

UFRRJ
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

DISSERTAÇÃO

**Influência de diferentes fontes de nitrogênio no
processo de infecção de plantas de feijoeiro por
Fusarium oxysporum f. sp. *phaseoli***

Joice de Jesus Lemos

2010



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO FITOTECNIA

**Influência de diferentes fontes de nitrogênio no
processo de infecção de plantas de feijoeiro por
Fusarium oxysporum f. sp. *phaseoli***

JOICE DE JESUS LEMOS

Sob a Orientação do Professor

Jorge Jacob Neto

e Co-orientação do Professor

Aldir de Oliveira de Carvalho

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências** no curso de Pós graduação em Fitotecnia.

Seropédica, RJ

Agosto de 2010

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

JOICE DE JESUS LEMOS

Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, área de concentração em Fisiologia da Produção, como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Ciências**.

TESE APROVADA EM 31/08/2010

Jorge Jacob Neto. Ph.D. UFRRJ
(Orientador)

Margarida Goréte Ferreira do Carmo. Dr. UFRRJ

Vera Lucia Divan Baldani. . Dr. EMBRAPA Agrobiologia

DEDICATÓRIA

A Deus, pela conquista realizada e pela força dada a cada momento de dificuldade.

Aos meus pais, Veronica e Deroci, por todo amor e apoio dado durante este difícil percurso.

AGRADECIMENTOS

- **Primeiramente a Deus, pois sem Ele nenhum esforço seria válido;**
- **Aos meus pais, que me acompanharam ao longo desta jornada sempre com muito amor e apoio;**
- **À família pelo grande incentivo;**
- **Ao professor Jorge Jacob Neto, por todo o ensinamento e amizade;**
- **Ao grande amigo Aldir Carlos Silva (Puff) por ter ajudado em todos os momentos necessários e desnecessários... “ele sempre esteve comigo!”;**
- **Ao meu querido Vinícius, por ser um amigo e companheiro muito especial e por participar dos melhores e piores momentos nesta difícil etapa da minha vida;**
- **Aos amigos, Maruzanete, Evandro, Hugo, Paula e Maristella por estarem sempre ao meu lado e contribuírem para o andamento deste trabalho;**
- **Ao professor Aldir Oliveira de Carvalho pelos ensinamentos;**
- **Ao Instituto de Agronomia pela estrutura de trabalho fornecida;**
- **Ao Curso de Pós Graduação em Fitotecnia - UFRRJ**
- **A CAPES pela bolsa concedida;**
- **Aos laboratórios dos professores: Margarida Goréte, João Araújo, João Pedro Pimentel, Silvia Goi, pelos ensinamentos e estrutura de trabalho;**
- **Aos funcionários da Fitotecnia e Horticultura pelo apoio “braçal”;**
- **A todos que de alguma forma contribuíram para que este trabalho fosse realizado.**

Muito obrigada!

“As grandes idéias surgem da observação dos pequenos detalhes.”

“Não há um normal que não seja anormal; e nenhum anormal que não seja passível de ser um mestre!”

Agusto Cury

RESUMO

LEMOS, Joice de Jesus. **Influência de diferentes fontes de nitrogênio no processo de infecção de plantas de feijoeiro por *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli***. 2010. 69f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

Foram realizados estudos com duas cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), a Diamante Negro, considerada suscetível ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e a Ouro Negro, mais resistente a esse fungo causador da murcha-de-fusário. Os experimentos foram instalados em câmara crescimento ou em casa de vegetação. O objetivo deste trabalho foi o de analisar a influência da liberação OH^- ou H^+ devido ao uso de fontes nitrogenadas na infecção do fungo. Foram utilizadas três fontes de nitrogênio (N-N_2 , N-NO_3^- e N-NH_4^+) e diferentes doses de nitrogênio (0, 30 e 120 kg ha^{-1}) com plantas inoculadas com o referido fungo, crescidas no substrato areia ou em solos com diferentes teores de argila. Também foi realizado um experimento utilizando diferentes concentrações de inóculo do *Fusarium* (0, 10^3 e 10^6 conídios mL^{-1}) com o objetivo de analisar qual concentração afetaria mais a infecção na presença de fontes nitrogenadas. Foram analisados, o percentual de infecção do *Fusarium*, o pH da rizosfera e não rizosférico, massas da parte aérea e raízes secas, e o número de nódulos em diferentes épocas de amostragem. De modo geral foi observado que a fonte nitrato diminuiu o processo de infecção do *Fusarium* e a fonte amônio aumentou. Foi confirmado que a cultivar Ouro Negro é mais tolerante ao fungo e que quando associada à fonte de nitrogênio nitrato aumentou ainda mais a resistência. O pH da rizosfera e não rizosférico foram influenciados pela fonte de nitrogênio: nitrato aumenta, e amônio diminui. Os dados do trabalho sugeriram haver interação entre a fonte de nitrogênio x dose x cultivar x solo. O número de nódulos encontrado nas condições experimentais foi baixo, especialmente nas amostragens na fase inicial do ciclo.

Palavras chave: Cultivares de feijão, nitrato, amônio, pH, rizosfera, *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*

ABSTRACT

LEMOS, Joice de Jesus. Influence of different nitrogen sources in the infection process of *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli in the region of the rhizosphere of bean plants. 2010. 69f. Dissertation (Masters in Plant Science). Institute of Agronomy, Crop Science Department, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

With the aims to study the efflux of H⁺ or OH⁻ due nitrogen sources on the process of infection of *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli in the rhizosphere of two beans cultivars Diamante Negro (susceptible) and Ouro Negro (more resistant), a series of experiments were done in greenhouse and growth chamber. Were applied to three different sources of nitrogen (N-N₂ N-NO₃⁻ and N-NH₄⁺) in three nitrogen concentrations (0, 30 and 120 kg ha⁻¹), in plants grown in clay and sand soil. In addition, an experiment was conducted with different concentrations of inoculum of *Fusarium* (0, 10³ and 10⁶ conidia mL⁻¹) in greenhouse in order to know the concentration that would affect the infection and when applied the fungi. Overall, the results suggested that nitrate decreased the infection process of *Fusarium* and ammonium increase. The association between nitrate with the cultivar more tolerant Ouro Negro, decreased the perceptual infection of fungi. The source of nitrogen influence of pH of rhizosphere occurred interaction with the type of soil. In all the experiments, found lower numbers of nodules. The concentration of inoculum or the times of inoculation not produce effect in the perceptual of infection.

Keywords: bean cultivars, nitrate, ammonium, pH, rhizosphere, *F. oxysporum*

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1: Percentual de plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) de duas cultivares (Diamante Negro e Ouro Negro) infectadas por *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* quando supridas por nitrogênio na forma de nitrato e amônio, somando as doses de 30 e 120 kg ha⁻¹ das duas coletas realizadas no experimento 1 e 2. 35

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1: Análises Químicas dos solos utilizados.	16
Quadro 2: Análises Físicas dos solos utilizados.	16
Tabela 1: Dados percentuais de plantas infectadas por <i>Fusarium</i> e de plantas com presença de nódulos e análise estatística geral ($Pr \geq F$) dos dados médios das variáveis avaliadas em plantas de feijão realizada aos 24 dias após o plantio e 13 dias após a inoculação no experimento 1, localizado em câmara de crescimento	20
Tabela 2: Dados médios das interações duplas significativas estatisticamente obtidas do quadro da análise de variância (Tabela 1), obtidas de plantas de feijoeiro cultivadas com diferentes fontes e doses de nitrogênio e inoculadas com <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> em câmara de crescimento e avaliadas aos 24 dias após o plantio e 13 dias após a inoculação	21
Tabela 3: Dados percentuais de plantas infectadas por <i>Fusarium</i> e de plantas com presença de nódulos e análise estatística geral ($Pr \geq F$) dos dados médios das variáveis avaliadas em plantas de feijão realizada aos 32 dias após o plantio e 21 dias após a inoculação no experimento 1, localizado em câmara de crescimento.	23
Tabela 4: Dados médios dos desdobramentos das interações duplas significativas estatisticamente obtidas da análise de variância (Tabela 3) obtidos de plantas de feijoeiro cultivadas com diferentes fontes e doses de nitrogênio e inoculadas com <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> em câmara de crescimento e avaliadas aos 32 dias após o plantio.	25
Tabela 5: Dados percentuais de plantas infectadas por <i>Fusarium</i> e de plantas com presença de nódulos e análise estatística geral ($Pr \geq F$) dos dados médios das variáveis avaliadas em plantas de feijão realizada aos 15 dias após o plantio no experimento 2, localizado em câmara de crescimento.	27
Tabela 6: Dados médios do efeito isolado e do desdobramento da interação dupla do quadro de análise de variância (Tabela 5) de plantas de feijoeiro cultivadas em câmara de crescimento e avaliadas aos 15 dias após o plantio.	29
Tabela 7: Dados percentuais de plantas infectadas por <i>Fusarium</i> e de plantas com presença de nódulos e análise estatística geral ($Pr \geq F$) dos dados médios das variáveis avaliadas em plantas de feijão realizada aos 25 dias após o plantio no experimento 2, localizado em câmara de crescimento.	32
Tabela 8: Dados médios do efeito isolado e do desdobramento da interação dupla do quadro de análise de variância (Tabela 7) de plantas de feijoeiro cultivadas em câmara de crescimento e avaliadas aos 25 dias após o plantio.	34

Tabela 9: Dados percentuais de plantas infectadas por *Fusarium* e análise estatística geral ($Pr \geq F$) dos dados médios das variáveis avaliadas em plantas de feijão realizada aos 14 dias após o plantio no experimento 3, localizado em câmara de crescimento. 37

Tabela 10: Dados médios do efeito isolado e dos desdobramentos das interações dupla significativas estatisticamente da análise de variância de plantas de feijoeiro crescidas em areia durante 14 dias do experimento 3, localizado em câmara de crescimento. 38

Tabela 11: Dados percentuais de plantas infectadas por *Fusarium* e de plantas com presença de nódulos e análise estatística geral ($Pr \geq F$) dos dados médios das variáveis avaliadas em plantas de feijão realizada aos 49 dias após o plantio no experimento 3, localizado em câmara de crescimento. 42

Tabela 12: Dados médios do efeito isolado e dos desdobramentos das interações duplas da análise de variância (Tabela 11) dos dados de plantas de feijoeiro crescidas em solo durante 49 dias do experimento 3, localizado em câmara de crescimento. 43

Tabela 13: Dados percentuais de plantas infectadas por *Fusarium* e de plantas com presença de nódulos e análise estatística geral ($Pr \geq F$) dos dados médios das variáveis avaliadas em plantas de feijão realizada aos 15 dias após o plantio no experimento 4, localizado em casa de vegetação. 47

Tabela 14: Dados médios do efeito isolado e dos desdobramentos das interações duplas da análise de variância (Tabela 13) obtidos de plantas de feijoeiro crescidas com diferentes fontes e doses de nitrogênio e inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em diferentes concentrações de inóculo, cultivadas em casa de vegetação e avaliadas aos 15 dias após o plantio. 48

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Importância da cultura do feijoeiro	3
2.2 Nitrogênio	4
2.2.1 Balanço iônico que ocorre na região da rizosfera	6
2.3 Importância do gênero <i>Fusarium</i>	7
2.4. A Murcha de <i>Fusarium</i>	9
2.5 Custo ambiental do controle de doenças vasculares	10
3 MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1 <i>Fusarium</i> : identificação, multiplicação e teste de patogenicidade	12
3.2 Descrição das cultivares de feijão utilizadas nos estudos	13
3.3 Experimentos realizados em Câmara de crescimento	14
3.3.1 Experimento 1 – Inoculação do fungo após 11 dias de crescimento das plântulas de feijão	14
3.3.2 Experimento 2 – Inoculação do <i>Fusarium</i> no plantio	15
3.3.3 Experimento 3 – Efeito do poder tampão do solo	15
3.4 Experimentos realizados em Casa de Vegetação	16
3.4.1 Experimento 4 - Aumento da concentração de inóculo no percentual de infecção da planta – Inoculação do fungo no plantio	16
4 RESULTADOS	18
4.1 Experimento 1- Inoculação após 11 dias de crescimento das plântulas	18
4.1.1 Coleta realizada aos 24 dias após plantio (DAP) – 13 dias após inoculação do fungo	18
4.1.2 Coleta realizada aos 32 após plantio (DAP) – 21 dias após inoculação do fungo	22
4.2 Experimento 2 – Inoculação do <i>Fusarium</i> no mesmo dia do plantio	25
4.2.1 Coleta realizada aos 15 dias após o plantio (DAP) – Experimento 2	26
4.2.2 Coleta realizada aos 25 dias após o plantio (DAP) - Experimento 2	30
4.3 Avaliação do somatório das percentagens de plantas infectadas cm <i>F. oxysporum</i> dos experimentos 1 e 2	35
4.4 Experimento 3 – Análise do efeito do poder tampão de solo arenoso e argiloso no sequestro de OH ⁻ /H ⁺ e sua interação com <i>Fusarium</i>	35
4.4.1 Coleta realizada aos 14 dias após o plantio (DAP) – Experimento 3	35
4.4.2 Coleta realizada aos 49 dias após o plantio (DAP) - Experimento 3	40
4.5 Experimento 4 – Efeito de diferentes concentrações de inóculo de <i>Fusarium</i> na percentagem de infecção de plantas – Experimento conduzido em casa de vegetação.	45
4.5.1 Coleta realizada aos 14 dias após o plantio (DAP) - Experimento 4	45
4.5.2 Coleta aos 21 dias após o plantio (DAP) - Experimento 4	49
5 DISCUSSÃO	50
5.1 Liberação de OH ⁻ /H ⁺ pelas raízes	50
5.2 Influências causadas pelo fungo nas plantas	51
5.3 Efeitos causados nos nódulos ou no processo de nodulação	52
6 CONCLUSÕES	54
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

1. INTRODUÇÃO

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é a espécie mais cultivada no mundo entre as demais do gênero *Phaseolus*. O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial de grãos de feijão, que representam uma importante fonte protéica na dieta humana dos países em desenvolvimento das regiões tropicais e subtropicais. O feijão é cultivado no Brasil por pequenos produtores com pouco investimento basicamente para a subsistência familiar. Entretanto, nas últimas décadas tem havido aumento de produtores que utilizam uma produção mais tecnificada, plantio irrigado, controle fitossanitário e colheita mecanizada, objetivando elevada produtividade.

O baixo rendimento do feijoeiro deve-se a pouca fertilidade dos solos tropicais, limitando a nutrição da planta, principalmente se tratando de adubação nitrogenada e da fixação biológica do nitrogênio, além de uma série de doenças de etiologia variada.

O nitrogênio é um dos elementos mais importantes para todas as plantas já que participam da composição de diversos compostos essenciais para a manutenção e sobrevivência das plantas.

Segundo Marschner (1995), as plantas são capazes de absorver N do solo tanto na forma de nitrato (NO_3^-) quanto de amônio (NH_4^+), sendo o nitrato a principal fonte de nitrogênio disponível pelas plantas. Algumas plantas específicas têm a capacidade de absorver N através da captura de N atmosférico (N_2), somente através da ação de bactérias fixadoras de N_2 . A espécie de bactéria recomendada para a produção de inoculantes para feijão é o *Rhizobium tropici*.

De acordo com a fonte de nitrogênio utilizada na adubação, o N pode alterar o pH da rizosfera, devido às modificações nesta região causadas pelo balanço iônico (Raven *et al.*, 1990). Quando a planta é suprida por N-NO_3^- ou N-NH_4^+ , pode ter sua atividade metabólica e composição iônica diferenciada dependendo da sua resposta fisiológica.

A rizosfera é a região do solo que sofre influencia direta das raízes das plantas, local este de grande quantidade de exsudados radiculares compostos por açúcares, ácidos carbonos, aminoácidos, vitaminas e diversos outros compostos biologicamente ativos, podendo ser utilizados como fonte de carbono e energia para micro-organismos localizados nessa região. Esta é a região onde ocorre o primeiro contato entre o patógeno e a planta, que libera exsudatos de acordo com a nutrição fornecida, pH da região, cultivar utilizada e condições ambientais, que irão favorecer ou não na ocupação do patógeno na rizosfera interferindo no grau de infecção segundo Schueger e Mitchel (1992), Zambolim e Ventura (1993) e Marschner (1995).

A acidificação ou alcalinização da rizosfera depende do balanço das cargas dos elementos absorvidos pelas raízes, onde o nitrogênio é um elemento fundamental pelo fato de ser absorvido tanto na forma de amônio (cátion) quanto na forma de nitrato (ânion), proporcionando um efluxo de H^+ ou OH^- (Raven *et al.*, 1965; 1988; 1990; Jacob Neto, 1993; Hinsinger *et al.*, 2003).

Estudos realizados por Carvalho (2003) observaram que quando a planta absorveu nitrogênio na forma de nitrato, ocorreu aumento do pH proporcionando melhor desenvolvimento do sistema radicular e redução da infecção por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* em tomateiros.

O *Fusarium oxysporum* (Schlecht.) f. sp. *phaseoli* Kendrek & Snyder é o agente causal da murcha de fusarium, que é uma doença grave do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.). A ocorrência da doença foi relatada em diversas regiões do mundo iniciando-se no campo em reboleiras.

Para se controlar fungos patogênicos podem ser utilizados métodos tradicionais como: cultivares resistentes, desinfestação do solo com produtos químicos, rotação de culturas,

sementes de alta qualidade. Associados ou não a estes métodos propõem-se utilizar um método de baixo custo ao produtor (levando-se em consideração que será necessária a adubação da cultura) e de baixo custo ambiental que é através da mudança de pH, aumentada através da fonte de nitrogênio realizada na adubação, de forma adequada e equilibrada, evitando-se a utilização de N-NH_4^+ e preferencialmente utilizando-se N-NO_3^- para o controle de doenças, como a murcha-de-fusarium causadas em plantas de feijoeiro através do patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

O objetivo deste trabalho foi o de estudar se a modificação do pH da região da rizosfera pelo uso de diferentes fontes de nitrogênio como adubação poderia auxiliar no controle da Murcha-de-fusarium em plantas de feijoeiro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância da cultura do feijoeiro

Feijão é o nome comum para um grande número de sementes de plantas de alguns gêneros da família Fabaceae (antiga Leguminosae). Três espécies de feijão são muito cultivadas no Brasil, o *Phaseolus vulgaris* L., o feijão comum, cultivado em todo o território nacional; *Vigna unguiculata* L., feijão de corda ou caupi, predominante na região Nordeste e na Amazônia e o *Cajanus cajan* L., feijão guandu ou andu, comum no Nordeste (Balardin *et al.*, 2000).

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é a espécie mais cultivada no mundo entre as demais do gênero *Phaseolus* (Zimmermann & Teixeira, 1996; Wander, 2005; Silva *et al.*, 2006). Segundo a FAO, 107 países são produtores das diferentes espécies deste gênero no mundo inteiro. Sendo o Brasil, o maior produtor e consumidor mundial deste grão, tendo sido produzido na safra 2008/2009, aproximadamente 3,5 milhões de toneladas com a produtividade de cerca de 840 kg ha⁻¹, segundo a CONAB (2009) e IBGE (2009).

Nacionalmente, o feijão se destaca como importante fonte de proteínas na dieta alimentar além de fornecer também carboidratos, vitaminas, minerais e fibras sendo um dos alimentos mais consumidos (Antunes & Silveira, 2000). E ainda é um produto agrícola que possui importante função econômico-social (Soares *et al.*, 2006).

Com relação à produção brasileira de feijão, esta não atende as necessidades do mercado interno, devido à redução na área plantada, da ordem de 35%, nos últimos 17 anos. Apesar do aumento de 48% na produtividade, verificado neste período, ainda resultou numa diminuição de apenas 4% na produção, portanto, não sendo suficiente para atender a demanda (Yokoyama, 2003).

No Brasil, o cultivo desse produto é caracterizado por dois sistemas de produção. Um sistema consiste de lavouras menores que 100 ha, correspondendo cerca de 70% da produção nacional e com produtividade média de 700 kg ha⁻¹, este sistema geralmente utiliza tecnologias consideradas mais tradicionais e de baixo custo. E o outro sistema é o de lavouras maiores que 100 ha, onde são empregadas tecnologias mais avançadas como o uso de irrigação e com a produtividade girando em torno de 1440 kg ha⁻¹ (Stralliotto, 2002). Nos últimos 20 anos, grandes produtores estão buscando o cultivo dessa leguminosa (Yokoyama, 2003) e com isso ocorre uma tendência de se aumentar o rendimento médio, podendo chegar a 4000 kg ha⁻¹, segundo Borém & Carneiro (1998), Yokoyama (2002) e Rubin (2003).

Um dos fatores mais significativos para explicar o baixo rendimento do feijoeiro é a baixa fertilidade dos solos tropicais, limitando a nutrição da planta, principalmente se tratando de adubação nitrogenada (Araújo, 1994) e da fixação biológica do nitrogênio (Jacob-Neto & Franco, 1989).

Além disso, a baixa produtividade e desenvolvimento da cultura do feijoeiro comum podem estar relacionados a doenças de etiologia variada, causadas por fungos que apodrecem o sistema radicular e caule ou causadas por fungos que colonizam o sistema vascular das plantas, além de bactérias que incidem na parte aérea da planta sob condições de ambiente propícias, afetam também a qualidade do produto final, que são os grãos (Carvalho *et al.*, 1991). Os fungos *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* Kendrick & Snyder, *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanish, *Phakopsora euvitis* e *Elsinoe ampelina* e a bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye podem ser listados como causadores de uma dessas anomalias de acordo com Maringoni & Lauretti (1999).

2.2 Nitrogênio

O nitrogênio é um dos elementos mais importante para todas as plantas (Pereira *et al.*, 1981) já que participa da composição de diversos compostos essenciais para a sobrevivência das plantas como por exemplo, as moléculas de ATP, NADH, NADPH, clorofila, proteínas estruturais e enzimáticas, DNA e RNA, aminoácidos, membranas e hormônios vegetais, entre outros (Mifflin & Lea, 1976) influenciando assim, no crescimento e desenvolvimento das plantas.

As plantas são capazes de absorver N do solo tanto na forma de nitrato (NO_3^-) quanto de amônio (NH_4^+), disponíveis através da mineralização da matéria orgânica ou pela aplicação de fertilizantes químicos, mas dependendo da espécie da planta ou de condições ambientais, ela pode ter preferência por uma ou outra fonte (Marschner, 1995). E também podem absorver N através da captação de N atmosférico (N_2), mas apesar do N constituir 78% da atmosfera, só é possível a absorção deste elemento quando em simbiose com micro-organismos especializados, que são as bactérias fixadoras de N_2 .

Apesar de nos solos ser possível encontrar N nas formas de nitrato e de amônio, o amônio fica mais facilmente retido às partículas do solo, enquanto que o nitrato sofre mais os efeitos da lixiviação (Gasser, 1961; Huber *et al.*, 1977; Fredeen & Field, 1992). Sendo que em solos tropicais, o nitrato é a principal fonte de nitrogênio disponível pelas plantas (Marschner, 1995). Não só o nitrogênio, mas todos os elementos devem estar no solo de forma disponível para as plantas. Sendo que os nutrientes podem ainda estar disponíveis, mas serem perdidos de alguma forma antes que as plantas possam utilizá-los. O nitrogênio pode ser perdido no solo de diversas maneiras, através do processo de erosão, de lixiviação e de volatilização. A erosão é o processo de remoção das partículas de solo através da ação da água e vento. A lixiviação é o processo de remoção do nitrogênio solúvel para camadas mais profundas do solo através da ação da água das chuvas e de irrigação, impossibilitando assim a absorção do elemento pela planta. O processo de perda por volatilização de amônia consiste na passagem da amônia presente no solo à atmosfera (Diest, 1988), conforme a seguinte relação:

$$\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- (\text{aquoso}) \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{NH}_3 (\text{gás})$$

O NH_3 perdido por volatilização é proveniente da mineralização da matéria orgânica ou do fertilizante aplicado, sendo esse o fenômeno mais intenso mediante aumento no pH do solo (Melo, 1978).

O transporte de nitrogênio para a planta é realizado de acordo com a forma de nitrogênio absorvido, seja na forma de nitrato ou de amônio. Após absorvido pela planta, o nitrogênio pode ser assimilado tanto nas suas raízes quanto ser transportado para a parte aérea e lá ser assimilado (Bredemier & Mundstock, 2000).

O amônio pode ser absorvido pela raiz, ser produzido através da assimilação do nitrato e ser proveniente da fotorrespiração. O amônio será então transformado através das enzimas glutamina sintetase e glutamato sintase, gerando glutamina e glutamato, respectivamente (Bloom *et al.*, 1992; Becker *et al.*, 1993).

Já quando o nitrogênio é absorvido na forma de nitrato pode ter três destinos, ou é metabolizado nas raízes através da redução de nitrato a amônio e assimilação, onde ocorre primeiramente a redução de nitrato (NO_3^-) a nitrito (NO_2^-) através da ação da enzima nitrato redutase que ocorre no citosol e a partir daí esse nitrito será transformado a amônio (NH_4^+) através da ação da enzima nitrato redutase que poderá ocorrer tanto nos plastídios da raiz quanto nos cloroplastos (Tischiner, 2000). O nitrato poderá também ser transportado para a parte aérea pelo xilema (Mengel & Kirkby, 1987) ou poderá ser armazenados no vacúolo para posterior utilização pela planta pelo processo de redução e assimilação do N.

A absorção é o transporte do íon pela plasmalema. No caso do nitrato este é absorvido de forma ativa através de um transportador de íons simporte (transporte simultâneo de íons)

com $2H^+$ liberados contra um gradiente de potencial eletroquímico na membrana plasmática (McClure *et al.*, 1990; Santos, 2006), gastando-se 2ATPs para absorção de cada 1 NO_3^- , tornando o ambiente do apoplasto e da rizosfera mais básico (Hinsinger *et al.*, 2003). No caso do amônio, a absorção ocorre de forma passiva, ou seja, a favor de um gradiente de potencial eletroquímico da membrana através de um transportador de íons uniporte, ou seja, carreadores de íons unidirecionais (Santos, 2006).

A assimilação do nitrogênio é um processo que demanda alto gasto de energia para a planta. Para assimilar nitrato há um maior gasto energético do que para se assimilar amônio, já que é necessário que haja redução de nitrato até chegar a amônio e poder ser utilizado pela planta (Bredemier & Mundstock, 2000).

O feijoeiro é considerado uma planta exigente em nutrientes, em razão de o seu sistema radicular ser pequeno e pouco profundo e, também, ao seu ciclo curto, necessitando que os nutrientes estejam prontamente disponíveis nos momentos de demanda da planta, para não comprometer assim na sua produtividade (Nicoloso & Santos, 1990; Rosolem & Marubayashi, 1994; Silva & Silveira 2000). Os nutrientes mais requeridos por esta planta são o nitrogênio e o potássio, seguidos em termos de absorção, de cálcio, magnésio, enxofre e fósforo (Bulisani, 1987). Considerando que aplicações maiores que 100 kg ha^{-1} de N é requerida para garantir a extração do nutriente associada a altas produtividades, de acordo com Oliveira *et al* (1996) e que a adição de nitrogênio na forma de fertilizantes é de elevado investimento que pode sofrer grandes perdas devido as práticas culturais inadequadas (Araújo, 1994).

Como em muitas espécies de leguminosas, o feijoeiro é capaz de estabelecer simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium*, que são fixadoras de N_2 atmosférico, onde há a transformação biológica do nitrogênio atmosférico em forma assimilável pela planta. O N_2 é transformado em amônia, através da quebra da tríplice ligação entre dois átomos de N_2 , formando duas moléculas de NH_3^+ por meio da enzima nitrogenase. As bactérias fornecem o nitrogênio à planta que por sua vez fornece fotoassimilados como fonte de energia para o desenvolvimento e manutenção dos nódulos, que são estruturas especializadas formadas nas raízes das plantas pelas bactérias, responsáveis pela incorporação de íons de hidrogênio a amônia já sintetizada, formando assim o amônio que será distribuído à planta hospedeira (Hungria, 2001; Stralio, 2002; Araújo e Carvalho, 2006.).

A espécie de rizóbio recomendada para a produção de inoculantes para feijão é *Rhizobium tropici* (Martinez-Romero *et al.*, 1991) por ser mais tolerante a estresses do que outras espécies, como temperaturas elevadas e meio ácido (Graham, 1992).

Mesmo quando há inoculação com a bactéria, a quantidade de N não é o suficiente para suprir a necessidade da planta comprovando baixa capacidade da planta em atingir seu potencial produtivo (Stralio & Rumjanek, 1999; Bassan *et al.*, 2001; Lemos *et al.*, 2003), sendo necessário então a adubação complementar com nitrogênio mineral. Portanto se almeja conseguir o manejo da simbiose a ponto da fixação biológica do N ser tão eficiente quanto na soja (Soares, 2006). Segundo Hungria *et al* (2000), a inoculação com *Rhizobium* proporcionou acréscimo de até 900 Kg ha^{-1} no rendimento em grãos de feijão quando comparados aos não inoculados e sem adubação com N.

Quando se aplica N-uréia (NH_4^+) há maior produtividade do feijoeiro e ocorre uma tendência da planta de crescer e desenvolver mais, proporcionando assim uma maior produtividade (Carvalho *et al.*, 2001). Entretanto, Miyasaka *et al.*, (1963), Reis *et al.*, (1972), Cardoso *et al.*, (1978) e Arf *et al.*, (1990) não perceberam diferenças entre fontes de N na produtividade de feijoeiro, considerando o uso de diferentes cultivares e diferentes condições ambientais de solo, clima e manejo da cultura. Beltrano (1999) relatou que para se consumir a fonte de nitrogênio NO_3^- há maior consumo de energia pela planta para transformá-lo em forma disponível do que quando suprida com NH_4^+ . Este consumo de nitrogênio na forma de

NH_4^+ indicaria um desenvolvimento da planta superior àquelas supridas com NO_3^- , sendo que pode ocorrer exatamente o oposto, pois ao se consumir nitrato apesar do seu maior gasto de energia há compensação devido às alterações na arquitetura da planta e seu desenvolvimento rápido promovido pelo nitrato. Foi observado em plantas de *Paspalum varginatum* Schwartz que dependendo da fonte de nitrogênio consumido há modificação morfológica na planta, determinando o hábito de crescimento das suas hastes através da regulação dos níveis endógenos dos açúcares redutores e não redutores. Sabendo-se ainda que plantas supridas com amônio apresentassem diminuição na matéria seca tanto da parte aérea quanto da raiz.

Em testes realizados com solução nutritiva, quando se utilizou a fonte N- NH_4^+ nas plantas de feijão houve redução no crescimento das plantas, devido ao fato de acidificação da rizosfera relacionado à diminuição de influxo de ânions quando comparados à absorção de cátions e o acúmulo tóxico desse amônio nas células vegetais (Mengel & Kirkby, 1987; Vale *et al.*, 1998). A eficiência no uso desta fonte pode estar relacionando ao procedimento de calagem no solo, ou seja, correção da acidez do meio que proporcionam o crescimento normal das plantas (Barker *et al.*, 1986; Tolley-Henry & Raper, 1986; Magalhães *et al.*, 1995).

Foi observado por Kirkby & Knight (1977) que plantas de tomateiro supridas com nitrogênio na forma de nitrato proporcionou um aumento significativo na absorção de cátions inorgânicos K^+ , Ca^{+2} e Mg^{+2} , incluindo ainda aumento de Mn e N- NO_3^- , observado por Gashaw & Mugwira (1981) em plantas de tritcale, trigo e centeio, podendo assim causar uma alteração no balanço de nutrientes no interior das células. O mesmo foi observado por Jacob-Neto (1993) em plantas de feijão.

Dependendo da fonte utilizada, o N pode afetar o estado nutricional das plantas devido a alterações na rizosfera, decorrentes de modificações no balanço iônico nesta região. Quando a planta é suprida por N- NO_3^- ou N- NH_4^+ , pode ter sua atividade metabólica e composição iônica diferenciada dependendo da sua resposta fisiológica (Crusciol *et al.*, 2007).

2.2.1 Balanço iônico que ocorre na região da rizosfera

A rizosfera foi definida por Hiltner em 1904, como uma zona de influência que se inicia na superfície da raiz e estende-se até 1 a 3 mm solo adentro, podendo atingir 5 mm, onde há maior atividade física, química e principalmente biológica, apresentando a interface de comunicação entre as plantas terrestres e o solo (Darrah, 1993; Hinsinger, 1998; Zonta *et al.*, 2006).

Os materiais depositados na rizosfera variam desde compostos orgânicos simples, solúveis em água, a insolúveis de grande complexidade, entre exsudatos que ocorrem principalmente nas zonas de diferenciação e alongamento, próximo a coifa, e células vivas, metabolicamente ativas, secreções que são resultados de processos metabólicos e mucilagens secretadas por diferentes partes das raízes que servem de alimentação para micro-organismos que habitam esta região proporcionando que este ambiente tenha intensidade microbiana maior do que a própria região do solo afastado das raízes (Lines-Kelly & Jenkins, 2006).

Esses exsudatos das raízes das plantas possuem diversas funções. Dentre elas pode-se destacar a defesa da rizosfera e raízes contra micro-organismos patogênicos, atrair ou repelir determinadas espécies de micro-organismos devido ao fato de ser uma região com elevado grau de umidade e nutrientes. Além disso, os exsudatos mantêm o solo úmido ao redor das raízes, favorecem a absorção de nutrientes para uso das plantas, alteram as propriedades químicas do solo ao redor das raízes em função do pH, estabilizam os agregados do solo em torno da rizosfera, inibem o crescimento de algumas espécies de plantas, como por exemplo, as plantas daninhas (Lines-Kelly & Jenkins, 2006).

Desde a década de 60, já se observava que as raízes das plantas podiam modificar o pH da rizosfera através da liberação de H^+ ou OH^- para compensar o desbalanço cátion-ânion

absorvido na interface solo-raiz, principalmente pela absorção de uma determinada fontes de nitrogênio. (Riley & Barber, 1969, 1971). Sendo que as alterações de pH ocorridas na região da rizosfera dependem também de fatores ambientais, principalmente nutricionais.

A rizosfera é o local onde ocorre o primeiro contato entre o patógeno e a planta, que libera exsudatos de acordo com a nutrição fornecida, pH da região, cultivar utilizada e condições ambientais, que irão favorecer ou não na ocupação do patógeno na rizosfera interferindo no grau de infecção (Schueger & Mitchel, 1992; Zambolim & Ventura, 1993; Marschner, 1995).

A disponibilidade de alguns elementos químicos, como P, Fe, Ma, Zn, Cu e solubilidade de elementos tóxicos como o Al^{+3} podem estar associados à modificação do pH na região da rizosfera, influenciado também pela exsudação de ácidos orgânicos e atividades microbiológicas. (Jacob Neto, 1993; Hinsinger & Gilkes, 1995; Marschner, 1995).

A atividade microbiológica na rizosfera pode ser influenciada pela modificação do pH nesta região devido a aplicação de diferentes fontes de nitrogênio. Comparando nitrato e amônio, quando se aplicou amônio no solo como fonte de nitrogênio, ocorreu a diminuição da população de rizóbios alterando assim o processo de fixação biológica de nitrogênio de forma negativa (Romheld *et al.*, 1986). E quando se absorveu nitrogênio na forma de nitrato, ocorreu aumento do pH proporcionando melhor desenvolvimento do sistema radicular e redução da infecção do fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* em tomateiros causador da doença murcha de fusarium (Carvalho, 2003).

O efluxo de H^+ ou OH^- na rizosfera é definido pela diferença na absorção entre cátions e ânions pelas raízes das plantas (Nye, 1981, 1986; Haynes, 1990; Marschner, 1995; Hinsinger, 1998; Jaillard *et al.*, 2002; Tang & Rengel, 2002), através da compensação elétrica e regulação do pH celular que são requeridos nas células radiculares. Isto ocorre para manter o pH do citossol em torno de 7,3 através do eficiente sistema pH-Stat. O Sistema pH-stat compreende tanto componentes biofísicos quanto bioquímicos, que envolve a produção e consumo de H^+ resultando no processo de carboxilação e descarboxilação de ácidos orgânicos dentro das células das raízes (Raven *et al.*, 1976; Raven *et al.*, 1977; Raven *et al.*, 1990; Haynes, 1990; Raven *et al.*, 1992; Marschner, 1995; Hinsinger *et al.*, 2003).

O processo de acidificar ou alcalinizar o ambiente da rizosfera depende do balanço das cargas dos elementos absorvidos pelas raízes. Para que esse processo possa ocorrer, o nitrogênio é um elemento fundamental, já que pode ser absorvido tanto na forma de amônio (cátion) quanto na forma de nitrato (ânion), proporcionando um efluxo de H^+ (acidificando) ou OH^- (alcalinizando). Além do mais, é o nitrogênio quantitativamente é o elemento mais absorvido e assimilado, sendo então o mais importante em termos de balanço cátion-ânion que ocorre na planta (Raven 1965; 1988; 1990; Hinsinger *et al.*, 2003; Jacob Neto, 1993).

A fonte de nitrogênio aplicada, seja na forma de $N-NO_3^-$, $N-NH_4^+$ ou N_2 , o estado nutricional da planta e a capacidade tampão do solo, vão influenciar na diferença entre pH do solo (pH não rizosférico) e pH da rizosfera que podem variar em até mais de duas unidades (Marschner e Romheld, 1983; Romheld, 1986; Marschner, 1995), devido principalmente ao desbalanço de ânions e cátions promovidos pelas diferentes fontes de nitrogênio aplicado.

2.3 Importância do gênero *Fusarium*

O gênero *Fusarium* Link ex Fr. é composto por fungos que têm uma ampla distribuição geográfica, tendo espécies cosmopolitas como *F. oxysporum*, *F. solani* e *F. equiseti*, estando possivelmente associada a sua ampla adaptação em diferentes ambientes e outras com ocorrência restrita a determinados ambientes, como *F. decemcellular*, *F. beomiforme* e *F. longipes*, ocorrendo, predominantemente, nas regiões tropicais e

subtropicais, podendo ocorrer também em regiões temperadas, onde a temperatura é mais baixa (Burgess *et al.*, 1994).

As principais espécies de *Fusarium* identificadas são de importância fitopatológica, sendo em sua maioria composta por fungos de solo que atuam na decomposição de substratos celulósicos das plantas ou parasitas de plantas. A patogenicidade ao Homem é rara, mas muitas espécies causam o apodrecimento de grãos armazenados com produção de toxinas (Desjardins *et al.*, 2000; Leslie *et al.*, 2001; Zemankova & Lebeda, 2001; Godoy & Colombo, 2004).

O gênero *Fusarium* foi proposto por Link em 1809 e, até o momento, não existe um sistema completo que possibilite a identificação das espécies de *Fusarium* chegando a alguns casos a ser confuso (Arti Duggal *et al.*, 1997; Leslie *et al.*, 2001; Sanabria *et al.*, 2002). A publicação de Wollenweber & Reinking, em 1935, foi o mais importante trabalho clássico, organizando as espécies de *Fusarium*. A partir daí o sistema foi modificado e adaptado para a melhor identificação das espécies por Nasch & Snyder (1965), Bilai (1970), Booth (1971), Toussoun & Nelson (1975), Nelson *et al.*, (1983) e Burgess *et al.*, (1994) com a incorporação de informações referentes às fases teleomórficas (sexuais ou perfeitas) de algumas espécies, ressaltando as informações sobre os conidióforos e células conidiogênicas, como importantes na taxonomia das espécies.

Nas primeiras décadas do século XX, muitos isolados de *Fusarium* estudados tanto por toxicologistas quanto por fitopatologistas, foram inicialmente identificados incorretamente usando simplificados sistemas morfológicos. Espécies que, há pouco tempo, foram identificadas usando métodos filogenéticos, certamente não seriam identificadas se fosse utilizado o método convencional de características morfológicas (Aoki *et al.*, 2003). Atualmente, utiliza-se a microscopia ótica e eletrônica, o desenvolvimento de meios de cultura seletivos e diferenciais, a comparação de enzimas e metabólitos secundários, além do uso de tecnologias imunológicas e moleculares (Leal-Bertioli, 1998). Os critérios morfológicos são os primeiros passos na identificação das espécies de *Fusarium*, mas podem ser complementados com a utilização de métodos mais eficientes baseados nas características genéticas.

Desde 1900, aproximadamente 1.000 espécies de *Fusarium* foram descritas, principalmente através da avaliação de suas estruturas (esporodóquios), diretamente nos hospedeiros ou substratos naturais, gerando dúvidas quanto a sua classificação tendo em vista a grande variabilidade do *Fusarium* em diferentes ambientes e substratos (Burgess *et al.*, 1994).

A classificação de *Fusarium* é baseada em meios de cultura específicos e condições de cultura (crescimento micelial, pigmentação, estruturas e esporulação), na forma dos macroconídios, forma e modo de produção dos microconídios, e presença ou ausência de clamidósporo, a morfologia das culturas, taxas de crescimento e coloração das colônias tipicamente pálidas ou coloridas (violeta à púrpura escuro ou do creme ao alaranjado) são usadas na identificação (Domsch *et al.*, 1980; Nelson *et al.*, 1983; Burgess *et al.* 1994).

Este gênero apresenta três tipos de esporos, que são os microconídios, macroconídios e clamidósporos.

O gênero *Fusarium* é classificado sistematicamente como sendo pertencente ao Reino *Eumycota*, Divisão *Ascomycota*, classe *Euascomycetes*, Ordem *Hipocreales*, Família *Hypocreaceae* (De Hoog *et al.*, 2000), incluem espécies que produzem macroconídios hialinos, geralmente septados, caracterizados por possuírem as células basais e apicais diferenciadas, importantes característica na taxonomia das espécies. Os microconídios também com diferentes formas e os clamidósporos podem estar presentes ou ausentes. Os estádios teleomórficos são conhecidos para algumas espécies de *Fusarium* e incluem vários gêneros na subclasse *Ascomicotina* (Nelson *et al.*, 1983; Burgess *et al.* 1994).

As principais características usadas na identificação em laboratório das espécies de *Fusarium* são: crescimento radial da cultura do fungo em meio de cultura, incubadas no escuro durante 3 dias com temperatura variando entre 25 e 30° C; presença ou ausência dos macroconídios, sua forma e características das células apicais e basais, sendo este, um dos caracteres de maior importância na identificação de espécies de *Fusarium*; presença ou ausência de microconídios, sua forma e modo de formação; natureza da célula conidiógena em que se originam os microconídios; presença ou ausência de clamidósporos; morfologia das culturas em meio BDA incubadas entre 10-14 dias, em regime alternado luz/escuro, com temperaturas variando entre 20 e 25°C e um fotoperíodo de 12 horas (Ventura, 2000).

A formação dos clamidósporos varia bastante e é um critério taxonômico que deve ser usado com cuidado, uma vez que quando presente é um critério plenamente útil, mas se ausente, deve ser avaliado em conjunto com outras características, uma vez que pode variar de um isolado para outro ou com repicagens sucessivas de uma mesma espécie (Burgess *et al.*, 1994).

2.4. A murcha de fusarium

A murcha de fusarium é uma doença grave do feijão comum (*P. vulgaris* L.) causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* (Schlecht.) f. sp. *phaseoli* Kendrick & Snyder. As perdas devido à ocorrência da doença foram relatadas em diversas regiões do mundo (Hagedorn, 1991), como América do Sul e África (Abawi & Pastor-Corrales, 1990), assim como nos Estados Unidos (Kendrick & Snyder, 1942) e em alguns países europeus (Aloj *et al.*, 1983). Na Espanha, por exemplo, é a doença mais importante que afeta as cultivares de feijoeiro comum (Castilla y León, Centro-Oeste Espanha) (Díaz-Mínguez *et al.*, 1996). A doença foi relatada pela primeira vez em 1929 em campos de feijão localizados no Vale do Sacramento (Califórnia – EUA), onde reapareceu em 1933 e 1940, quando o feijão foi replantado na área (Kendrick & Snyder, 1942).

No Brasil, a doença surgiu na região de Laranjal Paulista (SP) segundo Cardoso *et al.* (1966). Nos últimos anos, a murcha-de-fusário encontra-se disseminada em todas as regiões produtoras de feijão do país (Costa *et al.*, 1982; Pastor-Corrales & Abawi, 1987; Zambolim *et al.*, 1987; Goulart, 1988) e localizados em maior quantidade em áreas de cultivo sob condições de irrigação por pivô central, onde geralmente se fazem plantios sucessivos de feijão na mesma área (Rava *et al.*, 1996).

A doença geralmente inicia-se em reboleiras no campo (Mohan *et al.*, 1983). Quando a infecção ocorre no início do desenvolvimento da planta, tem-se a morte precoce desta, caracterizando-se por cloroses e lesões necróticas no qual começa pelas folhas mais antigas das plantas doentes, daí murcham, há a desfolha prematura, descoloração vascular, podendo ocorrer também modificação na altura da planta, como o nanismo, podendo chegar até a morte da planta (Cardoso *et al.*, 1966; Duque & Muller, 1969; Costa *et al.*, 1982; Pastor-Corrales & Abawi., 1987; Bedendo., 1995; Bianchini *et al.*, 1997).

Quando o grau de infecção é muito elevado, o caule poderá apresentar uma massa cottonosa branca ou rosada na parte externa, no qual é composto por micélios e conídios do fungo. Já internamente, a colonização é notada através de coloração escura na região do xilema da planta, que pode ir desde o caule principal até o pecíolo das folhas, dependendo da intensidade do fungo com relação a cultivar estabelecida, a severidade e as condições ambientais (Cardoso *et al.*, 1966; Costa *et al.*, 1982; Mohan *et al.*, 1983 e Hagedorn, 1991), no qual há o impedimento de passagem dos elementos pelo xilema, há formação de tiloses e modificações no transporte de água pelas plantas (Zitter *et al.*, 1996) podendo ser observado através de cortes longitudinais nas hastes das plantas afetadas (Abawi, 1989).

Esse fungo é um habitante do solo, vive saprofiticamente na matéria orgânica e em restos culturais infectados, podendo sobreviver ainda, por vários anos, na forma de clamidósporos (estrutura de resistência) na ausência de plantas hospedeiras (Kimati, 1980; Beckman, 1987). Este patógeno causa danos a cultura do feijoeiro dependendo das condições ambientais favoráveis a sua manifestação, como solo com má drenagem, ácido, umidades e temperaturas elevadas (25°C à 32°C) sendo que a temperatura ótima para o desenvolvimento do fungo é de 28°C (Bedendo, 1995; Baker, 1987). O patógeno pode se manifestar também quando a planta encontra-se em condições de estresse, dependendo da concentração do inóculo presente no solo (Pereira *et al.*, 2008), penetrando na planta através de ferimentos ocorridos na região radicular ou aberturas naturais (Agrios, 1997), de 24 a 36 horas após a inoculação, no qual o fungo move-se de forma inter e intracelular até atingir o xilema (Mace *et al.*, 1981).

O pH é um dos fatores ambientais que afeta a doença causada pelo *Fusarium*, onde foi verificado em 1913, por Edgerton & Moreland que houve redução na ocorrência da murcha de fusarium com o aumento do pH quando se fazia a correção do solo por meio de calagem. Estes autores relataram do pH do solo, não da rizosfera.

2.5. Custo ambiental do controle de doenças vasculares

O *Fusarium* é um patógeno que vive eficientemente no solo, mesmo que não haja planta hospedeira, devido a sua grande produção de clamidósporo, dificultando assim o controle da doença. Onde as medidas de controle mais eficientes são as de caráter preventivo (Abawi, 1989; Cardoso *et al.*, 1996).

Os métodos de controle de doenças causadas por *Fusarium* podem ser principalmente a utilização de cultivares resistentes (Ribeiro *et al.*, 1984; Sartorato & Rava, 1994), desinfestação do solo com produtos químicos, além de rotação de culturas utilizando-se plantas que não sejam hospedeiras deste fungo como o milho, a alfafa, o trigo ou adubos verdes. Utilização de sementes de alta qualidade, livres de patógenos e tratadas com fungicidas também evitam a disseminação do fungo (Agrios, 1988; Maringoni *et al.*, 1999).

O controle da doença causada por esse fungo, reduzindo-se a severidade dos sintomas da murcha de fusarium em diferentes culturas, também pode ser realizado pela mudança de pH, aumentada através da fonte de nitrogênio realizada na adubação, de forma adequada e equilibrada, evitando-se a utilização de $N-NH_4^+$ e preferencialmente utilizando-se $N-NO_3^-$ (Jones *et al.*, 1989). Em solos ácidos, a calagem com a função de elevar o pH, associada a uma adubação equilibrada reduz os danos causados pelo patógeno (Edgerton & Moreland, 1913; Bergamim Filho, A. 1995).

A incidência da doença pode ser menor quando há elevação do pH do solo, principalmente quando há aplicação de Ca através da calagem, afirmando-se também que a utilização de $N-NO_3^-$ diminui a severidade da murcha em relação a aplicação de $N-NH_4^+$ (Woltz e Jones, 1968 e 1973; Jones *et al.*, 1989; Arya *et al.*, 1993; Zambolim e Ventura, 1993; Hopper *et al.*, 1995; Pascholati e Leite, 1995).

As doenças em plantas causam grandes prejuízos à produção agrícola. A utilização de controle químico é uma das medidas mais eficazes e economicamente viáveis para garantir uma alta produção e produtos de boa qualidade.

Os países desenvolvidos são os que mais utilizam produtos químicos no controle de doenças, onde a agricultura é tecnologicamente mais avançada (Kimati, 1995). Após a segunda guerra mundial, ocorreu aumento na produção de alimentos gerando o uso indiscriminado de agrotóxico causando impactos negativos ao meio ambiente (Rand & Petrocelli, 1985), contaminando os solos, o ar e os lençóis freáticos que influenciam

diretamente nos componentes bióticos e abióticos do ecossistema (Machado Neto, 1991; Adissi & Sobreira, 1999).

A utilização desenfreada de produtos químicos preocupa hoje em dia não somente ambientalistas, mas também a população que preza uma alimentação saudável, levando em consideração que a maioria dos vegetais que fornecem nutrientes ao Homem ultimamente são produzidos com o uso de agrotóxico gerando problemas de saúde, como intoxicação de produtores rurais e presença de resíduos nos alimentos, além da contaminação ambiental gerada pelo seu mau uso (Araújo, 2001; Faria *et al.*, 2004). E de acordo com a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) 2008 e 2009, mais de 15% dos alimentos do país tem resíduos de agrotóxicos em excesso.

Segundo a ANDEF (Associação Nacional de Defesa Vegetal), o Brasil é o maior mercado mundial de agrotóxicos, assumindo esse posto em 2008, antes ocupado pelos Estados Unidos. O consumo de agrotóxico dobrou no país nos últimos 10 anos e hoje o Brasil é um dos principais países compradores e consumidores de agrotóxico do mundo.

Devido a todos esses problemas gerados pelo uso de produtos químicos no controle de doenças, principalmente o impacto ambiental e à saúde humana, propõe-se novas formas de controle de patógenos de maneira saudável, como por exemplo, a utilização da própria nutrição das plantas como controle, dependendo da forma de nitrogênio aplicado na planta, modificando-se o pH na região da rizosfera, local de maior penetração de patógenos de solo que entram na planta via sistema radicular através dos vasos condutores.

Estudos realizados com tomates, onde o uso de nitrato como fonte de nitrogênio apresentou os mesmos dados da variedade resistente, ou seja, o pH da rizosfera modificado através da fonte de nitrogênio aplicada controlou a infecção por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* SACC. em 100% dos casos, quando a planta atingira até 120 dias após o plantio, controlando assim o efeito da doença, porém não evitando que houvesse a colonização do micro-organismo na região da rizosfera (Carvalho, 2003). Já Ito (2004), não observou diferença de população, incidência da murcha de fusarium e produtividade de grãos de feijão em diferentes adubações nitrogenadas.

O objetivo deste trabalho foi o de estudar se a modificação do pH da região da rizosfera pelo uso de diferentes fontes de nitrogênio como adubação poderia auxiliar no controle da Murcha-de-fusarium em plantas de feijoeiro.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Com o objetivo de verificar a influência da extrusão de OH^-/H^+ devido ao balanço de carga provocado por fontes nitrogenadas no processo de infecção do fusarium em plantas de feijoeiro, vários experimentos foram realizados em condições controladas. O teste de patogenidade e os experimentos 1, 2, e 3 foram realizados em condições de Câmara de Crescimento e o experimento 4 em Casa de Vegetação. A câmara de crescimento utilizada foi a do Laboratório de Química da Rizosfera do Departamento de Fitotecnia do Instituto de Agronomia da UFRRJ, mantida com a temperatura e luminosidade controlada com as plantas crescendo sob fotoperíodo de 12/12h e intensidade luminosa de cerca de $400\mu\text{moles}$, e com temperatura diurna 30° e noturna 21° . A casa de vegetação onde o experimento 4 foi conduzido é localizada no Viveiro Experimental do Instituto de Floresta, da UFRRJ, município de Seropédica, situado a 33 metros de altitude, entre os paralelos de $22^\circ 49'$ e $22^\circ 45'$ de latitude Sul e os meridianos $43^\circ 38'$ e $43^\circ 42'$ de longitude oeste de Greenwich. A região apresenta o tipo de clima classificado como AW, pela classificação de Köppen, sem controle da temperatura, apenas com ventilação artificial.

3.1 *Fusarium*: identificação, multiplicação e teste de patogenidade

Originalmente, foram obtidos dois fungos de plantas de feijoeiro cultivado em Coimbra-MG, identificados como *Fusarium*. Para a identificação dos fungos primeiramente, foi retirada com alça de platina esterilizada, amostras que estavam em tubos de ensaio e colocadas em placa de Petri contendo meio BDA (Batata Dextrose Ágar). Entre 10 e 14 dias foram realizados, as contagens de microconídios e observadas a cor das colônias identificando as espécies utilizando as chaves de identificação (Booth, 1971; Nelson, *et al.*, 1983; Ventura, 2000). Ambos os fungos testados foram identificados como *Fusarium*.

Em seguida foi escolhido o fungo que apresentava o maior percentual de microconídios. A amostra do fungo selecionado foi colocada em placas de Petri contendo BDA mantidos por 13 dias em BOD com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ no escuro. As placas de cada fungo foram então utilizadas na elaboração da solução contendo seus respectivos conídios adicionando água destilada esterilizada as placas. Para facilitar a soltura do material foi realizada uma “raspagem” com espátula de vidro. Estas soluções com conídios de cada fungo foram filtradas utilizando gaze estéril e um funil de separação e posteriormente colocadas em um erlenmeyer. Aliquotas destas soluções foram colocadas na Câmara de Newbarer ou Hemacitômetro, levadas ao microscópio ótico para serem observados os microconídios e os macroconídios, sendo realizada a quantificação de conídios para posteriormente ser realizada a inoculação nas plantas da solução escolhida, que foi a do fungo que se encontrava com maior quantidade de microconídios.

Antes de ser usado nos experimentos que compõem a formulação conceitual deste trabalho, o fungo foi testado quanto a sua patogenidade a plantas de feijoeiro. Para isto foi realizado um teste utilizando um solo Planossolo (Ramos *et al.*, 1973), localizado no setor de horticultura do Campo Experimental do Departamento de Fitotecnia. Não foi realizada análise química e física do solo, apenas a medição do pH que foi de 4,0. O solo foi devidamente limpo e peneirado, esterilizado na autoclave a uma temperatura de 120°C e pressão de $1,0\text{ kgf cm}^2$ durante 1 hora para evitar a contaminação com outros microorganismos. Para o teste, foram utilizados 20 copos de polipropileno de 300 mL contendo 300g de solo, furados ao fundo para manter a aeração do local, enchidos com o solo esterilizado e semeados com sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) da cultivar Carioca. Foram colocadas duas sementes por copo. Posteriormente, os recipientes foram levados para a uma Câmara de Crescimento com iluminação controlada de 12h luz/ 12h escuro, sendo a

temperatura diurna mantida entre 28-30°C e a noturna de 18-20°C. O solo foi diariamente umedecido para atingir a capacidade de campo (cerca de 55 mL). Após 17 dias da semeadura, foi realizada a inoculação das plantas pelo fungo *Fusarium*. A suspensão de conídios foi ajustada em hemacitômetro a uma concentração de 10^3 conídios mL⁻¹ de água destilada e esterilizada, onde se utilizou palitos de dentes embebidos na suspensão de conídios e aplicados na axila da planta, com o objetivo de atingir assim seus vasos condutores, simulando o que ocorre naturalmente, já que este fungo penetra através da raiz infectando o sistema vascular.

Após 14 dias da realização da inoculação do fungo, as plantas foram coletadas, devidamente lavadas e observadas na lupa, através do corte longitudinal da raiz para a haste com uma gilete inoxidável, se havia descoloração do tecido vascular, ou seja, modificação na coloração do sistema vascular apresentando uma cor visivelmente mais escura. Utilizou-se para teste a cultivar de feijão “Carioca” que foi infectada pelo *Fusarium*.

3.2 Descrição das cultivares de feijão utilizadas nos estudos

A cultivar Carioca utilizada para o teste de infecção, foi lançada oficialmente em 1969 pelo Instituto Agrônomo de Campinas. O grão possui peso médio de 100 sementes variando de 20-25g, com porte prostrado, ciclo vegetativo de 90 dias, plantas com crescimento indeterminado (EMBRAPA, 2005).

Nos demais experimentos foram utilizados as cultivares Diamante Negro e Ouro Negro. Segundo a EMBRAPA (2007), a cultivar Diamante Negro é considerada mais suscetível à murcha de fusarium e a cultivar Ouro Negro mais resistente a esta doença (EMBRAPA, 2005; Rocha Júnior *et al.*, 1998).

A cultivar Diamante Negro é originária de cruzamento realizado pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), na Colômbia e selecionada pela Embrapa Arroz e Feijão, através de geração de seleção massal em F3 e pedigree de F4 a F6 obtendo-se a linhagem CB 720160 (CN 5923). Após três anos de avaliações foi lançada como cultivar em 1991. As avaliações para recomendação foram realizadas pelas seguintes instituições: Embrapa Arroz e Feijão, Agência Rural Embrapa Agropecuária Oeste, EMPAER-MS, Embrapa Cerrados e FT- Sementes. A cultivar, atualmente está sendo recomendada para os seguintes Estados: Goiás e Distrito Federal, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e São Paulo. A cultivar Diamante Negro possui ciclo de floração de 50 dias e ciclo de colheita de 90 dias, porte ereto, cor do grão preto e da flor violeta, espaçamento de 45-50 cm, peso de 100 sementes de 21,3g, potencial de produtividade é de 3500 Kg ha⁻¹. Quanto à doença é suscetível a Murcha de fusarium (EMBRAPA, 2007).

A cultivar Ouro Negro foi lançada em 1991 (Araújo *et al.*, 1991). É recomendada para os Estado de Minas Gerais e Rio de Janeiro. Apresenta como características ciclo vegetativo de 80-100 dias, hipocótilo pigmentado, coloração da flor é violeta, hábito de crescimento é indeterminado (entre II e III), porte da planta de semi-prostrado a prostrado, cor da semente preta e opaca, grupo comercial preto. Em média a produtividade é de 1.772 Kg ha⁻¹. Estudos realizados pelo CNPAF revelaram que a cultivar Ouro Negro apresenta alta capacidade de fixação biológica de N₂. Recomendam-se os espaçamentos de 50 cm entre linhas, com 12 a 15 sementes por metro, gastando-se em torno de 70 kg por hectare. Esta cultivar é considerada resistente a Murcha de Fusarium (EMBRAPA, 2005) e Rocha Júnior *et al.*, (1998).

3.3 Experimentos realizados em Câmara de crescimento

3.3.1 Experimento 1 – Inoculação do fungo após 11 dias de crescimento das plântulas de feijão.

O experimento foi instalado em um delineamento experimental de fatorial inteiramente casualizados com 2 cultivares de feijão (cv. Diamante Negro considerada suscetível a *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e a cv. Ouro Negro considerada resistente), 2 fontes de nitrogênio mineral (KNO_3^- e $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), 3 doses de nitrogênio (0, 30 e 120 kg ha⁻¹), 2 tratamentos com fungo (sem inoculação e inoculado com o fungo na concentração de 10³ conídios mL⁻¹) após 11 dias de crescimento já tendo ocorrido o desenvolvimento das raízes laterais e 4 repetições.

Foi utilizado em todos os experimentos um pote de polipropileno de 300 mL contendo 300g de areia previamente lavada e esterilizada em autoclave. As sementes foram padronizadas por tamanho e no momento do plantio inoculadas com inoculante turfoso produzido pela Embrapa Agrobiologia contendo 10⁸ células g⁻¹ das estirpes BR-322 e BR-520 de *Rhizobium tropici*, e colocadas posicionadas na região central do vaso sendo cobertas por uma camada de 1 cm do substrato. A adubação foi realizada no plantio utilizando soluções adaptadas de Jacob-Neto (1993), com as seguintes dosagens: para 30 kg ha⁻¹ de nitrogênio foi aplicado 0,32 mL de KNO_3 ou $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e para 120 kg ha⁻¹ de nitrogênio 1,29mL destas soluções. O potássio foi aplicado utilizando 1,30 mL de K_2SO_4 para a adubação de 340 kg ha⁻¹. Para 340 kg ha⁻¹ de cálcio foram aplicadas 1,30 mL de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; para 100 kg ha⁻¹ de magnésio foram aplicadas 1,30 mL de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; para 120 Kg ha⁻¹ de fósforo foram aplicadas 1,30 mL de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Os micronutrientes também foram adicionados no momento do plantio utilizando 1,29 mL de uma solução de micronutrientes foi composta de: 0,65µM de B na forma de H_3BO_3 ; 0,4µM de Mn na forma de $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 0,16µM de Zn na forma de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,04µM Cu na forma de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 0,04µM de Co na forma de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0,5µM de Mo na forma de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; e mais uma solução de 10µM de Fe na forma de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ EDTA. Estas soluções adaptadas de Jacob-Neto (1993), foram mantidas balanceadas com base nos equivalentes químicos dos elementos.

As dosagens das soluções nutritivas foram extrapoladas para a unidade de kg ha⁻¹ considerando os primeiros 20 cm de profundidade do solo em 1 ha, com densidade do solo igual a 1 g cm³ e com 2000000 kg de solo. Essa metodologia foi adotada baseada na recomendação de adubação, que são realizadas em nível de campo em kg ha⁻¹.

Para a inoculação do fungo uma suspensão de conídios contendo o fungo (vide seção 3.1) foi ajustada em hemacitômetro a uma concentração de 10³ conídios mL⁻¹ de água destilada e esterilizada e colocada diretamente no vaso sobre a areia aos 11 dias após o plantio, no caso presente do experimento.

Foram realizadas duas coletas, aos 24 e 32 dias após o plantio (DAP), correspondendo a 13 e 21 dias após a inoculação do fungo. Sendo avaliados o percentual de plantas infectadas por *Fusarium*, percentual de plantas com nódulos e número de nódulos, pH não rizosférico e rizosférico e massa seca da parte aérea e raízes e massa fresca (dados não tabelados) da parte aérea e raízes das plantas coletadas.

O pH da rizosfera foi determinado após a retirada da planta, com cuidado para não destruir as raízes. O substrato aderido às raízes, depois de retirado o excesso, foram coletados e armazenados para a medição do pH. Para a medição do pH foi colocado 10 mL do substrato em copo plástico, adicionados de 25 mL de água destilada, agitado a amostra com bastão de vidro individual, deixando-a em repouso por um período de uma hora. Após esse descanso, cada amostra foi agitada novamente com o bastão de vidro, sendo colocado os eletrodos na suspensão homogeneizada para a leitura do pH com o peagâmetro (potenciômetro), previamente calibrados em solução tampão (EMBRAPA, 1997).

O pH não rizosférico foi realizado retirando uma amostra da areia retida no copo que foi separada para a medição do pH seguindo o mesmo procedimento da medição do pH da rizosfera.

A massa fresca da raiz foi realizada após as respectivas coletas, sendo lavadas em água corrente até a remoção completa de resíduos de solos aderidos às raízes, expostas sobre papel filtro para retirada do excesso de água.

Posteriormente foram feitas as análises de presença ou ausência de fungo, cortando-se longitudinalmente da raiz para a haste da planta, com gilete inoxidável e observando-se em lupa a descoloração do feixe vascular. Foi levado em consideração que quando se apresentava descoloração nos vasos condutores significava que havia a presença do *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* na planta e quando não havia nenhum tipo de descoloração não havia a presença do fungo na planta. Sendo assim, cada repetição de cada tratamento recebia um sinal de positivo (+) quando na presença do fungo e um sinal de negativo (-) quando na ausência do fungo e somando-se todas as repetições de cada tratamento era possível verificar a percentagem de plantas infectadas em cada tratamento.

Foi observada nas raízes, a presença ou ausência de nódulos sendo em seguida quantificadas se estivessem presentes através da visualização em lupa.

Após a realização dos pesos das massas de raízes e parte aérea em balança de precisão, foram colocadas para secar em estufa sem ventilação forçada, a uma temperatura de 65°C por um período de 24 horas, sendo novamente pesadas.

3.3.2 Experimento 2 – Inoculação do *Fusarium* no plantio.

O experimento foi realizado nas mesmas condições experimentais, tratamentos e análises do experimento 1, somente alterando o momento da inoculação do fungo que foi realizada no dia do plantio, sobre as sementes colocadas na areia do pote. Foram realizadas duas coletas, sendo avaliados o percentual de plantas infectadas por fusarium, percentual de plantas com nódulos, pH não rizosférico e rizosférico e massa da parte aérea e raízes das plantas coletadas aos 15 e 25 dias após o plantio (DAP) de acordo com o experimento anterior. As avaliações das variáveis foram realizadas de acordo com o item 3.3.1.

3.3.3 Experimento 3 – Efeito do poder tampão do solo – Inoculação no plantio

Para verificar o efeito do poder tampão do solo no sequestro de OH^-/H^+ devido a influência direta da fonte nitrogenada um experimento foi instalado em um delineamento experimental de fatorial com blocos inteiramente casualizados, com uma cultivar de *Phaseolus vulgaris* L (cv. Diamante Negro considerada susceptível ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*), 2 fontes de nitrogênio mineral (KNO_3^- e $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), 2 doses de nitrogênio (0 e 120 Kg ha^{-1}), 2 tratamentos com fungo (sem inoculação e inoculado com o fungo), 2 tipos de solos, um arenoso (Planassolo) coletado no Departamento de Fitotecnia e um argiloso (Argisol) coletado na área do Instituto de Zootecnia, descritos por Ramos *et al.*, (1973) e 4 repetições, com plantas crescidas em vasos de 300 gramas. Antes de serem inoculadas com *Rhizobium*, as sementes foram desinfestadas para evitar a contaminação entre os diferentes tratamentos. A esterilização foi realizada através do método de imersões, no qual as sementes foram imersas durante um minuto em solução 70:30 de álcool : água (v/v), depois imersas durante um minuto em solução hipoclorito de sódio a 2% : água (v/v) e para finalizar, imersa durante um minuto em água destilada e esterilizada (Zito, 1995). O experimento foi realizado nas mesmas condições experimentais, adubação e inoculação do experimento 1. Foram realizadas duas coletas, sendo avaliados o percentual de plantas infectadas por fusarium,

número de nódulos por plantas, pH não rizosférico e rizosférico e massa da parte aérea e raízes das plantas coletadas aos 14 e 49 dias após o plantio (DAP). As avaliações das variáveis foram realizadas de acordo com o item 3.3.1.

Nos solos arenoso e argiloso utilizados no experimento, foram realizadas análise química, física e granulométrica no Instituto Campineiro (Quadro 1 e 2)

Quadro 1: Análises Químicas dos solos utilizados.

Amostra	pH			g/dm ³		mg/dm ³		mmolc/dm ³ TFSA						%		Relações	
	CaCl ₂	Água	SMP	Mo	P	K	Ca	Mg	Al	H	H+Al	SB	CTC	V%	Ca/Mg	Mg/K	
Arenoso	4,0	4,7	6,4	12	24,0	0,6	1	3	2	26	28	4,7	32,7	14,5	0,33	5,00	
Argiloso	4,7	5,4	6,3	24	5,0	3,2	16	19	1	30	31	39,0	70,0	55,7	0,84	5,93	

Amostra	mg/dm ³		Micronutrientes (mg/dm ³)								ppm	ds/m
	S	Na	Fe	Mn	Cu	Zn	B	Co	Mo	Cloreto	Cond. elétrica	
Arenoso	2	4	83	38,0	0,9	1,5	0,15				0,064	
Argiloso	18	20	202	18,0	0,9	3,9	0,23				0,109	

Quadro 2: Análises Físicas dos solos utilizados.

Amostra	Classe Granulométrica (%)					Densidade		Classe	Sub-classe
	Areias		Argila	Limo	Cascalho	Aparente	Real		
	Grossa	Fina							
Arenoso	68,1	15,8	3,1	13,0	0,0	1,39	2,95	Limo Arenosos	Arenoso
Argiloso	34,8	7,5	36,8	20,9	0,0	1,02	2,77	Barrentos	Barrento

3.4 Experimento realizado em casa de vegetação

3.4.1 Experimento 4 - Aumento da concentração de inóculo no percentual de infecção da planta – Inoculação do fungo no plantio, sendo realizadas duas coletas, aos 15 e 21 DAP

O delineamento experimental utilizado foi o de fatorial com blocos inteiramente casualizados, utilizando-se a cultivar de *P. vulgaris* L. Diamante Negro (considerada susceptível), 2 fontes de nitrogênio mineral (NO₃⁻ e NH₄⁺), 3 doses de nitrogênio (0, 30 e 120 kg ha⁻¹), 3 tratamentos com fungo (0, 10³ e 10⁶ conídios por ml) e 4 repetições. A inoculação com o fungo foi realizada no dia da semeadura. Após a inoculação com fungo, foi adicionada uma camada de 30g de areia no vaso para evitar que houvesse a contaminação dos vasos não

inoculados, através do salpique de partículas contendo inóculo. Antes de inoculadas com *Rhizobium*, as sementes foram desinfestadas para evitar a contaminação entre os diferentes tratamentos. A esterilização foi realizada através do método de imersões, no qual as sementes foram imersas durante um minuto em solução 70:30 de álcool : água (v/v), depois imersas durante um minuto em solução hipoclorito de sódio a 2% : água (v/v) e para finalizar, imersas durante um minuto em água destilada e esterilizada (Zito, 1995).

Foram realizadas duas coletas, sendo avaliados o percentual de plantas infectadas por fusarium, número de nódulos por plantas, pH não rizosférico e rizosférico e massa da parte aérea seca. As avaliações das variáveis foram realizadas de acordo com o item 3.2.1.

4. RESULTADOS

Os resultados deste trabalho, para facilitar entendimento, serão primeiramente apresentados, em cada experimento, em tabela com os dados provenientes da análise de variância geral ($P \geq F$). Posteriormente, nos casos de ocorrer interações duplas significativas estatisticamente os dados serão mostrados em outra tabela. Na análise de variância foram analisados os valores de F seguindo a distribuição de Snedecor, onde se testa a igualdade entre duas variâncias. As análises foram realizadas assumindo distribuição normal e homogênea dos dados, realizada pelo teste de Lilliefors e teste de Cochran e Bartlett, respectivamente. A não ser quando explicitado claramente, todas as vezes que for escrito que ocorreram diferenças, elas significam que foi diferença estatisticamente significativa pelo teste Tukey 5%. Os dados da avaliação do percentual de infecção de plantas por *Fusarium*, não foram analisados estatisticamente utilizando a análise de variância, foram analisados como percentual em todos os experimentos. Neste trabalho apenas as interações duplas foram desdobradas. Se uma fonte de variação isolada foi significativa ($Pr \geq F$) e não estava contida em nenhuma interação dupla significativa, as diferenças em seus valores foram analisadas separadamente. As interações triplas de modo geral não foram desdobradas, elas foram discutidas quando necessária para explicar um determinado efeito. As interações quádruplas não foram analisadas para nenhum experimento deste trabalho.

4.1 Experimento 1- Inoculação após 11 dias de crescimento das plântulas

Neste experimento a inoculação do fungo foi realizada após a germinação das sementes e com 11 dias de crescimento das plântulas no substrato areia. Portanto, os efeitos que ocorreram nas avaliações do percentual de infecção do fungo realizada aos 24 e 32 dias após o plantio, correspondem o efeito da adição do *Fusarium* por 13 e 21 dias respectivamente no substrato areia.

4.1.1 Coleta realizada aos 24 dias após plantio (DAP) – 13 dias após inoculação do fungo

A análise estatística geral ($Pr \geq F$) dos dados médios das variáveis pH não rizosférico, da rizosfera e massa das plantas secas aos 24 DAP, do experimento, podem ser observadas na Tabela 1. Nela pode ser observado que ocorreram diferenças significativas estatisticamente entre as fontes de variação testadas, cultivares (Diamante Negro e Ouro Negro), plantas inoculadas ou não inoculadas com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, doses de nitrogênio (0, 30 e 120 Kg ha⁻¹) e fontes de nitrogênio (NO₃⁻ e NH₄⁺) aplicado, para todas as variáveis nesta época de avaliação (Porcentagem de plantas infectadas por *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*; porcentagem de plantas com presença de nódulos; pH não rizosférico; pH rizosférico; massa seca da parte aérea).

Ao se avaliar cada variável em estudo na Tabela 1, começando pelo efeito que a inoculação com *Fusarium* causou nas plantas, fica evidente um efeito diferenciado do comportamento das cultivares. Na cultivar Diamante Negro, considerada suscetível ao *Fusarium*, ocorreram os sintomas de infecção nas raízes em todas as fontes de nitrogênio, com H⁺ ou OH⁻ liberado na rizosfera, mesmo nas plantas que não foram inoculadas. Esses dados sugerem um processo de contaminação dos tratamentos quando avaliados através da observação “in loco” do sintoma da presença do fungo no feixe vascular da planta. Já para a cultivar Ouro Negro, considerada mais tolerante, ocorreu um claro efeito da liberação de cargas devido ao uso de nitrogênio. As crescidas com nitrato nos níveis 30 e 120 kg ha⁻¹ não

apresentou sintomas de infecção nas plantas. Nos tratamentos sem adição de nitrogênio mineral, ocorreu infecção do fungo. Nesta cultivar não foi observado processo de contaminação nos tratamentos onde não houve inoculação com o fungo nas plantas.

Na tabela 2 são encontrados os dados das interações que foram significativas estatisticamente (Tabela 1). As interações entre mais de dois fatores não foram significativas neste experimento em ambas as coletas. Como pode ser verificado, não ocorreu diferença entre os valores de pH rizosférico encontrados na fonte nitrato e amônio na cultivar Diamante Negro, já para a cultivar Ouro Negro ocorreu diferença entre as fontes, sendo o maior valor de pH encontrado na fonte nitrato. Entre as cultivares, foram encontrados diferenças entre os valores de pH, com os maiores valores na cultivar Ouro Negro, em ambas as fontes de nitrogênio testadas.

Tabela 1: Dados percentuais de plantas infectadas por *Fusarium* e de plantas com presença de nódulos e análise estatística geral ($Pr \geq F$) dos dados médios das variáveis avaliadas em plantas de feijão realizada aos 24 dias após o plantio e 13 dias após a inoculação no experimento 1, localizado em câmara de crescimento.

Cultivares	Fonte de Nitrogênio Aplicado	Dose de Nitrogênio Kg ha ⁻¹	Percentual de plantas infectadas por <i>Fusarium</i>		Percentual de plantas com presença de nódulo		pH não rizosférico		pH rizosférico		Massa seca da parte aérea (mg/planta)	
			Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>
Diamante Negro	NO ₃ ⁻	0	100	25	0	0	3,50	3,56	4,05	4,15	86,5	219,8
		30	100	25	25	0	4,20	3,92	4,36	4,26	256,0	339,5
		120	50	0	0	0	4,29	4,28	4,76	4,81	609,3	499,7
	NH ₄ ⁺	0	50	100	0	0	3,73	3,51	4,42	4,38	157,5	155,8
		30	75	75	0	0	3,55	3,55	4,26	4,12	72,3	95,2
		120	100	25	0	0	3,53	3,70	4,16	4,17	127,7	136,7
Ouro Negro	NO ₃ ⁻	0	25	0	0	0	3,73	5,02	4,27	4,97	109,5	185,0
		30	0	0	0	0	4,34	5,56	4,96	5,49	378,0	857,7
		120	0	0	0	0	4,60	5,75	5,21	5,79	460,7	626,0
	NH ₄ ⁺	0	50	0	0	0	3,56	5,13	4,18	5,30	156,0	384,8
		30	50	0	0	75	3,98	4,63	4,39	4,68	126,8	308,0
		120	75	0	0	0	3,99	4,87	4,18	4,78	157,5	108,8
CV%							6,96		6,53		32,53	
Pr ≥ F												
Cultivar							0,0000		0,0000		0,0040	
<i>Fusarium</i>							0,0000		0,0000		0,0158	
Dose de N							0,0000		0,0025		0,0000	
Fonte de N							0,0000		0,0000		0,0000	
Cultivar x Fonte							NS		0,0026		NS	
<i>Fusarium</i> x Fonte							NS		NS		NS	
Dose x Fonte							0,0000		0,0000		0,0000	
Cultivar x Dose							NS		NS		0,0493	
<i>Fusarium</i> x Dose							NS		NS		NS	
Cultivar x <i>Fusarium</i>							0,0000		0,0000		NS	
Cultivar x <i>Fusarium</i> x Fonte							NS		NS		NS	
Cultivar x Dose x Fonte							NS		NS		NS	
<i>Fusarium</i> x Dose x Fonte							NS		NS		NS	
Cultivar x <i>Fusarium</i> x Dose							NS		NS		NS	

NS - não significativo estatisticamente

Tabela 2: Dados médios das interações duplas significativas estatisticamente obtidas da análise de variância, obtidas de plantas de feijoeiro cultivadas com diferentes fontes e doses de nitrogênio e inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em câmara de crescimento e avaliadas aos 24 dias após o plantio e 13 dias após a inoculação.

pH rizosférico						
Cultivar	Fonte					
	NO ₃			NH ₄ ⁺		
Diamante Negro	4,40 Ab			4,25 Ab		
Ouro Negro	5,12 Aa			4,59 Ba		

Dose (kg ha ⁻¹)	pH não rizosférico		pH rizosférico		Massa seca da parte aérea (mg planta ⁻¹)	
	Fonte					
	NO ₃	NH ₄ ⁺	NO ₃	NH ₄ ⁺	NO ₃	NH ₄ ⁺
0	3,95 Ab	3,98 Aa	4,36 Ac	4,57 Aa	150,19 Ab	190,19 Aa
30	4,50 Aa	3,93 Ba	4,77 Ab	4,37 Ba	457,59 Aa	150,56 Ba
120	4,73 Aa	4,03 Ba	5,15 Aa	4,32 Ba	548,92 Aa	132,69 Ba

Dose (kg ha ⁻¹)	Massa seca de parte aérea (mg planta ⁻¹)					
	Cultivar					
	Diamante Negro			Ouro Negro		
0	131,62 Ab			208,75 Ab		
30	190,75 Bb			417,60 Aa		
120	343,37 Aa			338,23 Aa		

Cultivar	pH não rizosférico		pH rizosférico	
	Inoculação			
	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>
Diamante Negro	3,80 Ab	3,75 Ab	4,34 Ab	4,32 Ab
Ouro Negro	4,03 Ba	5,16 Aa	4,53 Ba	5,17 Aa

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5%, dentro de cada interação e de cada parâmetro.

Na interação dose de nitrogênio aplicado versus fontes nitrogênio, pode ser observado que com a aplicação de 30 e 120 kg ha⁻¹ de nitrogênio, ocorreu diferença entre as fontes de nitrogênio, sendo encontrado na fonte nitrato os maiores valores, para pH não rizosférico, rizosférico e massa da parte aérea seca. Comparando o efeito da dose de nitrogênio dentro de cada fonte usada, na fonte nitrato ocorreu aumento do pH não rizosférico e da massa da parte aérea seca, da dosagem zero para a de 30 kg ha⁻¹ sendo entretanto igual a 120 kg ha⁻¹. Nos valores de pH da rizosfera ocorreram diferenças entre todas as três dosagens utilizadas, na ordem crescente, indicando pronunciada liberação de OH⁻ nesta área. Em todas as variáveis não ocorreram diferenças entre as dosagens utilizadas na fonte de nitrogênio amônio.

A interação entre dosagem de nitrogênio e cultivares só ocorreu para o parâmetro massa da parte aérea seca (Tabelas 1 e 2). Para este parâmetro não ocorreu diferenças entre as cultivares Diamante Negro e Ouro Negro na dosagem zero e 120 kg ha⁻¹, embora que com 30 kg ha⁻¹, a cultivar Ouro Negro tenha sido superior estatisticamente. A maior massa de parte aérea seca foi obtida na dosagem de 120 kg ha⁻¹, sendo diferente de 0 e 30 kg ha⁻¹ na cultivar

Diamante Negro. Já na cultivar Ouro Negro, a dosagem de 30 e 120 kg ha⁻¹ foi superior ao controle.

Na interação entre cultivares e inoculação com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, foi observado que na cultivar Diamante Negro, não houve diferença entre os valores obtidos do pH não rizosférico e pH rizosférico nas plantas que foram inoculadas e não inoculadas (testemunha) com o fungo. Entretanto, na cultivar Ouro Negro, o pH não rizosférico e pH rizosférico foi maior na testemunha do que em plantas inoculadas com *Fusarium*. Ocorreu diferença entre as cultivares para pH não rizosférico e pH rizosférico, sendo que a cultivar Ouro Negro apresentou maiores valores do que a cultivar Diamante Negro.

4.1.2 Coleta realizada aos 32 após plantio (DAP) – 21 dias após inoculação do fungo

Na Tabela 3 estão o percentual de plantas infectadas pelo patógeno percentual de plantas com presença de nódulos, e as médias para os valores de avaliação do pH não rizosférico, pH rizosférico e massa da parte aérea seca e os dados estatísticos da avaliação realizada aos 32 DAP do experimento 1 (21 dias após inoculação do fungo). Pode ser observado pelos valores da probabilidade ($Pr \geq F$) que ocorreram diferenças estatísticas significativas entre as cultivares e as plantas inoculadas com *Fusarium* para pH não rizosférico e rizosférico. Também ocorreram diferenças significativas entre dose e fonte de N para todas as variáveis em questão, pH não rizosférico, pH da rizosfera, e massa seca da parte aérea da planta. As interações duplas significativas serão discutidas na tabela 4.

Observa-se na Tabela 3, a mesma tendência da coleta realizada aos 24 DAP com relação à percentagem de infecção com o *Fusarium*. A cultivar Diamante Negro apresentou sintomas de infecção mesmo quando não houve inoculação com o fungo, não havendo infecção apenas nos tratamentos com 30 kg ha⁻¹ de nitrato para as plantas inoculadas e não inoculadas. Com 120 kg ha⁻¹ de nitrato não ocorreu infecção nas plantas não inoculadas. Para a cv. Ouro Negro os dados confirmaram o que ocorreu na primeira coleta, realizada aos 24 DAP, onde se pode perceber o efeito de liberação de cargas em função da fonte de nitrogênio aplicado, influenciando no processo de infecção do fungo na planta. Quando se utilizou nitrato como fonte de nitrogênio, nos níveis 30 e 120 kg ha⁻¹, as plantas não apresentaram sintomas de infecção com o fungo, fato este que não ocorreu quando a planta foi suprida com amônio. Só foi observado processo de contaminação fúngica nos tratamentos sem aplicação do fungo quando a planta foi suprida com 120 kg ha⁻¹ de amônio.

Tabela 3: Dados percentuais de plantas infectadas por *Fusarium* e de plantas com presença de nódulos e análise estatística geral ($Pr \geq F$) dos dados médios das variáveis avaliadas em plantas de feijão realizada aos 32 dias após o plantio e 21 dias após a inoculação no experimento 1, localizado em câmara de crescimento.

Cultivares	Fonte de Nitrogênio Aplicado	Dose de Nitrogênio Kg ha ⁻¹	Percentual de plantas infectadas por <i>Fusarium</i>		Percentual de plantas com presença de nódulo		pH não rizosférico		pH rizosférico		Massa seca da parte aérea (mg planta ⁻¹)	
			Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>
Diamante Negro	NO ₃	0	75	25	0	0	3,78	4,08	4,71	4,83	113	281
		30	0	0	0	0	4,27	4,29	4,61	4,84	441	555
		120	75	0	0	25	4,63	4,81	5,57	5,64	828	737
	NH ₄	0	50	100	0	0	3,76	4,12	4,42	4,54	87	146
		30	75	50	0	0	3,72	3,81	4,76	4,68	174	101
		120	50	50	0	0	3,49	3,98	4,58	4,84	45	108
Ouro Negro	NO ₃	0	100	0	0	25	3,58	5,12	4,56	5,60	189	255
		30	0	0	25	50	4,44	5,64	4,78	5,74	291	380
		120	0	0	50	25	4,87	5,93	5,62	6,09	914	765
	NH ₄	0	25	0	0	50	3,58	4,93	4,72	5,21	126	184
		30	25	0	25	25	4,14	4,48	4,83	5,24	158	121
		120	25	25	0	25	4,77	5,03	4,96	5,29	131	215
CV%							7.10		7.65		6.87	
Pr ≥ F												
Cultivar							0,0000		0,0000		NS	
<i>Fusarium</i>							0,0000		0,0000		NS	
Dose							0,0000		0,0000		0,0000	
Fonte de N							0,0000		0,0000		0,0000	
Cultivar x Fonte							NS		NS		NS	
<i>Fusarium</i> x Fonte							NS		NS		NS	
Dose x Fonte							0,0001		0,0009		0,0000	
Cultivar x Dose							0,0028		NS		NS	
<i>Fusarium</i> x Dose							0,0070		NS		NS	
Cultivar x <i>Fusarium</i>							0,0000		0,0022		NS	
Cultivar x Fus x Fonte							0,0038		NS		NS	
Cultivar x Dose x Fonte							NS		NS		NS	
<i>Fusarium</i> x Dose x Fonte							NS		NS		NS	
Cultivar x <i>Fusarium</i> x Dose							NS		NS		NS	

NS – não significativo estatisticamente

O maior percentual de plantas com presença de nódulos esteve presente na cultivar Ouro Negro e dentro desta cultivar, as plantas que não foram inoculadas com o fungo apresentaram maior presença de nódulos.

Na Tabela 4 são encontrados os dados das interações duplas que foram significativas estatisticamente (Tabela 3). Como pode ser observado, na interação dose x fonte de nitrogênio, na dosagem de 30 kg ha⁻¹, comparando as fontes, ocorreram diferenças para os valores de pH não rizosférico e massa da parte aérea seca, sendo que os maiores valores foram para a fonte nitrato. Para o pH rizosférico não ocorreu diferença entre as fontes de nitrogênio em estudo. Na dosagem de 120 kg ha⁻¹, ocorreu diferença para todas as variáveis avaliadas, sendo os maiores valores obtidos sempre na fonte de nitrogênio nitrato. Comparando o efeito da dose de nitrogênio dentro de cada fonte usada, na fonte nitrato, os valores de pH não rizosférico e massa seca da parte aérea obedeceram a uma ordem crescente com relação à dosagem de nitrogênio. Quando a fonte foi nitrato, o maior valor de pH rizosférico foi na dose de 120 kg ha⁻¹ e não havendo diferenças entre as doses zero e 30 kg ha⁻¹. Já para a fonte amônio, isto não ocorreu, sendo o maior valor de pH não rizosférico obtido na maior dosagem de nitrogênio usada, resultado portanto não esperado. Para as outras variáveis em estudo não ocorreu diferenças entre as doses de nitrogênio.

A interação entre dose de nitrogênio e cultivar de feijoeiro só foi significativa para o pH não rizosférico, cujos valores foram superiores para a cultivar Ouro Negro em todas as doses de nitrogênio. Houve efeito da dose dentro de cada cultivar. Na cultivar Ouro Negro, ocorreram aumento com diferenças significativas nos valores de pH não rizosférico devido ao aumento das doses, já para a cultivar Diamante Negro estas diferenças não foram tão marcantes.

Para o parâmetro pH não rizosférico ocorreu a interação entre dose de nitrogênio aplicado e inoculação ou não com o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* na planta. O pH no tratamento onde não ocorreu inoculação com o fungo foi superior ao pH onde inoculou-se o fungo para as três dosagens de nitrogênio. Avaliando-se a dosagem dentro do tratamento onde foi realizada a inoculação com o fungo, o pH foi crescente com relação ao aumento da dosagem de nitrogênio. No tratamento onde não foi realizada a inoculação com o fungo, o maior valor de pH foi na dosagem de 120 kg ha⁻¹ embora não havendo diferenças entre as dosagem de 0 e 30 kg ha⁻¹.

A interação entre cultivar de feijão e inoculação ou não com o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* na planta ocorreu de forma significativa estatisticamente para as variáveis pH não rizosférico e rizosférico (Tabela 4). Para o pH não rizosférico, as duas cultivares de feijoeiro apresentaram pH maior quando não inoculadas com o fungo (testemunha). Para o pH rizosférico, na cultivar Diamante Negro, não houve diferença de pH das plantas inoculadas e não inoculadas com o fungo. Na cultivar Ouro Negro o maior valor de pH rizosférico foi no tratamento onde as plantas não foram inoculadas com o fungo. Ocorreu diferença de pH não rizosférico entre as cultivares em estudo, sendo os maiores valores obtidos na cultivar Ouro Negro, para plantas inoculadas e não inoculadas com o fungo. Os maiores valores de pH rizosférico foram encontrados na cultivar Ouro Negro, quando não inoculadas com o fungo, quando inoculada, não houve diferença de pH entre as cultivares.

Tabela 4: Dados médios dos desdobramentos das interações duplas significativas estatisticamente obtidas da análise de variância de plantas de feijoeiro cultivadas com diferentes fontes e doses de nitrogênio e inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em câmara de crescimento e avaliadas aos 32 dias após o plantio e 21 dias após a inoculação do experimento 1.

Dose (kg ha ⁻¹)	pH não rizosférico		pH rizosférico		Massa Seca parte aérea (mg planta ⁻¹)	
	Fonte				NO ₃	NH ₄
	NO ₃	NH ₄	NO ₃	NH ₄		
0	4,14 Ac	4,09 Aab	4,92 Ab	4,72 Aa	209,44 Ac	135,31 Aa
30	4,66 Ab	4,04 Bb	4,99 Ab	4,87 Aa	416,87 Ab	138,31 Ba
120	5,06 Aa	4,32 Ba	5,73 Aa	4,92 Ba	811,12 Aa	124,69 Ba

Dose (kg ha ⁻¹)	pH não rizosférico	
	Cultivar	
	Diamante Negro	Ouro Negro
0	3,93 Bb	4,30 Ac
30	4,02 Bab	4,67 Ab
120	4,23 Ba	5,15 Aa

Dose (kg ha ⁻¹)	pH não rizosférico	
	Inoculação	
	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem inoc. com <i>Fusarium</i>
0	3,67 Bc	4,56 Ab
30	4,14 Bb	4,55 Ab
120	4,44 Ba	4,94 Aa

Cultivar	pH não rizosférico		pH rizosférico	
	Inoculação			
	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem inoc. Com <i>Fusarium</i>	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem inoc com <i>Fusarium</i>
Diamante Negro	3,94 Bb	4,18 Ab	4,77 Aa	4,89 Ab
Ouro Negro	4,23 Ba	5,19 Aa	4,91 Ba	5,53 Aa

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5%, dentro de cada interação e de cada parâmetro.

Portanto neste experimento, nas duas avaliações realizadas o comportamento das plantas na interação entre fontes x doses x cultivares x inoculação foram semelhantes. Os coeficientes de variação encontrados nas duas coletas encontram-se dentro dos valores aceitáveis para estas análises, com exceção dos valores obtidos para as massas da parte aérea e raízes secas.

4.2 Experimento 2 - Inoculação do *Fusarium* no mesmo dia do plantio

Neste experimento 2 a inoculação do *Fusarium* foi realizada no momento do plantio adicionando a solução com o fungo sobre as sementes. Sendo o delineamento experimental igual ao do experimento 1. Os efeitos que ocorreram nas avaliações do percentual de infecção do fungo foram realizados aos 15 e 25 dias após o plantio.

4.2.1 Coleta realizada aos 15 dias após o plantio (DAP) – Experimento 2

Os dados da avaliação da percentagem de plantas infectadas com *Fusarium* na coleta realizada aos 15 DAP encontram-se na Tabela 5. No tratamento onde as plantas foram inoculadas com *Fusarium*, na cultivar Diamante Negro, com a aplicação de nitrato como fonte de nitrogênio, somente em 25% das plantas foi observada a presença de fungo na dosagem de 120 kg ha⁻¹. Quando se aplicou amônio na mesma cultivar, a porcentagem de infecção aumentou para 75%, 75% e 100% nas doses de 0, 30 e 120 kg ha⁻¹, respectivamente. Nos tratamentos onde não foi realizada a inoculação com o fungo, não houve infecção para nenhuma fonte ou dose de nitrogênio, demonstrando que não houve contaminação das plantas. Na cultivar Ouro Negro mais resistente, na dosagem de 30 kg ha⁻¹ de amônio houve 25% de plantas com sintoma de infecção possivelmente devida a contaminação.

Como pode ser observado na Tabela 5, aos 15 DAP foi observado um baixíssimo número de nódulos em ambas as cultivares em todos os tratamentos, por este motivo optou-se por não fazer a análise de variância desta variável.

Com relação ao pH da rizosfera, de modo geral, ocorreu o mesmo comportamento do Experimento 1, a fonte nitrato aumentou o pH e a amônio diminuiu. Quando foi aplicado nitrato ocorreu uma tendência das massas das plantas secas possuírem uma massa superior às demais. Avaliando-se também a massa seca da raiz da planta, observou-se que a maior massa seca foi obtida quando não houve inoculação com fungo, só não ocorrendo com adição de 120 kg ha⁻¹ de amônio na cultivar Ouro Negro. Entretanto, para ambas as fontes de nitrogênio os valores do pH foram baixos, podendo ser considerado na faixa de acidez.

Tabela 5: Dados percentuais de plantas infectadas por *Fusarium* e de plantas com presença de nódulos e análise estatística geral ($Pr \geq F$) dos dados médios das variáveis avaliadas em plantas de feijão realizada aos 15 dias após o plantio no experimento 2, localizado em câmara de crescimento.

Cultivares	Fonte de Nitrogênio Aplicado	Dose de Nitrogênio Kg.ha ⁻¹	Percentual de plantas infectadas por <i>Fusarium</i>		Média do número de nódulos planta ⁻¹		pH não rizosférico		pH rizosférico		Massa seca da parte aérea (mg planta ⁻¹)		Massa seca da raiz (mg planta ⁻¹)	
			Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>
Diamante Negro	NO ₃	0	0	0	0.25	0.5	5.05	4.24	4.02	4.09	304.33	269.50	56.00	58.75
		30	0	0	1.50	1.75	4.49	4.92	4.34	4.71	209.25	329.50	42.75	80.50
		120	25	0	0	0	4.55	5.16	4.85	5.15	239.75	365.50	47.00	83.75
	NH ₄	0	75	0	0	3.25	3.53	4.93	3.57	4.18	192.25	383.25	49.00	106.75
		30	75	0	0	2	3.81	4.83	3.69	4.08	151.50	210.00	27.75	49.00
		120	100	0	0	0	3.90	4.68	3.95	3.61	181.50	272.50	44.25	62.75
Ouro Negro	NO ₃	0	0	0	0	0	4.86	3.91	3.76	3.56	278.25	278.75	45.25	42.50
		30	0	0	0	0	4.60	4.13	4.14	4.34	313.00	283.50	48.25	61.00
		120	0	0	0	0	4.64	4.07	4.72	4.31	337.50	250.50	33.00	40.00
	NH ₄	0	0	0	0	0	4.43	3.61	3.83	3.57	284.00	232.75	39.25	40.25
		30	0	25	0	0	4.03	3.92	3.41	3.56	269.75	180.50	44.00	40.00
		120	0	0	0	0	4.22	3.66	3.69	3.37	197.75	181.00	41.75	43.00
CV%				-			7.91		9.36		27.96		33.21	
Pr _≥ F														
Cultivar					-		0.0001		0.0001		NS		0.0001	
<i>Fusarium</i>					-		NS		Ns		NS		0.0001	
Dose					-		NS		0.0006		NS		NS	
Fonte de N					-		0.0001		0.0001		0.0001		NS	
Cultivar x Fonte					-		NS		NS		NS		NS	
<i>Fusarium</i> x Fonte					-		0.0001		NS		NS		NS	
Dose x Fonte					-		NS		0.0001		NS		0.0113	
Cultivar x Dose					-		NS		NS		NS		0.0157	
<i>Fusarium</i> x Dose					-		0.0124		0.0481		NS		NS	
Cultivar x <i>Fusarium</i>					-		0.0001		0.0175		0.0001		0.0003	
Cultivar x <i>Fusarium</i> x Fonte					-		0.0001		0.0175		0.0001		0.0003	
Cultivar x Dose x Fonte					-		0.0044		NS		NS		NS	
<i>Fusarium</i> x Dose x Fonte					-		NS		NS		NS		0.0331	
Cultivar x <i>Fusarium</i> x Dose					-		0.0091		NS		NS		0.0150	

NS – não significativo; (-) – Não avaliado

Ainda na Tabela 5, referente ao experimento 2, nas avaliações realizadas aos 15 DAP, pode ser observado que ocorreram diferenças estatísticas significativas entre as cultivares para as variáveis pH não rizosférico e rizosférico e massa da raiz seca. O efeito da inoculação com fusário no experimento só foi significativo para o parâmetro massa de raízes secas e o efeito da dosagem só foi significativo na variável pH da rizosfera. A fonte de nitrogênio influenciou significativamente o pH não rizosférico, pH rizosférico e a massa da parte aérea da planta seca. Como não ocorreu interação significativa da fonte de variação fonte de nitrogênio como nenhuma outra fonte de variação no experimento, no parâmetro massa da planta seca, é possível analisar o efeito isolado deste fator no experimento. Sendo encontrado que a fonte nitrato foi estatisticamente superior ao amônio, quando comparado pelo teste Tukey 5%.

As interações duplas significativas encontradas na Tabela 5 foram desdobradas e apresentadas na Tabela 6. Na interação entre a fonte de nitrogênio e a inoculação da planta com o patógeno para a variável pH não rizosférico, as plantas inoculadas apresentaram valores superiores às não inoculadas, quando cresceram recebendo nitrato. Com a fonte amônio aconteceu o contrário, as plantas não inoculadas tiveram valores superiores. Quando comparado as duas fontes na interação, os valores com nitrato foram superiores quando as plantas foram inoculadas e os valores de nitrato e amônio foram iguais quando as plantas não foram inoculadas.

Ocorreu interação significativa estatisticamente entre dose e fonte de nitrogênio para pH rizosférico e massa seca da parte aérea. Na dose 0 kg ha^{-1} não ocorreu diferença entre nenhuma fonte de nitrogênio para as duas variáveis. Na dosagem de 30 kg ha^{-1} , o pH e a massa da parte aérea seca obtiveram valores maiores quando a fonte de nitrogênio foi o nitrato. Na dosagem de 120 kg ha^{-1} , o pH rizosférico foi maior quando a fonte de nitrogênio foi o nitrato e a massa da parte aérea seca não diferiu-se independente da fonte de nitrogênio utilizada. Analisando-se as doses de nitrogênio dentro de cada fonte, observou-se o aumento de pH rizosférico na fonte nitrato quanto maior a dose de nitrogênio aplicada. Entretanto, na fonte amônio não ocorreu diferença entre as três doses de nitrogênio utilizadas. A massa seca da raiz não apresentou diferença quando aplicado nitrato nas diferentes doses. Quando foi aplicado amônio, a massa das raízes secas na dose 0 kg ha^{-1} foi maior do que a dosagem de 30 kg ha^{-1} e ambas foram iguais estatisticamente a dosagem de 120 kg ha^{-1} .

Tabela 6: Dados médios do efeito isolado e do desdobramento da interação dupla do quadro de análise de variância (Tabela 5) de plantas de feijoeiro cultivadas em câmara de crescimento e avaliadas aos 15 dias após o plantio do experimento 2.

Fonte N		Massa Seca da Parte Aérea (mg planta ⁻¹)	
NO ₃		288,28 a	
NH ₄ ⁺		228,06 b	

pH não rizosférico		
Fonte N	Inoculação	
	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>
NO ₃	4,70 Aa	4,40 Ba
NH ₄ ⁺	3,99 Bb	4,27 Aa

Dose de N (Kg ha ⁻¹)	pH rizosférico		Massa seca da raiz (mg planta ⁻¹)	
	Fonte de N		NO ₃	NH ₄ ⁺
	NO ₃	NH ₄ ⁺		
0	3,86 Ac	3,79 Aa	50,62 Aa	58,81 Aa
30	4,38 Ab	3,69 Ba	58,12 Aa	40,19 Bb
120	4,76 Aa	3,66 Ba	50,94 Aa	47,94 Aab

Dose de N (Kg ha ⁻¹)	Massa seca da raiz (mg planta ⁻¹)	
	Cultivar	
	Diamante Negro	Ouro Negro
0	67,62 Aa	41,81 Ba
30	50,00 Ab	48,31 Aa
120	59,44 Aab	39,44 Ba

Dose de N (Kg ha ⁻¹)	pH não rizosférico		pH rizosférico	
	Inoculação			
	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>
0	4,47 Aa	4,17 Ba	3,90 A	3,85 A
30	4,23 Aa	4,45 Aa	3,80 B	4,17 A
120	4,33 Aa	4,39 Aa	4,30 A	4,11 A

Cultivar	pH não rizosférico		pH rizosférico		Massa Seca da Parte Aérea (mg planta ⁻¹)		Massa Seca da raiz (mg planta ⁻¹)	
	Inoculação							
	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>
Diamante Negro	4,22 Bb	4,79 Aa	4,07 Ba	4,30 Aa	213,10 Bb	305,04 Aa	44,46 Ba	73,58 Aa
Ouro Negro	4,46 Aa	3,88 Bb	3,92 Aa	3,78 Ab	280,04 Aa	234,50 Bb	42,91 Aa	44,46 Ab

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% dentro de cada interação e de cada parâmetro.

Na interação entre dose de nitrogênio e cultivar de feijoeiro, pôde ser observado que a massa das raízes secas quando não foi aplicado N-mineral, foi superior na cultivar Diamante Negro, e quando aplicado a dosagem de 30 kg ha⁻¹ as cultivares não se diferiram entre si. Com aplicação de 120 kg ha⁻¹, a cultivar Diamante Negro apresentou a maior massa das raízes secas. A cultivar Diamante Negro apresentou maiores massas das raízes secas sem aplicação de nitrogênio do que com aplicação de 30 kg ha⁻¹, porém ambas as doses não se diferiu da dosagem de 120 kg ha⁻¹. Na cultivar Ouro Negro, independente da dosagem não houve diferença significativa entre as doses.

Ocorreu a interação entre dose de nitrogênio e inoculação com o fungo nas plantas para as variáveis pH não rizosférico e pH rizosférico. Os valores de pH não rizosférico só foram diferentes na dosagem zero de nitrogênio entre as plantas inoculadas e não inoculadas com o fungo, com o maior valor de pH no local onde ocorreu inoculação com o fungo, nas demais dosagens não foi obtida diferenças. O pH rizosférico diferiu-se apenas na dosagem de 30 kg.ha⁻¹, com maior valor para as plantas não inoculadas com o fungo do que para as plantas inoculadas. Analisando o efeito das doses de nitrogênio no pH não rizosférico, verificou-se que não ocorreram diferenças entre elas para plantas inoculadas com *Fusarium* e não inoculadas. Estes resultados sugerem uma interferência do fungo no processo metabólico das plantas devido ao uso de nitrogênio. Já para o valores de pH rizosférico, houve diferença entre as dosagens, sendo que o maior valor de pH foi na dosagem de 120 kg ha⁻¹ e os menores valores nas dosagens 0 (testemunha) e 30 kg ha⁻¹ onde foi realizada a inoculação com o fungo. No tratamento sem inoculação, nesta interação, não ocorreram diferenças entre as dosagens 30 e 120 e entre 0 e 120 kg ha⁻¹, sendo os menores valores de pH encontrados no tratamento sem adição de nitrogênio.

A interação cultivar de feijão x inoculação com o fungo ocorreu para todas as variáveis em avaliação, pH não rizosférico, pH rizosférico, massa da parte aérea e das raízes secas. Na cultivar Diamante Negro, os valores referentes ao tratamento sem fungo foram superiores estatisticamente aos valores referentes às plantas inoculadas em todas as variáveis. Na cultivar Ouro Negro, os valores referentes ao tratamento sem inoculação, foram menores do que os valores referentes às plantas inoculadas com o fungo, exceto para o pH da rizosfera, onde os valores foram estatisticamente iguais. Comparando as respostas das cultivares ao efeito da inoculação com o fungo, houve resposta diferenciada para cada parâmetro observado. Entretanto, os valores das plantas não inoculadas com o fungo foram sempre superiores na cultivar Diamante Negro, caracterizando sua baixa resistência ao *Fusarium*.

4.2.2 Coleta realizada aos 25 dias após o plantio (DAP) - Experimento 2

Na Tabela 7 estão os dados médios obtidos na coleta realizada aos 25 DAP. Nela estão os dados médios do percentual de plantas infectadas ou não por *Fusarium* e também estão os dados médios do número de nódulos por planta, o pH não rizosférico e rizosférico, massa seca da parte aérea e a massa seca das raízes com seus respectivos valores de F analisados pela análise de variância geral de cada parâmetro no experimento.

Os dados mostram que as plantas da cultivar Diamante Negro que foram inoculadas com *Fusarium* recebendo o amônio como fonte de nitrogênio teve 100% de infecção, embora que mesmo no tratamento sem adição de nitrogênio tenha sido encontrado 100% de infecção. Com a aplicação do nitrato a presença do fungo diminui acentuadamente. Nos dados da cultivar Ouro Negro, considerada mais tolerante ao *Fusarium*, o percentual geral de infecção pelo fungo foi baixo. Assim como aconteceu na primeira coleta realizada aos 15 DAP, os dados desta cultivar sugerem uma maior tolerância desta planta ao *Fusarium* independente do tratamento com nitrogênio.

O número de nódulos é uma das variáveis mais importantes de ser avaliado em plantas de feijoeiro que fixam nitrogênio atmosférico. Pode ser observado na Tabela 7, que a maior dosagem de nitrogênio de forma geral diminui o número de nódulos em ambas as cultivares. A presença do fungo dificultou o processo de nodulação, em todas as situações. Sem a presença do fungo, na cultivar Diamante Negro com 30 kg ha⁻¹ de nitrato foi encontrado o maior número de nódulos por planta do experimento. Os dados sugerem um efeito pronunciado deste patógeno no processo de nodulação do feijoeiro, com diferenças significativas estatisticamente ($Pr \geq F$) encontradas entre plantas com *Fusarium* e sem *Fusarium*. Foram encontradas diferenças entre as cultivares, entre doses e fontes de nitrogênio e presença ou ausência de *Fusarium*. Onde ocorreu um maior número de nódulos por planta na cultivar Diamante Negro. Sem inoculação do fungo foi observado que ocorreu maior número de nódulos por plantas. Na fonte nitrato, o número de nódulos foi maior do que na fonte amônio, sendo que as melhores dosagens obtidas foram sem adição de nitrogênio e com adubação de 30 kg ha⁻¹. Também ocorreu interação entre cultivares e fontes de nitrogênio, inoculação com o fungo e doses de nitrogênio, doses e fontes de nitrogênio e entre cultivares e inoculação com o fungo. O coeficiente de variação encontrado para este fator foi elevado (CV% = 46).

Com relação à análise estatística dos dados tabelados da Tabela 7, pode ser observado ainda que ocorreram diferenças estatísticas significativas entre as cultivares para as variáveis de número de nódulos por planta, pH não rizosférico e pH da rizosfera, entre plantas inoculadas e não inoculadas com o fungo para as variáveis número de nódulos por planta, massa seca da parte aérea e massa seca das raízes, entre as dosagens de nitrogênio em estudo para número de nódulos por planta, pH não rizosférico, pH rizosférico e massa seca da parte aérea e ocorreu diferença também para as diferentes fontes de nitrogênio para todas as variáveis em avaliação. Desdobrando-se as interações duplas significativas na Tabela 8, pode ser observada que na interação cultivar x fonte de nitrogênio, as cultivares Diamante Negro e Ouro Negro apresentaram maior número de nódulos quando supridas com nitrato. Dentro da fonte nitrato, a cultivar Diamante Negro apresentou maior número de nódulos e dentro da fonte amônio não ocorreu diferença significativa entre as cultivares. Na interação dose x fonte de nitrogênio, as fontes não influenciaram na dosagem 0 kg ha⁻¹ de nitrogênio, entretanto nas doses de 30 e 120 kg ha⁻¹, o maior número de nódulos ocorreu na fonte nitrato. Dentro da fonte nitrato o maior número de nódulos ocorreu na dosagem de 30 kg ha⁻¹, enquanto as dosagens de 0 e 120 kg ha⁻¹ obtiveram menor número de nódulos, mas foram estatisticamente iguais. Na fonte amônio, o maior número de nódulos ocorreu na dosagem de 0 kg ha⁻¹ e os menores números ocorreram nas doses de 30 e 120 kg ha⁻¹, que foram estatisticamente iguais entre si. Ocorreu a interação entre fonte de nitrogênio x inoculação do fungo, informando que dentro da fonte nitrato, o maior número de nódulos ocorreu sem inoculação do fungo e na fonte amônio não ocorreu diferença entre plantas inoculadas ou não com o fungo. Quando as plantas foram inoculadas com o fungo não ocorreu diferença entre as fontes de nitrogênio para o número de nódulos e quando as plantas não foram inoculadas com o fungo, o maior número de nódulos foi obtido quando as plantas foram supridas por nitrogênio na fonte nitrato. Na interação cultivar x inoculação com o fungo, a cultivar Diamante Negro obteve maior número de nódulos quando não foram inoculadas com o fungo, entretanto na cultivar Ouro Negro não ocorreu diferença significativa entre plantas inoculadas e não inoculadas. Nas plantas inoculadas, o número de nódulos não apresentou diferença entre ambas as cultivares, porem quando não foram inoculadas, a cultivar Diamante Negro apresentou maior número de nódulos por planta.

Tabela 7: Dados percentuais de plantas infectadas por *Fusarium* e de plantas com presença de nódulos e análise estatística geral ($Pr \geq F$) dos dados médios das variáveis avaliadas em plantas de feijão realizada aos 25 dias após o plantio no experimento 2, localizado em câmara de crescimento.

Cultivares	Fonte de Nitrogênio Aplicado	Dose Nitrogênio Kg.ha ⁻¹	Percentual de plantas infectadas por <i>Fusarium</i>		Média do número de nódulos planta ⁻¹		pH não rizosférico		pH rizosférico		Massa seca da parte aérea (mg planta ⁻¹)		Massa seca da raiz (mg planta ⁻¹)	
			Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>
Diamante Negro	NO ₃	0	66	0	0	29	4.34	4.15	4.32	4.02	229.25	646.00	58.00	168.66
		30	0	0	4.75	45.25	4.55	4.70	4.35	4.58	539.00	799.25	98.66	233.66
		120	33	0	0	20.50	4.73	4.81	5.55	5.76	582.75	954.25	81.66	181.66
	NH ₄	0	100	0	7.5	10.50	4.41	4.40	4.27	4.59	327.25	388.25	88.66	93.33
		30	100	0	1	0	4.30	4.60	4.67	4.99	157.25	208.25	43.50	56.00
		120	100	33	0	0	4.63	4.39	4.91	5.22	161.00	182.50	32.00	49.33
Ouro Negro	NO ₃	0	0	0	3	0.75	4.13	4.35	3.80	4.18	609.33	226.66	103.33	63.00
		30	0	0	10.25	7.5	4.47	4.43	4.22	4.61	824.75	613.75	155.33	122.66
		120	33	0	8.25	2	5.25	4.62	6.08	5.23	997.00	765.00	171.33	116.33
	NH ₄	0	33	0	5	8.25	4.20	4.03	4.45	4.12	349.25	335.50	68.00	67.00
		30	33	0	0	0	3.99	4.38	4.34	4.20	279.66	301.66	29.50	52.00
		120	0	33	0	0	4.11	4.46	4.36	4.17	153.00	514.25	43.50	66.00
CV%				46,00		13,19		8,18		18,71		21,98		
Pr ≥ F														
Cultivar					0,0008		0,0292		0,0003		NS		NS	
Fusarium					0,0001		NS		NS		0,0195		0,0041	
Dose					0,0047		0,0000		0,0000		0,0370		NS	
Fonte de N					0,0001		0,0001		0,0110		0,0000		0,0001	
Cultivar x Fonte					0,0349		0,0202		0,0075		NS		NS	
Fusarium x Fonte					0,0003		NS		NS		NS		NS	
Dose x Fonte					0,0001		0,0003		0,0000		0,0001		0,0010	
Cultivar x Dose					NS		NS		NS		NS		NS	
Fusarium x Dose					NS		0,0448		NS		NS		NS	
Cultivar x Fusarium					0,0001		NS		NS		0,0012		0,0024	
Cultivar x Fusarium x Fonte					0,0001		NS		NS		0,0001		0,0006	
Cultivar x Dose x Fonte					NS		NS		NS		NS		NS	
Fusarium x Dose x Fonte					NS		NS		NS		NS		NS	
Cultivar x Fusarium x Dose					NS		NS		NS		0,0257		NS	

NS – não significativo

Ocorreu interação dupla significativa estatisticamente entre cultivar de feijão e fonte de nitrogênio para pH não rizosférico e pH rizosférico, entre dose de nitrogênio e fonte de nitrogênio para todas as variáveis, que são o pH não rizosférico, o pH rizosférico, a massa seca da parte aérea e da raiz, entre inoculação com o fungo e dose de nitrogênio para pH não rizosférico e entre cultivar de feijão e inoculação com o fungo para massa seca da parte aérea e da raiz.

Desdobrando as interações duplas que ocorreram na coleta aos 25 DAP (Tabela 8), pode-se observar a interação cultivares de feijão x fontes de nitrogênio para o pH não rizosférico e rizosférico. Na cultivar Diamante Negro não ocorreu diferença dos valores de pH entre as fontes de nitrogênio nas variáveis pH não rizosférico e rizosférico. Na cultivar Ouro Negro, para as duas variáveis em avaliação, o maior valor foi na fonte nitrato com diferença significativa da fonte amônio. Analisando o efeito das fontes dentro das cultivares, não ocorreu diferença significativa entre as cultivares Diamante Negro e Ouro Negro quando crescidas em nitrato para as duas variáveis. Quando crescidas em amônio os maiores valores de pH no experimento foram encontrados na cultivar Diamante Negro.

A interação dose de nitrogênio x fonte de nitrogênio foi significativa para todas as variáveis testadas: pH não rizosférico, pH rizosférico, massa seca da parte aérea e raiz. No tratamento sem adição de nitrogênio não ocorreu diferença entre as fontes de nitrogênio para todas as variáveis, como era de se esperar. Na dosagem de 30 kg ha⁻¹, os valores de pH não rizosférico, massa de parte aérea e raízes secas foram maiores na fonte nitrato. No pH rizosférico, entretanto foi maior quando a fonte foi o amônio. Na dosagem de 120 kg ha⁻¹, a fonte nitrato proporcionou maiores valores em todas as variáveis testadas. Ocorreu diferença entre as doses de nitrogênio para pH não rizosférico na fonte nitrato, sendo o menor valor obtido na dose 0 kg ha⁻¹ e o maior valor através da dose 120 kg ha⁻¹. Não ocorreu diferença entre as doses para os valores de pH não rizosférico, pH rizosférico e massa da parte aérea seca na fonte amônio e para pH rizosférico na fonte nitrato. As maiores massas da parte aérea secas da planta, com nitrato foram nas dosagens de 30 e 120 kg ha⁻¹, diferentes estatisticamente da dose sem adição de nitrogênio. Quando a fonte de nitrogênio foi o nitrato, na interação dose x fonte de nitrogênio, a massa das raízes secas foi maior na dosagem de 30 kg ha⁻¹ e menor no tratamento sem adição de nitrogênio. A dosagem de 120 kg ha⁻¹ de nitrato foi estatisticamente igual às doses 0 e 30 kg ha⁻¹. Quando a fonte foi amônio a maior massa de raízes secas foi no tratamento sem adição de nitrogênio.

Na interação dose de nitrogênio x inoculação com o fungo, pode-se observar que nas dosagens de 0 e 120 kg ha⁻¹ não ocorreu diferenças entre plantas inoculadas e não inoculadas com *Fusarium* para pH não rizosférico. Na dosagem de 30 kg ha⁻¹, o maior pH ocorreu onde as plantas foram inoculadas com o fungo. No pH não rizosférico, quando foi realizada a inoculação com o fungo, o maior valor de pH foi encontrado na dosagem de 120 kg ha⁻¹ sendo que quando não ocorreu inoculação o valor de pH foi maior nas dosagens de 30 e 120 kg ha⁻¹.

A interação entre cultivar de feijão x inoculação com o fungo foi significativa para massa da parte aérea e das raízes das plantas secas. Na cultivar Diamante Negro, a massa da parte aérea e das raízes secas foi menor quando realizada a inoculação com o fungo do que nas plantas não inoculada. Na cultivar Ouro Negro não ocorreu diferença de massa para plantas inoculadas ou não inoculadas. Plantas de feijão da cultivar Diamante Negro tiveram menor valor de massa da parte aérea seca do que a cultivar Ouro Negro quando inoculadas, entretanto, quando não inoculadas com fungo foram iguais. Não ocorreu diferença também entre as cultivares para massa seca da raiz nas plantas inoculadas, nas não inoculadas, a cultivar Diamante Negro obteve maior massa.

Tabela 8: Dados médios do efeito isolado e do desdobramento da interação dupla da análise de variância de plantas de feijoeiro cultivadas em câmara de crescimento e avaliadas aos 25 dias após o plantio.

Cultivar	Número de nódulos planta ⁻¹		pH não rizosférico		pH rizosférico	
	NO ₃	NH ₄ ⁺	NO ₃	NH ₄ ⁺	NO ₃	NH ₄ ⁺
Diamante Negro	16,58 Aa	3,17 Ba	4,70 Aa	4,49 Aa	4,76 Aa	4,78 Aa
Ouro Negro	5,29 Ab	2,21 Ba	4,72 Aa	3,94 Bb	4,69 Aa	4,27 Bb

Dose de N (Kg ha ⁻¹)	Número de nódulos planta ⁻¹		pH não rizosférico		pH rizosférico		Massa Seca de Parte Aérea (mg planta ⁻¹)	Massa Seca da Raiz (mg planta ⁻¹)		
	NO ₃	NH ₄ ⁺	NO ₃	NH ₄ ⁺	NO ₃	NH ₄ ⁺	NO ₃	NH ₄ ⁺	NO ₃	NH ₄ ⁺
0	8,19 Ab	7,81Aa	4,03 Ac	4,07Aa	4,08Aa	4,36Aa	428,00Ab	350,00Aa	98,25Ab	79,25Aa
30	16,94 Aa	0,25 Bb	4,67 Ab	4,20Ba	4,44Ba	4,55Aa	694,00Aa	237,00Ba	152,58Aa	45,25Bb
120	7,69 Ab	0 Bb	5,41 Aa	4,38Ba	5,65Aa	4,66Ba	825,00Aa	253,00Ba	137,75Aab	47,71Bab

Dose de N (Kg ha ⁻¹)	pH não rizosférico	
	Inoculação	
	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>
0	4,08 Ab	4,02 Ab
30	4,21 Ab	4,66Ba
120	5,04 Aa	4,75 Aa

Fonte de N	Numero de nódulos planta ⁻¹	
	Inoculação	
	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>
NO ₃	4,37 Ba	17,25 Aa
NH ₄ ⁺	2,25 Aa	3,12 Ab

Cultivar	Numero de nódulos planta ⁻¹		Massa Seca de Parte Aérea (mg planta ⁻¹)		Massa Seca da Raiz (mg planta ⁻¹)	
	Inoculação					
	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>
Diamante Negro	2,21 Ba	17,54 Aa	333,00 Bb	530,00 Aa	67,08Ba	130,44 Aa
Ouro Negro	4,42 Aa	3,08 Ab	536,00 Aa	459,00 Aa	95,17Aa	81,17 Ab

Medias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% dentro de cada interação e de cada parâmetro.

4.3 Avaliação do somatório das percentagens de plantas infectadas com *F. oxysporum* dos experimentos 1 e 2

Ao se unir os experimentos 1 e 2, que foram praticamente iguais, diferenciando-se apenas a época de inoculação do *F. oxysporum*, pode-se observar com maior clareza que a fonte de nitrogênio nitrato proporcionou menor processo de infecção em plantas de feijoeiro de ambas as cultivares utilizadas. Demonstrando também que a cultivar Ouro Negro é realmente mais resistente a este fungo do que a cultivar Diamante Negro (Figura 1). Na cultivar Diamante Negro ocorreram 35% de plantas infectadas por *F. oxysporum* quando aplicado como fonte de nitrogênio o nitrato (somando-se todas as doses de nitrogênio) e ocorreram 84% de plantas infectadas com o fungo quando aplicado o amônio como fonte de nitrogênio. Na cultivar Ouro Negro ocorreram 4,12% de plantas infectadas por *F. oxysporum* quando aplicado nitrato como fonte de nitrogênio e 26% de plantas infectadas pelo fungo quando aplicado amônio.

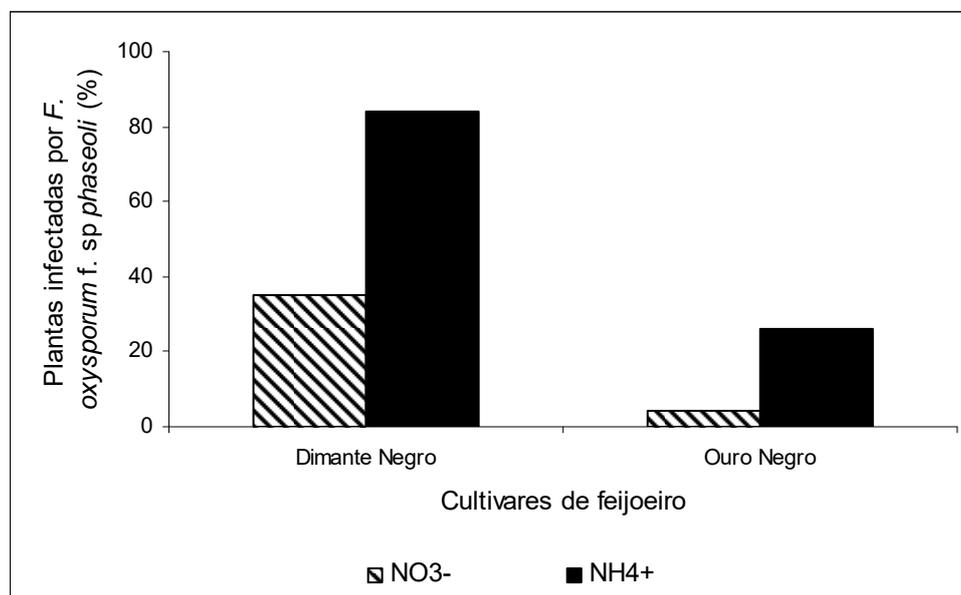


Figura 1: Percentual de plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) de duas cultivares (Diamante Negro e Ouro Negro) infectadas por *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* quando supridas por nitrogênio na forma de nitrato e amônio, somando as doses de 30 e 120 kg ha⁻¹ das duas coletas realizadas no experimento 1 e 2.

4.4 Experimento 3 – Análise do efeito do poder tampão de solo arenoso e argiloso no sequestro de OH⁻/H⁺ e sua interação com Fusarium

A inoculação do fusarium foi realizada no momento do plantio nos dois solos utilizados: arenoso e argiloso. Neste experimento devido aos resultados obtidos nos dois experimentos anteriores foi utilizado apenas a cultivar Diamante Negro considerada mais susceptível, e foram usadas apenas duas fontes e doses de nitrogênio.

4.4.1 – Coleta realizada aos 14 dias após o plantio (DAP) - Experimento 3

Na Tabela 9, encontram-se os dados da percentagem de infecção das plantas infectadas por *Fusarium* na primeira avaliação realizada aos 14 DAP da cultivar Diamante Negro (menos tolerante), devido aos resultados do experimento anterior onde ficou evidente o

efeito da resistência da cultivar Ouro Negro, ela não foi usada neste experimento. Estão nesta mesma tabela os dados médios dos variáveis avaliadas, que são: o número de nódulos por planta, o pH não rizosférico e rizosférico, massa da parte aérea seca e a massa das raízes secas, com seus respectivos valores de $P \geq F$ analisados pela análise de variância geral de cada parâmetro no experimento. Este experimento foi instalado utilizando-se dois substratos de crescimentos com diferentes poder tampão (arenoso e mais argiloso).

Pode ser observado nesta tabela 9, que nas plantas crescendo no solo arenoso sem adição de nitrogênio e inoculadas com *Fusarium* tiveram um percentual de 50% de infecção, e com 120 kg ha⁻¹ de nitrato não foi possível detectar a presença do fungo. Neste experimento, em alguns tratamentos ocorreram danos mecânicos nas plantas que impediram uma avaliação mais precisa da infecção. Este fato também ocorreu no tratamento sem adição de amônio, inoculado e crescido em solo mais argiloso.

De modo geral, nesta coleta pode-se dizer que deve ter havido alguma forma de contaminação nas plantas crescidas no solo arenoso, pois mesmo nas plantas não inoculadas foram encontrado sintomas de infecção de fusarium, embora os solos não tenham sido esterilizados. Os dados do solo mais argiloso estão coerentes, não havendo nenhum percentual de infecção das plantas nos tratamentos sem inoculação. Neste mesmo solo, quando inoculados com fungo, apareceram 50% de plantas infectadas com 120 kg ha⁻¹ de nitrato e amônio.

Nesta primeira avaliação não foi possível a contagem de nódulos nas plantas, pois ou encontravam-se ausentes ou de tamanho tão pequeno que não foi de possível visualização sem a utilização de lupa.

Ainda na Tabela 9, os valores das probabilidades ($Pr \geq F$) indicaram que ocorreram diferenças significativas estatisticamente para as seguintes fontes de variação: efeito de solo para os valores de pH não rizosférico, rizosférico, massa da raiz seca, efeito do nitrogênio sobre os valores de pH não rizosférico, rizosférico, efeito da fonte nitrogenada nos valores de pH não rizosférico, rizosférico e massa da parte aérea da planta seca, efeito da inoculação do *Fusarium* sobre os valores de pH não rizosférico e massa da parte aérea da planta e raízes secas.

As interações duplas significativas encontradas na Tabela 9 foram desdobradas e apresentadas na Tabela 10. Na Tabela 10 está o efeito isolado de uma fonte de variação em que ocorreu diferença significativa na análise isolada do fator, mas em que o próprio fator de variação não fez parte de uma interação dupla significativa e as demais interações.

Por esta Tabela 10 pode ser verificado que ocorreram diferenças significativas entre os tipos de solo utilizados como substrato para o parâmetro de massa da raiz seca, onde a maior massa foi obtida em solo arenoso. O pH rizosférico variou em função da dose de nitrogênio. Quando foi aplicada a dose de 120 kg ha⁻¹ de nitrogênio, o pH rizosférico foi superior ao pH sem aplicação de nitrogênio. As fontes de nitrogênio utilizadas modificaram o pH rizosférico, ocasionando maior valor de pH quando analisado pelo teste Tukey 5% na fonte nitrato.

Tabela 9: Dados percentuais de plantas infectadas por *Fusarium* e análise estatística geral (**Pr \geq F**) dos dados médios das variáveis avaliadas em plantas de feijão realizada aos 14 dias após o plantio no experimento 3, localizado em câmara de crescimento.

Substrato	Fonte de Nitrogênio Aplicado	Dose de Nitrogênio Kg ha ⁻¹	Percentual de plantas infectadas por <i>Fusarium</i>		pH não rizosférico		pH rizosférico		Massa seca da parte aérea (mg planta ⁻¹)		Massa seca de raiz (mg planta ⁻¹)	
			Inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>
Solo Arenoso	N0 ₃	0	50	0	4,30	4,07	4,51	4,10	185,2	248,0	187,4	203,1
		120	-	25	5,42	4,35	5,24	4,41	110,0	305,7	132,3	234,0
		0	0	33	4,13	4,11	4,00	4,16	179,3	212,8	170,0	195,2
Solo Argiloso	NH ₄ ⁺	120	75	0	4,38	4,12	4,32	4,22	119,0	184,2	131,7	182,7
		0	0	0	4,65	4,66	4,64	4,62	158,5	316,0	133,8	169,3
		120	50	0	4,60	4,58	4,72	5,09	186,5	297,5	144,6	199,2
Solo Argiloso	NH ₄	0	-	0	4,51	4,54	4,58	4,66	126,2	185,5	150,9	175,4
		120	50	0	4,83	4,59	4,64	4,64	168,3	155,2	139,8	161,9
CV%					2,46		3,32		24,31		21,81	
Pr\geqF												
Solo					0,0000		0,0000		NS		0,0336	
Dose					0,0001		0,0019		NS		NS	
Fonte de N					0,0026		0,0011		0,0000		NS	
Fusarium					0,0003		NS		0,0000		0,0000	
Solo x Fusarium					0,0048		0,0124		NS		NS	
Dose x Fusarium					0,0043		NS		NS		NS	
Fonte x Fusarium					NS		NS		0,0002		NS	
Solo x Dose					0,0028		NS		NS		NS	
Solo x Fonte					0,0044		NS		NS		NS	
Dose x Fonte					NS		NS		NS		NS	
Solo x Dose x Fonte					0,0008		NS		NS		NS	
Solo x Dose x Fusarium					NS		NS		NS		NS	
Solo x Fonte x Fusarium					0,0116		0,0140		NS		NS	
Dose x Font x Fusarium					NS		NS		NS		NS	

NS: não significativo estatisticamente; (-) não foi avaliado

Tabela 10: Dados médios do efeito isolado e dos desdobramentos das interações dupla significativas estatisticamente da análise de variância de plantas de feijoeiro crescidas em areia durante 14 dias do experimento 3, localizado em câmara de crescimento.

Solo		Massa seca da raiz (mg planta⁻¹)	
Arenoso		34,25 a	
Argiloso		26,93 b	

Dose de N (kg ha⁻¹)		pH Rizosférico	
0		4,66 a	
120		4,41 b	

Fonte de N		pH rizosférico	
NO ₃		4,67 a	
NH ₄ ⁺		4,40 b	

Inoculação		Massa seca da raiz (mg planta⁻¹)	
Inoc. com <i>Fusarium</i>		23,62 b	
Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>		37,56 a	

Solo	pH não rizosférico		pH rizosférico	
	Inoculação			
	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>
Arenoso	4,56 Aa	4,16 Bb	4,52 Aa	4,22 Ba
Argiloso	4,65 Aa	4,59 Aa	4,65 Aa	4,75 Ab

Dose de N (kg ha⁻¹)	pH não rizosférico	
	Inoculação	
	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>
0	4,40 Ab	4,35 Aa
120	4,81 Aa	4,41 Ba

Fonte de N	Massa seca da parte aérea (mg planta⁻¹)	
	Inoculação	
	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>
NO ₃	160,06 Ba	291,81 Aa
NH ₄ ⁺	148,19 Ba	184,44 Ab

Solo	pH não rizosférico	
	Dose de N (kg ha⁻¹)	
	0	120
Arenoso	4,15 Bb	4,75 Aa
Argiloso	4,59 Aa	4,65 Aa

Solo	pH não rizosférico	
	Fonte de N	
	NO₃	NH₄⁺
Arenoso	4,53 Aa	4,19 Bb
Argiloso	4,62 Aa	4,61 Aa

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey à 5% dentro de cada interação e dentro de cada parâmetro.

Com relação à inoculação, a massa da raiz seca foi maior quando as plantas não foram inoculadas com o fungo.

Analisando-se o desdobramento, pode-se observar que ocorreu interação significativa estatisticamente entre o tipo de solo utilizado no experimento e o tratamento com inoculação e sem inoculação com o *Fusarium* para as variáveis pH não rizosférico e pH rizosférico. No solo arenoso, os valores de pH não rizosférico e rizosférico foram maiores quando inoculados com o fungo do que quando não inoculados. No solo argiloso, as variáveis avaliadas não apresentaram diferença entre inoculados ou não com o fungo. Analisando-se as plantas inoculadas, pode-se perceber que não ocorreu diferença entre os tipos de solo para todas as variáveis em avaliação.

No tratamento sem adição de nitrogênio, todas as variáveis apresentaram diferença entre os tipos de solos. O valor de pH não rizosférico foi maior em plantas cultivadas em solo argiloso do que em solo arenoso. O pH rizosférico foi maior em plantas crescidas em solo arenoso do que solo argiloso.

Ocorreu interação entre dose de nitrogênio e inoculação de *Fusarium* para o parâmetro pH não rizosférico. Foi observado que não ocorreu diferença entre plantas inoculadas ou não inoculadas com o fungo quando não ocorreu aplicação de nitrogênio no substrato. Na dosagem de 120 kg ha⁻¹, o pH não rizosférico foi maior quando ocorreu inoculação com o fungo do que no tratamento sem inoculação. Só ocorreu diferença entre as doses de nitrogênio dentro de plantas inoculadas com o fungo para o pH não rizosférico, sendo que na dosagem de 120 kg ha⁻¹ o valor de pH foi maior do que em plantas não inoculadas com o fungo. Estes resultados são similares aos obtidos nos experimentos 1 e 2.

Ainda na Tabela 10 pode ser observado, que ocorreu interação significativa entre fonte de nitrogênio e inoculação com o fungo para massa da parte aérea seca. Na fonte nitrato, plantas não inoculadas com o fungo apresentaram maior massa da parte aérea seca do que as plantas inoculadas com o fungo. Na fonte amônio, a massa da parte aérea seca foi significativamente influenciada pela inoculação do fungo, sendo a maior massa obtida nas plantas sem inoculação. Não ocorreu diferença significativa entre as duas fontes de nitrogênio para massa da parte aérea seca em plantas inoculadas com o fungo. Entretanto nas plantas sem inoculação com o fungo ocorreu diferença entre fontes, com a maior massa sendo obtida nas plantas que foram nutridas com nitrogênio na forma de nitrato.

Ocorreu interação entre tipo de solo e dose nitrogênio para pH não rizosférico. No solo arenoso os valores do pH não rizosférico foram maiores em plantas supridas de nitrogênio na dosagem de 120 kg ha⁻¹ e no solo argiloso não ocorreu diferença significativa entre as doses de nitrogênio. O maior valor de pH na fonte nitrato foi devido ao seu efeito no metabolismo da planta. Entretanto, estes resultados podem comprovar que um solo mais argiloso possui a capacidade de sequestrar mais cargas liberadas pela planta. Na dose de 0 kg ha⁻¹, o maior pH não rizosférico foi no solo argiloso, já na dosagem de 120 kg ha⁻¹ não ocorreu diferença significativa entre os dois tipos de solo.

Na interação entre tipo de solo e fonte de nitrogênio, o pH não rizosférico foi maior em plantas cultivadas com nitrato dentro de substrato arenoso. Em substrato argiloso não ocorreu diferença significativa entre as duas fontes de nitrogênio. Na fonte nitrato não ocorreu diferenças de pH entre solo arenoso e argiloso e na fonte amônio o maior pH não rizosférico foi no solo argiloso.

A análise geral dos dados da Tabela 9 pode ajudar a explicar a interação tripla que ocorreu entre Solo x Dose x Fonte e Solo x Fonte x *Fusarium*, por exemplo, não era de se esperar que a maior dosagem de amônio produzisse o maior valor de pH (4,83) no solo argiloso, era de se esperar o contrário, o amônio diminuiria o pH. No solo arenoso os valores de pH foram mais lógicos, a maior dosagem de nitrato produziu o maior valor de pH não rizosférico (5,42) e a maior dosagem de amônio um valor menor (pH=4,38). A presença do

fungo alterou também os resultados, como aliás, aconteceu nos experimentos anteriores, os valores médios de pH das plantas crescendo na presença do fungo foram maiores que na ausência do fungo, especialmente para o solo arenoso. No argiloso isto não aconteceu com clareza, indicando o efeito do poder tampão deste solo nas avaliações de pH, seja região não rizosférica seja da rizosférica. Não se pode deixar de levar em consideração os efeitos aditivos ou não dos efeitos que ocorre nestas interações triplas, por exemplo, o pH natural dos solos estudados (vide Tabelas 1 e 2).

4.4.2 Coleta realizada aos 49 dias após o plantio (DAP) - Experimento 3

Na Tabela 11, estão os dados médios obtidos na segunda coleta do experimento 3 realizada aos 49 DAP. Nela estão os dados médios do percentual de plantas infectadas ou não por *Fusarium* e também estão os dados médios do número de nódulos por planta, o pH não rizosférico e rizosférico e massa da parte aérea e raízes secas com seus respectivos valores de $P \geq F$ analisados pela análise de variância geral de cada parâmetro no experimento.

Pode ser observado claramente que a fonte de nitrogênio nitrato, inibiu completamente o processo de infecção do fungo. Isto aconteceu em ambos os solos quando as plantas cresceram com 120 kg ha⁻¹ demonstrando de forma inequívoca a supressão da infecção por este fungo. Ocorreram infecções nos tratamentos sem adição de nitrogênio em ambos os solos. Quando não foi inoculado o *Fusarium*, as plantas em todas as combinações de tratamento não apresentaram contaminação do fungo. Nas plantas nutridas com 120 kg ha⁻¹ de amônio não foi possível de ser avaliado o processo de infecção, pois elas se encontravam em um visível estado de nanismo (plantas pequenas), com o caule neste estágio de crescimento flácido, sem firmeza, o que dificultou o corte para análise do processo de infecção. Isto pode ser comprovado pelo peso da massa da parte aérea e da raiz.

O número de nódulos é uma das variáveis mais importantes de ser avaliado em plantas de feijoeiro fixando nitrogênio atmosférico. Pode ser observado na Tabela 11, que a maior dosagem de nitrogênio de forma geral diminui o número de nódulos na cultivar Diamante Negro em ambos os solos estudados. A presença do fungo dificultou o processo de nodulação, em todas as situações. Sem a presença do fungo, no solo arenoso e com 120 Kg ha⁻¹ de nitrato foi encontrado o maior número de nódulos por planta do experimento. Os dados sugerem um efeito pronunciado deste patógeno no processo de nodulação do feijoeiro, com diferenças significativas estatisticamente ($Pr \geq F$) encontradas entre plantas com *Fusarium* e sem *Fusarium*. Foram encontrados diferenças entre os solos, entre dose de nitrogênio e presença ou ausência de fusarium. Onde ocorreu um maior número de nódulos por planta no solo argiloso. Na fonte amônio, o número de nódulos foi maior quando não foi aplicado o nitrogênio. As doses de nitrogênio não influenciaram o número de nódulos quando foi aplicado nitrato e também ocorreu interação as doses e fontes de nitrogênio. O coeficiente de variação encontrado para este fator foi elevado (CV% =34,9).

Ainda na Tabela 11, os valores de $Pr \geq F$ indicaram que ocorreram diferenças significativas estatisticamente para as seguintes fontes de variação: efeito de solo para número de nódulos/planta e massa seca da parte aérea e das raízes; efeito da dose de nitrogênio para o número de nódulos/planta e massa seca da raiz; efeito de fonte de nitrogênio para pH não rizosférico, pH rizosférico e massa seca da parte aérea e das raízes; efeito da inoculação do *F. oxysporum* para número de nódulos/planta, pH não rizosférico e massa seca da parte aérea e raízes.

Na Tabela 12 estão os efeitos isolados de uma fonte de variação em que ocorreu diferença significativa na análise isolada do fator, mas em que o próprio fator de variação não fez parte de uma interação dupla significativa. As interações duplas significativas encontradas

na Tabela 11 foram desdobradas e apresentadas nesta tabela 12. As interações triplas não foram significativas para todas as variáveis analisadas, com exceção para o pH rizosférico.

Iniciando a análise destas fontes de variação isoladas (Tabela 11) e que foram analisadas utilizando o teste Tukey 5% (Tabela 12) pode-se verificar que o tipo de solo utilizado como substrato influenciou a massa da parte aérea seca. No solo argiloso ocorreu maior massa da parte aérea seca do que no solo arenoso. Nesta Tabela 12, também pode ser observado que as plantas inoculadas com o *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* diferenciaram-se das plantas não inoculadas com o fungo para as variáveis massa seca da parte aérea e da raiz. As plantas não inoculadas com o fungo apresentaram maiores valores para todas as variáveis citados acima.

Tabela 11: Dados percentuais de plantas infectadas por *Fusarium* e de plantas com presença de nódulos e análise estatística geral ($Pr \geq F$) dos dados médios de variáveis avaliadas em plantas de feijão realizada aos 49 dias após o plantio no experimento 3, localizado em câmara de crescimento.

Substrato	Fonte de Nitrogênio Aplicado	Dose Nitrogênio Kg ha ⁻¹	Percentual de plantas infectadas por <i>Fusarium</i>		Número de nódulos por planta		pH não rizosférico		pH rizosférico		Massa seca da parte aérea (mg planta ⁻¹)		Massa seca de raiz (mg planta ⁻¹)		
			Inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	Inocul. com <i>Fusarium</i>	Sem inocul. c/ <i>Fusarium</i>	
Solo Arenoso	N0 ₃	0	100	0	1,5	7,7	5,09	4,51	4,97	4,58	223,3	234,8	38,5	57,7	
		120	0	0	0	26,2	5,39	4,69	5,40	4,58	599,7	638,0	92,7	171,7	
		0	100	0	2,7	11,2	4,59	4,41	4,23	4,19	209,5	279,0	35,5	71,2	
Solo Argiloso	NH ₄ ⁺	120	-	-	0	0	4,83	4,64	5,05	4,96	171,7	156,2	33,3	18,2	
		0	50	0	10,5	15,7	4,92	4,81	4,67	4,84	708,5	964,2	86,7	158,5	
		120	0	0	4,7	7,2	5,00	4,95	4,45	4,64	708,3	1131,3	75,6	152,2	
Solo Argiloso	NH ₄	0	0	0	12,7	14,2	4,93	4,78	4,88	4,80	709,2	916,0	111,5	160,5	
		120	50	0	3,0	9,0	4,70	4,59	4,25	4,54	856,8	877,0	92,7	111,7	
CV%					34,962		5,3171		5,02		39,55		46,87		
Pr ≥ F															
Solo					0,0127		NS		NS		0,0001		0,0001		
Dose					0,0156		NS		NS		NS		NS		
Fonte de N					NS		0,0005		0,0120		0,0307		0,0250		
Fusarium					0,0002		0,0002		NS		0,0344		0,0003		
Solo x Fusarium					NS		0,0206		0,0002		NS		NS		
Dose x Fusarium					NS		NS		NS		NS		NS		
Fonte x Fusarium					NS		NS		NS		NS		NS		
Solo x Fonte					NS		0,0307		0,0001		NS		0,0258		
Solo x Dose					NS		NS		NS		NS		0,0026		
Dose x Fonte					0,0359		NS		0,0426		0,0363		0,0207		
Solo x Dose x Fonte					NS		NS		0,0013		NS		0,0496		
Solo x Dose x Fusarium					NS		NS		NS		NS		NS		
Solo x Fonte x Fusarium					NS		NS		NS		NS		NS		
Dose x Font x Fusarium					NS		NS		0,0119		NS		NS		

NS : não significativo estatisticamente; (-): não ocorreu avaliação

Tabela 12: Dados médios do efeito isolado e dos desdobramentos das interações duplas da análise de variância (Tabela 11) dos dados de plantas de feijoeiro crescidas em solo durante 49 dias do experimento 3, localizado em câmara de crescimento.

Solo	Número de nódulos planta ⁻¹		Massa seca de parte aérea (mg planta ⁻¹)	
Arenoso	6,19 b		314 b	
Argiloso	9,66 a		58,90 a	

Inoculação	Número de nódulos planta ⁻¹	Massa seca de parte aérea (mg planta ⁻¹)	Massa seca da raiz (mg planta ⁻¹)
Inoc. com <i>Fusarium</i>	4,41 b	523,40 b	70,8 b
Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>	11,44 a	649,60 a	112,75 a

Solo	pH não rizosférico		pH rizosférico	
	Inoc. com <i>Fusarium</i>	Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>	Inoc. Com <i>Fusarium</i>	Sem Inoc. com <i>Fusarium</i>
Arenoso	4,97 Aa	4,56 Bb	4,91 Aa	4,58 Ba
Argiloso	4,89 Aa	4,78 Aa	4,56 Ab	4,71 Aa

Solo	pH não rizosférico		pH rizosférico		Massa seca da raiz (mg/ planta)	
	NO ₃	NH ₄ ⁺	NO ₃	NH ₄ ⁺	NO ₃	NH ₄ ⁺
Arenoso	4,92 Aa	4,62 Ba	4,88 Aa	4,61 Ba	90,19 Aa	39,58 Bb
Argiloso	4,92 Aa	4,75 Aa	4,65Ab	4,62 Aa	118,29 Aa	119,12 Aa

Dose de N (kg ha ⁻¹)	Massa seca da raiz (mg planta ⁻¹)	
	Solo	
	Arenoso	Argiloso
0	50,75 Ba	129,31 Aa
120	79,12 Aa	108,10Aa

Dose de N (kg ha ⁻¹)	Número de nódulos/ planta		pH rizosférico		Massa seca de parte aérea (mg planta ⁻¹)		Massa seca da raiz (mg planta ⁻¹)	
	NO ₃	NH ₄ ⁺	NO ₃	NH ₄ ⁺	NO ₃	NH ₄ ⁺	NO ₃	NH ₄ ⁺
0	8,85 Aa	10,25 Aa	4,77 Aa	4,53 Bb	532,69Aa	528,44 Aa	85,37 Ab	94,69Aa
120	9,56 Aa	3,75 Bb	4,77 Aa	4,70Aa	769,33Aa	515,42 Ba	123,10 Aa	64,02 Bb

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúsculas na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% dentro de cada interação e dentro de cada parâmetro.

Nas interações da Tabela 12, verifica-se que ocorreu interação significativa entre tipo de solo e inoculação com o fungo para as variáveis de pH não rizosférico e pH rizosférico. Em solo arenoso, os valores de pH não rizosférico e rizosférico foram maiores no tratamento em que foi inoculado o fungo. Em solo argiloso, a inoculação não afetou o pH. Para o pH não rizosférico, não ocorreu diferença entre os dois tipos de solo nas plantas crescidas na presença do *Fusarium*, entretanto nas plantas que não foram inoculadas o pH foi maior no solo argiloso. Já para o pH rizosférico, ocorreu diferença entre os dois tipos de solo nas plantas inoculadas com o *Fusarium*, sendo o valor de pH maior no solo arenoso, e nas plantas que não foram inoculadas o tipo de solo não afetou o pH.

O pH não rizosférico e rizosférico e a massa das raízes secas foram influenciados pela interação tipo de solo versus fonte de nitrogênio. Em todas estas variáveis, no solo arenoso, os maiores valores desta interação foram encontrados no tratamento com aplicação de nitrogênio na forma de nitrato. No solo argiloso, não ocorreu diferença entre as duas fontes de nitrogênio em estudo. Os valores do pH não rizosférico das plantas com nitrato e amônio não foram influenciados pelo tipo de solo. Os valores do pH rizosférico das plantas crescidas com nitrato tiveram maiores valores de pH em solo arenoso, no entanto quando cresceram com amônio, não foram encontradas diferenças significativas entre elas. A massa das raízes secas não foi influenciada pelo tipo de solo quando foram crescidas com nitrato, porém quando se aplicou amônio, a maior massa das raízes secas foi de planta cultivada em solo argiloso.

Nos dados da interação dose de nitrogênio x tipo de solo, pode ser observado que sem aplicação de nitrogênio a massa das raízes secas foram maiores em solo argiloso. A massa da raiz seca não sofreu influência significativa dos tipos de solos utilizados no trabalho com aplicação de nitrogênio. Não ocorreu diferença significativa para nenhum parâmetro em avaliação entre as duas doses de nitrogênio para cada tipo de solo. Em ambos os solos, arenoso e argiloso, as doses de nitrogênio não influenciaram significativamente a massa de raízes secas.

Ocorreu a interação entre dose e fonte de nitrogênio para pH rizosférico, massas secas da parte aérea e raízes. Somente ocorreu diferença significativa entre as fontes para os valores de pH rizosférico quando não foi feita a adição de nitrogênio, que foi maior na fonte de nitrogênio nitrato. Na dosagem de 120 kg ha⁻¹, não ocorreu diferença entre as fontes de nitrogênio para os valores de pH rizosférico, entretanto, para as outras variáveis, os maiores valores foram referentes a fonte nitrato. As doses de nitrogênio não influenciaram o pH rizosférico e massa da parte aérea seca quando foi aplicado nitrato, entretanto, influenciaram na massa seca da raiz, onde os maiores valores foram referentes a dosagem de 120 kg ha⁻¹. Na fonte amônio, a massa das raízes secas foram maiores quando não foi aplicado o nitrogênio e o pH rizosférico foi maior quando aplicado nitrogênio na dose de 120 kg ha⁻¹. As doses de nitrogênio não influenciaram na massa seca da parte aérea da planta.

O pH não rizosférico e rizosférico e a massa das raízes secas foram influenciados pela interação tipo de solo versus fonte de nitrogênio. Em todas estas variáveis, no solo arenoso, os maiores valores desta interação foram encontrados no tratamento com aplicação de nitrogênio na forma de nitrato. No solo argiloso, não ocorreu diferença entre as duas fontes de nitrogênio em estudo. Os valores do pH não rizosférico das plantas com nitrato e amônio não foram influenciados pelo tipo de solo. Os valores do pH rizosférico das plantas crescidas com nitrato tiveram maiores valores de pH em solo arenoso, no entanto quando cresceram com amônio, não foram encontradas diferenças significativas entre elas. A massa das raízes secas não foi influenciada pelo tipo de solo quando foram crescidas com nitrato, porém quando se aplicou amônio, a maior massa das raízes secas foi de planta cultivada em solo argiloso.

Nos dados da interação dose de nitrogênio x tipo de solo, pode ser observado que sem aplicação de nitrogênio a massa das raízes secas foram maiores em solo argiloso. A massa da raiz seca não sofreu influência significativa dos tipos de solos utilizados no trabalho com

aplicação de nitrogênio. Não ocorreu diferença significativa para nenhum parâmetro em avaliação entre as duas doses de nitrogênio para cada tipo de solo. Em ambos os solos, arenoso e argiloso, as doses de nitrogênio não influenciaram significativamente a massa de raízes secas.

Ocorreu a interação entre dose e fonte de nitrogênio para pH rizosférico, massas secas da parte aérea e raízes. Somente ocorreu diferença significativa entre as fontes para os valores de pH rizosférico quando não foi feita a adição de nitrogênio, que foi maior na fonte de nitrogênio nitrato. Na dosagem de 120 kg ha⁻¹, não ocorreu diferença entre as fontes de nitrogênio para os valores de pH rizosférico, entretanto, para as outras variáveis, os maiores valores foram referentes a fonte nitrato. As doses de nitrogênio não influenciaram o pH rizosférico e massa da parte aérea seca quando foi aplicado nitrato, entretanto, influenciaram na massa seca da raiz, onde os maiores valores foram referentes a dosagem de 120 kg ha⁻¹. Na fonte amônio, a massa das raízes secas foram maiores quando não foi aplicado o nitrogênio e o pH rizosférico foi maior quando aplicado nitrogênio na dose de 120 kg ha⁻¹. As doses de nitrogênio não influenciaram na massa seca da parte aérea da planta.

4.5 Experimento 4 – Efeito de diferentes concentrações de inóculo de *Fusarium* na percentagem de infecção de plantas – Experimento conduzido em casa de vegetação.

Neste experimento, foram utilizadas as mesmas fontes de nitrogênio dos experimentos em câmara de crescimento (nitrato e amônio) com três doses de nitrogênio (0, 30 e 120 kg ha⁻¹) e três concentrações do inóculo (0, 10³ e 10⁶ conídios mL⁻¹), utilizando-se como substrato areia esterilizada.

4.5.1 Coleta realizada aos 14 dias após o plantio (DAP) - Experimento 4

Na Tabela 13, encontram-se os dados da percentagem de plantas da cultivar Diamante Negro (mais suscetível ao fungo) infectadas por *Fusarium*. Sendo estes dados obtidos na primeira avaliação, realizada aos 14 DAP. Estão nesta mesma tabela as outras variáveis avaliadas, que são o número de nódulos por planta, o pH não rizosférico e rizosférico, massa da parte aérea seca e a massa da raiz seca, com seus respectivos valores de Pr_≥F analisados pela análise de variância geral de cada parâmetro no experimento. Podem ser observadas na tabela que nas plantas supridas com nitrato, foram encontradas 66% de plantas infectadas quando inoculação foi realizada com 10³ conídios mL⁻¹ e 50% de plantas infectadas quando inoculadas com 10⁶ conídios mL⁻¹. Nas plantas supridas com amônio, todas as plantas com inoculação foram infectadas.

Ainda na Tabela 13, os valores de Pr _≥ F indicaram que ocorreram diferenças significativas estatisticamente para as seguintes fontes de variação: efeito da inoculação do *Fusarium* no número de nódulos por planta, no pH não rizosférico, no pH rizosférico e na massa da parte aérea seca; efeito da dose de nitrogênio no número de nódulos por planta, pH não rizosférico e pH rizosférico; efeito da fonte nitrogenada no número de nódulos por planta, pH rizosférico e massa da parte aérea e raízes secas.

Na Tabela 14 estão os efeitos isolados da fonte de variação em que ocorreu diferença significativa na análise isolada do fator, mas em que o próprio fator de variação não fez parte de nenhuma interação dupla significativa. As interações duplas significativas encontradas na Tabela 13 foram desdobradas e apresentadas na Tabela 14.

Podem ser verificados na Tabela 14, que ocorreram diferenças significativas entre as diferentes concentrações de conídios inoculados nas plantas. O número de nódulos por planta, os valores de pH não rizosférico e a massa seca da parte aérea foram maiores nas plantas sem inoculação com fungo e com inoculação na concentração de 10⁶ conídios mL⁻¹. O pH não

rizosférico foi influenciado pelas doses de nitrogênio, sendo o maior valor de pH quando a dose de nitrogênio foi de 120 kg ha⁻¹. Estas diferenças foram verificadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Quando foi realizado o desdobramento da interação significativa fontes de nitrogênio x concentração de inóculo no parâmetro pH da rizosfera, os dados mostraram que não ocorreu diferenças entre as três concentrações de inóculos usadas quando a planta cresceu suprida com nitrato. Crescendo com a fonte amônio, o maior pH ocorreu quando a inoculação com o fungo foi realizada na concentração de 10³ conídios mL⁻¹. Dentro de cada concentração de inóculo, a fonte de nitrogênio influenciou no pH da rizosfera, sendo que a fonte nitrato sempre proporcionou o maior pH.

A interação dose de nitrogênio x fonte de nitrogênio ocorreu para número de nódulos por planta, pH da rizosfera, massa seca da parte aérea e das raízes.

Analisando as fontes nitrogenadas na dose 0 kg ha⁻¹, em todas as variáveis, só ocorreu diferença entre elas, no parâmetro na massa das raízes secas. Neste caso não era para ser esperado nenhum efeito de significância, pois se trata de valores obtidos nas mesmas condições, ou seja, sem adição de nitrogênio. Na dose de 30 kg ha⁻¹ só não ocorreu diferença entre as fontes nitrogenadas para o parâmetro número de nódulos por planta. Para as demais variáveis ocorreu diferença entre as fontes de nitrogênio, sendo que os maiores valores foram encontrados quando as plantas foram supridas com nitrato. Na dosagem de 120 kg ha⁻¹, em todas as variáveis avaliadas, os maiores valores foram encontrados na fonte nitrato.

Tabela 13: Dados percentuais de plantas infectadas por *Fusarium* e de plantas com presença de nódulos e análise estatística geral ($Pr \geq F$) dos dados médios das variáveis avaliadas em plantas de feijão realizada aos 15 dias após o plantio no experimento 4, localizado em casa de vegetação.

Fonte de N	Dose N (kg ha ⁻¹)	Percentual de plantas infectadas por <i>Fusarium</i>			Número de nódulos planta ⁻¹			pH não rizosférico			pH rizosférico			Massa seca de parte aérea (mg planta ⁻¹)			Massa seca de raiz (mg planta ⁻¹)			
		0	10 ³	10 ⁶	0	10 ³	10 ⁶	0	10 ³	10 ⁶	0	10 ³	10 ⁶	0	10 ³	10 ⁶	0	10 ³	10 ⁶	
		Conídios mL ⁻¹																		
	0	0	0	0	37,50	3,5	16,25	4,51	4,87	4,16	5,74	5,86	5,92	429,50	388,00	475,00	184,50	166,30	196,50	
NO ₃ ⁻	30	0	0	0	16,00	6	23,25	4,70	5,10	4,92	5,98	6,10	6,27	490,50	507,50	497,25	150,30	188,70	176,00	
	120	0	66	50	23,75	0	8,75	5,11	5,28	5,42	6,85	6,45	6,71	707,50	500,25	838,75	223,00	148,00	244,50	
NH ₄ ⁺	0	0	50	25	37,50	0	27	4,99	4,67	4,58	5,94	6,19	5,28	323,50	298,00	428,75	112,00	113,00	162,20	
	30	0	66	25	18,75	0	8,75	4,74	4,95	4,36	5,04	5,72	4,99	365,00	316,00	367,25	107,50	109,00	102,00	
	120	75	-	25	1,50	0	1,25	4,91	5,64	5,03	5,22	5,63	5,49	306,25	161,00	284,75	63,20	56,20	74,50	
CV%						41,24			8,86			4,73			24,78				29,45	
Pr ≥ F																				
Fungo					0,0000			0,0072			0,0167			0,0010			NS			
Dose					0,0000			0,0000			0,0001			NS			NS			
Fonte					0,0086			NS			0,0000			0,0001			0,0001			
Fungo X Dose					0,0209			NS			NS			NS			NS			
Fungo X Fonte					NS			NS			0,0001			NS			NS			
Dose X Fonte					NS			NS			0,0000			0,0001			0,0013			
Fungo X Dose X Fonte					NS			NS			0,0404			NS			NS			

NS – não significativo; (-) não foi avaliado

Tabela 14: Dados médios do efeito isolado e dos desdobramentos das interações duplas da análise de variância (Tabela 13) obtidos de plantas de feijoeiro crescidas com diferentes fontes e doses de nitrogênio e inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em diferentes concentrações de inoculo, cultivadas em casa de vegetação e avaliadas aos 15 dias após o plantio.

Inoculação (conídios mL ⁻¹)	Número de nódulos planta ⁻¹		pH não rizosférico		Massa seca de parte aérea (mg planta ⁻¹)	
0	22,5 a		4,83 b		437,04 a	
10 ³	1,58 b		5,14 a		361,80 b	
10 ⁶	14,20 a		4,75 b		481,96 a	

Dose de N (kg ha ⁻¹)	pH não rizosférico	
0	4,63 b	
30	4,79 b	
120	5,28 a	

Fonte de N	pH da rizosfera		
	Inoculação (conídios mL ⁻¹)		
	0	10 ³	10 ⁶
NO ₃	6,19 Aa	6,14 Aa	6,30 Aa
NH ₄ ⁺	5,40 Bb	5,85 Ab	5,25 Bb

Dose de N (kg ha ⁻¹)	Número de nódulos/ planta		pH da rizosfera		Massa seca de parte aérea (mg planta ⁻¹)		Massa seca da raiz (mg planta ⁻¹)	
					Fonte de N			
	NO ₃	NH ₄ ⁺	NO ₃	NH ₄ ⁺	NO ₃	NH ₄ ⁺	NO ₃	NH ₄ ⁺
0	19,08 Aa	21,50 Aa	5,84 Ac	5,81Aa	4543,25 Ac	4351,33 Aa	182,42 Aa	129,08 Ba
30	15,08 Aab	9,16 Ab	6,12 Ab	5,25Bb	5430,33 Ab	4267,33 Ba	171,75 Aa	106,25 Ba
120	10,83 Ab	0,92 Bc	6,67 Aa	5,45 Bb	8184,08 Aa	3790,33 Ba	205,17 Aa	64,67Ba

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% dentro de cada interação e cada parâmetro.

Dentro de cada fonte de nitrogênio pode ser observado que quando a fonte foi nitrato, o número de nódulos foi maior na dosagem 0 kg ha⁻¹ e menor na dosagem 120 kg ha⁻¹, entretanto a dosagem de 30 kg ha⁻¹ não se diferiu estatisticamente das dosagens anteriormente citadas. Na fonte amônio, o número de nódulos foi decrescente com relação ao aumento da dose de nitrogênio, mostrando claramente o efeito inibitório da nodulação nesta fonte. Dentro da fonte nitrato, o pH da rizosfera aumentou de forma crescente em relação ao aumento da dose de nitrogênio. Já para a fonte amônio não ocorreu diferença significativa nos valores de pH entre as de 30 e 120 kg ha⁻¹, sendo o maior valor foi encontrado no tratamento sem adição de nitrogênio. A massa seca da parte aérea aumentou conforme se aumentou a dose de nitrogênio na fonte nitrato. Na fonte amônio não ocorreu diferença significativa entre as três doses de nitrogênio. A massa seca das raízes não sofreu influência das doses de nitrogênio dentro de cada fonte de nitrogênio.

4.5.2 Coleta aos 21 dias após o plantio (DAP) - Experimento 4

Esta segunda coleta realizada neste experimento também não teve seus dados aqui tabulados e avaliados pelo mesmo motivo ocorrido nos experimentos 4 e 5, tornando os resultados pouco confiáveis.

5. DISCUSSÃO

5.1 Liberação de OH⁻/H⁺ pelas raízes

Na literatura existem inúmeros trabalhos mostrando explicações para o fato de células liberarem OH⁻ ou H⁺ para não ficar desequilibrada eletroquimicamente e morrer. O desequilíbrio é na maioria dos casos provocado pela absorção diferenciada de cátions e ânions. O elemento químico nitrogênio é o nutriente com carga ativa absorvida e assimilada em maior quantidade pela planta, por isso é fundamental no processo de equilíbrio. O excesso de carga devido a sua assimilação é liberado através de OH⁻ ou H⁺ (Raven & Smith 1976; Horst & Marschner 1982; Raven 1985). Plantas deficientes de nitrogênio também acidificam a rizosfera. Esta liberação de OH⁻ ou H⁺ ocorre na região da rizosfera, local onde acontece a maioria dos processos de absorção de nutrientes e penetração de organismos patogênicos ou não. Neste presente trabalho a adição de nitrato (NO₃⁻), amônio (NH₄⁺) ou de plantas fixando nitrogênio atmosférico (N₂ → H⁺) visava alterar o pH desta região da rizosfera e verificar se isto influenciava a infecção de plantas de feijoeiro por *F. oxysporum*.

No geral, os resultados dos experimentos realizados neste trabalho estão de acordo com dados da literatura, ou seja, a liberação de OH⁻ ou H⁺ de acordo com a fonte de nitrogênio aplicada para a planta. O pH não rizosférico e rizosférico aumentou com a fonte nitrogênio nitrato e diminuiu com a fonte amônio e com as plantas fixando nitrogênio atmosférico. Estes resultados encontrados estão de acordo com vários autores que encontraram os mesmos resultados (Raven *et al.*, 1990; Jacob-Neto, 1993).

A análise do pH da rizosfera é a quantificação mais fácil de ser realizada para determinar se ocorreu à liberação de cargas (OH⁻ ou H⁺). Seu uso também foi eficaz em estudos de toxidez de alumínio como relatados por Jacob-Neto (1993) que verificou que a adição de nitrato ao meio de crescimento das plantas não modificou a toxidez de alumínio. Entretanto, trabalhos associando esta liberação de OH⁻ ou H⁺ a micro-organismo na rizosfera é mais difícil de ser encontrado na literatura (Carvalho, 2003; Carvalho *et al.*, 2005).

A análise do pH da solução nutritiva das plantas também pode ser usado como indicador de variação da liberação de OH⁻ ou H⁺, que neste caso, poderá ser até quantitativa usando a titulação da solução (Allen *et al.*, 1986; Jacob-Neto, 1993). No solo argiloso o pH da rizosfera e não rizosférico foram maiores do que no solo arenoso, embora a amplitude de variação entre os valores de pH no solo arenoso fossem maiores, ou seja, maior influência da fonte nitrogenada caracterizando um possível efeito do poder tampão do solo. Em determinados casos neste trabalho, os valores de pH da rizosfera e não rizosférico foram muito semelhantes.

Na maioria dos experimentos foi usado como substrato de crescimento a areia, que apesar de ter demonstrado certa capacidade de conduzir prótons, não é um bom condutor de eletricidade ao contrário da argila, que possui alta condutividade (Banton *et al.*, 1997; Lund *et al.*, 1998). Por esta razão, a medição do pH em areia não é fácil de ser realizado. O meio de crescimento para as plantas deve possuir características de homogeneidade, ter uma boa porosidade e baixa densidade, além de uma boa capacidade de troca catiônica (CTC), ser isento de qualquer tipo de pragas ou organismos patogênicos (Simão, 1971; Santos *et al.*, 2000), por isso o substrato deve ser preferencialmente esterilizado (Coutinho & Carvalho, 1983). A areia possui como características uma maior densidade, o que pode afetar no crescimento de raízes, possuindo baixa retenção de água. A CTC pode influenciar no potencial de fertilidade do substrato (Kiehl, 1979; Carneiro, 1995) e no trabalho realizado por Hoffmann Júnior *et al.*, (2007) a CTC da areia causou problemas no desenvolvimento de feijoeiro devido aos seus valores estarem baixos.

Outro fato observado neste trabalho que deve ser mencionado foi à interação tripla significativa que ocorreu entre três variáveis avaliadas (Presença de *Fusarium*, doses de nitrogênio e fontes de nitrogênio). Este tipo de resposta pode prejudicar as conclusões, pois quando significativas estão sendo interferidas por três fontes de variação ao mesmo tempo confundindo assim seus resultados, mesmo quando realizados os desdobramentos das interações triplas. Entretanto, se for considerado a média percentual do trabalho, a liberação de OH⁻ ou H⁺ devido à absorção de nitrogênio é sujeita a efeito de cultivares, tipo de solo, dosagem de nitrogênio e a outras associações, como a neste caso com o *F. oxysporum*.

5.2 Influências causadas pelo fungo nas plantas

O *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* foi escolhido para ser estudado relacionado ao pH de rizosfera devido aos relatos na literatura associando este patógeno ao ambiente ácido. Waller & Wilson (1984) relataram que a acidez pode aumentar a infecção de determinados patógenos em algumas plantas. Trabalhos de Edgerton & Moreland (1913); Jones *et al.*, 1989; Bergamim Filho (1995) relataram que este micro-organismo causa mais danos à plantas de feijoeiro quando o ambiente de crescimento das plantas for ácido. Isto também foi relatado para outras plantas como tomate (Carvalho, 2003 e Carvalho *et al.*, 2005).

Os resultados encontrados nos experimentos 1, 2, 3, 6 demonstram claramente que em condições de solos arenosos, o uso de nitrato como fonte de nitrogênio diminuiu acentuadamente a percentagem de plantas infectadas com o fungo, como pode ser observado na Figura 3. Nestas condições, somando o uso do nitrato nestes experimentos, na cultivar Diamante Negro, só foram encontradas 35% de plantas infectadas com fusarium, quando foi usado amônio cerca de 84% das plantas foram infectadas. Na cultivar Ouro Negro que é considerada mais resistente ao fusarium, quando crescida com nitrato apenas 4,12% da plantas foram contaminadas com fusarium enquanto que com amônio este valor foi de 26%. Os resultados também demonstram um efeito da cultivar, sugerindo que deve possuir na rizosfera mecanismos especiais de indução a resistência que independe da fonte nitrogenada, embora nitrato tenha também contribuído para diminuir o percentual de infecção em 84,15%. O uso de cultivares resistente é uma das principais práticas de manejo utilizado para diminuir os danos causados por fusarium (Ribeiro *et al.*, 1984), entretanto, não foi encontrado na literatura a razão fisiológica desta resistência. Estes resultados tendem a explicar a interação entre cultivar e fontes nitrogenadas que ocorreram ao longo deste trabalho, sugerindo um possível mecanismo ligado ao metabolismo de nitrogênio na planta induzindo modificações na rizosfera.

Foram encontradas contaminações de fusarium nos tratamentos sem inoculação do mesmo, isto, entretanto não prejudicou as análises dos experimentos, visto que a hipótese teórica deste trabalho foi o de estudar práticas de manejo do controle do *Fusarium* através do uso de fontes de nitrogênio.

Ao se avaliar a influência da presença do fungo no substrato da planta, no geral pode-se observar que os tratamentos sem inoculação com o *Fusarium* proporcionaram maiores massas da planta do que os tratamentos com inoculação do fungo, sendo percebida ou não a infecção do mesmo na planta.

Schuerger & Mitchel (1992) verificaram significativa variação no peso de massa fresca de plantas de feijoeiro quando as plantas foram infectadas por *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. f. sp. *phaseoli* (Berk) Snyder & Hansen.

Fato semelhante foi observado em trabalho por Tolêdo-Souza *et al.* (2009), no qual a matéria seca de plântulas de feijoeiro reduziu progressivamente quando infestadas por *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, *Rhizoctonia solani* e na combinação dos mesmos quando comparadas a plantas sem infestação dos patógenos.

Plântulas de pepino oriundas de sementes inoculadas com *Fusarium moniliforme* reduziram a massa quando comparados aos tratamentos sem a presença do fungo (Meneses *et al.*, 2009).

5.3 Efeitos causados nos nódulos ou no processo de nodulação

As plantas sem adição de nitrogênio mineral, apenas fixando nitrogênio atmosférico, não produziram nódulos em quantidades suficientes devido provavelmente à época de avaliação, com nódulos ainda em formação difícil de detectar, embora com a fonte amoniacal tenha prejudicado mais a nodulação do que o nitrato. Apesar de todas as sementes terem sido inoculadas com bactérias fixadoras de nitrogênio, houve baixa nodulação nas plantas. Vários fatores bióticos e abióticos podem afetar a formação de nódulos (Figueiredo *et al.*, 2008), como as próprias características das plantas, da bactéria e seu estado de conservação, do clima e do solo (Souza *et al.* 2007). Fatores do solo como o pH, presença de Al^{+3} tóxico e baixa disponibilidade de nutrientes podem limitar a nodulação. O pH do solo e a presença de Al^{+++} são dois dos principais fatores abióticos que afetam a sobrevivência e a nodulação pelo rizóbio (Figueiredo *et al.*, 2008). Normalmente as bactérias fixadoras de nitrogênio têm maior eficiência de nodular e fixar nitrogênio quando o pH encontra-se próximo a neutralidade e quando há ausência de Al^{+++} tóxico (Leite & Araújo, 2007). A falta de água também é um fator muito importante e prejudicial à formação de nódulos bem com inoculantes de má qualidade podem afetar diretamente na nodulação (CEPRON AGRO, 2008). Após a formação dos nódulos pode haver também redução na funcionalidade dos mesmos ocasionados por elevada acidez do solo, deficiências de nutrientes como o Mo (Jacob-Neto, 1985, Jacob-Neto & Franco, 1988; Jacob-Neto *et al.*, 1989), P (Jones *et al.*, 1977; Sá & Israel, 1991; Gualter *et al.*, 2008), K (Werner, 1984; Gualter *et al.*, 2008), Mn (Valdez *et al.*, 2000).

Neste trabalho pode ser observado que a dose de 30 kg ha^{-1} de nitrogênio aplicado como nitrato auxiliou no aumento do processo de infecção do rizóbio. Esta dosagem é considerada baixa para a nutrição das plantas, porém no caso específico do feijoeiro poderá ser usada em estudos de fixação biológica do nitrogênio sem prejudicar o processo simbiótico, prática esta que deve ser incentivada aos produtores. Estudos conduzidos por Macedo, R.T. (dados não publicados) do grupo de pesquisa do laboratório de Química da rizosfera, o mesmo de execução deste trabalho, mostraram que apenas as dosagens acima de 60 kg ha^{-1} de nitrogênio afetam o processo de nodulação significativamente em plantas de feijoeiro. Foi encontrado também que a fonte mais prejudicial ao processo de nodulação é o amônio. Estes resultados são diferentes do encontrado por Goi *et al.* (1992) em plantas de *Acácia auriculiformes* florestais, que encontraram efeito benéfico da fonte amoniacal no processo inicial de nodulação.

A cultivar Ouro Negro apresentou percentagem de nodulação muito superior a cultivar Diamante Negro. Esta cultivar Ouro Negro é considerada como de excelente eficiência em fixar nitrogênio atmosférico (EMBRAPA-CNPAF, 2005; EPAMIG), e também considerada uma cultivar resistente ao *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Rocha Júnior *et al.*, 1998; EMBRAPA-CNPAF, 2005). A cultivar Ouro Negro apresentou ainda maior percentagem de nodulação nos tratamentos quando não houve inoculação com o fungo.

De modo geral o número de nódulos da planta foi maior quando as plantas foram crescidas em solo mais argiloso e nos tratamentos sem a inoculação do fusarium. Este resultado sugere que pode ter ocorrido interferência do fusarium no processo de penetração do rizóbio nos pêlos radiculares. Estudos realizados por Smulders (1981) mostram uma ação antagonista entre isolados de *Rhizobium* e patógenos de solo que causam podridão nas raízes de feijoeiro, onde estes isolados inibiram o crescimento radial de espécies de *Fusarium*, mas não inibiram *Rhizoctonia solani* e *Pythium*. Khaleqzaman & Hossain (2008) observaram

também que estirpes de *Rhizobium* reduzira em grande quantidade a podridão de sementes e a podridão da raiz causada por *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* em feijão.

Os substratos de crescimento utilizados neste trabalho de tese foram adubados de forma balanceada segundo os equivalentes dos elementos químicos para ser obtido um balanço de carga equilibrado na planta. Além disso, visou simular uma condição de fertilidade não muito elevada, visto que o feijoeiro no Brasil é cultivado nestes tipos de solos e por pequenos produtores (Teixeira, 2002). O entendimento do equilíbrio nutricional da planta poderá ajudar os pesquisadores e produtores a adotarem técnicas de manejo sustentáveis e mais ecológicas. No caso deste trabalho foi encontrado que o uso de nitrato em baixas doses, para não afetar a fixação biológica do nitrogênio, poderá ajudar a reduzir as infecções por *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

Quando as plantas foram cultivadas em solo arenoso e argiloso, observou-se maior massa quando as plantas não haviam sido inoculadas, independente do substrato em que foram cultivadas.

O meio de crescimento para as plantas deve possuir características de homogeneidade, ter uma boa porosidade e baixa densidade, além de uma boa capacidade de troca catiônica (CTC), ser isento de qualquer tipo de pragas ou organismos patogênicos (Simão, 1971; Santos *et al.*, 2000), por isso o substrato deve ser preferencialmente esterilizado (Coutinho & Carvalho, 1983).

6. CONCLUSÕES

- A utilização de nitrato como fonte de nitrogênio pode auxiliar no controle da doença murcha-de-fusarium transmitida pelo patógeno de solo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.
- A associação cultivar mais resistente com a fonte de nitrogênio mineral nitrato praticamente eliminou a infecção das plantas pelo *F. oxysporum*.
- Os resultados deste trabalho sugerem que existiu interação entre o metabolismo do nitrogênio na planta e o processo de infecção do *F. oxysporum*.
- No solo argiloso o pH da rizosfera e não rizosférico foram maiores do que no solo arenoso, caracterizando um possível efeito do poder tampão do solo.
- A fonte amoniacal prejudicou mais a nodulação do que o nitrato.
- A cultivar Ouro Negro foi mais tolerante ao Fusarium.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAWI, G. S. Root rots. In: SCHWARTZ, H. F.; PASTOR-CORRALES, M. A. (Ed.). Bean production problems in the tropics. **2. ed. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical**, p. 105-157.,1989.

ABAWI, G.S. & PASTOR CORRALES, M.A.. Root rots of beans in Latin America and África: Diagnosis, research methodologies, and management strategies. **Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)**, Cali, Colombia, 114p. 1990

ABREU, A.F.B. Doenças e Métodos de Controle. In: Cultivo do Feijão da Primeira e Segunda Safra na Região Sul de Minas Gerais. Embrapa Arroz e Feijão. Sistemas de Produção, No.6. ISSN 1679-8869, Versão eletrônica .Dezembro/2005.
<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoPrimSegSafraSulMG/doencas.htm>. Acesso em: 28/04/2008.

ABREU, A.F.B. & RAMALHO, M.A.P. Doenças e Métodos de controle. In: Cultivo de feijão irrigado na região Noroeste de Minas Gerais. Embrapa Arroz e Feijão. Sistema de Produção, Nº.5. 2005.
<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoIrigadoNoroesteMG/doencas.htm>. Acesso em: 28/04/2008.

ADISSI, P.J.; SOBREIRA, A.E.G. Mapeamento de riscos decorrentes do uso de agrotóxicos na horticultura paraibana. João Pessoa, P.B: UFPBA,. (**Relatório Técnico**). 7p,1999.

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. San Diego, Academic Press.803p, 1988.

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. New York, Academic Press. 635p, 1997.

ALLEN, S. & SMITH, J.A.C. Ammonium Nutrition in *Ricinus communis*: Its effect on plant growth and the chemical composition of the whole plant, xylem and phloem saps. **Journal of Experimental Botany**, v.37, n.11, p.1599-1610, 1986.

ALÓJ, B.; MARZIANO, F.; ZOINA, A.; NOVIELLO, C. La tra cheofusariosi Del fagiolo in Itália. **Inf. Fitopatol.**, v.11, n.1, p. 63-66, 1983.

ANDEF. Associação Nacional de Defensivos Agrícolas. Disponível:
<http://www.undef.com.br>. Acesso em: 09/07/10

ANTUNES, I.F.; SILVEIRA, E.P. O feijão no Rio Grande do Sul – Commodity e Alimento. Série Culturas (Feijão), **Assembléia Legislativa do Rio Grande do Sul, Comissão de Agricultura, Pecuária e Cooperativismo**. Porto Alegre, 47p, 2000.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. <http://portal.anvisa.gov.br/> Acesso: 07/01/2010.

AOKI, K. O'DONNELL, Y. HOMMA AND A.R. LATTANZI. Sudden death syndrome of soybean is caused by two morphologically and phylogenetically distinct species within the *Fusarium solani* species complex—*F. virguliforme* in North America and *F. tucumaniae* in South America, **Mycologia** 95, p. 660–684, 2003.

ARAÚJO, G.A. de A.; VIEIRA, C.; SOUZA FILHO, B.F. de. "Ouro Negro" nova variedade de feijão-preto para os estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro. Belo Horizonte: Epamig, 2p. (**Boletim técnico, 1**), 1991.

ARAÚJO, G.A.A.; VIEIRA, C. & MIRANDA G.V. Efeito da época de aplicação do adubo nitrogenado em cobertura sobre o rendimento do feijão, no período de outono-inverno. **R. Ceres**, 41:442-450, 1994.

ARAÚJO, S.M.M. et al. Uso de inseticidas organofosforados nos Pólos de produção na ilha de São Luís (MA): condições de trabalho e contaminação de hortaliças. **Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio ambiente**, Curitiba, v.11, p.159-179, jan./dez. 2001.

ARAÚJO, A. P.; TEIXEIRA, M. G. & LIMA, E. R. Efeitos do aumento do teor de fósforo na semente, obtido via adubação foliar, no crescimento e na nodulação do feijoeiro. **R. Bras. Ci. Solo**, 26:183-189, 2002.

ARAÚJO, A.S.F & CARVALHO, E.M.S. Universidade Federal do Piauí Pró-Reitoria de Extensão Centro de Ciências Agrárias. **Comunicado Técnico**, n. 11, p. 1-4, abril 2006.

ARF, O.; FERNANDES, F.M. & JACOMINO, A.P. Comparação de fontes e doses de adubos nitrogenados na cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado no sistema de plantio direto. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 3., Vitória, 1990. **Resumos...** Vitória, EMBRAPA/CNPAP, p.225, 1990.

ARTI DUGGAL, M.T.; DUMAS, R.S.; JENG AND HUBBES, M.. Ribosomal variation in six species of shape Fusarium. **Mycopathologia**. v. 140, n. 1, 35-49. 1997.

ARYA, N. & KUWATSUKA, S. Changes in populations and activity of three Fusarium spp. in soils with different properties. **Soil Science. Plant Nutrition** , v.39, p.389-397. 1993.

BANTON, O.; SEGUIN, M.K.; CIMON, M.A. Mapping field-scale physical properties of soil with electrical resistivity. **Soil Science Sociedade American Journal**, v.61, p.1010-1017, 1997.

BARKER, A.V.; VOLK, R.Y. & JACKSON, W.A. Growth and nitrogen distribution patterns in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) subjected to ammonium nutrition: I. Effects of carbon and acidity control. **Soil Science. Soc. Am. Proc.**, v.30, p.228-232, 1986.

BAKER, K.F. Evolving concepts of biological control of plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.25, p.67-85,1987.

BALARDIN, R.S.; COSTA, E.C.; RIBEIRO, N.D.; DUTRA, L.M.C.; COSTA, I.F.D. Feijão – Recomendações técnicas para cultivo no Rio Grande do Sul. Santa Maria, RS. 2000.

BASSAN, D.A.Z et al. Inoculação de sementes e aplicação de nitrogênio e molibdênio na cultura do feijão de inverno: produção e qualidade fisiológica de sementes. **R. Bras. Sementes**, v.23, p.76-83, 2001.

BECKER, T.W. et al. Subcellular and immunocytochemical localization of the enzymes involved in ammonia assimilation in mesophyll and bundle-sheath cells of maize leaves. **Planta**. V.191, p.129-136, 1993.

BECKMAN, C.H. The nature of wilt diseases of plants. **Am. Phytopathol. Soc.** Press, St. Paul, MN, USA. 1987.

BEDENDO, I.P. Doenças Vasculares. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (Eds) Manual de Fitopatologia. 3. ed. São Paulo: **Agronômica Ceresp.**, 838-847, 1995.

BELTRANO, J.; RONCO, M.G.; BARREIRO, R. & MONTALDI, E.R. Plant architecture of *Paspalum vaginatum* Schwartz modified by nitrate and ammonium nutrition. **Pesq. Agropec. Bras.**, 34:1159-1166, 1999.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.G. Doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2, c.34., p.376-399, 1997.

BILAI, V.I. Ann. Acad. Sci. Fenn. Ser. A4. 168, 19-33. 1970.

BLOOM, A.J., SUKAPANNA, S.S. & WARNER, R.L. Root respiration associated with ammonium and nitrate absorption and assimilation by barley. **Plant Physiology** 99: 1294-1301. 1992.

BOLETIM TÉCNICO – CEPRON AGRO 2008. <http://www.cepron.com.br/boletim1.html> (acesso em 11/05/10)

BOOTH, C. **The genus Fusarium**. Commonwealth Mycological Institute, Kew, United Kingdom. 1971.

BORÉM, A.; CARNEIRO, J.E.S. A cultura. In: VIEIRA, C.; JÚNIOR, T.J.P.; BORÉM, A. **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. Viçosa: UFV, p. 13-17. 1998.

BREDEMEIER, C. & MUNDSTOCK, C.M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 365-372, 2000.

BULISANI, E. A. Feijão: fatores de produção e qualidade. Campinas: **Fundação Cargill**, 326p. 1987

BURGESS, L. W., SUMMERELL, B. A., BULLOCK, S., GOTT, K. P., AND BACKHOUSE, L. W. **Laboratory Manual for Fusarium Research**, 3rd ed. University of Sydney/Royal Botanic Gardens, Sydney, Australia. 1994.

CARDOSO, C.O.N.; KIMATI, N.H.; FERNADES, N.G.; Nota sobre ocorrência de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* Kendrick e Snyder, causando murcha vascular em feijoeiro. **Anais**. Escola Superior de agricultura “Luiz de Queiroz”, v.23, p.273-276, 1966.

CARDOSO, A.A.; FONTES, L.A.N. & VIEIRA, C. Efeitos de fontes e doses de adubo nitrogenado sobre a cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **R. Ceres**, 25:292-295, 1978.

CARDOSO, J.E.; RAVA, C.A. e SARTORATO, A., Doenças causadas por fungos de solo. In: ARAÚJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M.J.O. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba, SP, Associação Brasileira para pesquisa do potássio e do fosfato, seção V, p. 701-722, 1996.

CARNEIRO, J.G.H. **Produção e controle de qualidade de mudas florestais**. Curitiba: UFPR/FUPEF, 451 p., 1995.

CARVALHO, W.L.; MUCHOVEJ, J.J. Fungos associados a sementes de essências florestais. **Revista Árvore**, Viçosa, v.15, n.2, p. 173-178, 1991.

CARVALHO, M.A.C.; ARF, O.; SÁ, M.E.; BUZETTI, S.; SANTOS, N.C.B.; BASSAN, D.A.Z. Produtividade e qualidade de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) sob influência de parcelamentos e fontes de Nitrogênio. **R. Bras. Ci. Solo**, 25:617-624, 2001.

CARVALHO, A. O. **Influência a fonte de nitrogênio no pH da rizosfera e na colonização de plantas de tomate por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (SACC.) Snyder & Hansen**. (Tese de Doutorado). Seropédica. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 2003.

CARVALHO, A.O., JACOB NETO, J. & CARMO, M.G.F. Colonização de raízes de tomateiro por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* em solução nutritiva com três fontes de nitrogênio. **Fitopatologia Brasileira** 30:26-32. 2005.

CONAB 2009 – www.conab.gov.br. Data de acesso: 12/03/2010.

COSTA, A.F da.; MENEZES, M.; MIRANDA, P. Ocorrência de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* Kendrick Snyder em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em Pernambuco, Alagoas. In: Reunião Nacional de Pesquisa de feijão, 1., Goiânia, 1982. **Anais**. Goiânia: EMBRAPA CNPAF, p.282-284, 1982.

COUTINHO,C.J.; CARVALHO, C.M. O uso da vermiculita na produção de mudas florestais. In: ENCONTRO NACIONAL DE REFLORESTADORES, 7., Curitiba. **Anais...Curitiba**,1983. p.54-63. 1983.

CRUSCIOL, C.A.C.; SORATTO, R.P.; SILVA, L.M.; LEMOS, L.B. Fontes e doses de nitrogênio para o feijoeiro em sucessão a gramíneas no sistema plantio direto. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**. v.31 n.6. Viçosa Nov./Dec. 2007.

DARRAH, P.R. The rhizosphere and plant nutrition: a quantitative approach. **Plant Soil**. 155/156, 1-20. 1993.

DE HOOG, G.S.; GUARRO J.; GENÉ J. et al. Atlas of clinical fungi. 2.ed. Tarragona: Universitat Rovira i Virgili, 126p. 2000.

DESJARDINS, A.E.; MANANDHAR, G.; PLATTNER, R.D.; MARAGOS, C.M. SHRESTHA, K.; McCORMICK, S.P. Occurrence of *Fusarium* Species and Mycotoxins in Nepalese Maize and Wheat and the Effect of Traditional Processing Methods on Mycotoxin Levels. **J. Agric. Food Chem.** 48 (4), p. 1377–1383. 2000.

DÍAZ-MÍNGUEZ, J.M., ALVES-SANTOS, F.M., BENITO, E.P. AND ESLAVA, A.P., Fusarium wilt of common bean in the Castilla y León region of Spain. **Plant Disease** 80, p. 600, 1996.

DIEST, A.V. Volatilización del amoníaco en los suelos anegados, y sus repercusiones en el rendimiento del arroz. . **P.imprenta**: 37:1-6, 1988.

DOMSCH, K.H.; GAMS, W.; ANDERSON, T.H. Compendium of soil fungi. London: **Academic Press**, 859p. 1980.

DONGO, S. L.; MULLER, L. E. Estudio sobre La patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em frijol: II. Pruebas varietales. **Turrialba**, San José, v. 19, n. 1, p. 82-90, 1969.

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

EDGERTON, C.W & MORELAND, C.C. **The beanblight and preservation and treatment of bean seed.** (Bull. La Agr. Exp. Stat. 1913. p. 139.) [Referring to *Pseudomonas phaseoli* – Trelease]. 1913.

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Rio de Janeiro (RJ). Manual de Métodos de análise de solo. Rio de Janeiro. 212p, 1997.

EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO. Cultivares de Feijão. In: Feijão. <http://www.cnpaf.embrapa.br/feijao/diamantenegro.htm> . Acesso: 28/04/2008. 2005.

FARIA, N.M et al. Trabalho rural e intoxicação por agrotóxicos. **Caderno de saúde pública**, Rio de Janeiro, 20 (5): 1298-1308, set.-out., 2004.

FIGUEIREDO, M.V.B.; LIRA JÚNIOR, M.A.; ARAÚJO, A. S. F.; SILVEIRA, J. A. G. Fatores bióticos e abióticos à fixação biológica de N₂. In: FIGUEIREDO, M.V.B.; BURITY, H.A.; STAMFORD, N.P.; SANTOS, C.E.R.S. (Org.). **Micro-organismos e Agrobiodiversidade: o novo desafio para agricultura.** Guaíba: Agrolivros, p. 39-64. 2008.

FORDE, B.G. Nitrate transporters in plants: structure, function and regulation. **Biochimica et Biophysica Acta** 1465: 219-235, 2000.

FOSTER, J. E. "**On Economic Poverty: A Survey of Aggregate Measures**", Advances in Econometrics, 3, 215-251. 1984.

FOSTER, J. W. & SPECTOR, M. P. Phosphate starvation regulon of *Salmonella typhimurium*. **J. Bacteriol.** 166:666-669. 1986.

FREDEEN, A.L.; FIELD, C.B. Ammonium and nitrate uptake in gap: generalist and understory species of the genus Piper. **O ecology**, v.92, p.207-214, 1992.

GASHAW, L & MUGWIRA, L.M. Ammonium-N and nitrate-N effects on the growth and mineral compositions of triticale, wheat, and rye. **J.Agron**, 73:47-51, 1981.

GASSER, J.K.R. Transformation, leaching and uptake of fertilizer nitrogen applied in autumn and spring to winter wheat on a heavy soil. **Journal of the Science Food Agriculture**, London, v.12, p.375-380, 1961.

GRAHAM, P.H. Stress tolerance in *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and nodulation under adverse soil conditions. **Can. J. Microbiol.**, 38:475-484, 1992.

GODOY, P.; COLOMBO, A.L. Biologia e relevância clínica das espécies do gênero *Fusarium* spp. **Prática Hospitalar**, v. 11, n. 34, p.136-140. 2004

GOI, S.R., SPRENT, J.I., JAMES, E.K., JACOB-NETO, J. Influence of nitrogen form and concentration on nitrogen fixation of *Acacia auriculiformis*. **Symbiosis** 14:115-112. 1992.

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

GUALTER, R.M.R.; Leite, L.F.C.; Araújo, A.S.F.; Alcantara, R.M.C.M.; Costa, D.B. Inoculação e adubação mineral em feijão-caupi: efeitos na nodulação, crescimento e produtividade. **Scientia Agrária**, v.9, n.4, p.469-474, 2008.

GUERRA, A.F.; SILVA, D.B. da & RODRIGUES, G.C. Manejo de irrigação e fertilização nitrogenada para o feijoeiro na região dos cerrados. **Pesq. agrop. bras**, Brasília, 35: 1229-1236, 2000.

HAGEDORN, D.J. Fusarium Yellow. In: HALL, R. (Ed.). **Compendium of bean diseases**. Ontario: APS. Press, p.20-21, 1991.

HAYNES, R. J. Active ion uptake and maintenance of cation-anion balance: A critical examination of their role in regulating rhizosphere pH. **Plant and Soil**. v. 126, n. 2, 247-264. 1990.

HILTNER, L. Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie unter besonderer Berücksichtigung der Grundung und Brache. **Arbeiten der Deutschen Landwirtschaftlichen Gesellschaft**, 98, p.59-78. 1904.

HINSINGER, P. & GILKES, R.J. Root-induced dissolution of phosphate rock in the rhizosphere of lupins grown in alkaline soil. **Australian Journal of Soil Research**. 33, p.477-489, 1995.

HINSINGER, P. How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere. **Adv. Agron.** 64, 225-265. 1998.

HINSINGER, P.; PLASSARD, C.; TANG, C.; JAILLARD, B. Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: A review. **Plant and Soil** 248: 43-59, 2003.

HOFFMANN JÚNIOR, L.; RIBEIRO, N.D.; DOS SANTOS, O.S.; MEDEIROS, S.L.P.; JOST, E.; POERSCH, N.L. Substratos para cultivo de feijoeiro em vasos com fertirrigação. **Bragantia**, Campinas, v.66, n.1, p.141-145, 2007.

HÖPPER, H., STEINBERG, C. & ALABOUVETTE, C. Involvement of clay type and pH in the mechanisms of soil suppressiveness to fusarium wilt of flax. **Soil Biological and Biochemistry** 27:955-967. 1995.

HORST, W.J.; WAGNER, A.; MARSCHNER, H. Mucilage protects root meristems from aluminium injury. **Z. Pflanzenphysiol.** 105. 435-44. 1982.

HUBER, D.M.; WARREN, H.L.; NELSON, D.W.; TSAI, C.V. Nitrification inhibitors: New tool for food production. **BioScience**, Washington, v.27, p.523-529, 1977.

HUNGRIA, M.; ANDRADE, D.S.; CHUEIRE, L.M.O.; PROBANZA, A.; GUTTIERREZ-MANERO, F.J. & MEGIAS, M. Isolation and characterization of new efficient and competitive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from Brazil. **Soil Biol. Biochem.**, 32:1515-1528, 2000.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. Londrina: Embrapa Soja, (Embrapa Soja. **Circular Técnica**, 35; Embrapa Cerrados. **Circular Técnica**, 13). 48p. 2001.

IBGE 2009 – www.ibge.gov.br. Data de acesso: 12/03/2010.

ITO, M.A. Patogenicidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, adubação nitrogenada e produtividade de feijão. Piracicaba, 61p. Dissertação (Mestrado). ESALQ, Universidade de São Paulo. 2004.

JACOB-NETO, J. **Variação estacional, concentração nas sementes e níveis críticos de molibdênio nos nódulos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Itaguaí: UFRRJ, (Dissertação de Mestrado). 141p, 1985.

JACOB-NETO, J.; THOMAS, R. J. & FRANCO, A. A. Variação estacional da concentração de molibdênio nos nódulos e demais partes da planta de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L). **Turrialba**, 38(1): 51-58, 1988.

JACOB-NETO, J. & FRANCO, A. A. . Época de aplicação foliar visando aumentar a concentração de Mo em sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) XVIII Reunião Brasileira de Ciência do Solo- Guarapari-Es. **Anais.**, 1988.

JACOB-NETO, J. & FRANCO, A. A. Determinação do nível crítico de Mo nos nódulos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Turrialba**, 39(2):215-223, 1989.

JACOB-NETO, J. **The interactions of H⁺/OH⁻ exchanges between roots and rhizosphere with plant nutrition and aluminium effects**. University of Dundee. Scotland. Tese de PhD. 1993.

JAILLARD B, PLASSARD C, HINSINGER P. Measurements of H⁺ fluxes and concentrations in the rhizosphere. In: RENGEL Z, ed. Handbook of Soil Acidity. New York, USA: Marcel Dekker, 231–266. 2002.

JONES, G.D.; LUTZ Jr, J.A.; SMITH, T.J. Effects of phosphorus and potassium on soybean nodules and seed yield. **Agronomy Journal**, v.69, n.6, p.1003-1006, 1977.

JONES, J.P.E., ENGELHARD, A.W. & WOLTZ, S.S. Management of fusarium wilt of vegetables and ornamentals by macro and microelement nutrition. In: **Soilborne plant pathogens: Management of disease with macro and microelements**. Engelhard, A.W. (Ed.). St. Paul. APS Press. pp.18-83. 1989.

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

KIEHL, E.J. Manual de Edafologia: relações solo-planta. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda, 262 p. 1979.

KHALEQUZAMAN K. M. and HOSSAIN I.. Effect of seed treatment with rhizobium strains and biofertilizers on foot/root rot and yield of Bushbean in fusarium oxysporum infested soil. **Journal. Agric. Res.**, 46(1), 2008.

KIMATI, H. Doenças do alho e da cebola, *Allium sativum* L. e *Allium cepa* L. In: GALLI, F. coord. **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Ceres, v.2, p.49-64. 1980.

KIMATI, H. Controle químico. In: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds). **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.1, p. 769-785. 1995.

KIRKBY, E.A & KNIGHT, A.H. Influence of the Level of Nitrate Nutrition on Ion Uptake and Assimilation, Organic Acid Accumulation, and Cation-Anion Balance in Whole Tomato Plants. **Plant Physiology**. 60:349-353 , 1977.

LEAL-BERTIOLI, S.C. DE M. O enfoque molecular na sistemática de fungos. **RAPP**, Brasília, v.6, pp.197-229, 1998.

LEITE, L.F.C.; ARAÚJO, A.S.F. Ecologia Microbiana do Solo. Teresina: Embrapa Meio Norte (**Série Documentos**). 24p, 2007.

LEMOS, L.B.et al. Inoculação de rizóbio e adubação nitrogenada em genótipos de feijoeiro. **Agronomia**, 37:27-32, 2003.

LESLIE, J. F., ZELLER, K. A., AND SUMMERELL, B. A. Icebergs and species in populations of *Fusarium*. **Physiol. Mol. Plant Pathol**. 59:107-117. 2001.

LINES-KELLY, R. & JENKINS. A. Making soils sexy: soils extension on the NSW north coast. NSW DPI Wollongbar Agricultural Inst. Bruxner Hwy Wollongbar NSW 2477. http://regional.org.au/au/apen/2006/refereed/1/3162_lineskelly.htm. Acesso em: 08/03/2010. 2006.

LUND, E.D.; COLIN, P.E.; CHRISTY, D.; DRUMMOND, P.E. Applying soil electrical conductivity technology to precision agriculture. In: **International Conference on precision agriculture**, 4., St. Paul, MN. Proceedings, St. Paul: ASA/CSSA/SSSA, p. 1089-1100. 1998.

- LYNCH, J.M. & WHIPPS. Substrate flow in the rhizosphere. **Plant and Soil**. v.129. n.1, 1-10. 1990.
- MACE, M.E.; BELL, A.A.; BECK,AN, C.H. (Ed.). **Fungal wilt diseases of plants**. New York: Academic Press, 640p, 1981.
- MACHADO NETO, J.G. **Ecotoxicologia de agrotóxicos**. FCAV-FUNEP, 49p., 1991.
- MAGALHÃES, J.R.; HUBER, D.M. & TSAI, C.Y. Influence of the form of nitrogen on ammonium, amino acids and N-assimilation enzyme activity in maize genotypes. **J. Plant Nutr.**, 18:747-763, 1995.
- 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*. **Pesq. Agropec. bras.**, Brasília, v.34, n.4, p.535-542, abr. 1999.
- MARSCHNER H.; ROMHELD V.; In vivo measurement of root-induced pH changes at the soil-root interface: effect of plant species and nitrogen source. **Zeitschrift für Pflanzenphysiologie** ., v. 111, n.3, p. 241-251 (2 p.), 1983.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London. Academic Press, 889p. 1995.
- MARTÍNEZ-ROMERO, E.; SEGOVIA, L.; MERCANTE, F.M.; FRANCO, A.A.; GRAHAM, P. & PARDO, M.A. *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. beans and *Leucaena* SP. Trees. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, 41: 417-426, 1991.
- MCCLURE, P.R.; KOCHIAN, L.V.; SPANSWICK, R.M.; SHAFF, J.E. Evidence for Cotransport of Nitrate and Protons in Maize Roots. 1. Effects of Nitrate on the Membrane Potential. **Plant Physiology**. 93, p.281-289, 1990.
- MCCLURE, P.R.; KOCHIAN, L.V.; SPANSWICK, R.M.; SHAFF, J.E. Evidence for cotransport of nitrate and protons in maize roots. **Plant Physiology**, v.93, p.281-289, 1990.
- MELO, J. A. S. Aplicação de Águas Residuárias no Solo como um Método de Tratamento, Disposição Final e Reciclagem das Águas Usadas. **Engenharia Sanitária**, 17(1): 82-91. 1978.
- MENESES, V.O. Inoculação de *Fusarium moniliforme* (Scheld.) em sementes de duas cultivares de pepino através da técnica da restrição hídrica e sua influência sobre a qualidade fisiológica. Dissertação de mestrado. Santa Maria, RS, Brasil. 85f. 2009.
- MENGEL, K. & KIRKBY, E.A. **Principles of plant nutrition**. Worblaufen-Bern: Internacional Potash Institute, 687p, 1987.
- MENGEL , K. & KIRKBY, E.A. Nitrogen. In: VALE, F.R.; GUAZELLI, E.M.F.; FURTINI NETO, A.E.; FERNANDES, L.A. Cultivo de feijoeiro em solução nutritiva sob proporções variáveis de amônio e nitrato. **R. Bras. Ci. Solo**, 22:35-42, 1998.

MIFLIN, B.J., LEA, P.J. The pathway of nitrogen assimilation in plants. **Phytochemistry**, New York, v.15, p.873-885, 1976.

MIYASAKA, S.; FREIRE, E.S. & MASCARENHAS, H.A.A. Modo e época de aplicação de nitrogênio na cultura do feijoeiro. **Bragantia**, 22:511-519, 1963.

MOHAN, S.K.; BIANCHINI, A.; MENEZES, R.J. **Doenças de feijoeiro no estado do Paraná: Guia de Identificação e controle**. Londrina: IAPAR, p-26. 1983.

NASCH, S. M.; & SNYDE, W.C. Quantitative and qualitative comparisons of fusarium populations in cultivated fields and noncultivated parent soils. **Canadian Journal of Botany**. Volume 43. 1965.

NELSON, P.E.; TOUSSOUN, T.A.; MARASAS, W.F.O. **Fusarium species: an illustrated manual for identification**. University Park, PA: Pennsylvania State University Press. 1983.

NICOLOSO, F.T.; SANTOS, O.S. Considerações sobre a fixação simbiótica de N₂ no feijoeiro comum. **Revista Centro de Ciências Rurais**, Santa Maria, v.20, p.51-73, 1990.

NYE, P.H. Changes of pH across the rhizosphere induced by roots. **Plant and Soil**. v.61, n.1-2, p.7-26, 1981.

NYE, P. H. Acid–base changes in the rhizosphere. **Adv. Plant Nutr.** 2, p.129–153. 1986.

OLIVEIRA, I.P.; ARAÚJO, R.S. & DUTRA, L.C. Nutrição mineral e fixação biológica de nitrogênio. In: ARAÚJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F. & ZIMMERMANN, M.J.O..coords. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba, Potafós, p.169-221. 1996.

PASCHOLATI, S.F. & LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. Pp. 417-453. In: A. Bergamini-Filho; H. Kimati & L. Amorim. **Manual de Fitopatologia**. v.I. Princípios e Conceitos, 3 ed. São Paulo, Agronômica Ceres Ltda. 1995.

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

PEREIRA, P.A.A., BALDANI, J.I., BLANA, R.A.G. & NEYRA, C.A. Assimilação e translocação de nitrogênio em relação à produção de grãos e proteínas em milho (*Zea mays* L.). **R. Bras. Ci. Solo**. 5: 28-31. 1981.

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. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.43, n.6, p.721-728, jun. 2008.

PIMENTEL, J.P. **Interações entre *Fusarium oxysporum* (Schlecht) f. sp. *phaseoli* (Kendrick & Snyder) e *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood ou *M. Javanica* (Treub) Chitwood (Nemata: Tylenchoidea) em cultivares de feijoeiro comum**. Tese de doutorado. ESALQ. Piracicaba. p. 87. 1998.

RAMOS, D.P.; CASTRO, A.F. & CAMARGO, M.N. Levantamento detalhado de solos da área da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. **Pesq. Agropec. Bras.**, Ser. Agron., 8:1-27, 1973.

RAND, G.M. & PETROCELLI, S.R. Fundamentals of aquatic toxicology. WASHINGTON, D.C.; RAND, G.M. & PETROCELLI, S.R. (Eds.). 665p. 1985. In: BOOCK, M.V. & MACHADO NETO, J.G. Estudos toxicológicos de oxicloreto de cobre para tilápia vermelha (*Oreochromis sp.*). **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.67, n.2, p.215-221, jul/dez.,2000.

RAVA, C.A. & SARTORATO, A. Crestamento bacteriano comum. In: Sartorato, A. & Rava, C.A. (Eds.) Principais doenças do feijoeiro e seu controle. Brasília. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. p.217-242. 1994.

RAVA CA, SARTORATO A & COSTA JGC da. Reação de genótipos de feijoeiro comum ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em casa de vegetação. **Fitopatologia Brasileira** 21:296-300. 1996.

RAVEN, B.H. **Social influence and Power**. In: I. D. Steiner and M. Fishbein (Eds.), current studies in social psychology. New York: Holt, Rinehart & Winston , pp. 371-82. 1965.

RAVEN, J.A. & SMITH, F.A. Nitrogen assimilation and transport in vascular land plants in relation to intracellular pH regulation. **New Phytologist.**, v.76, p.415-431, 1976.

RAVEN, J.A. H⁺ and Ca²⁺ in phloem and symplast: relation of relative immobility of the ions to the cytoplasmic nature of the transport paths. **New Phytologist**, v.79, p.465-480, 1977.

RAVEN, J. A.. Regulation of pH and generation of osmolarity in vascular land plants: costs and benefits in relation to efficiency of use of water, energy and nitrogen. **New Phytologist** 101, 25–77. 1985.

RAVEN, J. A. Acquisition of nitrogen by the shoots of land plants: its occurrence and implications for acid-base regulation. **New Phytologist** 109, 1–20. 1988.

RAVEN, J.A.; FRANCO, A.A.; JESUS, E.L.; JACOB-NETO, J. H⁺ extrusion and organic-acid synthesis in N₂-fixing symbioses involving vascular plants. **New Phytologist**. 114. 369-389. 1990.

RAVEN, J.A.; WOLLENWEBER, B.; HANDLEY, L.L. A comparison of ammonium and nitrate sources for photolithotrophs. **New Phytologist**, v.121, p.19-32, 1992.

RENGEL, Z.; SAS, L. & TANG, C. The Effect of Nitrogen Nutrition on Cluster Root Formation and Proton Extrusion by *Lupinus albus*. **Annals of Botany** 89: 435-442, 2002.

REIS, M.S.; VIEIRA, C. & BRAGA, J.M. Efeitos de fontes, doses e épocas de aplicação de adubos nitrogenados sobre a cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **R. Ceres**, 19:25-42, 1972.

RIBEIRO, C.A.G.; FERRAZ, S. Resistência varietal do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.9, n.1, p.37-44, 1984.

RILEY, D. & BARBER, S.A. Bicarbonate accumulation and pH changes at the soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) root-soil interface. **Soil Science Society of America Journal**, - Soil Sci Soc America. 1969

RILEY, D. & BARBER, S.A. Effect of ammonium and nitrate fertilization on phosphorus uptake as related to root-induced pH changes at the root-soil interface. **Soil Science Society of America Journal**, 1971 - Soil Sci Soc America.

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, n.3, p.407-409, set. 1998.

RÖMHELD, V. pH changes in the rhizosphere of various crop plants in relation to the supply of plant nutrients. **Potash Review**, v.12, p.1-12, 1986.

ROSOLEM, C.A. & MARUBAYASHI, O.M. Seja doutor do seu feijoeiro. **Inf. Agron.**, 6:1-16, 1994.

RUBIN, R.B. **Produtividade do feijoeiro irrigado influenciada pelo armazenamento de água no solo e métodos de preparo do solo**. Santa Maria, 2003, 82f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, 2003.

RUDOLPH, K.W.E. *Pseudomonas syringae* pathovars. In. CARMO, I.R.; SILVA, A.A.O.; RODRIGUES, E.; ANTONIAZZI, N.; BACH, E.E. Patogenicidades de isolados do fungo bipolares *sorokiniana* em cultivares de cevada e trigo conscientiae saúde. **Rev. Cient.**, UNINOVE – São Paulo. v.2, p.11-17. 2003.

SA, T.M., ISRAEL, D.W. Energy status and functioning of phosphorus-deficient soybean nodules. **Plant Physiology**, v.97, n.4, p.928-935, 1991.

SANABRIA, N.A.; GUADARRAMO, A.; ROMERO, H. Caracterización de espécies de *Fusarium* mediante patrones electroforéticos de proteínas. **Revista de La Facultad de Agronomia**, v. 28, p. 161-173, 2002.

SANTOS, C.B.; LONGHI, S.J.; HOPPE, J.M. MOSCOVICH, F.A. Efeito do volume de tubetes e tipos de substratos na qualidade de mudas de *Cryptomeria japonica* (L.F.) D. Don. **Ciência Florestal**, v. 10 , n. 2, 2000.

SANTOS, L.A. Absorção e remobilização de NO_3^- em arroz (*Oriza sativa* L.): Atividade das bombas de prótons e a dinâmica do processo. Dissertação de Mestrado. Depto Solos. UFRRJ. 2006.

SARTORATO, A., RAVA, C.A. Murcha ou amarelecimento de *Fusarium*. In: SARTORATO, A. & RAVA, C.A. (Eds.) Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle. Brasília, **EMBRAPA-SPI**. p.175-190. 1994.

SCHUERGER, A.C. & MITCHELL, D.J. Effects of temperature and hydrogen ion concentration on macroconidia of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* to mung bean roots un hydroponic nutrient solution. **Phytopathology** 82: 1311-1319. 1992.

SILVA, C. C. da; SILVEIRA, P. M. da. Influência de sistemas agrícolas na resposta do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) irrigado à adubação nitrogenada em cobertura. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 30, n. 1, p. 86-96, 2000.

SILVA, T.R.B. da, LEMOS, L.B., TAVARES, C.A. Produtividade e característica tecnológica de grãos em feijoeiro adubado com nitrogênio e molibdênio. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.41, n.5, p.739-745, maio 2006.

SIMÃO, S. (1971). **Manual de Fruticultura**. São Paulo: Ceres, 530p.

SMULDERS, A. J.; The interaction between *Rhizobium* and *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* and *Rhizoctonia Solani* (Tese de Mestrado) B. Sc., The University of British Columbia, 1981.

SOARES, A.L.L. et al. Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões (MG). II – feijoeiro. **R. Bras. Ci. Solo**, 30:803-811, 2006.

SOUZA, L.A.G. et al. Desenvolvimento e nodulação natural de leguminosas arbóreas em solos de Pernambuco. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.42, n.2, p.207-217, fev. 2007

STRALIOTTO, R. A importância da inoculação com rizóbio na cultura do feijoeiro. Embrapa, CNPAB, 2002. Disponível em: http://www.cnpab.embrapa.br/pesquisa/fbmlinocula_feijoeiro. Acesso em: 10/09/09

STRALIOTTO, R.; RUMJANEK, N.G. Biodiversidade do rizóbio que nodula o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e os principais fatores que afetam a simbiose. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 51p. (Embrapa- CNPAB. **Documentos**, 94). 1999.

TANG, C. & RENGEL, Z. 2002. Role of plant cation/anion uptake ratio in soil acidification. In: HINSINGER, P.; PLASSARD, C.; TANG, C.; JAILLARD, B. Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: A review. **Plant and Soil** 248: 43–59, 2003.

TISCHNER, R. Nitrate uptake and reduction in higher and lower plants. **Plant, Cell and Environment** 23:1005-1024. 2000.

TOLÊDO-SOUZA, E.D.; LOBO JÚNIOR, M.; SILVEIRA, P.M.; CAFÉ FILHO, A.C.; Interações entre *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* e *Rhizoctonia solani* na severidade da podridão radicular do feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. V.39, n.1, p.13-17, jan./mar.2009.

TOLLEY-HENRY, L. & RARPER, C.D. Utilization of ammonium as nitrogen source. **Plant Physiol.**, 82:54-60, 1986.

TORRES, J.P. & MARINGONI A.C. Métodos de inoculação, estádios de desenvolvimento fenológico da planta e reação de cultivares de feijoeiro a *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. **Ciência e Agrotecnologia** 23:124-129. 1999.

- TOUSSOUN, T. A., & NELSON, P. E. Variation and speciation in the Fusaria. **Ann. Rev. Phytopathology** 13: 71-82. 1975.
- VALDEZ, D. et al. Manganese application alleviates the water deficit-induced declined of N₂ fixation. **Plant Cell and Environment**, v.23, p.497-505, 2000.
- VALE, F.R.; GUAZAELLI, E.M.F.; FURTINI NETO, A.E. & FERNANDES, L.A Cultivo do feijoeiro em solução nutritiva sob proporções variáveis de amônio e nitrato. **R. Bras. Ci. Solo**. 22:35-42, 1998.
- VENTURA, J.A. **Taxonomia de Fusarium e seus segredos. Parte II – Chaves para identificação**. Revisão Anual de Patologia de Plantas, v.8, p.303-338, 2000.
- YOKOYAMA, L.P. Aspectos conjunturais da produção de feijão. In: AIDAR, H.; KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L.F. (Ed.). Produção do feijoeiro comum em várzeas tropicais. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, p.249-292. 2002.
- YOKOYAMA, L.P. (*in memoriam*). Cultivo do Feijoeiro Comum. Sistemas de Produção, 2 ISSN 1679-8869 Versão eletrônica (Jan/2003). Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Acessado em: 07/06/09
- WALLER, P.L. & WILSON, F.N. Evaluation of growing media for consumer use ISHS. **Acta Horticulturae** 150: International Symposium on Substrates in Horticulture other than Soils In Situ 1984.
- WANDER, A.E. Cultivo do feijão irrigado na região Noroeste de Minas Gerais. Introdução e Importância econômica. Sistemas de produção, n.5, INSS 1679-8869. Versão eletrônica (Dez/2005)
- WERNER, J.C. Adubação de pastagens. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 49p. (**Boletim Técnico**, 18), 1984.
- WOLLENWEBER, H. W., AND O. A. REINKING. Die Fusarien, ihre Beschreibung, Schadwirkung und Bekämpfung. Paul Parey, Berlin, Germany. 1935.
- WOLTZ, S.S. & JONES, J.P. Interactions in source of nitrogen fertilizer and liming procedure in the control of fusarium wilt of tomato. **Hort Science** 8:137-139. 1973.
- ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A. Resistência a doenças induzida pela nutrição mineral das plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 1, p. 275-318, 1993.
- ZAMBOLIM, L.; VIEIRA, C.; ARAÚJO, C.A.A.; CHAGAS, J.M.; SILVA, C.C. Ocorrência de murcha de *Fusarium* em feijoeiro comum na Zona da Mata de Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira** 12:287-288. 1987.
- ZEMÁNKOVÁ, M., LEBEDA, A. Fusarium species, their taxonomy, variability and significance in plant pathology. **Plant Protection Science** 37: 25–42. 2001.

ZIMMERMANN, M.J.O.; TEIXEIRA, M.G. Origem e evolução. In: **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. ARAÚJO, R.S.; RAVA, C.A; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M.J.O. (Eds). Piracicaba: POTAFOS. p.57-70, 1996.

ZITO, R.K.; SEDIYAMA, C.S.; SEDIYAMA, T.; GOMES, J.L.L.; ROCHA, V.S. Hipoclorito de Sódio e álcool na esterilização superficial de sementes de soja. *Revista Ceres*, 42(244) : 637-643. 1995.

ZITTER, T.A.; HOPKINS, D.L.; THOMAS, C.E. **Compendium of cucurbit diseases**. APS Press: St. Paul, Minnesota, 57p. 1996.

ZONTA, E.; BRASIL, F.C.; GOI, S.R. & ROSA, M.M.T. O sistema radicular e suas interações com o ambiente edáfico. In: **Nutrição mineral de plantas**, 432p. (Ed. FERNANDES, M.S). SBCS, Viçosa, 2006.