UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE DO PARANÁ
***CAMPUS* LUIZ MENEGHEL**
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

BRUNA MARTINS CARVALHO

CARACTERIZAÇÃO DA REAÇÃO DE CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM A ISOLADOS MONOSPÓRICOS DE *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *PHASEOLI*

BANDEIRANTES, PR
BRASIL 2021

BRUNA MARTINS CARVALHO

CARACTERIZAÇÃO DA REAÇÃO DE CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM A ISOLADOS MONOSPÓRICOS DE *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *PHASEOLI*

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Agronomia, da Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel.

Orientadora: Profª Drª Mayra da Costa C. G. de Carvalho

BANDEIRANTES PR
BRASIL 2021

Ficha catalográfica elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UENP

CC321cc

Carvalho, Bruna Martins
CARACTERIZAÇÃO DA REAÇÃO DE CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM A ISOLADOS MONOSPÓRICOS DE FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. PHASEOLI / Bruna Martins Carvalho; orientadora Mayra Costa da Cruz Gallo de Carvalho - Bandeirantes, 2021.
53 p. :il.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Agronomia) - Universidade Estadual do Norte do Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2021.

1. Phaseolus vulgaris . 2. Murcha-de-Fusarium. 3. CIAT. 4. variabilidade patogênica. I. Costa da Cruz Gallo de Carvalho, Mayra , orient. II. Título.

BRUNA MARTINS CARVALHO

CARACTERIZAÇÃO DA REAÇÃO DE CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM A ISOLADOS MONOSPÓRICOS DE *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *PHASEOLI*

Dissertação apresentado ao Programa de Mestrado em Agronomia, da Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel.

Aprovado em: 30 / 08 /2021

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dra. Mayra Costa da Cruz Gallo de Carvalho.....UENP/CLM - PR
Profª. Dra. Aline Vanessa Sauer Zawadzki.....UENP/CLM – PR
Prof. Dra. Denise Renata Pedrinho.....Uniderp -MS

Prof. Dra. Mayra Costa C. G. de Carvalho Orientadora
Universidade Estadual do Norte do Paraná
Campus Luiz Meneghel

BANDEIRANTES, PR
BRASIL 2021

Dedicatória

Dedico ao meu Pai Alceu Carvalho Junior, a minha mãe Elisete Martins Carvalho e ao meu irmão Alceu Carvalho Neto, por todo amor, empenho e zelo para que eu obtivesse sucesso na minha vida pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida e minha saúde, por ter me amparado até aqui.

Aos meus pais Alceu Carvalho Junior, Elisete Martins Carvalho e meu irmão Alceu Carvalho Neto por todo apoio, incentivo, dedicação, amor e atenção recebido durante todos os anos de formação acadêmica, por dividirem comigo mesmo de longe, aflições e anseios. Obrigada por confiarem em mim.

Ao meu namorado e companheiro de vida Pedro Krainer Vilem, por todo companheirismo, carinho, amor e paciência. Por dividir e suportar comigo os melhores e piores momentos.

Agradeço a minha orientadora Profª Dra Mayra Costa da Cruz Gallo de Carvalho, por todos esses anos de orientação, aprendizado e por ter contribuído com a minha formação acadêmica.

Agradeço aos membros da minha banca examinadora, Profª Dra Aline Vanessa Sauer Zawadzki e Profª Dra Denise Renata Pedrinho que aceitaram contribuir com essa pesquisa e fizeram com muito carinho e empenho, meu muito obrigada.

Agradeço a minha companheira de mestrado, laboratório, pesquisa e vivência Aline Garcia da Silva, por todo apoio nos momentos bons e nos ruins.

Ao Profº Drº Leopoldo Matsumoto e ao laboratório Microslab e ao professor Dhiego Gomes Ferreira do Campus pelos materiais moleculares cedidos e compartilhados.

Aos colegas e futuros colegas de profissão que passaram pelo projeto durante o período de construção e execução: meu muito obrigado, vocês foram muito importantes para mim e para a esse trabalho; Maria Clara Martinhão, João Antônio Silva, Beatriz de Oliveira Conde, Louise Vinis e Laís de Melo Monteiro.

A Me. Roberta Saturnino Costa, por toda ajuda, apoio, paciência e solidariedade, contribuiu muito para o seguimento da pesquisa. Agradeço a Me. Fernanda Neves Paduan que contribuiu com a estatística e análise dos dados.

Aos meus amigos do peito, que estiveram ao meu lado durante esse processo de formação, me proporcionando momentos bons e fazendo tudo ser mais leve!

À todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento do trabalho e participaram desta jornada.

À CAPES pela concessão de bolsas de estudos.

À Universidade Estadual do Norte do Paraná e Programa de Pós-Graduação em Agronomia por permitirem a realização do mestrado.

CARVALHO, B. M. **Caracterização da reação de cultivares de feijão comum a isolados monospóricos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli.*** 2021. 54p Dissertação de Mestrado em Agronomia – Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel, Bandeirantes, 2021.

RESUMO

A murcha-de-Fusarium, doença vascular causada pelo fungo de solo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Fop), é uma das principais doenças que acometem o feijoeiro. A doença diminui significativamente a produção dos grãos levando a perdas de produtividade na cultura. Até o momento, o método mais eficiente para controlar a doença é o uso de cultivares que contenham genes de resistência, ou ao menos cultivares que sejam tolerantes ao patógeno. No entanto, a alta variabilidade do fungo pode representar um problema ao desenvolvimento de programas de melhoramento genético para a resistência à murcha-de-fusarium. Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar a reação a diferentes isolados monospóricos de Fop, obtidos a partir de plantas sintomáticas coletadas em lavouras do Paraná (IPR7.8, APR1.1 e APR2.10), Minas Gerais (PMG2.6 e PMG5.9) e o isolado cedido pelo instituto IAC (IAC9453) em diferentes cultivares de feijão comum. A avaliação dos isolados foi realizada em 11 cultivares, sendo 8 comerciais e 3 diferenciadoras. O experimento foi conduzido em casa de vegetação com inoculação dos isolados de Fop por meio da imersão das raízes em suspensão de conídios. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com 4 repetições, 11 genótipos e 6 isolados e a avaliação dos sintomas da doença foi realizada em 7, 14, 21, 28 e 32 dias após a inoculação. Em cada avaliação foi atribuída nota a reação das cultivares frente aos isolados com base na escala de CIAT. As médias das notas obtidas a partir da avalição de 32 dias após a inoculação, foram submetidas a análise estatística a partir da qual constatou-se que o grupo das cultivares que apresentou resistência e reações intermediárias aos isolados foram: Bem-te-vi, Campos Gerais, Curió, Diacol, Sintonia, Eldorado, Tangará e Tuiuiú. A Cultivar Tuiuiú foi o destaque das cultivares mais resistentes. Rosinha G2, Preto Uberabinha e IPA6 apresentaram maior suscetibilidade aos isolados de Fop. Os isolados presentes não foram altamente agressivos, entretanto IPR7.8, PMG5.9 e IAC9453 apresentaram-se mais virulentos. A partir dos resultados obtidos é possível sugerir que haja ao menos 2 raças de Fop amostradas nesse estudo e que muito provavelmente sejam as raças 1 e 2. Assim, considerando que apenas 6 isolados foram testados no presente estudo, a indicação da ocorrência de 2 diferentes raças entre eles sugere haver grande variabilidade. Além disso, os resultados aqui obtidos demonstram haver boa resistência à murcha-de-Fusarium entre as cultivares de feijão comumente plantadas nas regiões de maior importância para a cultura no Brasil.

Palavras-chaves: *Phaseolus vulgaris*, murcha-de-Fusarium, CIAT, variabilidade patogênica.

CARVALHO, B. M. **Caracterização da reação de cultivares de feijão comum a isolados monospóricos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*** 2021. 54p. Master's Dissertation in Agronomy – State University of Northern Paraná, Campus Luiz Meneghel, Bandeirantes, 2021.

ABSTRACT

Fusarium wilt, a vascular disease caused by the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Fop), is one of the main diseases that affect the common bean. The disease significantly reduces grain production, leading to crop yield losses. So far, the most efficient method to control the disease is the use of cultivars that contain resistance genes, or at least cultivars that are tolerant to the pathogen. However, the high variability of the fungus may pose a problem for the development of genetic improvement programs for resistance to Fusarium wilt. In this sense, the objective of the present work was to characterize the reaction to different monosporic Fop isolates, obtained from symptomatic plants collected from crops in Paraná (IPR7.8, APR1.1 and APR2.10), Minas Gerais (PMG2.6 and PMG5.9) and the isolate provided by the IAC institute (IAC9453) in different common bean cultivars. The evaluation of the isolates was carried out in 11 cultivars, being 8 commercial and 3 differentiating. The experiment was carried out in a greenhouse with inoculation of Fop isolates by immersing the roots in conidia suspension. The design used was completely randomized, with 4 replications, 11 genotypes and 6 isolates, and disease symptoms were evaluated at 7, 14, 21, 28 and 32 days after inoculation. In each evaluation, the reaction of the cultivars against the isolates was attributed based on the CIAT scale. The mean scores obtained from the 32-day evaluation after inoculation were subjected to statistical analysis from which it was found that the group of cultivars that showed resistance and intermediate reactions to the isolates were: Bem-te-vi, Campos Gerais, Curió, Diacol, Tuning, Eldorado, Tangará and Tuiuiú. Cultivar Tuiuiú was the highlight of the most resistant cultivars. Rosinha G2, Preto Uberabinha and IPA6 were more susceptible to Fop isolates. The present isolates were not highly aggressive, however IPR7.8, PMG5.9 and IAC9453 were more virulent. From the results obtained, it is possible to suggest that there are at least 2 Fop breeds sampled in this study and that they are most likely breeds 1 and 2. Thus, considering that only 6 isolates were tested in this study, the indication of the occurrence of 2 different races between them suggests that there is great variability. Furthermore, the results obtained here show that there is good resistance to Fusarium wilt among common bean cultivars planted in the regions of greatest importance for the crop in Brazil.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*, Fusarium wilt, CIAT, pathogenic variability.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1 – Classificação das sementes do feijoeiro em relação ao grupo de cores a que pertencem. (A) Feijão-carioca; (B) Feijão-preto; (C) Feijão-caupi.

ARTIGO A

Figura 1 - Plantas de Feijão inoculadas com os isolados monospóricos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Fop) em casa de vegetação.

Figura 2 - Inoculação dos isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Fop) em cultivares de Feijoeiro comum e diferenciadoras. A inoculação foi realizada pelo método de imersão de raízes.

Figura 3 - Reação de cultivares de feijão 32 dias após inoculação com isolados monospóricos de *Fusarium oxysporum f. sp phaseoli* (Fop).

Figura 4 - Progresso da murcha-de-Fusarium aos 7, 14, 21, 28 e 32 dias após a inoculação de seis isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* nas cultivares de feijão Sintonia, Rosinha, Preto Uberabinha, Curió, IPA6 e Tangará.

Figura 5 - Progresso da murcha-de-fusarium aos 7, 14, 21, 28 e 32 dias após a inoculação de seis isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* nas cultivares de feijão Tuiuiú, Diacol, Bem-te-vi, Campos Gerais e Eldorado.

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 1 - Reação das cultivares de feijoeiro utilizadas nos métodos de identificação de raças de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, conforme CIAT, Nascimento et al. (1995), Woo et al. (1996) e Alves-Santos et al. (2002).

ARTIGO A

Tabela 1 – Escala de notas e sintomas da murcha-de-Fusarium em plantas de Feijão segundo o Centro Internacional da Agricultura Tropical - CIAT, 1990.

Tabela 2. Médias de notas obtidas a partir da escala CIAT para cultivares de feijão comum e cultivares diferenciadoras inoculadas com isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

Sumário

1 INTRODUÇÃO 6

2 REVISÃO DE LITERATURA 8
2.1 O feijão e seu cultivo 8
2.2 Fop: *Fusarium oxysporum* f. sp. *Phaseoli* 10
2.3 A variabilidade patogênica de Fop 14
2.4 Resistência ao Fop 17

3. ARTIGO A: CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE ISOLADOS DE *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *PHASEOLI.* 20

3.1 INTRODUÇÃO 22

3.2 MATERIAL E MÉTODOS 24
3.2.1 Cultivo e repicagem dos isolados monospóricos de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* 24
3.2.2 Fenotipagem dos isolados monospóricos em cultivares comuns e diferenciadoras de feijoeiro 24

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO 28

3.4 CONCLUSÃO 39

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 41

1 INTRODUÇÃO

A cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) ocupa uma área de aproximadamente 4 milhões de hectares no Brasil, tornando-o o maior produtor mundial desta leguminosa. A cultura se destaca no país por representar a principal fonte de proteínas do prato do brasileiro (CONAB, 2020).

Embora o Brasil seja um grande produtor de feijão, muitos são os problemas que tornam a produtividade da cultura baixa no país. Entre eles pode-se destacar a baixa qualidade sanitária das sementes e as doenças que acometem a cultura (PAULA JÚNIOR et al., 2007). Dentre as doenças do feijoeiro, a murcha-de-Fusarium se destaca como a principal doença de solo e tem como agente causal o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Fop). Pode atingir grandes extensões das lavouras em locais onde a contaminação do solo ocorre, principalmente, na ausência de rotação de cultura (CHIORATO et al., 2015).

Mesmo nos locais onde se adota a rotação de culturas, o fungo é capaz de sobreviver por longos períodos no solo devido a sua estrutura de resistência na forma de clamidósporos. Não há produtos químicos capazes de controlar de forma eficiente a sua permanência e seu potencial de infecção (PEREIRA et al., 2008). O controle mais eficiente para a doença no campo é o uso de cultivares resistente (CHIORATO et al., 2015).

No ano de 2003, grande parte das cultivares comerciais de feijão comum eram suscetíveis ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Fop) (EMBRAPA, 2003). Com o avanço dos anos, os prejuízos à cultura aumentaram e os programas de melhoramento genético se voltaram ao melhoramento do feijoeiro buscando entre as características de interesse, a resistência à doença (TSUTSUMI et al., 2015). Tsusumi e seus colaboradores (2015) concluíram através de um levantamento de metodologias utilizadas em melhoramentos de feijoeiros, que a grande parte das cultivares comercializadas da cultura, possuem resistência moderada à murcha-de-Fusarium.

Fop é um fungo fitopatogênico que vive no solo e penetra na planta de forma direta através das raízes ou de forma indireta através de aberturas naturais ou ferimentos (NELSON et al., 1993). A colonização ocorre de forma rápida: após adentrar pelas raízes o fungo se move até o xilema. Inicialmente os sintomas primários demonstram-se pela alteração da coloração dos vasos que adquirem coloração pardo-avermelhada. O micélio se expande e seus microconídios se deslocam pelos vasos condutores colonizando toda a planta (COSTA, 2006; NIÑO-SANCHÉZ et al., 2015). Os primeiros sintomas surgem nas raízes, com o escurecimento delas, e após o avanço da infecção surgem os sintomas reflexos relacionados a

infecção começam a aparecer: murcha foliar, clorose, nanismo, e até a morte prematura da planta em alguns casos (WENDLAND, 2010). A escala de CIAT (1990) é utilizada para avaliação da severidade da doença, sendo a avaliação feita pelo emprego de notas qualitativas (1 a 9) que se dão frente aos sintomas observados dias após a inoculação, normalmente 7, 14, 21, 28 e 32 dias após inoculação (dpi).

Sete raças geográficas de Fop foram descritas por Salgado et al. (1995), a raça designada como brasileira é a raça 2. Porém, Silva et al. (2014) utilizaram diferentes marcadores moleculares e identificaram entre 14 isolados de Fop brasileiros, ao menos quatro grupos filogeneticamente distintos, sendo dois deles altamente virulentos. Os dados dos autores corroboram com uma origem polifilética do grupo, suportada por uma grande variabilidade genética. E como Ito et al. (1997) também contradizem a ideia da ocorrência de uma raça única brasileira.

Quanto mais específico é o patógeno em relação ao seu hospedeiro, mais especializado ele se tornará em estabelecer-se neste. A distinção entre as raças fisiológicas de Fop é feita através de sua reação em cultivares chamadas de diferenciadoras, uma vez que morfologicamente tais raças são idênticas. As raças fisiológicas de Fop possuem perfis distintos de virulência, que são de suma importância na caracterização das raças e perfis de virulência dos isolados para subsidiar programas de melhoramento genético visando a resistência à murcha-de-Fusarium do feijão.

Assim, objetivou-se neste trabalho caracterizar a reação de isolados monospóricos de Fop previamente obtidos por Negreiros et al. (2020) frente a cultivares comerciais de feijão comum e cultivares diferenciadoras.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O feijão e seu cultivo

Antes de iniciar a discussão a respeito da cultura do feijoeiro propriamente dita, cabe destacar o significado agronômico do termo "cultura", afim de realçar a importância da investigação teórica realizada inicialmente e sua relação com a investigação empírica. Dentre os quatros significados agronômicos presentes no dicionário Michaelis[1], cultura pode ser definida como "produção agrícola com técnicas especiais" com o intuito de "semear ou plantar vegetais". Cultivado há cerca de 10 mil anos (GEPTS e DEBOUCK, 1991) o *Phaseolus vulgaris*, conhecido como feijão-comum teve sua origem nas Américas (VAVILOV, 1931 *apud* DEBOUCK, 1991).

Conforme expõe Cronquist (1988), citado por Embrapa, (2003) a classificação do feijão-comum seria a seguinte: pertencente à subclasse *Rosidae*, ordem *Fabales*, família *Fabaceae*, subfamília *Faboidae*, tribo *Phaseoleae*, gênero *Phaseolus*, e pôr fim a espécie *Phaseolus vulgaris* L.

O feijão comum é ainda classificado de acordo com classes de cores. Assim, de acordo a Conab (2018) o feijão pode ser divido em: feijão-comum ou carioca (A), feijão comum preto (B), ou feijão-caupi representado pelo feijão de corda (C) (Figura 1).

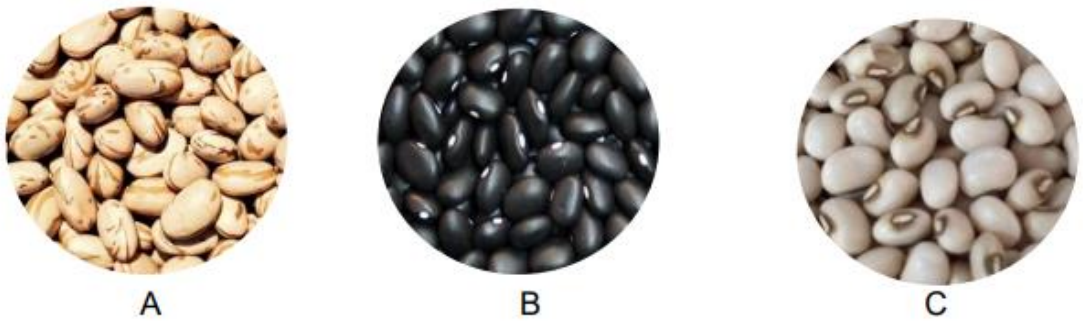

Figura 1 – Classificação das sementes do feijoeiro em relação ao grupo de cores a que pertencem. (A) Feijão-carioca; (B) Feijão-preto; (C) Feijão-caupi (Fonte: Conab, 2018).

Trata-se da espécie vegetal apontada como a mais importante para o consumo humano no mundo (FAO, 2019). Nos países em desenvolvimento o feijão é considerado uma imprescindível fonte de proteína/alimento para a população (MEZIADI et al., 2015).

O feijoeiro é considerado uma planta anual autógama, com 22 cromossomos, e taxa de autopolinização de 95%. O ciclo vegetativo dessa espécie varia de 75 a 110 dias dependendo

[1] https://michaelis.uol.com.br/moderno-portugues/busca/portugues-brasileiro/cultura/

da latitude e altitude da região (KLUTHCOUSKI et al., 2009).

O cultivo desse grão ocorre em boa parte do território nacional e em ambos sistemas de plantio: consorciado ou solteiro. A ampla adaptação dessa planta ao solo e ao clima possibilita que a mesma esteja presente tanto nos sistemas de pequenos e médios produtores (ABREU, 2008). A cultura dessa leguminosa se dá por safras e podem ser produzidas até três safras de feijão por ano (AIDAR, 2009). Conforme aponta as estatísticas elaboradoras pela FAO, o Brasil lidera a produção do gênero *Phaseolus* (FAO, 2019).

Os países Myamnar, Índia e Brasil geram aproximadamente 26,5 milhões de toneladas de grãos de feijão por ano. Contudo, um dos maiores desafios à sua exportação se dá pelo fato do feijão do grupo carioca, o de preferência brasileira, ser o que ocupa o maior volume na produção nacional. No entanto, sua aceitação em outros países não é tão significativa. Para dar conta da procura interna o Brasil chega a importar cerca de 150 mil toneladas no ano, especialmente de feijão preto, proveniente da Argentina (CONAB, 2020).

O valor das sacas de feijão na maioria dos estados Brasileiros tende a variar conforme a época e o lugar, além de ser influenciado por fatores sociais, climáticos e da umidade do ar. Na safra 2019/2020 o valor da saca de feijão (60 kg) variou de R$375,00 nos meses de fevereiro, março e abril a R$111,00 nos meses de agosto, setembro e outubro, meses de colheita na safra. Esses valores tendem a se assemelhar nos vinte e sete estados brasileiros produtores da cultura do feijão (CONAB, 2020). A demanda nacional do grão aumenta a cada ano, em 2019/2020 o consumo foi de 3.050,0 toneladas (CONAB, 2020).

O feijoeiro é uma cultura dentre tantas outras que admite rotação. A rotação de culturas consiste na alternância de espécies de plantas em uma mesma área agrícola, entre um cultivo e outro. Seu principal benefício é minimizar a ação de pragas e de doenças por meio da redução de inóculo no campo, uma vez que se alterna a cultura com outras não hospedeiras (SILVA et al., 2013).

Normalmente o cultivo do feijoeiro é realizado em três épocas do ano, na maioria dos estados a primeira época é no mês de setembro, no final do inverno, a segunda época no mês de abril começando o outono e a terceira época é no mês de junho, quando se inicia o inverno. O cultivo ocorre em todas as regiões brasileiras, o que indica a importância desse grão na economia e abastecimento brasileiro. A maior parte da produção se concentra nos seguintes estados: MG, SP, SC, PR, BA, RS, CE, PA, GO e PE, os quais detêm 85% de toda da produção nacional gerada das três safras (água, seca e inverno). Segundo a Conab (2020), levando em conta as três safras do período entre 2019 e 2020, percebeu-se aumento de 0,5%,

da área de produção. A área estimada no Brasil foi de 3.197 hectares e uma produção média anual 3.180,8 toneladas por hectare.

No tocante à safra anterior, 38,0% da produção do feijão-comum na primeira safra ocorreu na região Sul. Já a Sudeste respondeu por 29,0% sendo os estados em destaque: Minas Gerais e São Paulo. O Centro-Oeste por sua vez, correspondeu por 15,0% da produção, com destaque para Goiás. Já o Nordeste, representou 18,0% sendo o estado da Bahia o que mais se destaca na região (CONAB, 2020).

Dois grupos de feijão são utilizados no Brasil: grupo carioca e preto. A maioria de suas sementes são pequenas, mas podem ser encontradas em diferentes tamanhos como, por exemplo, os feijões rajados, Jalo e o Branco importado (grão especial). É importante se valer que a pesquisa envolvendo essas variedades de feijão tem melhorado a qualidade e o valor agregado dos grãos. Diante do risco de armazenamento de leguminosas, mesmo em curto prazo, pesquisadores desenvolveram variedades comercializadas que podem manter o vigor da casca do grão por um tempo maior. Entre essas variedades pode-se citar a Alvorada, Estilo, Dama, Milênio, Refinação e ANFC 9. Devido à significativa produtividade atingida e os bons caldos, tais sementes estão gradativamente ganhando mercado (RUAS, 2017).

No Brasil, boa parte da semeadura é realizada com grãos colhidos pelo produtor na safra anterior e reservados para uso como semente. A cultura do feijão tem apresentado grande progresso na produtividade. E parte desse mérito se deve às investigações que tem como foco a produção de variedades de feijoeiros que sejam mais adaptáveis e produtivos (RAMALHO et al., 2012; ABREU, 2008; CARNEIRO et al., 2009).

A área onde será implantada a cultura do feijoeiro é de vital relevância. O local deve ter altos índices de pluviosidade e clima ameno. Segundo Silveira e Stone (2002), o rendimento da produção é bastante alterado pela condição hídrica do solo. O feijoeiro durante seu ciclo consome de 350 a 450 mm de água (PAULA JÚNIOR et al., 2007). Além disso, para o progresso da cultura é necessária variação de temperatura de 18 a 24º C durante o dia e aproximadamente 15º C ao final do dia. Não ocorre vigamentos de vagens com altas temperaturas, por exemplo, próximas de 35ºC (RAMALHO et al., 2005).

2.2 Fop: *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*

A murcha-de-Fusarium ou o amarelecimento causado pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Fop) está entre as doenças que mais acometem o feijoeiro. O patógeno é capaz de reduzir a produção da lavoura em até 70% (WORDELL et al., 2013). A infecção ocorre no estágio de plântula, ocasionando desenvolvimento anormal (plantas raquíticas). Além disso,

também ocorre a perda de folhas, a contaminação das sementes e as lesões aquosas como outros males causados em decorrência da ação do fungo (SARTORATO e RAVA, 1994).

O primeiro relato do patógeno no mundo ocorreu na Califórnia em 1929 por Harter, (ALOJ et al., 1987). E os sintomas reapareceram na mesma localidade em 1940 resultando em 50% de perda nas lavouras de Feijão (KENDRICK e SNYDER, 1942). Desde então, onde surgiam os sintomas as lavouras eram tomadas pela doença, tornando a Murcha-de-Fusarium a principal doença na região Centro-oeste da Espanha e ameaçadora nos Estados Unidos (ALVES-SANTOS et al., 1999). No Brasil, o primeiro relato surgiu no ano de 1966 por Cardoso et al. (1966) na cidade de Laranjal Paulista (SP) na variedade Rosinha. Outros relatos também foram surgindo, após a primeira aparição da doença no Brasil. Nas regiões produtoras do Paraná e Minas Gerais foi a murcha foi evidenciada em 1986 por Goulart. (1988).

O Fop pertence a divisão dos Ascomycetos, faz parte do Reino Fungi, da classe *Sordariomycetes* (corpos de frutificação peritenciais), ordem *Hypocreales* e família *Nectriaceae*. O gênero *Fusarium* possui aproximadamente 1.1414 espécies, além de 348 variedades e diversas formas descritas (ALEXOPOULOS, 1996; MYCOBANC, 2021).

Fusarium oxysporum é uma importante espécie do gênero e pode ser encontrado em populações onde podem ou não provocar doenças (SARTORATO e RAVA, 1994). As *formae speciales* (f. sp.) se dividem em grupos dentro da espécie. Alguns grupos causam males em determinadas espécies hospedeiras. A virulência é expressa entre os genótipos das espécies hospedeiras do fungo, e as características distintas da virulência originam subdivisões das raças (BAAYEN et al., 2000). Existem mais de 150 *formae speciales* de *Fusarium oxysporum* e cada uma delas responde por um grupo de isolados com níveis de virulência específicos e efetividades diferentes em provocar a murcha no seu hospedeiro. A *forma speciale* capaz de infectar plantas de Feijoeiro é o *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (CORRELL, 1991; BAAYEN et al., 2000).

Fop sobrevive no solo saprofiticamente em restos de culturas orgânicas. Produz macroconídios, microconídios e clamidósporos, estruturas estas assexuadas (TEIXEIRA, 2015) com traços fusóides e pontiagudos. Os macroconídios possuem uma forma de meia lua e apresentam em torno de 3 a 7 septos. Já os microconídios podem ser unicelulares ou bicelulares, sua morfologia é bastante variável podendo assumir formas elípticas, retas, curvas ou ovais com 3 a 5 septos. Por fim, os clamidósporos (formato redondo, paredes lisas ou rugosas), ficam no solo e são estruturas de resistência que permitem a sobrevivência do fungo na superfície da terra (SARTORATO e RAVA, 1994; BIANCHINI et al., 2005).

Os conídios são os esporos assexuados responsáveis pela reprodução dos fungos. As

células conidiogênicas dão origem a esses esporos, são monofiálides curtas e também conhecidas como “falsas cabeças”. *F. solani* se diferencia de Fop pela presença de conídios sem septos, com formação de longa monofiliádes (NELSON et al., 1993; LESLIE e SUMMERELL, 2006).

As colônias de Fop crescem cerca de 1,1 cm por dia em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA). Inicialmente, o micélio se desenvolve e cobre o meio de cultura com coloração branca, posteriormente, resulta em uma coloração púrpura, alaranjada, roxa ou avermelhada (BOOTH, 1977). Por conta da sua alta variabilidade morfológica, a caracterização das espécies presentes nesse gênero é algo bastante complexo, logo, Leslie e Summerell (2006) pontuam sobre a necessidade de ter culturas do fungo sem contaminações saudáveis para que haja boa caracterização morfológica destas. No que tange o seu cultivo, o mesmo deve ocorrer a partir de um único esporo, estabelecendo culturas monospóricas, e ser submetido a um meio de cultura que contenha condições propícias para seu desenvolvimento e crescimento.

A temperatura ideal para o fungo varia entre 24 a 28ºC e os solos devem ser arenosos e ácidos. Sob condições úmidas, a penetração do *Fusarium oxysporum* pelas raízes é favorecida, já em ambientes mais secos os sintomas são mais graves (PAULA JUNIOR, 2004). Fop penetra no sistema radicular da planta diretamente ou em ferimentos nas raízes ou possíveis aberturas. Depois da penetração os esporos tendem a germinar e então penetrarem a parede celular da planta, ocasionando na formação de microconídios que se movem até os vasos condutores (xilema). Como o fungo se move até o xilema, a infecção avança em decorrência da expansão do micélio e do deslocamento de microconídios pelos vasos condutores. Esse ciclo se repete até haver a colonização por completo do sistema vascular (COSTA, 2006).

No geral a disseminação do patógeno pode acontecer pela imperceptível movimentação do solo, por sistemas de irrigação ou água de drenagem. Quando a planta possui uma porção de sua estrutura acometida pela infeção, e por meio de sementes já contaminadas (SARTORATO e RAVA, 1994) que irão atuar como fator de propagação da doença. A transmissão pode alcançar uma taxa de aproximadamente 43% (SOUSA et al., 2014).

É importante destacar que atualmente não existem medidas de controle químico que consiga combater de modo eficiente doenças causadas por fungos de solo, com Fop não é diferente. Tanto o manejo, quanto a rotação de culturas e o tratamento de sementes, (KALMAN, 2021) poderiam ser uma alternativa viável, todavia os mesmos não são

totalmente eficazes.

Alguns isolados possuem ação bastante efetiva, com rápida colonização dos tecidos vasculares e consequente agravamento dos sintomas causados pela doença em poucos dias. A colonização no xilema pode ocorrer a partir das primeiras 24 horas pós-inoculação do fungo no sistema radicular (SARTORATO e RAVA,1994; XUE et al., 2015). A velocidade da infecção depende da virulência do isolado (NIÑO-SÁNCHEZ et al., 2015) e da interação que existe entre o hospedeiro e o patógeno (XUE et al., 2015).

Os patógenos podem se tornar virulentos devido a genes de virulência que possuem (ANDRADE et al., 2003). Os genes de virulência codificam proteínas efetoras no momento da infecção, com isso o patógeno consegue suprimir a resposta de defesa do hospedeiro desregulando todo seu processo de imunidade, e consequentemente beneficiando a colonização do patógeno (ROVENICH et al., 2014).

Algumas plantas, entretanto, possuem genes de resistência os quais reconhecem as proteínas de virulência e desencadeiam uma resposta de defesa ao patógeno (GIRALDO e VALENT, 2013). Quando ocorre essa imunidade ao patógeno damos o nome de Imunidade específica ativada por efetores (ETI) (GIRALDO e VALENT, 2013), mas essa imunidade só ocorre quando o gene de virulência de um isolado é reconhecido pelo produto do gene R de seu hospedeiro. A defesa do hospedeiro resulta em deposição de calose, acúmulo de compostos fenólicos no xilema, produção de tiloses e reações de hipersensibilidade da planta (TAKKEN e REP, 2010).

A espécie *Fusarium oxysporum* secreta algumas proteínas efetoras nos vasos condutores (xilema) de suas plantas hospedeiras. Essas proteínas têm papel de suprimir e/ou neutralizar as defesas do hospedeiro (TAYLOR et al., 2016). Foi identificada uma família desses genes efetores no gênero de *Fusarium oxysporum* até o momento. Essa família corresponde a um grupo de 14 genes denominados de *Secreted In Xylem* (SIX) os quais podem ou não estar diretamente ligados a virulência (HOUTERMAN et al., 2007, CZISLOWSKI et al., 2018). Devido a espécie possuir diversas *formae speciales* essas proteínas oriundas dos genes SIX, podem variar e definir padrões distintos de função nos diferentes hospedeiros (JANGIR et al., 2021).

Em feijoeiro foi observada a expressão de SIX 1 e SIX 6 a partir de *primers* desenhados para Fol (*Fusarium oxysporium* f.sp. *lycopersi*). Ambos os genes foram altamente expressos durante a infecção em isolados de Fop altamente virulentos (NIÑO-SÁNCHEZ et al., 2015) mas não tiveram sua expressão evidenciada nos isolados pouco virulentos.

O ciclo do Fop é assexuado, porém, por meio dos estudos de compatibilidade

vegetativa (VCG) é possível afirmar que os isolados de Fop fazem anastomose entre hifas homocarióticas dando origem a micélios heterocarióticos (RANA et al., 2017). Na anastomose há capacidade transferência de características, ou seja, transferência horizontal de genes que pode resultar no desenvolvimento de novas raças patogênicas (SINGH et al., 2019). Além disso, em *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, causador da murcha do tomate observou-se transferência de um cromossomo inteiro de isolados virulentos a isolados não virulentos, conferindo a virulência (MA et al. 2010).

Dentro do gênero Fusarium, encontramos uma outra *formae speciale* hospedeira específica do feijoeiro, o fungo *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* (Fs), causador da doença Podridão radicular seca, cujos sintomas consiste em lesões avermelhadas na região do hipocótilo, e necrose do sistema radicular afetado. A planta muitas vezes consegue desenvolver novas raízes laterais e adventícias, sendo pouco afetada pelo fungo, mas quando a agressividade é grande a planta pode chegar a morte. Os sintomas secundários são folhas prematuramente senescentes. Esse fungo é muito encontrado em solos compactados e sem rotação de cultura (BILGI et al., 2008).

2.3 A variabilidade patogênica de Fop

A variabilidade patogênica também denominada de raça para Fop passou a ser investigada por pesquisadores a partir da década de 1970. Observa-se por meio dessas investigações que não há um consenso quanto ao número de raças brasileiras ou quanto ao estabelecimento de um sistema único e eficiente para determinar as raças de Fop (HENRIQUE et al., 2015). As raças se diferenciam, por meio de aspectos como: virulência, sintomatologia e epidemiologia. Assim os testes de fenotipagem ou reações de patogenicidade ajudam na diferenciação dos genótipos e que podem considerar diferentes parâmetros de avaliação (RONCERO et al., 2003).

A palavra raça nesse contexto é empregada para representar variedades existentes em uma espécie, e que em contato com hospedeiros de uma mesma espécie pode causar ou não a doença e/ou apresentar diferenças de sintomatologia (BERGAMIN FILHO et al., 2011). Desde que Ribeiro e Hagedorn (1979) classificaram em raças fisiológicas os isolados de Fop, inúmeros experimentos e investigações foram desenvolvidas com o objetivo de identificar as raças de Fop as quais foram incialmente identificadas como sendo 7.

Woo et al., 1996 relataram pela primeira vez a presença de raças fisiológicas de Fop. Alguns métodos foram utilizados para classificação das raças, dentre eles: Grupo de

compatibilidade vegetativa (VCG), testes de patogenicidade, uso de PCR com marcadores moleculares RAPD e RFLP (WOO et al., 1996; RIBEIRO e HAGEDORN, 1979; SALGADO et al., 1995; SALGADO e SCHWARTZ, 1993; ALVES-SANTOS et al., 2002).

Nos estudos de VCG já foram encontrados isolados da mesma raça em diferentes VCG's assim como isolados de raças diferentes em um mesmo VCG (RANA et al., 2017) o que mostra que esse não é um critério eficiente para definição de raças, embora seja utilizado para diferenciar grupos sub-especificos de isolados (SINGH, 2019). Nos testes de patogenicidades realizados com o intuito de diferenciar raças patogênicas de Fop, são utilizadas cultivares diferenciadoras e inoculadas com uma variedade de fungos coletados em diversas regiões de incidência da doença. Após isso avalia-se as respostas de resistência e suscetibilidade das hospedeiras. O interessante nesse processo é usar as denominadas cultivares diferenciadoras, ou seja, cultivares para as quais são conhecidos perfis de resistência e/ou suscetibilidade a determinadas raças (SALGADO et al., 1995).

As raças geográficas de Fop, identificadas de 1 a 7 relacionam-se tanto a processos de fenotipagem em diferenciadoras quanto a perfis epidemiológicos. A primeira raça (raça 1) foi encontrada nos Estados Unidos (Carolina do Sul) e também na Itália (Portici). A segunda raça (raça 2), por sua vez, envolve isolados do Brasil (RIBEIRO e HAGEDORN, 1979). Em seguida a raça 3 foi observada na Colômbia (SALGADO et al., 1995), já a quarta foi novamente isolada nos EUA (Colorado) (SALGADO e SCHWARTZ, 1993). A raça 5 foi identificada na Grécia (Kastoria) (WOO et al., 1996), a raça 6 foi identificada na Espanha e a raça 7 na Grécia (Chryssoupolis) (ALVES-SANTOS et al., 2002). Foram realizados os testes de compatibilidade vegetativa de alguns desses isolados coletados em diferentes regiões do mundo, e formaram-se diferentes grupos de compatibilidade. Nenhum deles foram semelhantes aos grupos de compatibilidade formados pelos isolados coletados no Brasil, nos EUA e na Colômbia (ALVES-SANTOS et al., 1999).

Nascimento et al. (1995) observaram e descreveram 17 isolados de Fop advindos de três estados: São Paulo, Paraná e Pernambuco. Porém apenas a raça 2 foi encontrada, demostrando a prevalência dessa raça no país. Ito e colaboradores (1997) constataram a partir da análise morfológica de isolados coletados em diferentes partes do Brasil, a presença de quatro raças. Zanotti et al. (2006) concluem ser possível que mais que uma raça de Fop esteja presente no Brasil, através do uso de RAPDs foi possível separar 20 isolados, desde de patogênicos (11) a não-patogênicos (9). Assim a distância observada entre os grupos patogênicos B e G não foram proporcionais com aquelas verificadas dentro da raça.

Wendland et al. (2012) comprovaram a hipótese de existir mais de uma raça brasileira,

utilizando a combinação de PCR com isolados encontrados em Pernambuco, Goiás, Rio Grande do Sul e Paraná. Nessa análise foram observados as raças 2, e pela primeira vez a 3 e 6. Assim, os estudos evidenciam a existência de outras raças. Recentemente Henrique e colaboradores (2015) constataram que a patogenicidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Fop) é até maior do que a literatura aborda, isto é, que a variabilidade não se limitada a 7 tipo de raças (HENRIQUE et al., 2015). Os autores avaliaram 23 isolados em três orientações para classificação: NASCIMENTO et al., (1995); WOO et al., (1996) e ALVES-SANTOS et al., (2002b) e identificaram a ocorrência de 27 raças possíveis. Muito importante, os autores evidenciam a necessidade de estabelecer uma proposta de avaliação única para definição e estudo das raças de Fop. Henrique e seus colaboradores (2015) sugerem a presença de 15 raças de Fop no Brasil.

Por outro lado, entre as cultivares de feijão usadas como diferenciadoras das raças de Fop há também discordância entre os autores. A tabela abaixo traz uma lista das cultivares diferenciadoras utilizadas por Alves-Santos et al. (2002a, 2002b), Woo et al. (1996), Nascimento et al. (1995) e CIAT (1990).

Tabela 1: Reação das cultivares de feijoeiro utilizadas nos métodos de identificação de raças de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, conforme CIAT, Nascimento et al. (1995), Woo et al. (1996) e Alves-Santos et al. (2002). [a]CIAT; [b]Nascimento et al. (1995); [c]Woo et al. (1996); [d]Alves-Santos et al. (2002). Letras: S (suscetível) e R (resistente).

Cultivares	Raças						
	Raça 1	Raça 2	Raça 3	Raça 4	Raça 5	Raça 6	Raça 7
A 211[acd]	S	S	R	S	S	S	R
Riz 30[ac]	S	S	R	S	S	-	-
Batt 447[acd]	S	R	R	S	S	S	S
Ipa 1[acd]	R	S	R	S	S	S	R
TIB 3042[ac]	R	R	S	S	S	-	-
Diacol Calima[acd]	R	R	S	S	R	S	S
Mortiño[ac]	R	R	S	S	R	-	-
HF 465-63-1[acd]	R	R	R	R	R	S	R
Tenderette[b]	S	R	-	-	-	-	-
Ipa 6[b]	S	S	-	-	-	-	-
BBL – 274[b]	S	S	-	-	-	-	-
Preto Uberabinha[b]	R	S	-	-	-	-	-

Algumas pesquisas demonstram a alta capacidade do patógeno de sofrer mutações, e devido a isso, estudiosos concluem que há grande importância de se obter uma metodologia mais segura e eficaz como padrão de diferenciação das raças fisiológicas de Fop (RIBEIRO e HAGEDORN, 1979; SALGADO e SCHWARTZ, 1993; WOO et al., 1996; ITO et al., 1997;

ALVES-SANTOS et al., 2002a).

2.4 Resistência a murcha-de-Fusarium

A identificação de fontes de resistência a uma doença é ponto fundamental no desenvolvimento de programas de melhoramento (BORÉM e MIRANDA, 2005). A resistência de cultivares de feijoeiros à murcha-de-Fusarium causada por Fop já foi classificada como raça-específica (BRICK et al., 2004), resistência vertical e com classes fenotípicas centrais de suscetibilidade e resistência.

Entre as empresas públicas no Brasil que realizam o melhoramento genético de feijoeiros podemos citar: a Embrapa Arroz e Feijão (CNPAF); o Instituto Agronômico de Campinas (IAC); o Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), a Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), bem como Universidades, entre elas a Universidade Federal de Viçosa (UFV) e Universidade Federal de Lavras (UFLA) (NEGREIROS et al., 2020). O mecanismo simples de resistência relacionado à herança tem sido analisado fundamentalmente nestas pesquisas de melhoramento genético realizado por estas instituições (COSTA et al., 2006; MARCONDES, 2010).

O retrocruzamento com introgressão de genes maiores de resistência em cultivares suscetíveis embora rápido, é um processo contínuo uma vez que também rapidamente as cultivares resistentes acabam selecionando genótipos patogênicos capazes de driblar a resistência monogênica. Com isso fica evidente que a variabilidade genética relacionada a resistência deve ser amplamente explorada de forma a alimentar continuamente os programas de melhoramento (JOHNSON, 1984; CRUTE e PINK, 1996).

Ribeiro e Hagedorn (1979) observaram a dominância de um só gene que controla a resistência à raça brasileira nas variedades Tenderette e Pintado. A resistência ao patógeno americano foi identificada como sendo proporcionada por um gene (FOP 2) também, porém com dominância incompleta na cultivar preto Uberabinha (COSTA et al., 2006)

A resistência se traduz por meio da diminuição da agressividade exercida pelo patógeno quando entra em contato com o hospedeiro (BARNETT, 1959). Os mecanismos se dividem entre estruturais e moleculares. O primeiro se baseia em barreiras que impedem a entrada do patógeno no hospedeiro, já o segundo, desenvolve condições adversas ao patógeno através da sua bioquímica e biologia molecular (PEREIRA et al., 2008).

As plantas com células epidérmicas e corticais mais cutinizadas e suberizadas são mais resistentes aos patógenos, pois dificultam sua entrada, visto que eles conseguem entrar primeiramente no sistema vascular e depois se desenvolvem dentro dele (TALBOYS, 1972).

Outro fator que influencia na resistência ao patógeno é a hipertrofia da parede celular, que com a criação das gomas e caloses no xilema, possibilita que seja formada uma barreira que dificulta a proliferação das hifas e a movimentação dos esporos, impedindo o estabelecimento dos patógenos. Além disso, metabólitos secundários como fitoalexinas e terpenóides, dificultam não só a entrada, mas a colonização do sistema vascular da planta (BARNETT, 1959; BECKMAN, 1961; BECKMAN, 1964; DIMOND, 1970; TALBOYS, 1972).

Rava et al. (1993) testaram 99 genótipos com 70 cultivares e 29 linhagens de feijoeiro comum, com isso, apenas 6 cultivares apresentaram resistência aos isolados testados: FT Tarumã, Milionário 1732, IAPAR 44, Serrano, São José e Rico 1735 e IAPAR 44. Esses genótipos foram resistentes aos isolados de FOP: Xan 160, A 417, PI 175829 roxo, PI 150414, Xan 161, A420, PI 163117 e PI 175829 branco (MARINGONI e LAURETTI, 1999). As Cultivares FT Tarumã e Milionário 1732 também foram resistentes ao isolado FOP 46, e apresentaram ser promissoras nos estudos de melhoramento genético de resistência a murcha (CÂNDIDA et al., 2009). Segundo estudos de Rocha Júnior et al. (1998), foram avaliadas 27 cultivares e 142 linhagens e algumas cultivares como Carioca MG e Ouro negro foram resistentes. Outras cultivares como IAC Uma, IAPAR 31 e Diamante negro são moderadamente resistentes ao Fop (NASCIMENTO, 1999).

Tendo em vista esses estudos com cultivares e linhagens de feijoeiro brasileiras frente a isolados de Fop, pode-se concluir que existiam poucas cultivares comuns resistentes a murcha-de-Fusarium. Há também escassez de pesquisas sobre os mecanismos que possibilitam a resistência ao Fop, principalmente de como ocorre o processo de infecção. Porém, algumas investigações têm apontado que a estrutura do sistema radicular e as raízes adventícias no feijoeiro contribuem com a resistência desse grão à *Fusarium solani* (SNAPP, 2003; CICHY, 2007). Não houve estudo com o mesmo objetivo para o Fop, mas Dongo e Müller (1969) relataram a resistência de algumas variedades com raízes laterais mais numerosas. Recentemente, um marcador SCAR-RAPD especificamente encontrado entre cepas altamente virulentas de Fop foi relatado por Alves-Santos (2002b).

Segundo a teoria gene-gene de Flor, cada gene de resistência (R) do hospedeiro pode ter seu efeito inibido pela ação de um gene correspondente no patógeno denominado de gene de virulência (Vir). Quando a planta é resistente ao patógeno, sua proteína R reconhece a proteína, nesse caso, de avirulência do patógeno e desencadeia uma resposta de defesa específica a ele comprometendo o desenvolvimento da doença. Há, portanto um processo de coevolução das plantas e seus patógenos que determinam sobrevivência e adaptação dos mesmos (FLOR, 1955). Jones (2006) explica essas evoluções em um modelo chamado zig-

zag.

Quando considera-se a biologia de plantas e de seus patógenos, é fácil compreender que os patógenos evoluem muito mais rapidamente que seus hospedeiros já que apresentam ciclos de vida mais rápidos. Assim, estratégias baseadas apenas em genes de resistência tendem rapidamente serem vencidas pelos patógenos a campo que muito rapidamente se tornam capazes de driblar essa resistência.

3. ARTIGO A: CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE ISOLADOS BRASILEIROS DE *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *PHASEOLI*

RESUMO

Uma das principais doenças que acometem o feijoeiro é a murcha-de-Fusarium causada por um fungo de solo chamado *Fusarium oxyporum* f. sp. *phaseoli* (Fop). A doença afeta negativamente a produtividade da cultura, trazendo inúmeros problemas a produtores rurais. Até o momento nenhum defensivo químico foi eficaz no controle da doença ou mesmo na erradicação do patógeno no solo, sendo necessário o uso de cultivares resistentes à murcha. Os isolados de Fop encontrados no Brasil possuem grande variabilidade genética embora apenas 7 raças ou patótipos de Fop no mundo tenham sido propostos, sendo a raça 2 considerada como representante da variabilidade brasileira. O objetivo do presente trabalho foi caracterizar fenotipicamente isolados de Fop produzidos a partir de plantas sintomáticas coletadas no Paraná: IPR7, APR1 e APR2, e em Minas Gerais: PMG2 e PMG5 usando como controle positivo o isolado IAC9453 cedido pelo instituto IAC. Foi realizada a avaliação fenotípica dos isolados adotando a análise de severidade pela escala de CIAT aos 7, 14, 21, 28 e 32 dias após inoculação. A inoculação dos isolados foi realizada em 11 cultivares por meio do método de imersão das raízes em suspensão de esporos. O grupo das cultivares que apresentou resistência ou resistência intermediária aos isolados foram: Bem-te-vi, Campos Gerais, Curió, Diacol, Sintonia, Eldorado, Tangará e Tuiuiú. As cultivares com maior suscetibilidade foram Rosinha G2, Preto Uberabinha e IPA6. Os isolados presentes não foram altamente agressivos, entretanto IPR7.8, PMG5.9 e IAC9453 apresentaram-se mais virulentos entre todos. A partir dos resultados obtidos é possível sugerir que haja ao menos 2 raças de Fop amostradas nesse estudo, muito provavelmente as raças 1 e 2. Assim, considerando que apenas 6 isolados foram testados no presente estudo, a indicação da ocorrência de 2 diferentes raças entre eles sugere haver grande variabilidade para Fop. Além disso, os resultados aqui obtidos demonstram boa resistência à murcha-de-Fusarium entre as cultivares de feijão comumente plantadas nas regiões de maior importância para a cultura no Brasil.

Palavras-chaves: *Phaseolus vulgaris*, murcha de *Fusarium*, CIAT, variabilidade patogênica.

ARTICLE A: PHENOTYPIC CHARACTERIZATION OF *FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. PHASEOLI* BRAZILIAN ISOLATES.

ABSTRACT

One of the main diseases that affect the bean plant is Fusarium wilt, a disease caused by a soil fungus called *Fusarium oxyporum* f. sp. *phaseoli* (Fop). The disease negatively affects crop productivity, causing numerous problems for rural producers. So far, no chemical has been effective in controlling the disease or even in eradicating the pathogen from the soil, requiring the use of cultivars resistant to wilt. The Fop isolates found in Brazil have great genetic variability although only 7 Fop races or pathotypes in the world have been proposed, with race 2 being considered as representative of the Brazilian variability. The objective of the present work was to characterize phenotypically Fop isolates produced from symptomatic plants collected in Paraná: IPR7, APR1 and APR2, and in Minas Gerais: PMG2 and PMG5 using as positive control the isolate IAC9453 provided by the IAC institute. The phenotypic evaluation of the isolates was carried out, adopting the severity analysis using the CIAT scale at 7, 14, 21, 28 and 32 days after inoculation. The inoculation of the isolates was carried out in 11 cultivars through the method of immersion of the roots in spore suspension. The group of cultivars that showed resistance or intermediate resistance to the isolates were: Bem-te-vi, Campos Gerais, Curió, Diacol, Sintonia, Eldorado, Tangará and Tuiuiú. The cultivars with the highest susceptibility were Rosinha G2, Preto Uberabinha and IPA6. The present isolates were not highly aggressive, however IPR7.8, PMG5.9 and IAC9453 were the most virulent among all. From the results obtained, it is possible to suggest that there are at least 2 Fop breeds sampled in this study, most likely breeds 1 and 2. Thus, considering that only 6 isolates were tested in this study, the indication of the occurrence of 2 different breeds between they suggest there is great variability for Fop. Furthermore, the results obtained here show that there is good resistance to Fusarium wilt among common bean cultivars planted in the regions of greatest importance for the crop in Brazil.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*, Fusarium wilt, CIAT, pathogenic variability.

3.1 INTRODUÇÃO

A cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), é muito importante para o Brasil por ser uma das principais fontes de proteínas do prato dos brasileiros e ser produzida em grande escala no país, principalmente por pequenos e médios produtores. Uma pequena parte do que é produzido no país é exportado, devido ao alto consumo nacional (CONAB, 2020).

Embora o Brasil seja um grande produtor mundial de feijão, existem problemas que limitam a produtividade da cultura como as doenças (PAULA JÚNIOR et al., 2007). Dentre as doenças do feijoeiro, a principal doença de solo é a murcha-de-Fusarium, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Fop) (CHIORATO et al., 2015).

O fungo é capaz de sobreviver por períodos longos no solo pois possui uma estrutura de resistência denominada clamidósporo. Não há químicos capazes de controlar o patógeno no local de semeadura ou quando em infecção na planta (PEREIRA et al., 2008). O controle mais eficiente para a doença no campo é o uso de cultivares resistentes (CHIORATO et al., 2015). Os sintomas primários relacionados à infecção são a descoloração dos vasos do xilema que refletem na murcha e amarelecimento foliar, clorose, nanismo, e em alguns casos a planta pode chegar à morte (WENDLAND, 2010). Foram descritas na literatura 7 raças geográficas de Fop sendo a raça 2 considerada a raça brasileira (SALGADO et al., 1995). Mais recentemente, entretanto, Silva et al. (2014) distinguiram dois grupos de isolados virulentos e grupo pouco virulento entre isolados brasileiros. Todavia sabe-se que a variabilidade na patogenicidade de Fop é alta, e vai além das 7 raças descritas na literatura, sugerindo que haja 27 raças fisiológicas de Fop (HENRIQUE et al., 2015). Além disso, ainda há na literatura poucas informações sobre métodos eficientes para classificação de raças em Fop os quais tem envolvido frequentemente a análise de severidade com base na escala de notas de CIAT (1990).

Embora Fop realize reprodução assexuada sua variabilidade pode ser potencializada por eventos de anastomose e heterocariose, podendo haver novas combinações constantes de genes (RANA et al., 2017). Além disso, estudos recentes sugerem que possa haver transferência de cromossomos portadores de genes de virulência de forma horizontal entre isolados de Fop (MA et al., 2010) Assim, estudos que visem evidenciar a variabilidade genética em Fop bem como caracterizar a reação de cultivares de feijoeiro frente a isolados de diferentes regiões produtoras do país são fundamentais para embasar programas de melhoramento genético visando resistência à doença (PEREIRA et al., 2011).

Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar a reação de isolados

monospóricos de Fop previamente identificados (NEGREIROS et al., 2020) frente a cultivares comerciais e diferenciadoras de feijão comum.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Cultivo e repicagem dos isolados monospóricos de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*

Os isolados de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* foram obtidos a partir de plantas sintomáticas coletadas nas lavouras do Paraná e Minas Gerais na safra de 2016/2017 por Negreiros et al. (2020) e gentilmente cedidos para a realização desse estudo. Em resumo, os inóculos obtidos foram utilizados para a obtenção de isolados monospóricos pela técnica de micro cultivo e foram denominados como PMG2.6, PMG5.9, IPR7.8, APR2.10, APR1.1 e P4.7 (Negreiros et al., 2020). O isolado IAC 9453 monospórico, foi cedido pelo Instituto Agronômico de Campinas (IAC) e utilizado nesse estudo como controle positivo.

Para o presente trabalho os isolados monospóricos foram mantidos em cultivo em placas de Petri, com meio de cultivo de Batata-dextrose-ágar 2% (BDA), e à temperatura de 26ºC em B.O.D (Incubadora de Demanda Bioquímica de Oxigênio Marconi® Modelo MA415).

3.2.2 Fenotipagem dos isolados monospóricos em cultivares comuns e diferenciadoras de feijoeiro

O Experimento de avaliação da reação dos isolados monospóricos de Fop frente as cultivares de feijão foi conduzido na casa de Vegetação do CCB (Centro de Ciências Biológicas) da Universidade Estadual Norte do Paraná - *campus* Luiz Meneghel na cidade de Bandeirantes-PR (figura 1).

Figura 1- Plantas de Feijão inoculadas com os isolados monospóricos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Fop) em casa de vegetação. **Fonte**: Da autora.

Foram utilizados no ensaio os isolados PMG2.6, PMG5.9, APR1.1, IPR7.8, APR2.10, o isolado IAC9453 como controle positivo e como controle negativo da inoculação foi realizada inoculação com água esterilizada. Foi ainda efetuada a inoculação de plantas com um isolado de *Fusarium solani* (FS) (NEGREIROS, et al., 2020) como controle negativo da

murcha-de-Fusarium.

Na literatura não há consenso para o uso de cultivares de feijoeiro definitivamente estabelecidas como diferenciadoras de isolados de Fop, então foram utilizadas nesse estudo, as cultivares consideradas diferenciadoras por Nascimento et al. (1995): Preto Uberabinha e IPA 6, que são suscetíveis a Raça 2 (raça brasileira) e Diacol Calima, que segundo os autores é resistente a Raça 1 (raça americana) e Raça 2 e a raça 5. As Cultivares comerciais utilizadas foram: Rosinha G2, Campos Gerais, Esteio, Sintonia, Bem te vi, Tuiuiú, Tangará, Curió e Eldorado.

A semeadura das cultivares foi realizada em tubetes de plásticos previamente desinfetados com água e hipoclorito de sódio 5%, em substrato comercial Terra Nutri. Após a emissão do primeiro par de folhas, as plantas foram retiradas dos tubetes e submetidas ao processo de inoculação dos isolados.

Para o preparo do inóculo, as culturas monospóricas Fop foram cultivadas em placas de Petri com meio BDA durante sete dias, tempo necessário para a esporulação do fungo. Após esse período, os esporos foram suspensos em 10 mL de água destilada e esterilizada e a suspensão foi filtrada em duas camadas de gaze esterelizada, para que ficassem retidos os fragmentos maiores de micélio presentes. A quantificação do inóculo foi realizada em câmara de Neubauer, com calibração para a concentração de 1×10^6 conídios/mL (PASTOR-CARRALES e ABAWI, 1987). Em seguida a suspensão de conídios foi utilizada para a inoculação nas plantas de feijão.

No processo de inoculação o método utilizado foi o de imersão das raízes. As raízes das plantas foram lavadas em água corrente e cortadas 1/3 de sua estrutura, sequencialmente já sendo mergulhadas na suspensão de conídios ($1 \times 10^{\mathbf{6}}$ conídios/mL) por 5 minutos (PASTOR-CORRALES e ABAWI, 1987).

Após esse período as plantas foram replantadas individualmente em vasos plásticos contendo terra (Latossolo vermelho eutroférrico) e areia na proporção 3:1. A terra utilizada na preparação do solo foi coletada na fazenda experimental do *campus* Luiz Meneghel e a areia comprada em loja de material de construção da cidade de Bandeirantes, Paraná. Uma amostra de solo foi levada ao laboratório de solos do *campus* para análise química, a partir da qual foi indicada a adubação nitrogenada. A adubação foi realizada sobre cobertura dos vasos, adicionando-se 2g do adubo NPK (fórmula 04.14.08) em cada vaso 15 dias pós a inoculação dos isolados de Fop.

Figura 2: Inoculação dos isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Fop) em cultivares de Feijoeiro comum e diferenciadoras. A inoculação foi realizada pelo método de imersão de raízes. (Fonte: da autora).

As avaliações fenotípicas das reações das cultivares à inoculação foram realizadas com 07, 14, 21, 28 e 32 dias após inoculação (dpi). A virulência e agressividade dos isolados foram avaliadas pela mensuração dos sintomas de clorose foliar e murcha foliar. O nível de severidade da doença foi avaliado com base na escala de CIAT, desenvolvida pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT, 1990) conforme detalhado na tabela abaixo.

Tabela 1 – Escala de notas e sintomas da murcha-de-Fusarium em plantas de Feijão segundo o Centro Internacional da Agricultura Tropical - CIAT, 1990.

Notas	Sintomas
1	Nenhum sintoma foliar
3	De uma a três folhas, que representam de 1% a 10% de folhas sintomáticas, com leves sinais de murcha e clorose nas folhas
5	Cerca de 11% a 25% de folhas sintomáticas, moderada murcha nas plantas
7	Aproximadamente 26% a 50% de folhas e ramos sintomáticos, com severa murcha de plantas
9	Morte da planta

Ao término do ensaio, as cultivares com média de 1,0 a 3,0 foram consideradas resistentes, as cultivares que tiveram média entre 3,1 e 6,0 foram consideradas intermediárias e as que tiveram média de 6,1 a 9,0 foram consideradas cultivares suscetíveis (PASTOR-CORRALES, 1995). Para garantir que as plantas avaliadas haviam sido de fato expostas aos isolados, no 7º dia após inoculação amostras das regiões basais do caule de cada tratamento foram retiradas cuidadosamente com lâminas esterilizadas e foram cortados fragmentos com 3 cm dessa região. Os fragmentos foram então colocados em placas de Petri com médio BDA para observar crescimento de Fop.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 11 cultivares inoculadas por 6 isolados e 4 repetições. Cada vaso foi considerado uma repetição, contendo 1 planta por vaso. Os dados da avaliação da escala de notas foram utilizados para compor os gráficos do progresso da doença para cada cultivar. Para comparar médias de notas dos diferentes isolados em cada cultivar, dados da avaliação de 32 dias após a inoculação foram analisados quanto a homogeneidade dos resíduos pelo teste de Bartlett e normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados das cultivares Diacol, Bem-te-vi, Campos Gerais e Eldorado foram transformados elevando as médias a -0.4, 0.4, -0.5 e -0.1, respectivamente, de acordo com a metodologia de transformação BoxCox. Atendido os pressupostos para a análise, os dados foram submetidos ao teste de Tukey a 5% de probabilidade usando o software R.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os controles utilizados no presente trabalho apresentaram-se conforme o esperado uma vez que as plantas inoculadas com água esterilizada não apresentaram sintomas da doença, enquanto as plantas inoculadas com o isolado IAC9453 apresentaram sintomas característicos da murcha-de-Fusarium. Além disso, foi observado crescimento micelial típico dos isolados de Fop em meio BDA a partir das amostras coletadas das plantas inoculadas no ensaio de fenotipagem.

Na Tabela 2 está apresentada a distribuição das médias de notas da última avaliação de severidade da doença (32 dpi), segundo a escala de CIAT (1990). É possível observar que de forma geral, as notas variaram de 1,25 (resistentes) a 6,5 (suscetíveis), ou seja, não houveram sintomas graves da doença nem tão pouco morte de plantas. As cultivares Sintonia, Curió, Tangará, Tuiuiú, Diacol, Bem-te-vi, Campos Gerais e Eldorado mostraram reação intermediária a todos os isolados testados. Ao passo que reações de suscetibilidade foram evidenciadas apenas para as cultivares Rosinha G2, Preto Uberabinha e IPA 6.

Tabela 2. Médias de notas obtidas a partir da escala CIAT para cultivares de feijão comum e cultivares diferenciadoras inoculadas com isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

Cultivares	Isolados													
	APR1		APR2		IAC 9453		IPR7		PMG2		PMG5		P4.7	
	Nota	Reação	Nota	Reação	Nota	Reação	Nota	Reação	Nota	Reação	Nota	Reação	Nota	Reação
Sintonia	5,50±1,0	I	4,75±0,5	I	5,00 ±0,8	I	5,50±1,3	I	4,75±0,5	I	5,00±0,0	I	2,00±0,8	R
Rosinha	6,25±1,5	S	3,25±1,2	I	6,5±1,9	S	6,25±1,7	S	4,5±1,3	I	6,25±0,5	S	2,50±0,5	R
Preto Uberabinha	2,75±0,5	R	3,25±1,2	I	6,25±0,9	S	3,50±1,9	I	4,25±1,7	I	3,00±0,0	R	1,75±0,5	R
Curió	2,50 ±1,2	R	3,00±0,0	R	2,75±0,5	R	4,00±1,6	I	3,75±0,9	I	3,25±0,9	I	1,25±0,5	R
IPA-6	5,00±1,1	I	4,75±1,2	I	5,50±0,6	I	6,25±0,5	S	4,50±0,6	I	6,50±0,6	S	2,00±0,8	R
Tangará	4,00±0,8	I	3,50±1,9	I	2,75±0,5	R	2,50±1,0	R	3,25±0,5	I	3,00±0,8	R	1,75±0,9	R
Tuiuiú	2,50±0,5	R	3,25±0,9	I	2,00±1,1	R	3,00±1,8	R	2,75±0,9	R	3,00±1,4	R	1,25±0,5	R
Diacol	2,25± 0,9	R	3,25±0,5	I	4,25±3,4	I	2,25±0,9	R	1,25±0,5	R	1,50±1,0	R	1,25±0,5	R
Bem-te-vi	2,25± 0,9	R	4,50±3,0	I	3,25±1,7	I	3,25±0,5	I	2,75±1,7	R	2,25±0,9	R	1,75±0,5	R
Campos Gerais	2,00±0,0	R	2,75±0,9	R	2,50±0,6	R	4,25±33	I	4,50±1,0	I	1,75±0,5	R	1,00±0,0	R
Eldorado	3,50± 0,6	I	1,75±0,5	R	3,25±0,9	I	5,00±2,7	I	3,25±0,9	I	2,75±0,5	R	1,75±0,9	R

*As médias são notas atribuídas à doença causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* aos 32 dias após a inoculação, de acordo com escala de notas de 1 a 9 (CIAT, 1990). Cultivares foram avaliados quanto a reação à doença, podendo variar em reações de S - suscetibilidade; I – moderadamente resistente ou reação intermediária e R - resistente. As médias são seguidas pelo desvio padrão.

As instituições brasileiras e públicas de melhoramento genético vêm buscando há muitos anos características de resistência às doenças do feijoeiro, e atualmente têm buscado por características que se relacionem a resistência a murcha-de-Fusarium, que passou a ser uma das doenças mais ameaçadoras para cultura (PEREIRA, et al., 2011)

As cultivares Tuiuiú, Tangará e Diacol mostraram ser potenciais fontes de resistência ao patógeno uma vez que obtiveram as menores médias perante os isolados inoculados (Tabela 2). Segundo o instituto agronômico do Paraná – IAPAR, Tangará e Tuiuiú são resistentes a murcha-de-Fusarium (IAPAR, 2007; IAPAR 2014), o que corrobora com as respostas das mesmas frente aos isolados testados. No geral, a cultivar Tuiuiú apresentou o maior número de respostas de resistência. Desse grupo de cultivares resistentes, a cultivar Tangará obteve a maior média de notas sob reação do isolado APR1 (nota 4,0).

Diacol é considerada uma cultivar diferenciadora de raças patogênicas de Fop, e segundo Alves-Santos et al. (2002b) é resistente a raça 1 americana, e raça 2 (brasileira) e a raça 5. Corroborando com tais informações, a cultivar Diacol apresentou respostas de resistência frente a quatro dos isolados testados e obteve a menor nota observada entre as cultivares (nota de 1,25). No entanto, a cultivar Diacol mostrou também amplitude de respostas entre as cultivares chegando a apresentar nota de 4,25 frente ao isolado IAC9453 o que caracteriza resposta intermediária (Tabela 2).

A cultivar Bem-te-vi apresentou reação de resistência aos isolados PMG5, APR1 e PMG2. Reação intermediária frente aos isolados IAC9453, IPR7 e APR2 e não apresentou nenhuma resposta de suscetibilidade. Em seu boletim técnico não há informações quanto as respostas da cultivar frente à Murcha-de-Fusarium, indicando que a mesma não tenha passado por um programa de melhoramento genético visando essa característica (IAPAR, 2014). Assim, é possível que algum melhoramento não intencional, pela presença do patógeno no campo, possa desempenhar algum papel na manifestação da resistência entre as cultivares brasileiras.

Eldorado, Sintonia, Campos Gerais e Curió, segundo os institutos IAPAR e IAC, são cultivares moderadamente resistentes à murcha-de-Fusarium, corroborando com as respostas obtidas em casa de vegetação (IAC, 2016; IAPAR, 2013; IAPAR, 2016; IAPAR, 2017). A cultivar Eldorado foi resistente aos isolados PMG5.9 e APR2.10 e apresentou reação intermediária aos outros isolados. Entretanto a cultivar Sintonia não apresentou resistência ou suscetibilidade a nenhum dos isolados inoculados, mantendo sua resposta de reação intermediária frente a todos eles. Campos Gerais e Curió apresentaram respostas de

resistência frente aos isolados PMG5.9, IAC9453, APR1.1 e APR2.10, e respostas intermediárias aos isolados PMG2.6 e IPR7.8.

A cultivar Rosinha G2 foi suscetível a maioria os isolados, exceto aos isolados PMG2.6 e APR2.10, para os quais mostrou resposta intermediária. Este resultado corrobora com os de Pereira et al., (2002) onde a cultivar foi suscetível a todos os isolados de Fop inoculados. Nos estudos de Sala et al. (2006) a cultivar Rosinha G2 foi suscetível a 4 raças de Fop identificadas por Ito et al. (1997).

Entre as cultivares diferenciadoras Preto Uberabinha, Diacol e IPA6, houve diferenças relevantes quanto às reações frente aos isolados (Figura 3). Preto Uberabinha é uma cultivar considerada diferenciadora das raças 1 (americana) e raça 2 (brasileira), sendo resistente a primeira e suscetível a segunda (NASCIMENTO et al., 1995; WOO et al., 1996; ALVES-SANTOS et al., 2002b e HENRIQUE et al., 2015). Já a cultivar Diacol é classificada como resistente às raças 1, 2 e 5, e suscetível às raças 3, 4, 6 e 7 (CIAT, 1990; WOO et al., 1996; ALVES-SANTOS et al., 2002b e HENRIQUE et al., 2015).

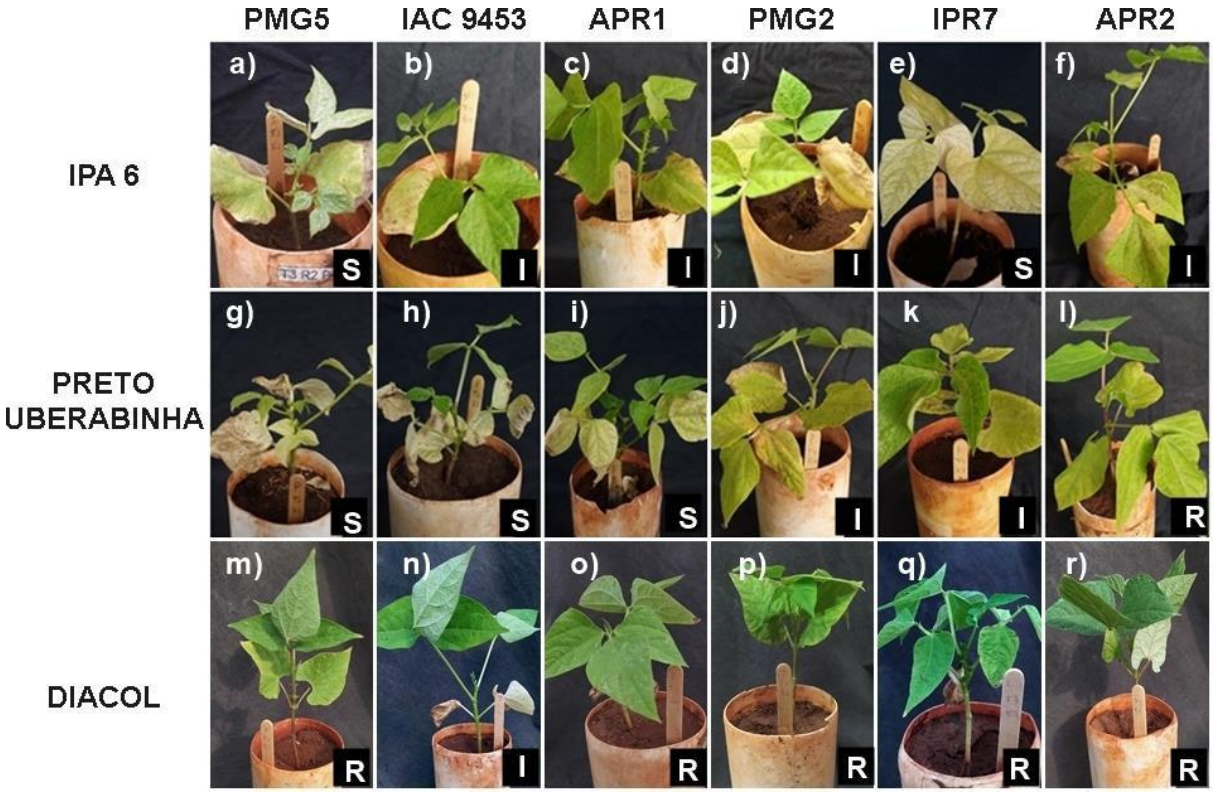

Figura 3. Reação de cultivares de feijão aos 32 dias após inoculação com isolados monospóricos de *Fusarium oxysporum* f. sp *phaseoli* (Fop). Na horizontal encontram-se as cultivares diferenciadoras (IPA6 – resistente as raças 1 e 2, Preto Uberabinha – resistente a raça 1 e suscetível a raça 2, e Diacol – resistente as raças 1, 2, 5 e suscetível às raças 3, 4, 6 e 7). Na vertical observa-se as respostas aos isolados monospóricos (PMG5.9, IAC9453, APR1.1, PMG2.6, IPR7.8 e APR2.10). As letras no canto inferior direito representam as respostas de patogenicidade das plantas aos patógenos: suscetibilidade (S), Intermediária (I)

ou Resistente (R).

Segundo os resultados obtidos, Preto Uberabinha foi resistente ao isolado APR2.10, sugerindo que esse isolado apresente um padrão de patogenicidade distinto ao esperado para a raça 2 ou raça brasileira. Além disso, a cultivar apresentou reação intermediária aos isolados PMG2.6 e IPR7.8 e foi suscetível aos isolados PMG5.9, IAC9453 e APR1.1 (Tabela 2). Considerando o perfil de reações frente às raças esperadas para a Preto Uberabinha, é possível sugerir que PMG5.9, IAC9453 e APR1.1 poderiam representar a raça 2 e que APR2.10 poderia representar a raça 1.

Quando observou-se as reações de Diacol, a cultivar foi resistente aos APR1.1, PMG2.6, PMG5.9 e IPR7.8, o que suporta a hipótese anteriormente descrita. Apenas os isolados APR2.10 e IAC9453 causaram reações intermediária em Diacol. Em soma Preto Uberabinha foi resistente ao isolado APR2.10 e suscetível a IAC9453 (Tabela 2). Assim, o isolado IAC9453 pode também pertencer a raça 2.

A cultivar IPA6, diferenciadora suscetível às raças 1 e 2 tem perfil desconhecido para as demais raças geográficas (ALVES-SANTOS et al., 2002b). IPA6 mostrou reação de suscetibilidade aos isolados PMG5.9 e IPR7.8 o que em conjunto as reações obtidas para esses isolados em Preto Uberabinha e Diacol, sugere que ambos pertençam a raça 2. IPA6 mostrou ainda resposta intermediária para os demais isolados (APR1.1, PMG2.6, APR2.10 e IAC9453).

O isolado monospórico utilizado como controle negativo da doença foi o fungo *fusarium* solani f. sp. *phaseoli*, causador da doença Podridão radicular seca no feijoeiro. O isolado controle P4.7 quase não apresentou sintomas nas plantas, sua maior média foi 2,5 frente a cultivar Rosinha G2, o que indica que o mesmo não seja capaz de causar sintomas nas cultivares inoculadas. Os sintomas foram praticamente nulos.

De forma geral, quando comparamos os perfis esperados para as diferenciadoras entre si, observamos maior coerência na identificação das raças geográficas de Fop entre as cultivares Preto Uberabinha e Diacol. A cultivar IPA6 não coincidiu com a reto Uberabinha e Diacol na definição das raças para os isolados IAC9453, APR1.1, APR2.10 e PMG2.6; ao passo que para os isolados PMG5.9 e IPR7.8 as três diferenciadoras os identificaram como pertencendo as raças 2 e 1, respectivamente. Os isolados IAC9453 e APR1.1 foram identificados apenas por Preto Uberabinha e Diacol como representantes da raça 2, e os isolados PMG2.6 e APR2.10 como sendo da raça 1. Nesse sentido, é possível que as cultivares utilizadas não tenham sido suficientes para distinguir a variabilidade dos isolados

obtidos ou que a definição das raças geográficas não seja suficiente para caracterizar os isolados de Fop.

Os autores Nascimento et al. (1995), Woo et al. (1996) e Alves-Santos et al. (2002b) buscaram definir quais cultivares seriam diferenciadoras eficientes das raças de Fop. Utilizando a escala de CIAT e de técnicas moleculares tais autores definiram 12 cultivares diferenciadoras e 7 raças distintas de Fop. Porém, Henrique et al. (2015) confirmaram a existência de mais raças fisiológicas de Fop e não apenas 7. Em seu estudo, 28 isolados de Fop foram inoculados e classificados em raças fisiológicas a partir de três propostas de classificação. Foram utilizadas 12 cultivares nesse estudo e segundo os autores, pelo método empregado, haveriam 27 raças distintas entre seus isolados (NASCIMENTO et al., 1995; WOO et al., 1996 e ALVES-SANTOS et al., 2002b). Os autores observaram divergência de informações nos resultados devido ao uso de mais de uma proposta de classificação, o que, segundo os autores pode fazer com que o mesmo isolado apresente respostas distintas. Assim, segundo os autores há ainda a, necessidade de se estipular classificação única e abranger também um maior número de raças (HENRIQUE et al., 2015).

Os isolados utilizados neste trabalho foram identificados como altamente virulentos por Negreiros et al. (2020) por meio do uso do diagnóstico de PCR-SCAR descrito por Alves-Santos et al. (2002), com exceção do isolado IAC9453. É interessante notar que segundo a proposta de Alves-Santos (2002b) o diagnóstico com os *primers* SCAR/RAPD indicaria o potencial de agressividade do isolado. Os autores sugerem que o diagnóstico positivo dos isolados Fop na PCR-SCAR seria positivo para isolados com notas de severidade superiores a 7,0 pela escala de CIAT. Entretanto, as médias dos isolados considerados virulentos avaliados neste trabalho não chegaram a 7,0, sendo a maior média atingida para a cultivar IPA 6 frente ao isolado PMG5 (Tabela 2), com média 6,5, e da cultivar Rosinha G2 frente ao isolado IAC 9453, ambos com média 6,5 (Tabela 2). Assim, é possível concluir que embora positivos na PCR-SCAR os isolados utilizados foram pouco agressivos. Este fato pode indicar boa resistência entre as cultivares selecionadas para o estudo como também pode representar indício de que os isolados são pouco agressivos ou o diagnóstico PCR-SCAR não possa ser aplicado de forma eficiente entre os isolados avaliados. Negreiros et al. (2020) sugerem que o diagnóstico molecular previamente desenvolvido não seja eficiente na diferenciação desses isolados em função da discrepância entre o diagnóstico molecular para o isolados IAC9453, negativo para a PCR-SCAR, e seu potencial no desenvolvimento da murcha-de-Fusarium. O mesmo resultado foi evidenciado no presente trabalho.

Os isolados IAC9453, IPR7.8 e PMG5.9 foram os que mais apresentaram respostas de

suscetibilidade nas plantas, sendo considerados então os mais virulentos. Porém, em termos de agressividade, a média CIAT para os diferentes isolados variou de 3,5 a 4,15 sugerindo, que sejam, em média igualmente agressivos (Tabela 2).

Ao comparar-se as médias CIAT da Tabela 2 aos gráficos de curva do progresso da doença, observou-se que nenhum isolado foi altamente agressivo com notas superiores a 7,0, mas que em algumas reações específicas cultivar x isolado, é possível notar curvas de progressão da doença mais íngremes nas reações IPR7.8 x Sintonia, Rosinha G2, Eldorado e Campos; IAC9453 x Sintonia, Rosinha G2, Preto Uberabinha, Ipa 6 e Diacol e PMG2.6 x Sintonia, Campos Gerais, Curió e Eldorado (Figura 4).

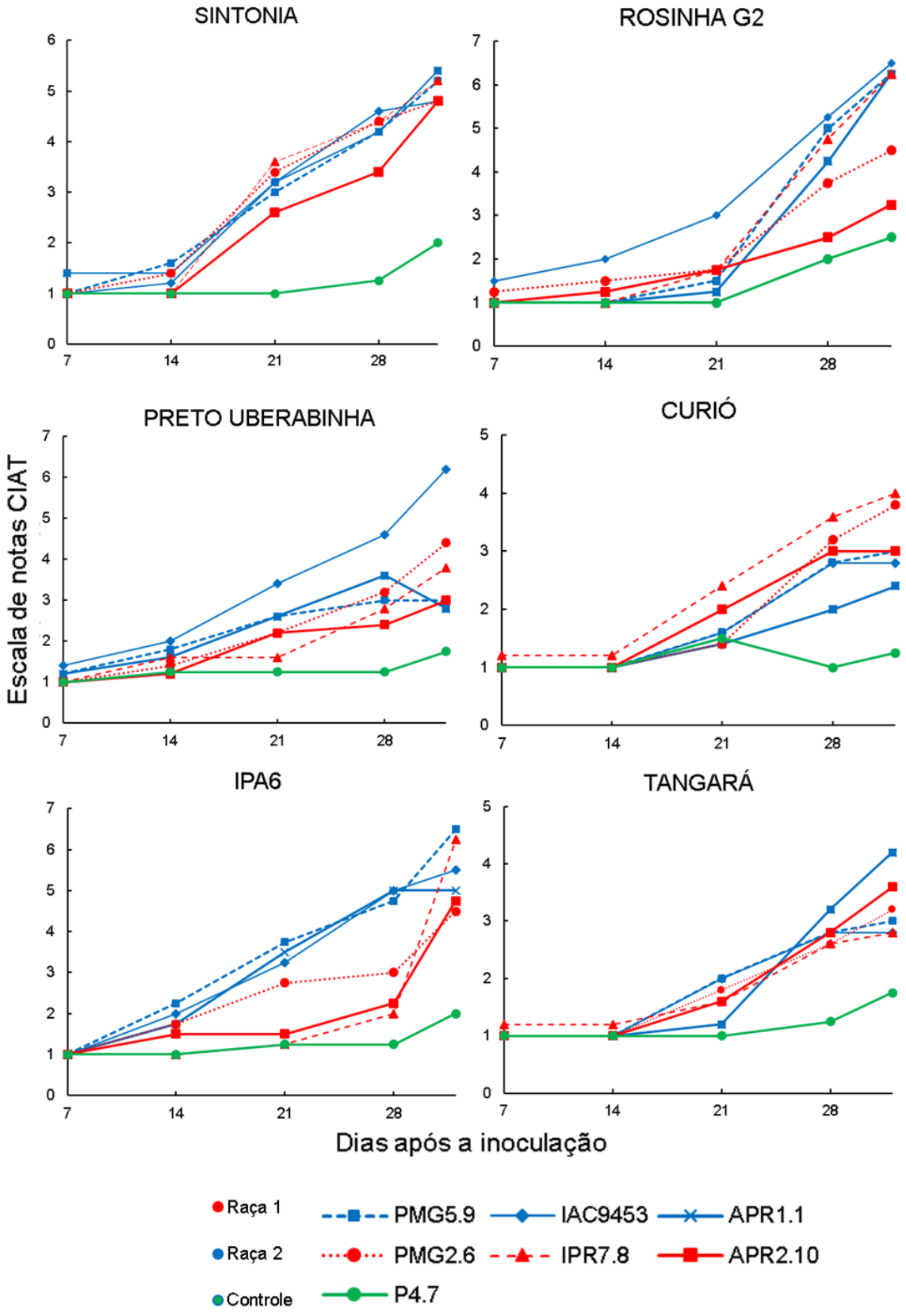

Figura 4. Progresso da murcha-de-Fusarium aos 7, 14, 21, 28 e 32 dias após a inoculação de seis isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* nas cultivares de feijão Sintonia, Rosinha, Preto Uberabinha, Curió, IPA6 e Tangará.

Os sintomas da murcha-de-Fusarium nas cultivares que apresentaram suscetibilidade foram observados após 14 dias da inoculação (Figura 4). Já para as cultivares que demonstraram-se resistentes os sintomas se evidenciaram aos 21 dias após a inoculação (Figura 5). A justificativa se dá pelo fato de que o fungo inicia a infecção colonizando as raízes dos feijoeiros, o que acontece em diferentes velocidades conforme o grau de agressividade do isolado, e a partir disso os sintomas de parte aérea passam a ser visíveis. Quando a cultivar possui característica de resistência, a tendência é que ocorra o atraso no surgimento dos sintomas de parte aérea, ou que seu mecanismo de defesa ocorra já no momento de colonização do fungo, resultando em pouco ou quase nenhum sintoma de parte aérea.

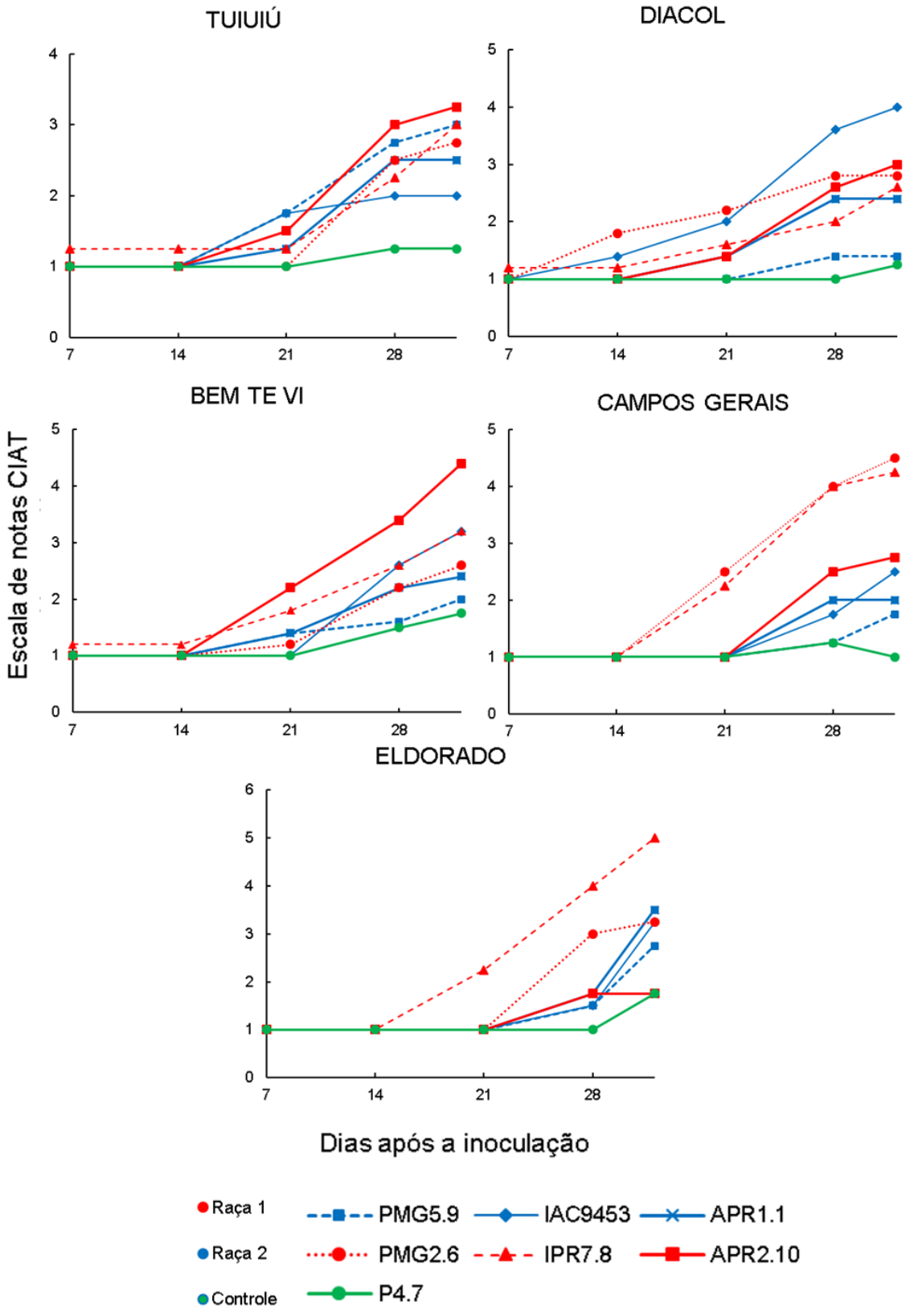

Figura 5. Progresso da murcha-de-Fusarium aos 07, 14, 21, 28 e 32 dias após a inoculação (dpi) de seis isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* nas cultivares de feijão Tuiuiú, Diacol, Bem-te-vi, Campos Gerais e Eldorado.

O isolado IAC9453 começou a apresentar respostas nas plantas que foram

moderadamente resistentes ou resistentes a partir dos 21 dpi (Figura 4) já nas plantas consideradas suscetíveis, como Preto Uberabinha, IPA6, Rosinha G2 e também a Sintonia, foram observados sintomas pouco antes de 21 dpi (Figura 4). Assim, a hipótese de que o isolado IAC9453 possa ser classificado como a raça brasileira ou raça 2 também pode ser evidenciada na progressão de resposta da cultivar Preto Uberabinha (Figura 4), onde o isolado começou apresentar sintomas aos 14 dpi mantendo sua curva de progresso ascendente ao longo de todo o período com consequente resposta de suscetibilidade.

O isolado APR2.10 apresentou um comportamento distinto ao padrão da raça brasileira, começou a promover sintomas leves na cultivar Preto Uberabinha em 14 dpi, e em 28 dpi a linha ascendente começou a decair, indicando que não houve avanço da doença. Esse perfil corrobora com a hipótese da cultivar diferenciadora Preto Uberabinha ter diferenciado APR2.10 como raça 1 ou raça americana (Figura 4). Além disso, a resposta da cultivar Rosinha G2, amplamente suscetível a raça brasileira, também sugere que esse isolado represente outra raça que não a raça brasileira uma vez que Rosinha G2 foi moderadamente resistente a APR2.10.

A cultivar Diacol foi resistente ao suposto isolado americano (Figura 5) e a IPA6 teve resposta intermediária frente a ele. Os sintomas leves de IPA6 frente a APR2.10 permaneceram até 28 dpi, mas após isso houve um aumento significativo dos sintomas (Figura 4). É possível que se acompanhada por mais tempo a cultivar IPA6 poderia ter mostrado reação de suscetibilidade a APR2.10 corroborando com a hipótese de que esse isolado possa ser classificado como raça 1. O mesmo poderia também ser evidenciado para os isolados IAC9453 e PMG2.6 em IPA6 já que aos 32dpi a curva de progresso mantinha-se ascendente (Figura 4).

Alguns estudos avaliando linhagens de feijão inoculadas com Fop desenvolvidos por Cavalcanti et al. (2002) e Nascimento et al. (1995) concluíram que a data mais adequada a ser realizada as avaliações finais de severidade são aos 32 dias após a inoculação. No entanto, é possível que se ampliar o tempo de observação das cultivares inoculadas com Fop possa favorecer a distinção das raças.

As plantas passaram por adubação com 15dpi, segundo Pelegrin et al. (2009) quando as plantas estão bem nutridas, elas tendem a retardar processos de infecção, corroborando com a necessidade de um período maior de avaliação das mesmas frente aos isolados inoculados.

3.4 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos é possível concluir que o método de inoculação de Fop por imersão das raízes é eficaz na promoção do estabelecimento do patógeno.

De forma geral os períodos de avaliação do progresso da doença foram suficientes para afirmar que existe uma diferença patológica entre os isolados de Fop coletados nas lavouras do Paraná e Minas Gerais.

Acredita-se que se as avaliações perdurassem por mais dias após inoculação, seria possível a melhor diferenciação para os isolados APR2.10, PMG2.6 e IAC9453.

O acompanhamento das curvas de progresso da doença foi um complemento importante ao uso da escala de CIAT, na diferenciação de raças fisiológicas de Fop.

O grupo das cultivares que apresentaram resistência e moderada resistência frente aos isolados foram: Bem-te-Vi, Tangará, Tuiuiú, Campos Gerais, Curió, Diacol, Eldorado e Sintonia.

Preto Uberabinha, IPA6 e Rosinha G2 foram no geral suscetíveis frente aos isolados em teste.

A cultivar Tuiuiú foi amplamente resistente a todos os isolados. No geral, as cultivares utilizadas mostraram boa resposta de resistência a murcha-de-Fusarium.

Devido a amplitude de respostas de cada cultivar aos isolados pode-se concluir que há variabilidade genética entre os mesmos.

Sugere-se que pelo menos duas raças patológicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* estejam representadas entre os isolados estudados, sendo a raça 2 representada por PMG5.9, IAC9453 e APR1.1 e a raça 1 por APR2.10, IPR7.8 e PMG2.6.

Os isolados mais virulentos foram IPR7.8, PMG5.9 e IAC9453, porém todos os isolados foram em média pouco agressivos.

Estudos futuros que envolvam abordagens moleculares são necessários para auxiliar na distinção das raças de Fop e na compreensão dos padrões de variabilidade genética desse fungo. Tais estudos são fundamentais no avanço do entendimento sobre a biologia e evolução de Fop bem como são importantes para os programas de melhoramento genético, tendo em vista a classificação de diversas raças de Fop encontradas em território nacional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAWI, G. S.; PASTOR-CORRALES, M. A. Podridão da raiz do feijão na América Latina e África: diagnóstico, metodologias de pesquisa e estratégias de gestão. Cali Colômbia. **CIAT**, 1989.

ABREU, A. F. B. Cultivo do Feijão da Primeira e Segunda Safra na Região Sul de Minas Gerais: Importância Econômica 2008. Disponível em: <http://migre.me/7oqdR>. Acesso em: 15 de maio de 2018. **Agropecuário**, v.25, p.99-112, 2008.

AIDAR, H.; KLUTHCOUSKI, J. Realidade versus sustentabilidade na produção do feijoeiro comum. In: KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L. F.; AIDAR, H. Fundamentos para uma agricultura sustentável, com ênfase na cultura do feijoeiro. Santo Antônio de Goiás: **Embrapa Arroz e Feijão**, p. 23-33, 2009.

ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. J.; BLACKWELL, M. Introductory mycology. 4 ed. **New York: J. Wiley**, p. 808, 1996.

ALVES-SANTOS, F. M. ET AL. Genetic diversity of Fusarium oxysporum strains from common bean fields in Spain. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 8, p. 3335–3340, 1999.

ALVES-SANTOS, F.M.; BENITO, E.P.; ESLAVA, A.P.; DÍAZ-MÍNGUEZ, J.M. Pathogenicity and race characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* isolates from Spain and Greece. **Plant Pathology,** v. 51, n. 5, p. 605–611, 2002a.

ALVES-SANTOS, F. M.; RAMOS, B.; GARCÍA-SÁNCHEZ, M. A.; ESLAVA, A. P.; DÍAZ-MÍNGUEZ, J. M. A DNA-based procedure for in planta detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Phytopathology**, v. 92, p. 237-244, 2002b.

ANDRADE, G. M. DE; SARTORETTO, L. M.; BRASILEIRO, A. C. M. Biologia molecular do processo de infecção por *Agrobacterium* spp. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 5, p. 465–476, 2003.

BAAYEN, R. P; O'DONNEL, K.; BONANTS, P. J. M.; CIGELNIK, E.; KROON, L.P. N. M.; ROEBROECK, E. J. A.; WAALWIJK, C. Gene gencalogies and AFLP analyses in the *Fusarium oxysporum* complex identify monophyletc and nonmonophyletic *formae speciales* causing wilt and rot discase. **Ecology and Population Biology**. v. 8, n. 90, p. 891-900, 2000.

BARNETT, H. L. Plant disease resistance. **Annual Review Microbiology**. n. 13, p. 191-210, 1959.

BECKMAN, C. H.; MACE, M. E.; HALMOS, S.; McGAHAN, M. W. Physical barriers associated with resistance in fusarium wilt of bananas. **Phytopathology**, v.51, p. 507-515, 1961.

BECKMAN, C. H. Host responses to vascular infection. **Annual Review of Phytopathologic**. v.2, p.231-252, 1964.

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos.** 4.ed. São Paulo: Ceres, v. 1, p. 704, 2011

BIANCHINI, A.; MARRIZONI, A. C.; CAMEIRO, S. N. T. P. G. Doenças do feijoeiro. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 4. ed. v. 2, p. 333-349, 2005.

BILGI, V. N., BRADLEY, C. A., KHOT, S. D., GRAFTON, K. F., AND RASMUSSEN, J. B. Response of dry bean genotypes to Fusarium root rot, caused by Fusarium solani f. sp. phaseoli, under field and controlled conditions. **Plant Disease**. n. 92, p. 1197-1200, 2008.

BOOTH, C. Fusarium: laboratory guide to the identification of the major species. **Common wealth Mycological Institute**, Kew, Surrey, England. 1977.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas.** 4. ed. Viçosa: UFV, v.1, p. 707, 2005.

BRICK, M. A.; OGG, J. B.; SCHWARTZ, H. F.; BYRNE, P. F.; KELLY, J.D. Resistance to multiple races of Fusarium wilt in common bean**. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**. n. 47,p. 131-132, 2004.

CÂNDIDA, D.V.; COSTA, J.G.; RAVA, C.A.; CARNEIRO, M.S. Controle genético da murcha de fusário (*Fusarium oxysporum*) em feijoeiro comum. **Tropical Plant Pathology,** n. 34, p. 379-384, 2009.

CARDOSO, C. O. N.; KIMATI, H.; FERNANDES, N. G. Nota sobre a ocorrência de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Schlecht.) Kendrick&Snyder causando murcha vascular em feijoeiro comum. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, n.23 p.273-276, 1966.

CARNEIRO, M. S.; CÂNDIDA, D. V.; COSTA, J. G. C.; RAVA, C. A. Controlegenético da murcha do fusário (*Fusarium oxysporum*) em feijoeiro comum. **Tropical Plant Pathology**, v. 34 n. 6, 2009.

CAVALCANTI, L. S.; COELHO, R. S. B.; PEREZ, J. O. Utilização de dois métodos de inoculação na avaliação da resistência de cultivares e linhagens de feijoeiro a *Fusarium oxusporum* f.sp. *phaseoli*. **Ciência Rural**, n. 32, p. 1-5, 2002.

CHIORATO, A. F.; CARBONELL, S. A. M.; BOSETTI, F.; SASSERON, G. R.; LOPES, R. L. T.; AZEVEDO, C. V. G. Common bean genotypes for agronomic and market-related traits in VCU trials. **Scientia Agricola,** v.72, p.34-40, 2015.

CIAT - CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. Research constraints provisionally identified by CIAT. **Workshop on Advanced Phaseolus Bean Research Network**, Palmira, CO, 1990.

CICHY, K. A.; SNAPP, S. S.; KIRK, W. W. Fusarium root rot incidence and root architecture in graftet common bean lines. **Plant Soil**, v. 300, p. 233-244, 2007.

CONAB, COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Nono levantamento de acompanhamento da safra brasileira grãos 2017/2018**. Disponível em:< http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_06_09_09_00_00_boletim_graos_junho_2018_-_final.pdf>. Acesso em: 23 de junho de 2020.

CONAB, COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Perspectivas para a Agropecuária, Safra 2020/2021, edição grãos,** Brasília, v.8, p. 1-75, ago 2020**.** Disponível em: <https://www.conab.gov.br/perspectivas-para-a- agropecuaria>. Acesso em: 02 de fevereiro de 2020.

CORRELL, J. C. The relationship between *formae speciales*, races, and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. **Phytopathology, Saint Paul**, v.9, n.81, p. 1061-1064, 1991.

COSTA, J. G. C.; RAVA, C. A.; PURÍSSIMO, J. D. Linhagens de feijoeiro comum resistentes à murcha-de-fusário. Embrapa Arroz e Feijão, 19 p. – **(Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Arroz e Feijão**, ISSN 1678-9571; 21), 2006

CRUTE, I. C.; PINK, D. A. Genetics and utilization of pathogen resistance in plants. **The Plant Cell**, n. 8, p.1747-1755, 1996.

CZISLOWSKI, E; FRASER-SMITH, S; ZANDER,, M . Investigação da diversidade de genes efetores no patógeno da banana, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, revela evidências de transferência horizontal de genes. **Molecular Plant pathology, v.**19, n.5, p.1155-1171, 2018.

DEBOUCK, D.G. Systematics and morphology. In: SCHOONHOVEN, A. van; VOYSEST, O. (Ed.). **Common beans: research for crop improvement.** Cali: CIAT, p.55-118, 1991.

DIMOND, A. E. Biophysics and biochemistry of the vascular wilt syndrome**. Annual Review of Phytopathologic**, v.8, p.301-322, 1970.

DONGO, S. L.; MÜLLER, L. E. Estudios sobre la patogenicidad de *Fusarium oxys*. *porum* f. sp. *phaseoli* en el frijol. II. **Pruebas varietales**. Turrialba v.19, p.82-90, 1969.

EMBRAPA - **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.** Caracterização Botânica de Espécies Silvestres do Gênero *Phaseolus* L. (Leguminosae) Santo Antônio de Goiás, set. 2003. Disponível em: Acesso em 23 de novembro de 2020.

EMBRAPA, **Agência de Informação da Embrapa Arroz e Feijão 2003**. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/>. Acesso em: 13 de janeiro de 2021.

FAO STAT: **FAO Statistical Databases 2019**. Disponível em: http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E. Acesso em: 27 de maio de 2020.

FLOR, H. H. Host parasite interaction in flax rust, its genetics and other implications. **Phytopathology,** St. Paul-MN, v.19, p.680-685, 1955

GEPTS, P.; DEBOUCK, D.G. Origin, domestication, and evolution of the common bean (Phaseolus vulgaris). In: SCHOONHOVEN, A. van; VOYSEST, O. (Ed.). Common beans: research for crop improvement. Cali: **CIAT**, 1991. p.7-53.

GIRALDO, M. C.; VALENT, B. Filamentous plant pathogen effectors in action. **Nature Reviews Microbiology**, v.11, n.11, p.800–814, 2013.

GOULART, A. C. P. Doenças do feijoeiro na Região Norte de Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira, Brasília,** v.13, p.230-232, 1988.

HAWKSWORTH, D. L.; KIRK, P. M.; SUTTON, B. C.; PEGLER, D. N. Dictionary of the fungi. **Ainsworth & Bisby's**, Cambridge: CAB International, 8 ed., p.616, 1995.

HENRIQUE, F.; CARBONELL, S. A. M.; ITO, M. F.; GONÇALVES, J. G. R.; SASSERON, G. R.; CHIORATO, A. F. Classification of physiological races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* in common bean. **Bragantia**, v.74, n.1, p.84–92, 2015.

HOUTERMAN, P. M. et al. The mixed xylem sap proteome of *Fusarium oxysporum*-infected tomato plants: Short communication. Molecular **Plant Pathology**, v.8, n.2, p.215–221, 2007.

IAC- Instituto Agronômico de Campinas. **Boletim técnico cultivar IAC Sintonia**. 2016. Disponível em:http://www.iac.sp.gov.br/noticiasdetalhes.php?id=1098. Acesso em: 20 de março de 2020.

IAPAR- Instituto agronômico do Paraná. **Boletim técnico cultivar de feijão IPR Tuiuiú**. 2014. Disponível em: http://www.idrparana.pr.gov.br/Pagina/Cultivares-IPR. Acesso em 20 de março de 2020.

IAPAR- Instituto agronômico do Paraná. **Boletim técnico cultivar de feijão IPR Campos Gerais**. 2016. Disponível em: http://www.idrparana.pr.gov.br/Pagina/Cultivares-IPR. Acesso em 20 de março de 2020.

IAPAR- Instituto agronômico do Paraná. **Boletim técnico cultivar de feijão IPR Curió.** 2013. Disponível em: http://www.idrparana.pr.gov.br/Pagina/Cultivares-IPR. Acesso em 20 de março de 2020.

IAPAR- Instituto agronômico do Paraná. **Boletim técnico cultivar de feijão IPR Eldorado**. 2017. Disponível em: http://www.idrparana.pr.gov.br/Pagina/Cultivares-IPR. Acesso em 20 de março de 2020.

IAPAR- Instituto agronômico do Paraná. **Boletim técnico cultivar de feijão IPR Tangará**. 2007. Disponível em: http://www.idrparana.pr.gov.br/Pagina/Cultivares-IPR. Acesso em 20 de março de 2020.

IAPAR- Instituto agronômico do Paraná. **Boletim técnico cultivar de feijão IPR Bem-te-vi**. 2014. Disponível em: http://www.idrparana.pr.gov.br/Pagina/Cultivares-IPR. Acesso em 20 de março de 2020.

ITO, M. F.; CARBONELL, S. A. M.; POMPEU, A. S.; RAVAGNANI, S.; LOT, R. C.; RODRIGUES, L. C. N. **Variabilidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.** Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.22, p.270-271, 1997.

JANGIR, P. et al. Secreted in Xylem Genes: Drivers of Host Adaptation in Fusarium oxysporum. **Frontiers in Plant Science**, v.12, n. 4, p.1–17, 2021.

JOHNSON, R. A critical analysis of durable resistance. **Annual Review of Phytopathologic**, v.22, p.309-330, 1984.

JONES, J.D.G.; DANGL, J.L. The Plant Immune System. **Nature,** n. 444, p.323-329. 2006.

KALMAN, B. DEGANI, O. Assessment of commercial fungicides against onion (*Allium cepa*) basal rot disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* and *Fusarium acutatum*. **Journal of Fungi**, v.7, n.3, 2021.

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

KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L. F.; AIDAR, H. Fundamentos para uma agricultura sustentável, com ênfase na cultura do feijoeiro. Santo Antônio de Goiás, **Embrapa Arroz e Feijão**, p, 452, 2009.

LESLIE, F. J. and SUMMERELL, A. B. The Fusarium Laboratory Manual. Sydney - **Austrália: Blackwell Publishing**. 2006.

MA, L. J. et al. Comparative genomics reveals mobile pathogenicity chromosomes in Fusarium. **Nature**, v.464, n.7287, p.367–373, 2010.

MARCONDES, E. H. K.; SANTOS, J. B.; PEREIRA, H. S. Seleção de linhagens de feijoeiro com tipo de grão carioca e com os alelos co-4 e co-5 de resistência à antracnose. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, p.975-982, 2010.

MARINGONI, A. C.; LAURETTI, R. L. B. Reação de genótipos de feijoeiro comum a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *Macrophomina phaseolina* e *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, p,535-542, 1999.

MEZIADI, C., RICHARD,M. M., DERQUENNES, A.,THAREAU, V., BLANCHET, S., GRATIAS, A. & GEFROY, V. (2016). Development of molecular markers linked to disease resistance genes in common bean based on whole genome sequence. **Plant Science**, n.242, p.351-357.

MYCO BANK, 2021. Disponível em: https://www.mycobank.org/. Acesso em 19 de julho de 2021.

NASCIMENTO, S. R. C.; KUROZAWA, C.; MARINGONI, A. C. Comportamento de cultivares e linhagens de feijoeiro em relação à podridão radicular de Fusarium. **Summa Phytopathologica** v.25, p.214-217, 1999.

NASCIMENTO, S. R. C.; MARINGONI, A. C.; KUROZAWA, C**.** Comportamento de variedades e linhagens de feijoeiro ao *Fusaium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Fitopatologia Brasileira**, v.20, n.3, p.458-463, 1995.

NEGREIROS, M. M. DE.; BENEDETTI, A. R.; CARVALHO, B. M.; SILVA, A. G. DA.; CARVALHO, M. DA. C. C. G. DE. C.; TORRES, J. P. Reação de cultivares comerciais de feijoeiro comum a isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Research Society and Development**. v. 9 n.9, 2020.

NELSON, P.E.; TOUSSOUN, T.A.; MARASAS, W.F.O. **Fusarium species: an illustrated manual for identification.** University Park: The Pennsylvania State University Press, 1993.

NIÑO-SÁNCHEZ, J. Nino-Sanchez 2016 The FTF gene family regulates virulence and expression of six effector in fo. p.1–16, 2016.

NIÑO-SÁNCHEZ, J; TELLO, V; CASADO-DEL CASTILLO, V; THON, M. R; BENITO, E. P; DÍAZ-MÍNGUEZ, J. M. Gene expression patterns and dynamics of the colonization of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by highly virulent and weakly virulent strains of *Fusarium oxysporum***. Front. Microbiol.** v.6, p.234, 2015.

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

PASTOR-CORRALES, M. A.; JARA, C. E. **La evolución de *Phaeoisariopsis griseola* com el frijol común en América Latina.** Fitopatologia Colombiana, n.19 p.15-24, 1995.

PAULA JÚNIOR, T. J.; VIEIRA, R. F.; CHAGAS, J. M.; CARNEIRO, J. E. S.; ARAÚJO, A. A.; VENZON, M.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; ANDRADE, M.J.B. Feijão (*Phaseolus vulgaris*L.). EPAMIG: **101 Culturas: Manual de Tecnologia Agrícola**, Belo Horizonte, p.331-342, 2007.

PAULA JÚNIOR, T. J.; VIEIRA, R. F.; ZAMBOLIM, L. Manejo integrado de doenças do feijoeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.25, n.223, p.99- 112, 2004.

PELEGRIN, R DE., MERCANTE, F. M., ILDA MIYUKI NAKASE OTSUBO, I. M. N., OTSUBO, A. A. inoculação, evidenciando a sua importância para obtenção de maior rentabilidade na cultura do feijoeiro. **Revista Brasileira Ciência Solo**. n. 33, p. 219-226, 2009.

PEREIRA, M. J. Z.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Estratégias para eficiência da seleção de feijoeiro quanto à resistência à murcha-de-fusário. **Pesquisa agropecuária brasileira** 43: 721-728, 2008.

PEREIRA, J. M.; VIEIRA, R.F.; MARARRA, L.O. Reação de cultivares e linhagens de feijão a murcha-de-fusarium. **Revista Ceres**, n.49, p.71-74, 2002.

PEREIRA, M.J.Z.; RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A.F.B. Reação de linhagens de feijoeiro ao fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em condições controladas. **Ciência e Agrotecnologia**, n.35, p.940-947, 2011.

RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A.F.B.; CARNEIRO, J.E.S.; WENDLAND, A.; PAULA JÚNIOR, T.; VIEIRA, R. Murcha-de-fusarium. In W. A. Paula Júnior, TJ (Ed.), **Melhoramento genético do feijoeiro comum e prevenção de doenças. EPAMIG**, Zona da Mata, Viçosa-MG, p. 158, 2012.

RAMALHO, M.A.P.; FERREIRA, D.F.; OLIVEIRA, A.C. de**. Experimentação em genética e melhoramento de plantas.** 2.ed. Lavras: UFLA, p.322, 2005

RANA, A.; SAHGAL, M.; JOHRI, B.; *Fusarium oxysporum*: genomics, diversity and plant-host interaction. In: Satyanarayana T., Deshmukh S., Johri B. (eds) **Developments in Fungal Biology and Applied Mycology.** Singapore (Singapore): Springer p.159-199. 2017.

RAVA, C. A.; MOLINA, J.; KAUFFMANN, M.; BRIONES, I. Determinación de rezas fisiológicas de *Colletrichum lindemuthianum* em Nicaragua. **Fitopatologia Brasileira,** Braília, v.3, n.18, p.388-391. 1993.

RIBEIRO, R. L. D. & HAGEDORN, D. J**.** Inheritance of resistance in beans to *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Phytopathology**, n.69, p.859-61. 1979.

ROCHA JÚNIOR, W.C.; SANTOS, J.B.; MENDES-COSTA, M.C. Reação de cultivares e linhagens de feijão à *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Fitopatologia Brasileira**, v.23, p.407-409, 1998.

RONCERO, M. E. G. HERA, C.; RUIZ-RUBIO, M.; MACEIRA, F. I. G.; MADRID, M. P.; Fusarium as a model for studying virulence in soilborne plant pathogens. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.62, n.2, p.87–98, 2003.

ROVENICH, H.; BOSHOVEN, J. C.; THOMMA, B. P. H. J. Filamentous pathogen effector functions: Of pathogens, hosts and microbiomes. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 20, p. 96–103, 2014.

RUAS. J. F. Feijão. **Perspectivas Agropecuárias**., Brasília, v.5, p.45-58, set. 2017.

SALA, G. M.; ITO, M. F.; CARBONELL, S. A. M. Reação de genótipos de feijoeiro comum a quatro raças de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. ***Summa Phytopathologica.*** v.32, n.3, p.286-287, 2006.

SALGADO, M. O. & SCHWARTZ, H. F. Physiological specialization end effects of inoculum concentration on *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* in common beans. **Plant Disease**, n.79, p.492-496, 1993.

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

SARTORATO, A. and RAVA C. A. Murcha ou amarelecimento de Fusarium. Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle. Brasília DF, **EMBRAPA-SPI**, p.175-190. 1994.

SCHMIDT, S. M. et al. Comparative genomics of Fusarium oxysporum f. sp. melonis reveals the secreted protein recognized by the Fom-2 resistance gene in melon. **New Phytologist**, v.209, n.1, p.307–318, 2016.

SILVA, F. P; VECHIATO, M. P; HARAKAVA, R. EF-1 α gene and IGS rRNA sequencing of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Vas infectum*and *Fusarium oxysporum* f. sp. *Phaseoli* reveals polyphyletic oringin of strains. **Tropical Plant Palhology**, Instituto biológico, São Paulo-SP, Brasil, v.39, n.1, p.64-73, 2014.

SILVA, G. A. P.; CHIORATO, A. F.; GONÇALVES, R. J. G.; FRANCISCHINELLI, P. E.; MORAIS, C. S. A. Análise da adaptabilidade e estabilidade de produção em ensaios regionais de feijoeiro para o Estado de São Paulo**. Revista Ceres**, v.60, p.59-65, 2013.

SILVEIRA, P. M. da; STONE, L. F. Manejo da irrigação do feijoeiro. Santo Antônio de

Goiás: **Embrapa Arroz e Feijão, Comunicado Técnico**, n.38, p.4, 2002.

SIMÃO, G.; ORSINIL, I. P.; SUMIDA, C. H.; HOMECHIN, M.; SANTIAGO, D. C.; CIRINOLL, V. M. Reação de cultivares e linhagens de feijoeiro em relação a Meloidogyne javanica e *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.5, p.1003-1008, 2010.

SINGH, N.; ANAND, G.; KAPOOR, R. Virulence and genetic diversity among Fusarium oxysporum f. sp. carthami isolates of India using multilocus RAPD and ISSR markers. **Tropical Plant Pathology**, v.44, n.5, p.409–422, 2019.

SNAPP, S.; KIRK, W.; ROMÁN-AVILÉS, B.; KELLY, J. Root traits play a role in integrated management of Fusarium root rot in snap beans. **Hort Science**, n.38, p.187-191, 2003.

TAKKEN, F.; REP, M. The arms race between tomato and *Fusarium oxysporum*. **Molecular Plant Pathology**, v.11, n.2, p.309–314, 2010.

TALBOYS, P. W. Resistence to vascular wilt fungi. **Proceedings of the Royal Society**, n.181, p.319-332, 1972.

TAYLOR, A. et al. Identification of pathogenicity-related genes in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. **Molecular plant pathology**, v.17, n.7, p.1032–1047, 2016.

TEIXEIRA, L. M. Caracterização de isolados de *Fusarium oxysporum* e resistência de genótipos de *passiflora* à fusariose. UFU, 2015. 54p. (**Dissertação Mestrado Agronomia/fitopatologia)- Universidade Federal de Uberlandia** – Uberlandia - MG

TSUTSUMI, C. Y. et al. **Melhoramento genético do feijoeiro: avanços, perspectivas e novos estudos, no âmbito nacional. Nativa,** V.3, n.3, p.217-223, 2015.

VOYSEST, V. O. Mejoramento genético del frijol (*Phaseolus vulgraris* L.): legado de variedades de América Latina 1930-1999. Cali: **Centro Internacional de Agricultura Tropical,** p.195, 2000.

WENDLAND, A. Murcha de Curto *bacterium* se espalha pelo Brasil. **Revista A Granja**. n.1, v.2, p.733, 2010.

WENDLAND, A.; MÖLLER, P. A.; CORTES, M. V. B.; LOBO JUNIOR, M.; MELO, L. C.; PEREIRA, H. S.; COSTA, J. G. C.; FARIA, L. C. Novas raças de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* identificadas via detecção específica por PCR. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.38, 2012.

WOO, S. L.; ZOINA, A.; DEL SORBO, G.; LORITO, M.; NANNI, B.; SCALA, F.; NOVIELLO, C. Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* by pathogenic races, VCGs, RFLPs and RAPD**. Phytopathology**, v.86, n.9, p.966-973, set. 1996.

WORDELL FILHO, J. A.; DE FREITAS, M. B.; STADNIK, M. J.; THEODORO, G.F. Manejo de doenças na cultura do feijão. In: WORDELL, J. A. F.; CHIARADIA, L.A.; BALBINOT, A. **Manejo fitossanitário na cultura do feijão. Florianopolis**, v.1, p.9-47, 2013.

XUE, R. et al. Differentially expressed genes in resistant and susceptible common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes in response to *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **PLoS ONE,** v.10, n.6, p.1–20, 2015.

ZANOTTI, M. G. S.; QUEIROZ, M. V. DE; DOS SANTOS, J. K.; ROCHA, R. B.; BARROS, E. G. DE; ARAÚJO, E. F. Analysis of genetic diversity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* isolates, pathogenic and non-pathogenic to common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Phytopathology**, v.154, p.545-549, 2006.

ZVIRIN, T. et al. Differential colonization and defence responses of resistant and susceptible melon lines infected by *Fusarium oxysporum* race 1·2. **Plant Pathology**, v.59, n.3, p.576–585, 2010.