijoeiro 'Ouro' na ausência do nematóide (esquerda) e na concentração de 19.200 ovos/ml de *Heterodera glycines* (direita)

com o dobro de dias do feijoeiro, houve possibilidade de maior ocorrência de reinfestação naquela cultura.

Na raiz do feijoeiro houve diminuição do peso seco em função do acréscimo de inóculo (Figura 3). O melhor ajuste entre estes dados foi obtido com o modelo quadrático (Figura 4). O ponto de mínima da curva, ou seja, a concentração de inóculo que ocasionou um menor peso da raiz, com redução de 40,8%, foi de 12.660 ovos/planta. Para os níveis de 9.600 e 19.200 ovos/plantas, as reduções foram de 40,1% e 38,6%, respectivamente. Com relação à soja, a correlação foi negativa ( $r = -0,92$ ). Os dados se ajustaram ao modelo de regressão linear (Figura 4), havendo uma redução de 46,8% no peso seco da raiz quando a concentração de inóculo foi de 19.200 ovos/planta. Este resultado diferiu do observado por Abawi & Jacobsen (1984), que demonstraram não haver correlação entre a densidade de

inóculo e o desenvolvimento do feijoeiro, mas sim para a soja.

Na época da colheita, a quantidade de fêmeas de *H. glycines* recuperadas na raiz do feijoeiro foi quase 1% do total de ovos inoculados e a diferença ( $P \leq 0,001$ ) no número daquelas foi proporcional ao incremento do inóculo. Estes dados ajustaram-se ao modelo da equação de primeiro grau ( $y = 2,63 + 0,00045C$ ;  $r^2 = 0,97$ ). Na soja, o número de fêmeas nas raízes apresentou o ajuste dos dados ao modelo quadrático, com coeficiente de determinação ( $r^2$ ) de 0,77. Para esta variável houve um incremento até as densidades de 8.100 ovos/planta, decrescendo a partir deste nível.

Epps & Chambers (1966) verificaram ao comparar a taxa de reprodução de *H. glycines* em vários hospedeiros, inclusive o feijão 'Contender', que a reprodução era similar àquela que ocorria na soja, porém ocorreram casos em que a reprodução havia sido menor no feijão. Fato este também observado por Riggs & Hamblen (1962) em seus experimentos, nos quais a maioria das cultivares de feijoeiro foi suscetível ao nematóide. Como

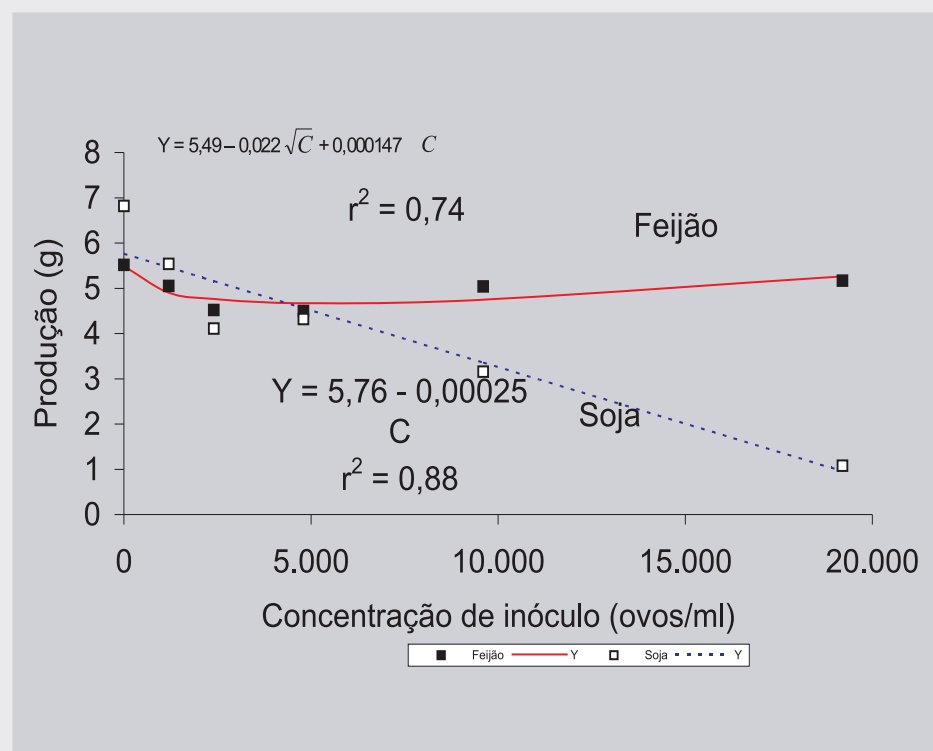


Figura 2. Efeito da concentração de inóculo ( $C$ ) de *Heterodera glycines* na produção de feijão e soja



Figura 3. Desenvolvimento do sistema radicular de feijoeiro 'Ouro' na ausência do nematóide (0) e nas concentrações de 1.200(1), 2.400(2), 4.800(3), 9.600(4) e 19.200(5) ovos/ml de *Heterodera glycines*

decorrência, aquelas áreas de soja contaminadas com o nematóide de cisto deveriam ser evitadas para o cultivo com feijão e mantidas sob rotação e monitoramento até a liberação para um plantio seguro.

O teor de clorofila total encontrado nas folhas de feijoeiro não diferiu significativamente em função da concentração do inóculo (Tabela 1). Nas folhas da soja o conteúdo total de clorofila (Tabe-

la 1) decresceu significativamente ( $r = -0,98$ ;  $P \leq 0,001$ ) com o aumento do inóculo, e o modelo matemático que melhor se ajustou aos dados foi o linear ( $Y = 5,0 - 0,00009C$ ;  $r^2 = 0,97$ ). O inóculo de 19.200 ovos/planta resultou em uma redução de 36,2% no teor de clorofila. A restrição no teor de clorofila total nas folhas de soja pode ser atribuída à demanda nutricional do nematóide com interferência sobre a absorção e o transporte de nutrientes na planta, com reflexos na formação da clorofila (Wallace, 1974). Poskuta et al. (1986) verificaram a interferência negativa na síntese da clorofila em soja parasitada por *H. glycines*.

Não houve correlação entre os teores, nas folhas do feijão, dos nutrientes fósforo, potássio, ferro, zinco e cobre e a concentração de fêmeas encontradas no sistema radicular em função do inóculo. A concentração do cobre ficou abaixo do nível de sensibilidade do espectrofotômetro. Provavelmente o baixo nível de infestação resultante não foi suficiente para causar variações significativas dos nutrientes (Tabela 1). Embora o ferro não tenha apresentado diferença significativa entre os tratamentos, houve um aumento deste elemento quando foi utilizada a maior concentração de inóculo, indicando uma tendência similar à interação feijoeiro-*Meloidogyne incognita* verificada por Melakeberhan et al. (1985). Na interação soja-*H. glycines*, Blevins et al. (1995) observaram redução na concentração de potássio e magnésio na raiz, enquanto na folha o cálcio e o magnésio aumentaram.

## Conclusão

- O feijoeiro se constitui em hospedeiro favorável ao nematóide *Heterodera glycines*.
- A concentração de 5.600 ovos/ml causa danos econômicos significativos na ordem de 14,9% da produção de grãos.
- O nematóide *H. glycines* é uma praga que deve ser evitada nos cultivos comerciais de feijoeiro.

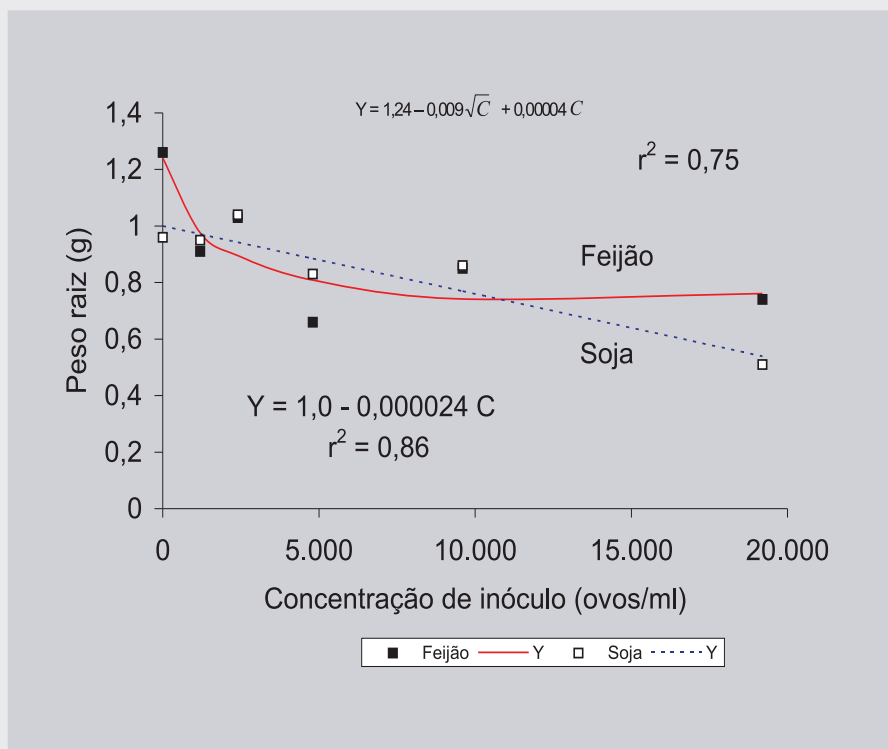


Figura 4 - Efeito da concentração de inóculo (C) de *Heterodera glycines* sobre o peso da raiz seca de feijão e da soja

Tabela 1. Teor de clorofila no feijoeiro e na soja e de elementos nutrientes em folhas do feijoeiro aos 78 dias após a inoculação das plantas com diferentes concentrações de ovos de *Heterodera glycines*

Tratamento <sup>(1)</sup>	Clorofila		Nutrientes em folhas de feijoeiro				
	Feijão	Soja	P	K	Fe	Mn	Zn
	.....mg/g.....		.....%.....		.....ppm.....		
0	4,1	4,9	0,26	2,71	667,2	145,4	21,3
1.200	4,0	4,8	0,24	3,08	556,5	150,4	29,9
2.400	3,9	4,8	0,24	2,86	404,5	142,0	21,5
4.800	4,0	4,5	0,28	2,73	524,0	146,1	23,2
9.600	4,3	4,3	0,28	2,78	647,2	134,5	22,8
19.200	4,0	3,1	0,28	2,80	988,1	145,2	23,9
Teste F	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns

<sup>(1)</sup>Concentração de inóculo (número de ovos/ml de *Heterodera glycines*).

ns = não-significativo.

\*\*Significativo a 1% de probabilidade.

## Literatura citada

- ABAWI, G.S.; JACOBSEN, B.J. Effect of initial inoculum densities of *Heterodera glycines* on growth of soybean and kidney bean and their efficiency as hosts under greenhouse conditions. *Phytopathology*, v.74, n.12, p.1470-1474, 1984.
- ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, v.24, n.1, p.1-15, 1946.
- BARKER, K.R.; NUSBAUM, C.J. Diagnostic and advisory programs. In: Zuckerman, B.M.; Mai, W.F.; Rohde, R.A. (eds.) *Plant parasitic nematodes*. New York: Academic Press, 1971. p.281-301.
- BARKER, K.R.; OLTHOF, H.A. Relationship between nematode population densities and crop responses. *Annual Review of Phytopathology*, v.14, p.327-353, 1976.
- BLEVINS, D.G.; DROPKIN, V.H.; LUEDDERS, V.D. Macronutrient uptake translocation, and tissue concentration of soybeans infested with the soybean cyst nematode and elemental composition of cysts isolated from roots. *Journal of Plant Nutrition*, v.18, n.3, p.579-591, 1995.
- BRAGA, J.M.; DEFELIPO, B.V. Relações entre formas de fósforo inorgânico, fósforo disponível e material vegetal em solos sob vegetação de cerrado. II. Trabalhos de estufa. *Revista Ceres*, v.19, n.104, p.248-260, 1972.
- DUNN, R.A. Extraction of cysts of *Heterodera* species from soils by centrifugation in high density solutions. *Journal of Nematology*, v.1, n.1, p.7, 1969.
- EPPS, J.M.; CHAMBERS, A.Y. Comparative rates of reproduction of *Heterodera glycines* on 12 host plants. *Plant Disease Reporter*, v.50, n.8, p.608-610, 1966.
- FRANCL, L.J.; DROPKIN, V.H. *Heterodera glycines* population dynamics and relation of initial population to soybean yield. *Plant Disease*, v.70, n.8, p.791-795, 1986.
- JONES, J.B.; WOLF, B.; MILLS, H.A. *Plant Analysis Handbook*. 1. Methods of plant analysis and interpretation. Athens. Micro-Macro Publishing Inc., 1991. 213p.
- LORDELLO, A.I.L.; LORDELLO, R.A.; QUAGGIO, J.A. *Heterodera sp* reduz produção de soja no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 16., 1992, Lavras. Resumos... Lavras:ESAL/SBN, 1992. p.101.
- LOWNSBERY, B.F.; PETERS, B.G. The relation of the tobacco cyst nematode to tobacco growth. *Phytopathology*, v.45, n.3, p.163-167, 1955.
- MELAKEBERHAN, H.; BROOKE, R.C.; WEBSTER, J.M.; D'AURIA, J.M. The influence of *Meloidogyne incognita* on the growth, physiology and nutrient content of *Phaseolus vulgaris*. *Physiological Plant Pathology*, v.26, n.3, p.259-268, 1985.
- MELTON, T.A.; NOEL, G.R.; JACOBSEN B.J.; HAGEDORN, D.J. Comparative host suitability of snap beans to the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*. *Plant Disease*, v.69, n.2, p.119-122, 1985.
- NOEL, G.R.; JACOBSEN, B.J.; LEEPER, C.D. Soybean cyst nematode in commercial snap beans. *Plant Disease*, v.6, n.6, p.520-522, 1982.
- POSKUTA, J.W.; DROPKIN, V.H.; NELSON, C.J. Photosynthesis, photorespiration, and respiration of soybean after infection with root nematodes. *Photosynthetica*, v.20, n.4, p.405-410, 1986.
- RIGGS, R.D.; HAMBLEN, M.L. *Soybean cyst nematode host-studies in the family leguminosae*. Arkansas Agricultural Experiment Station Report Series, 110. 1962. 18 p.
- STRAIN, H.H.; COPE, B.T.; SVEC, W.A. Analytical procedures for the isolation, identification, estimation, and investigation of the chlorophylls. In: SAN PIETRO, A. (ed.) *Photosynthesis*. part A. Methods Enzymology. New York: Academic Press, 1971. p.452-476.
- WALLACE, H.R. The influence of the density of nematode populations on plants. *Nematologica*, v.17, n.1, p.154-166, 1971.
- WALLACE, H.R. The influence of root-knot nematode *Meloidogyne javanica* on photosynthesis and on nutrient and demand by roots of tomato plants. *Nematologica*, v.20, n.1, p.27-33, 1974.