

**RESISTÊNCIA DO FEIJOEIRO A**  
*Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*

**MÔNICA JULIANI ZAVAGLIA PEREIRA**

**2007**

**MÔNICA JULIANI ZAVAGLIA PEREIRA**

**RESISTÊNCIA DO FEIJOEIRO A**  
***Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de “Doutor”.

Orientador  
Prof. Dr. Magno Antonio Patto Ramalho

Co-orientador  
Dra. Ângela de Fátima Barbosa Abreu

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2007

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Pereira, Mônica Juliani Zavaglia.

Resistência do feijoeiro a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* / Mônica  
Juliani Zavaglia Pereira. -- Lavras: UFLA, 2007.  
103 p. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2007.

Orientador: Magno Antonio Patto Ramalho.

Co-orientador: Ângela de Fátima Barbosa Abreu.

Bibliografia.

1. Melhoramento vegetal. 2. Estratégias de seleção. 3. Eficiência de seleção.  
4. Reação de linhagens. 5. Controle genético. 6. Patógenos de plantas. I.  
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD - 635.6523

**MÔNICA JULIANI ZAVAGLIA PEREIRA**

**RESISTÊNCIA DO FEIJOEIRO A**  
***Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 17 de Dezembro de 2007

Dr. Trazilbo José de Paula Júnior	EPAMIG
Prof. Dr. Edson Ampélio Pozza	UFLA
Dra. Ângela de Fátima Barbosa Abreu	EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO/UFLA
Prof. Dr. João Bosco dos Santos	UFLA

Prof. Dr. Magno Antonio Patto Ramalho  
UFLA  
(Orientador)

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2007

“Bom mesmo é ir à luta com determinação,  
abraçar a vida e viver com paixão,  
perder com classe e vencer com ousadia,  
pois o triunfo pertence a quem se atreve ...  
E a vida é muito para ser insignificante”.

(Charles Chaplin)

“Nós preferimos acreditar, persistir e trabalhar muito.  
Não é fácil, mas sempre possível.  
Mais que isso, é gratificante vencer desafios,  
encontrar saídas quando as portas estão fechadas,  
cumprir metas e tornar o sonho realidade.  
Aprendemos, estamos crescendo e nos orgulhamos disso.  
Sempre com humildade e nunca com arrogância.  
Sucesso a todos.”

(Pedro Galhardi Neto)

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar presente em todos os momentos.

Ao meu pai, Hélio Viane; à minha mãe, Evanildes e à minha irmã Núbia, que sempre me deram o apoio, o conforto e o estímulo necessários para a conclusão de todos os meus projetos e pelo amor incondicional.

Ao Sandro, pelos bons momentos, carinho e paciência.

Ao Prof. Magno Antonio Patto Ramalho, pela orientação e conhecimentos compartilhados.

Aos membros da banca Dr. Trazilbo José de Paula Júnior, Prof. Edson Ampélio Pozza, Prof. João Bosco dos Santos e Dra. Ângela de Fátima Barbosa Abreu, pela oportunidade de comparecimento e sugestões para o enriquecimento do trabalho.

Aos professores do Departamento de Biologia e aos colegas de curso, pelo tempo de convivência.

A Elaine Ribeiro, Leonardo e Lindolfo, pela amizade e auxílio em tudo, durante o curso.

A todos aqueles que, de certa forma, auxiliaram no desenvolvimento do trabalho.

À Fapemig, pela concessão de bolsa de estudos.

Ao CNPq pela aprovação e financiamento do projeto.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO .....	i
ABSTRACT .....	iii
CAPÍTULO 1 .....	01
1 Introdução Geral .....	02
2 Referencial Teórico .....	04
2.1 Melhoramento do feijoeiro visando resistência à doenças .....	04
2.2 O gênero <i>Fusarium</i> .....	06
2.3 Murcha ou amarelecimento de fusarium em feijoeiro .....	08
2.4 Metodologias para avaliação de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> .....	11
2.5 Variabilidade patogênica .....	14
2.6 Identificação de fontes de resistência a <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> no feijoeiro .....	16
2.7 Métodos de estudos do controle genético da resistência à patógenos .....	18
2.8 Controle genético da resistência a <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> .....	20
3 Referências Bibliográficas .....	23
CAPITULO 2. Estratégias para melhorar a eficiência da seleção visando a resistência do feijoeiro a <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i>	29
Resumo .....	30
Abstract .....	31
1 Introdução .....	32
2 Material e Métodos .....	34
2.1 Metodologias de inoculação de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> em feijoeiro.....	34
2.2 Idade das plantas no momento da inoculação .....	38
2.3 Épocas de avaliação da severidade da doença .....	38
2.4 Efeito do número de repetições na eficiência da seleção de linhagens de feijão .....	39
3 Resultados e Discussão .....	41
3.1 Metodologias de inoculação de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> em feijoeiro.....	41
3.2 Idade das plantas no momento da inoculação .....	43
3.3 Épocas de avaliação da severidade da doença .....	45
3.4 Efeito do número de repetições na eficiência da seleção de linhagens de feijão .....	48

4 Conclusões .....	54
5 Referências Bibliográficas .....	55
CAPÍTULO 3. Reação de linhagens de feijoeiro ao fungo <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> .....	
Resumo .....	58
Abstract .....	59
1 Introdução .....	60
2 Material e Métodos .....	61
2.1 Local .....	63
2.2 Isolado de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> .....	63
2.3 Linhagens avaliadas .....	64
3 Resultados e Discussão .....	67
4 Conclusões .....	74
5 Referências Bibliográficas .....	75
CAPÍTULO 4. Controle genético da resistência do feijoeiro a <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> .....	
Resumo .....	79
Abstract .....	80
1 Introdução .....	81
2 Material e Métodos .....	82
3 Resultados e Discussão .....	84
4 Conclusões .....	87
5 Referências Bibliográficas .....	93
Anexos .....	94
	96

## RESUMO

PEREIRA, Mônica Juliani Zavaglia. **Resistência do feijoeiro a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli***. 2007. 103p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

A murcha-de-fusarium, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, é uma severa doença vascular do feijoeiro e ocorre em todas as regiões do mundo onde se cultiva o feijão. A obtenção de cultivares resistentes é a principal alternativa de controle da doença. Visando à obtenção de informações que auxiliassem na condução do programa de melhoramento, foram conduzidas três atividades de pesquisa. Na primeira, o objetivo foi obter informações para a melhoria na eficiência dos programas de seleção, visando à resistência do *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Para isso, foram avaliadas sete metodologias de inoculação em quatro linhagens de feijão, diferindo na suscetibilidade ao fungo; acompanhou-se o progresso da doença sete, 14, 21 e 28 dias após a inoculação (DAI) para identificar a melhor época de avaliação; a idade das plantas no momento da inoculação foi avaliada, inoculando-se plantas com 7, 8, 9, 10, 12 e 14 dias após a semeadura e, a partir dos dados de um experimento com 15 repetições, envolvendo 20 linhagens, foi simulado o efeito do número de repetições, variando de 5 a 15. Verificou-se que a metodologia de inoculação que melhor discriminou as linhagens foi a imersão de raízes na suspensão de esporos, com ou sem o corte do sistema radicular; a idade ideal das plantas no momento da inoculação é até os 10 dias após a semeadura; a avaliação da reação ao fungo deve ser realizada com, pelo menos, 21 dias após a inoculação e cinco repetições permitem discriminar eficientemente as linhagens de feijão. Na segunda atividade, o objetivo foi classificar as linhagens do banco de germoplasma de feijoeiro da Universidade Federal de Lavras (UFLA), quanto à reação a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e, ao mesmo tempo, estimar parâmetros genéticos e fenotípicos que possam auxiliar em futuros programas de melhoramento para esse caráter. Para isso, foram avaliadas 349 linhagens do banco de germoplasma e 18 linhagens do experimento de valor de cultivo e uso (VCU) de 2005/06. As inoculações foram realizadas pelo método de imersão de raízes na suspensão de esporos, com o corte do sistema radicular e concentração de inóculo de  $10^6$  conídios/ml e a avaliação realizada aos 21 DAI. Verificou-se que, das linhagens avaliadas, 36,5% foram resistentes ao fungo e que a herdabilidade do caráter é alta, indicando possibilidade de sucesso na seleção. A terceira atividade de pesquisa teve como objetivo complementar as informações a respeito do controle genético da resistência ao fungo. Para isso, foram realizados seis cruzamentos entre linhagens resistentes e suscetíveis e estimados os componentes de média e variância, avaliando-se os genitores, as gerações  $F_1$ ,

F<sub>2</sub> e F<sub>3</sub>. As inoculações foram realizadas pelo método de imersão de raízes na suspensão de esporos, com o corte do sistema radicular, concentração de inóculo de 10<sup>6</sup> conídios/ml e avaliação aos 21 DAI. Verificou-se que no controle genético da resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* estão envolvidos genes com interação alélica de dominância, embora a presença de efeitos aditivos também seja expressiva; a herdabilidade do caráter é alta, indicando que o mesmo é de fácil seleção, desde que se adotem critérios eficientes de inoculação e avaliação das plantas. Ao que tudo indica, no controle da resistência estão presentes um ou poucos genes, com dominância do(s) alelo(s) que confere(m) resistência.

---

\* Comitê Orientador: Magno Antonio Patto Ramalho - UFLA (Orientador).  
Ângela de Fátima Barbosa Abreu – Embrapa Arroz e Feijão (Co-orientadora).

## ABSTRACT

PEREIRA, Mônica Juliani Zavaglia. **Resistance of common bean to *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli***. 2007. 103p. Thesis – (Doctorate in Genetics and Plant Breeding) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.\*

The Fusarium wilt, caused by the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, is a severe vascular disease in the common bean, and occurs in all regions where the common bean is cultivated. The better way of controlling the disease is through the use of resistant cultivars. Three kinds of research were done aiming to get informations for making the breeding program more efficient. In the first research, the aim was to get information to improve the selection efficiency for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Seven inoculation methodologies were evaluated in four common bean lines, with different levels of susceptibility to the fungus. The disease progress was evaluated at seven, 14, 21 and 28 days after inoculation (DAI), to identify the best time for evaluation; plants age for inoculation was seven, eight, nine, ten, 12 and 14 days after sowing; the ideal number of replications was determined through simulations, of five to 15, from an experiment including 20 lines and 15 replications. The best methodology to discriminate the lines was root immersion in a suspension of spores with or without cutting the roots; the ideal plant age to inoculate is ten days after sowing; disease evaluation must be done at last 21 DAI; and it was also shown that five replications are sufficient to classify efficiently the lines to the Fusarium wilt. In the second research, the aim was to classify the lines from the germoplasm bank of Federal University of Lavras, in relation to disease. Genetic and phenotypic parameters were estimated, to help future breeding programs for this character. Therefore, 349 lines from the germoplasm bank and 18 from the Value of Cultivation and Use (VCU) experiment of 2005/06 were evaluated. The inoculation was by immersion of cut roots, and the symptoms evaluated at 21 DAI. Resistance was observed in 36.5% of the lines, and heritability was high, indicating success with selection. The third kind of research aimed to study the genetic control of resistance. Six crosses between resistant and susceptible lines were done, and variances and average components were estimated, from parents, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> and F<sub>3</sub> generations. Inoculation was by immersion of cut roots, and the symptoms evaluated at 21 DAI. The genetic control of resistance involve genes with dominance, although additive effects are also expressive; heritability is high, showing that selection

should be easy, since efficient inoculation and selection methods are used; one or few genes, with dominant allele(s) are responsible for resistance.

---

\* Guidance Committee: Magno Antonio Patto Ramalho – UFLA (Major Professor). Ângela de Fátima Barbosa Abreu – Embrapa Arroz e Feijão (Co-Major Professor).

## **CAPÍTULO 1**

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O aumento da área cultivada, especialmente sob irrigação, com o feijoeiro, aliada a plantios sucessivos, proporcionou condições para a alta incidência de doenças, causando prejuízos significativos que, muitas vezes, inviabilizam o empreendimento. Entre as doenças que ocorrem, destaca-se a murcha-de-fusarium, uma severa doença vascular no feijoeiro-comum, cujo agente etiológico é o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Essa doença já foi identificada em regiões produtoras de feijão do mundo (Pastor-Corrales & Abawi, 1987; Buruchara & Camacho, 2000).

Os danos causados à cultura por esse patógeno variam em função das condições climáticas, da concentração de inóculo, das condições de estresse, da má drenagem do solo e da umidade e da temperatura elevadas. Perdas no rendimento de grãos de até 80% foram observadas na Costa Rica (Echandi, 1967) e de 30% nos EUA (Cramer et al., 2003).

A principal medida de controle é a utilização de cultivares resistentes. No entanto, a obtenção de cultivares resistentes é dificultada pela existência de raças patogênicas, as quais são geograficamente distribuídas entre os continentes. No Brasil, contudo, há indícios da predominância de apenas uma raça, denominada raça 2 ou brasileira (Alves-Santos et al., 2002b).

Na condução de um programa de melhoramento visando à resistência a patógenos, há algumas atividades inerentes ao processo. Entre elas, identificar a metodologia mais eficiente de “screening” das plantas e ou linhagens sob seleção. Alguns trabalhos envolvendo o patossistema *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* – feijoeiro já foram realizados (Piza, 1993; Cavalcanti et al., 2002), entretanto, as informações não foram conclusivas em relação ao número de

repetições a se adotar ou da melhor época de avaliação dos sintomas após a inoculação.

Outra atividade do programa de melhoramento é a identificação de boas fontes de resistência. A existência de variabilidade para a resistência à murcha-de-fusarium é freqüentemente relatada na literatura (Rocha Júnior et al., 1998; Brick et al., 2006; Sala et al., 2006).

Nos 35 anos do programa de melhoramento do feijoeiro da Universidade Federal de Lavras (UFLA), foram obtidas centenas de linhagens. Ao longo do tempo, essas linhagens foram submetidas à avaliação na presença de alguns patógenos importantes para a região. Porém, são restritas as avaliações com relação à reação à murcha-de-fusarium.

Finalmente, informações a respeito do controle genético da resistência auxiliam os melhoristas no gerenciamento do programa. Algumas informações a respeito do controle genético da resistência à murcha-de-fusarium são encontradas na literatura (Ribeiro & Hagedorn, 1979b; Salgado et al., 1995; Cross et al., 2000; Brick et al., 2004), porém, quando envolvem linhagens brasileiras, as publicações são mais restritas.

Diante do exposto, foi realizado o presente trabalho, com os objetivos de: verificar a melhor metodologia de inoculação do patógeno, a idade das plantas no momento da inoculação, a época de avaliação dos sintomas após a inoculação e o melhor número de repetições/plantas a ser inoculado; classificar as linhagens do banco de germoplasma da Universidade Federal de Lavras (UFLA) em relação à reação ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e, ao mesmo tempo, estimar os parâmetros genéticos e fenotípicos que possam auxiliar em futuros programas de melhoramento para o caráter, e complementar as informações a respeito do controle genético da resistência ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Melhoramento do feijoeiro visando resistência à doenças

Entre os fatores limitantes e que contribuem para a baixa produtividade, a instabilidade na produção e o alto risco de implantação da cultura do feijoeiro-comum estão as doenças. Entre os agentes etiológicos, vários fungos, bactérias, vírus e nematóides causam podridões no sistema radicular e no caule, colonizam o sistema vascular das plantas, incidem sobre a parte aérea e, em condições de ambiente propícias, têm contribuído para a baixa produtividade da cultura.

Citam-se mais de 45 enfermidades, de maior ou menor importância, incidindo sobre o feijoeiro. Dentre as mais comuns, no Brasil, estão: antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*), mancha-angular (*Pseudocercospora griseola* = *Phaeoisariopsis griseola*) (Pereira, 2007), ferrugem (*Uromyces appendiculatus*), mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), oídio (*Erysiphe polygoni*) e murcha-de-fusarium (*Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*), causadas por fungos, cretamento-bacteriano (*Xanthomonas axonopodis*) causado por bactéria e mosaico-dourado (geminivirus) e mosaico-comum (potyvirus), causadas por vírus. Informações a respeito da etiologia, sintomatologia e outros aspectos são freqüentes na literatura (Paula Júnior & Zambolim, 2006).

Embora existam várias alternativas de controle de doenças, a principal é a obtenção de cultivares resistentes. Inclusive, a ênfase principal dos programas de melhoramento no Brasil e no mundo é na obtenção de cultivares resistentes aos diversos patógenos.

Na condução de um programa de melhoramento visando à resistência há algumas etapas. A primeira é verificar a variabilidade do patógeno na região. Dessa forma, são identificadas as raças e ou isolados mais freqüentes, as quais serão alvo do trabalho de melhoramento. A segunda etapa é a procura de fontes

de resistência. Em princípio, elas são procuradas entre as cultivares e ou linhagens já utilizadas na região. Por serem adaptadas, certamente facilitarão o trabalho. Se não for encontrada nenhuma boa fonte de resistência no germoplasma local, devem-se introduzir linhagens de outros programas.

Posteriormente, é realizado o cruzamento das fontes de resistência ao patógeno com outras cultivares que possuem fenótipos favoráveis para outros caracteres. Adicionalmente, podem-se utilizar as progênies segregantes para o estudo do controle genético da resistência, visando fornecer subsídios a outros trabalhos de seleção com esse patógeno. Conhecidas e avaliadas as fontes de resistência, a estratégia de melhoramento, quando se objetiva transferir apenas um alelo que confere resistência vertical, é relativamente simples. O procedimento indicado é o método dos retrocruzamentos (transferência de um ou mais alelos de um genitor doador para um genitor recorrente), combinado com a inoculação artificial para a seleção de indivíduos resistentes (Borém & Miranda, 2005).

O que dificulta a obtenção de cultivares resistentes é que, na maioria dos casos, a vida útil da resistência é pequena. Normalmente, o patógeno tem grande variabilidade patogênica e quebra a resistência obtida (Borém & Miranda, 2005). Por isso, os melhoristas devem utilizar estratégias que possibilitem uma resistência mais estável.

Nesse contexto, várias alternativas têm sido propostas. A mais procurada é a piramidação de alelos de resistência, que vem sendo empregada na obtenção de cultivares de feijoeiro resistentes a várias raças de *Colletotrichum lindemuthianum* (Pereira & Santos, 2004; Couto, 2005). A piramidação também pode ser utilizada para incorporar resistência a vários patógenos, também chamada de resistência múltipla.

A outra estratégia é o emprego de multilinhas, que consiste na utilização de mistura, em proporções previamente estabelecidas, de linhagens

fenotipicamente semelhantes, porém, com diferentes graus de resistência às diferentes raças do patógeno, constituindo as “populações heterogêneas de hospedeiros”, resultando em: (i) redução na densidade de plantas suscetíveis frente ao inóculo inicial, (ii) efeito barreira à disseminação de esporos por plantas resistentes que preenchem o espaço entre as suscetíveis e (iii) resistência induzida (Martinelli, 1993).

Quando o caráter apresentar controle poligênico ou quando se têm várias raças e estão envolvidos diferentes alelos para o controle dessas raças, outra estratégia é a seleção recorrente. Nesse caso, obtém-se a população básica por meio do cruzamento de genitores contendo diferentes genes de resistência e, posteriormente, por ciclos contínuos de seleção e recombinação dos indivíduos e/ou progênes mais resistentes, são acumulados os alelos de resistência em uma ou mais linhagens. Esse procedimento vem sendo utilizado no feijoeiro visando à resistência à mancha-angular (Amaro et al., 2007).

No caso específico de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, que é o objetivo do presente trabalho, não são encontrados relatos de pesquisa de longa duração, visando à obtenção de cultivares resistentes. Há relatos pontuais a respeito da existência de raças, possível controle genético e fontes de resistência, os quais serão comentados posteriormente.

## **2.2 O gênero *Fusarium***

As espécies e *formae speciales* (f. sp.) que formam o gênero *Fusarium* são agentes etiológicos de muitas doenças de importância econômica em plantas cultivadas. Algumas espécies são primariamente organismos que causam decomposição e estão associadas com podridões em órgãos de reserva de vários vegetais (*Fusarium moniliforme*, podridão da cana-de-açúcar); outras espécies são primariamente invasoras do tecido cortical, causando “damping off” ou tombamento (*Fusarium* spp., em cebola, eucalipto, fumo e tomate); podridões de

raízes e da coroa e cancos em caules (*Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, em feijoeiro) e outras são parasitas vasculares altamente específicos, citam-se várias *formae speciales* de *Fusarium oxysporum*, entre elas o *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* – murcha-de-fusarium em feijoeiro (Bedendo, 1995a; Bedendo, 1995b).

Algumas espécies deste gênero são responsáveis pela produção de micotoxinas que podem ser acumuladas na pré-colheita ou no armazenamento de grãos. Micotoxinas são metabólitos secundários de alguns fungos, liberados ou não nos substratos nos quais eles crescem. A maior ocorrência de micotoxinas é em grãos de cereais, podendo resultar em micotoxicoses crônicas ou agudas em animais e na população. Micotoxicoses são doenças causadas por ingestão desses metabólitos fúngicos, geralmente por meio de alimentos contaminados.

Há vasta literatura sobre dezenas de espécies fúngicas (predominantemente *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Phomopsis*, *Pithomyces* e *Acremonium*) produzindo cerca de 300 micotoxinas nos substratos que colonizam. Com relação aos grãos, aflatoxinas, fumonisinas, zearalenona e deoxinivalenol (vomitoxina), são as mais frequentes e importantes. Os fungos do gênero *Fusarium* produzem toxinas dos tipos fumonisinas (*F. moniliforme* em grãos de milho), deoxinivalenol (DON ou vomitoxina), nivalenol e zearalenona (espécies de *Fusarium* que colonizam espigas de cereais) (Dhingra & Coelho Netto, 1998).

Todas as espécies de fusarium possuem um estágio saprofítico e são habitantes comuns do solo. Uma vez introduzidos no solo, persistem quase que indefinidamente na forma de micélio em restos culturais ou como esporos dormentes (clamidósporos). A maioria das espécies produz tanto macroconídios como microconídios e pode também produzir clamidósporos (Alexopoulos et al., 1996).

As espécies de *Fusarium* que causam murchas vasculares são todas classificadas como *Fusarium oxysporum* (Alexopoulos et al., 1996), que forma um complexo de fungos de solo, compostos por patótipos classificados em várias *formae speciales*, com base em critério patogênico. São responsáveis por causar doença em mais de 120 espécies de plantas. Cada grupo de *formae speciales* é patogênico a uma espécie ou a um grupo de plantas em particular, demonstrando o elevado grau de especificidade de hospedeiro (Nelson et al., 1983).

Ocorrem mais de 20 doenças de importância econômica, causadas por *Fusarium oxysporum*. O patógeno invade as plantas principalmente pelo sistema radicular e coloniza o xilema (vasos condutores de água do sistema vascular). Os sintomas incluem: murcha, discoloração vascular, clorose, nanismo e morte prematura de plantas.

Entre algumas doenças de importância econômica podem ser citadas: murcha-do-algodoeiro (*F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*), murcha-de-fusarium-do-tomateiro (*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*), murcha-da-bananeira (*F. oxysporum* f. sp. *cubense*) e murcha-de-fusarium-do-feijoeiro (*F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*) (Bedendo, 1995b). É oportuno enfatizar que, dentro do gênero *Fusarium*, têm-se duas espécies patogênicas ao feijoeiro-comum, o *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, como já apresentado e o *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, cujo principal sintomada doença é a podridão radicular.

### **2.3 Murcha ou amarelecimento de fusarium em feijoeiro**

Como já mencionado, a murcha de fusarium tem como agente etiológico o fungo *Fusarium oxysporum* Schlecht. f. sp. *phaseoli* Kendrick & Snyder, pertencente à divisão de fungos mitospóricos (imperfeitos) (Hawskworth et al., 1995), classe Hyphomycetes (conídios fora de corpos de frutificação) e ordem

Tuberculariales (conidióforos agrupados em esporodóquio) (Alexopoulos et al., 1996).

O fungo foi primeiramente descrito no Vale do Sacramento, Califórnia (EUA), em 1929, por Harter. A doença foi caracterizada por murcha de plantas, amarelecimento e queda de folhas e completa invasão vascular pelo fungo. Sintomas similares foram observados, na mesma localidade, até o ano de 1933. Em 1934, Kendrick provou a transmissão do fungo pelas sementes. A doença não foi mais observada até 1940, quando foi encontrada em duas plantações de feijão, provocando reduções de 50% na produtividade das lavouras, também no Vale do Sacramento. Após estudos de patogenicidade, constatou-se que o patógeno pôde ser distinguido de outras *formae speciales* de *Fusarium oxysporum* e, então, foi proposto para ele o nome de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Kendrick & Snyder, 1942).

No Brasil, o primeiro relato da doença foi realizado na região de Laranjal Paulista, no estado de São Paulo, no ano de 1966, em feijão comum e feijão-vagem (Kimati, 1980). Em Minas Gerais, a doença foi primeiramente identificada no município de Mercês, na Zona de Mata, no ano de 1983. Nos municípios de Alto do Rio Doce, Viçosa e Coimbra, a doença também ocorreu, porém, não causou maiores perdas (Zambolim et al., 1987).

A penetração do fungo ocorre, geralmente, próximo à ponta das raízes, mas pode ocorrer também por ferimentos e aberturas naturais, sendo favorecida pela presença de nematóides na área. Em função da colonização dos vasos, o principal sintoma reflexo é o amarelecimento progressivo das folhas inferiores para as superiores. Com o progresso da doença, as folhas adquirem um tom amarelo-claro, entrando em senescência prematuramente. Quando a doença atinge plantas jovens, observam-se redução do desenvolvimento e nanismo, podendo levar à seca e à morte da planta. No campo, a perda de turgescência nem sempre é visível. O interior dos tecidos vasculares adquire coloração pardo-

avermelhada e, em alta umidade, desenvolvem-se estruturas de coloração rosada externamente à haste, constituindo o micélio e os conídios do fungo (Bianchini et al., 1997).

Os tipos de esporos produzidos pelo fungo são: macroconídios, microconídios e clamidósporos. Os macroconídios são fusóides, ligeiramente curvos, com três a cinco septos, medindo de 3-6 x 25-35 µm. Os microconídios são elípticos e os clamidósporos hialinos, intercalares ou terminais, medindo 2-4 x 6-15 µm. As células conidiogênicas (de onde emergem os conídios) são monofálides curtas, uma característica que o difere do *Fusarium solani*, que possui monofálides longas (Nelson et al., 1993). A disseminação pode ser feita por meio de sementes contaminadas, pelo vento, água de irrigação que transportam partículas de solo infestado e conídios produzidos sobre a planta morta. O patógeno é favorecido por temperaturas em torno de 20°C (Bianchini et al., 1997). Em meio de cultura (batata dextrose ágar ou BDA) exibe coloração violeta.

A murcha-de-fusarium é uma doença vascular severa do feijoeiro-comum, a qual foi relatada em todas as regiões produtoras de feijão do mundo, sendo um sério problema na América Latina, África e noroeste dos Estados Unidos (Pastor-Corrales & Abawi, 1987; Buruchara & Camacho, 2000).

A gama de hospedeiros potenciais do fungo foi estudada por Dhingra & Coelho Netto (2001), tendo sido avaliadas 12 espécies de plantas não hospedeiras, quanto à colonização. Foram elas: *Dolichos lablab* (lab-lab), *Phaseolus lanatus* (fava), *Mucuna aterrima* (mucuna-preta), *Canavalia ensiformes* (feijão-de-porco), *Vigna unguiculata* (caupi), *Cajanus cajan* (guandu), *Glycine max* (soja), *Crotalaria spectabilis* (crotalária), *Zea mays* (milho), *Oryza sativa* (arroz), *Crotalaria juncea* (crotalária) e *Sorghum bicolor* (sorgo). Com exceção do feijoeiro, nenhuma das espécies inoculadas apresentou sintomas da doença e apresentou desenvolvimento semelhante às testemunhas

não inoculadas, porém, apresentaram colonização radicular. Foi medido o número de unidades formadoras de colônias (ufc) por grama de raiz seca das espécies. A maioria das espécies apresentou variação de 517 a 17.735 ufc/g raiz, demonstrando que a rotação de culturas com as mesmas não é um método efetivo para reduzir a densidade de inóculo do fungo, podendo ser classificadas como hospedeiros alternativos do fungo. As culturas de milho, arroz, *Crotalaria juncea* e sorgo apresentaram as menores colonizações radiculares, variando de 4 a 90 ufc/g de raiz seca, podendo ser utilizadas em sistema de rotação com o feijão, por apresentarem baixa colonização pelo patógeno.

#### **2.4 Metodologias para avaliação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli***

Para avaliação de cultivares e linhagens quanto à resistência ao fungo, é importante ter um método de inoculação preciso e funcional. Para isso, Cavalcanti et al. (2002) testaram dois métodos de inoculação e avaliaram os experimentos aos 15, 20, 25 e 30 dias após a inoculação. As metodologias utilizadas foram: perfuração do solo ao redor das plantas, com auxílio de um escapeiro e posterior distribuição de 20 ml da suspensão de conídios e imersão de raízes, que consiste em lavagem e corte de cerca de 1/3 do sistema radicular das plantas e posterior imersão em suspensão de conídios por 5 minutos. A concentração de inóculo utilizada foi de  $10^6$  conídios/ml. O método de inoculação por meio da imersão de raízes apresentou maior eficiência na obtenção de resultados e o melhor período para avaliação foi aos 30 dias.

Em outro trabalho, a determinação do efeito da concentração de inóculo na ocorrência da murcha-de-fusarium em feijoeiro foi avaliada utilizando-se 17 isolados do fungo provenientes de São Paulo e do Paraná, utilizando a metodologia de inoculação de imersão de raízes na suspensão de esporos. A temperatura de incubação utilizada foi de 25-27°C e fotoperíodo de 12 horas. As concentrações de inóculo foram  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$  e  $10^6$  conídios/ml. Houve diferença

entre as concentrações utilizadas. A concentração de  $10^3$  conídios/ml apresentou menor severidade da doença e as de  $10^4$ ,  $10^5$  e  $10^6$  não diferiram entre si, estatisticamente (Nascimento et al., 1998). Em experimento para avaliação quanto à reação, as cultivares inoculadas foram submetidas às temperaturas de 20°C, 24°C e 28°C e concentração de inóculo de  $10^4$ ,  $10^5$  e  $10^6$  conídios/ml. A concentração de  $10^4$  e a temperatura de 28°C não foram eficientes na detecção da suscetibilidade das cultivares. A temperatura de 20°C e a densidade de  $10^6$  conídios/ml foram as mais eficientes para o *screening* da resistência, sendo possível diferenciar raças entre os isolados avaliados e também obter dados reprodutíveis, quando estudada a herança da resistência ao patógeno nas gerações segregantes de cruzamentos (Ribeiro & Hagedorn, 1979a).

A determinação da concentração de inóculo também foi realizada considerando o hábito de crescimento das cultivares, verificando-se que a concentração de inóculo influenciou no aparecimento de sintomas, na severidade e na incidência da doença. Concentrações de  $10^4$ - $10^7$  conídios/ml, para feijoeiros trepadores e concentrações de  $10^5$ - $10^7$  conídios/ml, para feijoeiros arbustivos, não apresentaram diferença estatística entre os resultados obtidos, indicando que concentrações dentro desses intervalos são eficientes para discriminar a reação das cultivares (Buruchara & Camacho, 2000).

Diferentes tipos de inóculos também foram avaliados em alguns experimentos. Nascimento et al. (1998) compararam inóculo constituído de conídios + micélio e inóculo constituído apenas de conídios, em diferentes diluições e concentrações, respectivamente. Não foi possível verificar diferenças de infecção entre os tipos de inóculos avaliados, porém, houve diferença de infecção entre as diluições utilizadas de conídios + micélio, tendo a menor diluição (1:10.000 v/v) diferido estatisticamente das demais (1:100, 1:500 e 1:1.000 v/v), apresentando baixa severidade de sintomas. Ribeiro & Ferraz (1984) utilizaram inóculo proveniente de conídios e de clamidósporos para

avaliar 51 cultivares de feijão. Todas as cultivares inoculadas apresentaram sintomas, em diferentes níveis e proporcionaram o reisolamento do patógeno. Na inoculação com conídios, 14 cultivares foram resistentes. Quando inoculadas com clamidósporos, apresentaram reação semelhante à inoculação com conídios. As cultivares 37-R, Manteigão Preto, BAT-65, BAT-64, S-518-N e Palmital apresentaram maior resistência. Dongo & Müller (1969) avaliaram 103 variedades de feijão, utilizando inóculo à base de conídios e de clamidósporos. Nenhuma das variedades apresentou resistência ao fungo, porém, aquelas que apresentaram maior tolerância quando inoculadas na forma conidial apresentaram-se suscetíveis quando inoculadas com clamidósporos. Isso indicou que o inóculo à base de clamidósporos proporciona maior virulência. Porém, trabalhos posteriores apresentaram que não existe diferença entre os dois tipos de inóculo (Ribeiro & Ferraz, 1984).

A partir desses resultados, foi possível verificar que a concentração de inóculo tem importante influência na murcha-de-fusarium, uma vez que há relação direta entre a concentração do inóculo e a severidade da doença (Pastor-Corrales & Abawi, 1987). O tipo de inóculo e o método de inoculação normalmente proporcionam infecção e sintomatologia semelhantes.

Testes 'in vitro' demonstraram que a temperatura de incubação é um dos principais fatores que influenciam o crescimento do fungo. As temperaturas de 16°C, 20°C, 24°C, 28°C e 32°C foram avaliadas levando-se em consideração o crescimento radial (diâmetro) das colônias e infecção em plantas de isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, coletados no Brasil (Rio de Janeiro), EUA (Carolina do Sul) e Holanda (Wageningen). Para o crescimento 'in vitro' do fungo, a melhor temperatura foi de, aproximadamente, 28°C, para todos os isolados (Ribeiro & Hagedorn, 1979a).

Outro fator que determina o crescimento 'in vitro' é o meio de cultura utilizado, tendo influência sobre o diâmetro de colônia e a produção de micélio e

conídios (micro e macroconídios). Alguns meios foram avaliados, visando à maior produção de macroconídios, como: extrato de plantas de feijoeiro-ágar, extrato de plantas de feijoeiro-dextrose-ágar, batata-dextrose-ágar (BDA), batata-dextrose-ágar modificado, plantas de feijoeiro cortadas em pequenos pedaços-ágar e extrato de sementes de feijão dextrose-ágar (ESFDA). O meio ESFDA proporcionou produção satisfatória de macroconídios e diâmetro de colônia, seguido pelo BDA (Ribeiro & Ferraz, 1984), sendo os mais indicados para o crescimento e esporulação do fungo.

## 2.5 Variabilidade patogênica

Estudos sobre a variabilidade patogênica de isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* já foram realizados em algumas instituições de pesquisa, com o objetivo de monitorar as raças existentes do fungo.

Há relatos da ocorrência de raças patogênicas distribuídas em diferentes regiões geográficas. A raça 1 foi identificada na Carolina do Sul (EUA) e em Portici (Itália) (Ribeiro & Hagedorn, 1979a), a raça 2 inclui isolados do Brasil (Ribeiro & Hagedorn, 1979b), a raça 3 ocorre na Colômbia (Salgado et al., 1995), a raça 4 inclui um isolado do Colorado (EUA) (Salgado & Schwartz, 1993) e a raça 5 foi identificada na Grécia (Kastoria) (Woo et al., 1996). Mais recentemente, Alves-Santos et al. (2002b), utilizando uma série de cultivares diferenciadoras (Tabela 1), propostas pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), na Colômbia, verificaram que estão ocorrendo outras duas raças, uma compreendendo isolados da Espanha – denominada de raça 6 – e a outra compreendendo isolados da Grécia (Chryssoupolis) – raça 7.

No Brasil, os trabalhos de levantamento de raças patogênicas têm encontrado apenas a raça 2 ou brasileira ocorrendo (Ribeiro & Hagedorn, 1979a; Nascimento et al., 1995a; Alves-Santos et al., 2002b). Porém, em levantamento realizado por Ito et al. (1997), utilizando sete isolados provenientes da região de

Capão Bonito, SP, verificou-se que, com base na reação das diferenciadoras propostas pelo CIAT, os isolados formaram três grupos distintos, sendo três classificados como raça brasileira e dois como raça americana. Os autores comentaram que estes dados são preliminares e necessitam de maiores estudos.

Em outro trabalho mais recente, Sala et al. (2006) avaliaram a reação de linhagens de feijoeiro às quatro raças de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* identificadas por Ito et al. (1997). Os autores denominaram as raças I, II, III e IV. Foi verificado que 35 linhagens foram resistentes às quatro raças, sendo potencialmente úteis em um programa de melhoramento para resistência a este patógeno. Brick et al. (2006) avaliaram 194 linhagens de feijoeiro de diferentes origens quanto à reação às raças 1, 4 e 5 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e verificaram que apenas cinco linhagens foram resistentes às três raças.

A caracterização de isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* por meio de marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) foi realizada por Cramer et al. (2002). Foram utilizados isolados das raças 1, 3, 4 e 6 do fungo, em que os isolados patogênicos do fungo apresentaram o mesmo padrão de bandas em gel de agarose. Com o bandeamento de RAPD foi possível distinguir entre as raças 3, 4 e 6, mas não entre as raças 1 e 4. Em trabalho realizado por Alves-Santos et al. (2002a), os autores diferenciaram isolados patogênicos de não patogênicos por meio de uma marca SCAR (ou *Sequence Characterized Amplified Region*) desenvolvida a partir de uma banda de RAPD. Porém, Cramer et al. (2003) verificaram que, devido à grande diversidade genética entre isolados de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, as marcas de RAPD não foram eficientes para identificar os isolados, de acordo com a sua patogenicidade ou origem geográfica. Desse modo, concluíram que mais pesquisas são necessárias para identificar genes com alelos específicos para *formae speciales*, as quais poderão levar a um maior entendimento sobre o complexo *Fusarium oxysporum*.

TABELA 1. Cultivares diferenciadoras de feijoeiro, propostas pelo CIAT, utilizadas para a classificação de raças de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

Raças/cultivares	A211	BAT477	Calima	IPA1	HF465-63-1
Raça 1	S	S	R	R	R
Raça 2	S	R	R	S	R
Raça 3	R	R	S	R	R
Raça 4	S	S	S	S	R
Raça 5	S	S	R	S	R
Raça 6	S	S	S	S	S
Raça 7	R	S	S	R	R

Adaptado de Alves-Santos et al. (2002b).

Brick et al. (2006) também avaliaram uma marca SCAR associada à reação de resistência de linhagens de feijoeiro e verificaram que não houve associação entre a marca e a resistência das linhagens.

## 2.6 Identificação de fontes de resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* no feijoeiro

Na busca de fontes de resistência às várias raças do fungo, foram realizadas avaliações em germoplasma de feijoeiro. Esse tipo de pesquisa vem sendo realizada há algum tempo. Balardin et al. (1990) estudaram a resistência de germoplasma de feijão, no estado de Santa Catarina. Dentre as cultivares recomendadas para o estado, a ‘Rio Tibagi’ apresentou o menor índice de doença (16,67%) e a ‘EMPASC 201’ o maior índice (100%). Considerando as não recomendadas, destacaram-se a ‘Goiano Precoce’ e ‘G 2338’.

Estudos de patogenicidade foram realizados por Piza (1993), a partir da inoculação de dez isolados de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* na cultivar Rosinha G-2. Verificou-se que todos os isolados foram patogênicos à cultivar, diferindo em virulência. Alguns isolados manifestaram sintomas após 15 dias da inoculação, evidenciando serem necessários cerca de 21 dias para a expressão completa dos sintomas. Foram avaliadas também 75 linhagens, das quais 19

comportaram-se como resistentes, 17 como intermediárias e 39 como suscetíveis. Entre as resistentes, destacaram-se as cultivares Rio Tibagi e Diacol Calima e, entre as suscetíveis, estão Goiano Precoce e Carioca.

Avaliando 67 linhagens ao isolado da raça brasileira, Nascimento et al. (1995b) verificaram que 44 foram resistentes. No grupo das linhagens resistentes, encontram-se Rio Tibagi, Diacol Calima e, entre as suscetíveis, a Carioca, mesmo resultado obtido por Piza (1993).

Experimentos realizados em casa de vegetação foram avaliados com relação à resposta a dois isolados de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, FOP 46 e FOP 53 (Rava et al., 1996). As cultivares IAPAR 44, Milionário 1732, FT Tarumã, Serrano, São José e Rico 1735 foram resistentes aos dois isolados do fungo. As cultivares Rio Tibagi e IAPAR 14 foram suscetíveis ao isolado FOP 46 e intermediárias ao FOP 53, e as cultivares Carioca, Rosinha, Costa Rica, FT 120, entre muitas outras, foram consideradas suscetíveis.

A reação de 169 genótipos de feijoeiro ao fusarium foi verificada por Rocha Júnior et al. (1998). Destes, 155 genótipos foram suscetíveis. Apenas as cultivares Carioca MG, Ouro Negro, Diacol Calima, CNF 05, Jalo e Negro Argel e as linhagens ESAL 574, LM 30406, CI 11, P 79, CIAT 430, CI 164-1, Coleta 208 e CI 164-4 foram resistentes.

Buruchara & Camacho (2000) avaliaram 29 linhagens de feijão de hábito de crescimento IV (trepadores) e 44 linhagens de hábito I e II (arbustivo). Das 29 linhagens de hábito IV, 19 foram resistentes, 2 intermediárias e 8 suscetíveis e, das 44 arbustivas, 28 foram resistentes, 5 intermediárias e 11 suscetíveis.

Como se constatou, há ampla diversidade no germoplasma brasileiro com relação à resistência ao *Fusarium*. Esse tipo de pesquisa deve ser freqüentemente realizado para se obter informações a respeito da resistência,

sobretudo das novas linhagens que estão em fase de recomendação para o cultivo.

## **2.7 Métodos de estudos do controle genético da resistência a patógenos**

As variações na resistência a patógenos podem ser expressas de modo contínuo ou discreto em uma população segregante, dependendo do número de genes de resistência envolvidos. Estudos sobre o controle genético de determinados caracteres são relativamente simples, quando trata-se de herança monogênica ou oligogênica (qualitativa) e, assim sendo, apresentam distribuição discreta. Neste caso, os indivíduos de uma população segregante enquadram-se em classes bem definidas de resistência ou suscetibilidade. Se a variação é contínua, ocorre um gradiente entre a suscetibilidade e a resistência, e muitos genes de resistência estão envolvidos, sendo a resistência poligênica (Mather & Jinks, 1984).

Nos estudos de controle genético, deve-se escolher genitores que apresentem reação contrastante para o caráter em questão, realizar os cruzamentos e obter as gerações  $F_1$  e  $F_2$ . Pode-se também obter os retrocruzamentos (RC), ou seja, o cruzamento da geração  $F_1$  com ambos ou apenas um dos genitores. Posteriormente, avaliam-se os genitores e todas as gerações de cruzamentos obtidas e verifica-se a segregação fenotípica, determinando o controle genético dos caracteres com base nas leis mendelianas. Sendo os genitores puros, não haverá segregação na geração  $F_1$ , apenas nas demais. Deve-se testar a hipótese de segregação com o teste estatístico de Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ), o qual verifica se os desvios apresentados entre a frequência observada e a esperada são significativos em determinado nível de probabilidade (normalmente, 5%) (Ramalho et al., 2004).

Contudo, se o caráter de interesse apresentar distribuição contínua, são utilizados modelos de genética quantitativa, os quais assumem grande número

de locos de efeitos aproximadamente iguais e pequenos, muito influenciados pelo ambiente. De posse dos genitores contrastantes e das gerações  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_3$ , ...,  $RC_1$  e  $RC_2$ , é possível estimar os componentes de variância, de médias e de covariâncias (Cruz et al., 2004).

Quando se consideram componentes de médias, estima-se  $m$ ,  $a$  e  $d$ , em que  $m$  representa a média fenotípica dos genótipos homozigóticos, ou ponto médio;  $a$  mede o afastamento dos homozigotos em relação ao ponto médio, efeito aditivo e  $d$  mede o afastamento do heterozigoto em relação ao ponto médio. As relações entre  $a$  e  $d$  permitem conhecer o tipo de interação alélica presente, em que  $d/a$  mede o grau de dominância ( $gd$ ) de um determinado loco. Desse modo, se  $gd = 0$ , tem-se ausência de dominância ou presença de efeitos aditivos; se  $gd = 1$ , a dominância é completa; se  $0 < gd < 1$ , a dominância é parcial; e se  $gd > 1$ , há sobredominância (Bernardo, 2002). Embora a relação  $d/a$  indique o tipo de interação alélica, a relação  $\Sigma d/\Sigma a$  não serve para essa finalidade, quando se considera mais de um gene, sendo uma desvantagem do método. A relação  $\Sigma d/\Sigma a$  pode ser pequena pelo fato de alguns dos  $d$  serem positivos e outros negativos, levando a um valor pequeno de  $\Sigma d$ , embora nenhum dos  $d$  seja individualmente pequeno (Mather & Jinks, 1984). Esses parâmetros são estimados utilizando-se o método dos quadrados mínimos ponderados (Cruz et al., 2004).

A utilização dos componentes de variância permite eliminar a desvantagem dos componentes de médias, visto que os efeitos individuais dos locos não se cancelam, pois são elevados ao quadrado. As variâncias genéticas aditivas e de dominância permitem estimar a herdabilidade no sentido amplo ( $\hat{h}^2_a$ ), a herdabilidade no sentido restrito ( $\hat{h}^2_r$ ) e o grau médio de dominância ( $g\hat{m}d$ ). Detalhes sobre como obter essas estimativas são encontradas em Ramalho et al. (1993) e Cruz et al. (2004).

É freqüente a aplicação desses métodos de estudo do controle genético da resistência a patógenos, em várias espécies cultivadas, entre elas o feijoeiro (Ribeiro & Hagedorn, 1979b; Salgado et al., 1995; Cross et al., 2000; Vieira, 2004). Informações a respeito da resistência ao *Fusarium* serão comentadas no próximo item.

### **2.8 Controle genético da resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli***

Algumas pesquisas já foram realizadas visando conhecer o controle genético da resistência. Um dos primeiros relatos a esse respeito foi o de Ribeiro & Hagedorn (1979b) que estudaram a natureza da resistência do feijoeiro ao *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, realizando três cruzamentos entre cultivares resistentes e suscetíveis às raças brasileira e norte-americana/européia do fungo. As cultivares utilizadas foram: ‘Bush Blue Lake 274’ (S às duas raças), ‘Tenderette’, ‘Early Gallatin’, ‘Pintado’ (R à raça brasileira) e ‘Preto Uberabinha’ (R à raça americana). A análise da segregação nos cruzamentos indicou um gene com dominância do alelo que condiciona resistência à raça brasileira do fungo. Esse gene foi denominado Fop 1. O controle genético para a raça americana/européia do fungo foi devido também a um gene, contudo, o alelo de resistência apresentou dominância parcial e foi denominado de Fop 2. Verificou-se também que o mecanismo de resistência a ambas as raças do fungo deve-se à restrição da distribuição ou do crescimento do patógeno no sistema vascular das plantas inoculadas.

A herança da resistência à raça 4 encontrada no Colorado (EUA) foi investigada por Salgado et al. (1995), utilizando nove linhagens de feijoeiro como parentais, diferindo na reação ao patógeno. As avaliações foram realizadas nos parentais e nas gerações F<sub>2</sub> e F<sub>3</sub>. A segregação em F<sub>2</sub> dos cruzamentos envolvendo linhagens da raça Durango foi de acordo com o modelo de um alelo dominante governando a resistência (3R:1S). Contudo, a segregação das

linhagens mesoamericanas foi mais complexa, sugerindo a existência de controle oligogênico ou poligênico.

Cross et al. (2000) também estudaram o controle genético da resistência do feijoeiro à raça 4, envolvendo linhagens do pool gênico Durango e Mesoamericano. Foram avaliadas as populações  $F_2$  e as progênies  $F_{2,3}$ . A segregação nas populações  $F_2$ , derivadas do cruzamento entre linhagens da raça Durango, foi de 3R:1S, sugerindo que um gene com alelo dominante controla a resistência à raça 4 do fungo. A segregação das progênies  $F_{2,3}$ , derivadas das plantas  $F_2$  resistentes, foi de 1 sem segregação:2 segregando resistente e suscetível, confirmado a hipótese de um gene com alelo dominante. Os autores propuseram denominar o gene que controla a resistência à raça 4 de Fop 4. Considerando os cruzamentos entre linhagens da raça Mesoamericana, a distribuição de severidade nas plantas  $F_2$  e populações  $F_3$  foi contínua, sugerindo modelo poligênico. Essa distribuição sugere que a herança da resistência difere entre linhagens de feijoeiro das raças Durango e Mesoamericana.

A resistência a múltiplas raças de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* em feijoeiro foi estudada por Brick et al. (2004). De acordo com a segregação das progênies  $F_2$ , os autores concluíram que um gene com dominância completa, nas linhagens Sierra e LEF-2RB, confere resistência ao fungo. A linhagem Sierra possui o gene de resistência à raça 4 e a linhagem LEF-2RB possui genes independentes que conferem resistência às raças 4 e 5.

Em estudo para mapeamento genético e identificação de genes de efeito maior associados à resistência à raça 4 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em cultivares de feijão, foi realizado um cruzamento entre a linhagem Belneb RR-1 (pool gênico Durango) suscetível à raça 4 e a linhagem A55 (pool gênico Mesoamericano) resistente às raças 1, 2 e 4. As 76 progênies  $F_6$  originadas foram avaliadas quanto à severidade da doença, resultando em 53 progênies suscetíveis, 16 intermediárias e 7 resistentes. Os dados fenotípicos foram

comparados com a existência de marcas de RAPD (*Random amplified polymorphic DNA*). A média de ocorrência de doença nas linhagens parentais foi de  $9,0 \pm 0,1$  e de  $2,9 \pm 0,2$ , para Belneb RR-1 e A55, respectivamente.

Foram encontrados 3 locos com associação significativa com as notas de severidade da doença. A marca de maior significância foi U20.750, do grupo de ligação (LG) 10, respondendo por 63,5% da variação fenotípica da severidade da doença, detectando um *quantitative trait loci* (QTL) ligado à marca, com uma distância de, aproximadamente, 1 cM entre a marca U20.750 e o QTL de resistência à murcha-de-fusarium. Este foi o primeiro registro de identificação e mapeamento de locos de efeito maior para resistência à murcha-de-fusarium (Fall et al., 2001).

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. J.; BLACKWELL, M. **Introductory mycology**. 4.ed. New York: J. Wiley, 1996. 880 p.

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

ALVES-SANTOS, F. M.; CORDEIRO-RODRIGUES, L.; SAYAGUÉS, J. M.; MARTÍN-DOMINGUEZ, R.; GARCÍA-BENAVIDES, P.; DÍAZ-MÍNGUEZ, J. M.; ESLAVA, A. P. Pathogenicity and race characterization of *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* isolates from Spain and Greece. **Plant Pathology**, v. 51, p. 605-611, Apr. 2002b.

AMARO, G. B.; ABREU, A. de F. B.; RAMALHO, M. A. P.; SILVA, F. B. Phenotypic recurrent selection in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) with carioca-type grains for resistance to the fungi *Phaeoisariopsis griseola*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, n. 3, p. 584-588, July/Sept. 2007.

BALARDIN, R. S.; PASTOR-CORRALES, M. A.; OTOYA, M. M. Resistência de germoplasmas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) a *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 15, n. 1, p. 102-103, mar. 1990.

BEDENDO, I. P. Podridões de raiz e colo. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995a. Cap. 43, v. 1, p. 829-837.

BEDENDO, I. P. Doenças vasculares. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995b. Cap. 44, v. 1, p. 838-847.

BERNARDO, R. **Breeding for quantitative traits in plantas**. Woodbury: Minnesota, 2002. 368p.

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. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, p.376-399.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. 4.ed. Viçosa: UFV, 2005. v. 1. 525 p.

BRICK, M. A.; BYRNE, P. F.; SCHWARTZ, H. F.; OGG, J. B.; OTTO, K.; FALL, A. L.; GILBERT, J. Reaction of three races of *Fusarium* wilt in the *Phaseolus vulgaris* core collection. **Crop Science**, v. 46, p. 1245-1252, May/June 2006.

BRICK, M. A.; OGG, J. B.; SCHWARTZ, H. F.; BYRNE, P. F.; KELLY, J. D. Resistance to multiple races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in common bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative – BIC**, v. 47, p. 131-132, mar. 2004.

BURUCHARA, R.A.; CAMACHO, L. Common bean reaction to *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*, the cause of severe vascular wilt in Central Africa. **Journal of Phytopathology**, v. 148, p. 39-45, Jan. 2000.

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

COUTO, M. A. **Seleção de linhagens de feijão tipo carioca com resistência à antracnose e à mancha angular**. 2005. 74p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CRAMER, R. A.; BRICK, M. A.; BYRNE, P. F.; SCHWARTZ, H. F.; WICKLIFFE, E. Characterization of *Fusarium* wilt isolates collected in the Central High Plains. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative – BIC**, v. 45, p. 38-39, Mar. 2002.

CRAMER, R. A.; BYRNE, P. F.; BRICK, M. A.; PANELLA, L.; WICKLIFFE, E.; SCHWARTZ, H. F. Characterization of *Fusarium oxysporum* isolates from common bean and sugar beet using pathogenicity assays and random-amplified polymorphic DNA markers. **Journal of Phytopathology**, v. 151, p. 352-360, June 2003.

CROSS, H.; BRICK, M. A.; SCHWARTZ, H. F.; PANELLA, L. W.; BYRNE, P. F. Inheritance of resistance to fusarium wilt in two common beans races. **Crop Science**, v. 40, p. 954-958, July/Aug. 2000.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2004. v. 1, 480p.

DHINGRA, O. D.; COELHO NETTO, R. A. Micotoxinas em grãos. In: LUZ, W. C. (Ed.). **Revisão anual de patologia de plantas**. Passo Fundo: Gráfica e Editora Padre Berthier dos Missionários da Sagrada Família. 1998. v. 6, p. 49-101.

DHINGRA, O. D.; COELHO NETTO R. A. Reservoir and non-reservoir hosts of bean-wilt pathogen, *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. **Journal of Phytopathology**, v. 149, p. 463-467, Aug. 2001.

DONGO, S. L.; MÜLLER, L. E. Estudios sobre la patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* en el frijol. II. Pruebas varietales. **Turrialba**, v. 19, n. 1, p. 82-90, Jan./Mar. 1969.

ECHANDI, E. Amarillamiento del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) provocado por *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. **Turrialba**, v. 17, n. 4, p. 409-410, Oct./Dec. 1967.

FALL, A. L.; BYRNE, P. F.; JUNG, G.; COYNE, D. P.; CRICK, M. A.; SCHWARTZ, H. F. Detection and mapping of a major locus for fusarium wilt resistance in common bean. **Crop Science**, v. 41, p. 1494-1498, Sept./Oct. 2001.

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

HAWSKORTH, D. I.; KIRK, P. M.; SUTTON, B. C.; PEGLER, D. M. **Ainsworth and bisby's dictionary of the fungi**, 8.ed. Eghani, United Kingdom: International Mycological Institute, 1995.

KENDRICK, J. B.; SNYDER, W. C. Fusarium yellows of bean. **Phytopathology**, v. 32, p. 1010-1014, 1942.

KIMATI, H. Doenças do feijoeiro. In: GALLI, F. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. v. 2, p. 297-318.

MARTINELLI, J. A. Uso de misturas varietais para o controle de doenças de plantas. In: LUZ, W. C. **Revisão anual de patologia de plantas**. Passo Fundo: Gráfica e Editora Padre Berthier dos Missionários da Sagrada Família. 1993. v.1, p. 121-135.

MATHER, K.; JINKS, J. L. **Introdução é genética biométrica**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Genética, 1984. 242 p.

NASCIMENTO, S. R. C.; KUROZAWA, C.; MARINGONI, A. C. Avaliação de raças fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 20, n. 2, p. 214-217, jun. 1995a.

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

NASCIMENTO, S. R. C.; MARINGONI, A. C.; KUROSAWA, C. Determinação do efeito da concentração e do tipo de inóculo na severidade dos sintomas da murcha de Fusarium em feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 24, n. 1, p. 8-11, Jan./Mar. 1998.

NELSON, P. E.; TOUSSON, T. A.; MARASAS, W. F. **Fusarium species: an illustrated manual for identification**. Pennsylvania/London: The Pennsylvania State University/University Park and London, 1993. 193 p.

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

PAULA JÚNIOR, T. J. de; ZAMBOLIM, L. Doenças. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J. de; BORÉM, A. (Org.). **Feijão**. 2.ed. Viçosa: UFV, 2006. v. 1, p. 359-414.

PEREIRA, O. L. *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous & Braun: novo nome para o agente causal da mancha angular do feijoeiro. Brasília-DF: Editora da Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2007. 4 p. (Informativo Notícias Fitopatológicas, 31).

PEREIRA, H. S.; SANTOS, J. B. Genetic Constitution of anthracnose resistance in common bean lines. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 4, n. 4, p. 422-426, 2004.

PIZA, S. M. de T. Patogenicidade de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* e reação de germoplasma de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). **Summa Phytopathologica**, v. 19, n. 3/4, p. 165-167, 1993.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos; ZIMMERMANN, M. J. de O. **Genética quantitativa em plantas autógamas**: aplicações ao melhoramento do feijoeiro. Goiânia: UFG, 1993. 271 p.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. **Genética na agropecuária**. 3.ed. Lavras: UFLA, 2004. 472 p.

RAVA, C. A.; SARTORATO, A.; COSTA, J. G. C. Reação de genótipos de feijoeiro comum ao *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* em casa de vegetação. **Fitopatologia Brasileira**, v. 21, n. 2, p. 296-300, jun. 1996.

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

RIBEIRO, R. de L. D.; HAGEDORN, D. J. Screening for resistance to and pathogenic specialization of *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*, the causal agent of bean yellows. **Phytopathology**, v. 69, n. 3, p. 272-276, Mar. 1979a.

RIBEIRO, R. de L. D.; HAGEDORN, D. J. Inheritance and nature of resistance in beans to *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. **Phytopathology**, v. 69, n. 8, p. 859-861, Aug. 1979b.

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.

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

SALGADO, M. O.; SCHWARTZ, H. F. Physiological specialization and effects of inoculum concentration on *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in common beans. **Plant Disease**, v. 79, n. 5, p. 492-496, May 1993.

SALGADO, M. O.; SCHWARTZ, H. F.; BRICK, M. A. Inheritance of resistance to a Colorado race of *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in common beans. **Plant Disease**, v. 79, n. 3, p. 279-281, Mar. 1995.

VIEIRA, F. C. **Controle genético da reação do feijoeiro ao *Phaeoisariopsis griseola* e seleção de famílias baseada em caracteres agronômicos**. 2004. 31p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

ZAMBOLIM, L.; VIEIRA, C.; ARAÚJO, G. A. A. de; CHAGAS, J. M.; SILVA, C. C. da. Ocorrência de murcha-de-fusarium em feijoeiros na zona da mata de Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**, v. 12, n. 3, p. 287-288, set. 1987.

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

## **CAPÍTULO 2**

### **ESTRATÉGIAS PARA MELHORAR A EFICIÊNCIA DA SELEÇÃO, VISANDO À RESISTÊNCIA DO FEIJOEIRO A**

*Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli*

## RESUMO

PEREIRA, Mônica Juliani Zavaglia. Estratégias para melhorar a eficiência da seleção, visando à resistência do feijoeiro A *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. N. In: \_\_\_\_\_. **Resistência do feijoeiro a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli***. 2007. Cap. 2, p. 29-57, Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Na condução de um programa de seleção visando à resistência, há alguns procedimentos que devem ser realizados para tornar o processo mais eficaz, sobretudo durante o *screening* das progênies. Esses procedimentos envolvem a metodologia de inoculação, a idade das plantas na inoculação, o melhor número de repetições a ser adotado e a época de inoculação. Para isso foram conduzidos experimentos de metodologias de avaliação, épocas de inoculação, idades das plantas para inoculação e número de repetições. No experimento de avaliação de metodologias, foram comparados 7 métodos de inoculação, em 4 linhagens de feijão, diferindo na suscetibilidade ao patógeno. Para identificar a melhor época de avaliação foi realizado o acompanhamento do progresso da doença aos 7, 14, 21 e 28 dias após a inoculação (DAI). A idade das plantas no momento da inoculação foi avaliada, inoculando-se aos 7, 8, 9, 10, 12 e 14 dias após a semeadura. A partir dos dados de um experimento realizado com 15 repetições, envolvendo 20 linhagens, simulou-se o efeito do número de repetições variando de 5 a 15. Em todos os experimentos, a concentração de inóculo utilizada foi de  $10^6$  conídios/ml (macro e microconídios) e as plantas testemunhas foram mergulhadas em água destilada. Constatou-se que a metodologia que discriminou as linhagens de maneira eficiente foi a imersão de raízes em suspensão de esporos, com ou sem o corte do sistema radicular. A severidade tendeu a ser menor quando as plantas foram inoculadas mais velhas. Com relação à época de avaliação, houve interação significativa entre linhagens e épocas na análise de variância, significando que o comportamento das linhagens não foi coincidente nas diferentes épocas de avaliação. As estimativas das correlações de Spearman mostraram que a avaliação realizada aos 21 DAI classificou as linhagens de modo semelhante ao que seria obtido em avaliações mais tardias. Ficou evidenciado também que 5 repetições são suficientes para permitir a classificação da reação das linhagens de feijoeiro à murcha de fusarium.

---

\* Comitê Orientador: Magno Antonio Patto Ramalho – UFLA (Orientador).  
Ângela de Fátima Barbosa Abreu – Embrapa Arroz e Feijão (Co-orientadora).

## ABSTRACT

PEREIRA, Mônica Juliani Zavaglia. Strategies to improve selection efficiency in common bean for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. N . In: \_\_\_\_\_ . **Resistance of common bean to *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli***. 2007. Cap. 2, p. 29-57, Thesis (Doctorate in Genetics and Plant Breeding) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.

In conducting a selection program aiming resistance, some questions should be answered to make the process more efficient, mainly concerning progenies screening. Among these questions are the inoculation methodologies, the ideal number of replications, the plant age for inoculation and time of symptoms evaluation. The assessment of inoculation methodologies, time of evaluations, age of plants to be inoculated and number of replications were evaluated. Seven methods of inoculation were compared using four lines of common beans differing in susceptibility to the fungus. The disease progress was measured at seven, 14, 21 and 28 days after inoculation (DAI). Plants were inoculated at seven, eight, nine, ten, 12 and 14 days after sowing. The effect of number of replications varying from five to 15 was simulated, using the data from a 15 replications experiment, with 20 lines. In all assessments, inoculum concentration was adjusted to  $10^6$  conidia/ml and control plants were dipped in distilled water. The best methodologies to discriminate the lines were root immersion in a suspension of spores with or without cutting the roots. The severity scores were lower when older plants were inoculated. In relation to time of evaluation, significant lines x times interaction was observed, showing that the behavior of lines was not coincident in the different times. Disease evaluation must be done at least after 21 DAI. Five replications are sufficient to classify efficiently the lines of common bean to the Fusarium wilt.

---

\* Guidance Committee: Magno Antonio Patto Ramalho – UFLA (Major Professor). Ângela de Fátima Barbosa Abreu – Embrapa Arroz e Feijão (Co-Major Professor).

## 1 INTRODUÇÃO

Com o incremento do cultivo do feijoeiro em uma mesma área no Brasil, sobretudo naquelas onde se utiliza irrigação, alguns problemas fitossanitários têm se acentuado. Entre esses problemas, a murcha-de-fusarium, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* Schlecht. f. sp. *phaseoli* Kendrick e Snyder, vem ganhando importância.

A principal alternativa para atenuar o problema causado por esse patógeno é a utilização de cultivares resistentes. Na obtenção de linhagens resistentes, há algumas etapas a serem seguidas: a primeira é a identificação de boas fontes de resistência ao patógeno; a segunda é realizar os cruzamentos das linhagens mais promissoras, visando incorporar a resistência em cultivares recomendadas suscetíveis ou incrementar a resistência nas linhagens disponíveis; a terceira é selecionar, nas populações segregantes, os indivíduos e ou progênies resistentes.

Constata-se que, em quase todo o programa, há necessidade de avaliar o comportamento da planta e ou progênie com relação à reação ao patógeno. Esse procedimento, embora possa ser realizado no campo, quase sempre é efetuado em casa de vegetação, onde o controle ambiental é mais eficaz. No processo de avaliação da resistência, há alguns questionamentos. Entre eles estão o número de plantas a serem avaliadas por linhagem, a metodologia de inoculação e a época de avaliação, entre outras. Alguns trabalhos já foram realizados visando à melhoria do processo de *screening* das linhagens (Ribeiro & Hagedorn, 1979; Ribeiro & Ferraz, 1984; Piza, 1993; Nascimento et al., 1998; Buruchara & Camacho, 2000; Cavalcanti et al., 2002). Esses trabalhos forneceram importantes informações, contudo, ainda persistem algumas dúvidas sobre

procedimentos que necessitam ser esclarecidos para melhorar a eficiência das avaliações em grande escala nos programas de melhoramento.

Para complementação das informações já existentes, foi realizado o presente trabalho, com o objetivo de estimar o número de plantas a serem inoculadas, o método de inoculação do patógeno, a idade das plantas na inoculação e a época ideal de avaliação da reação das linhagens. Busca-se determinar a maior eficiência do procedimento de *screening* em um programa de seleção visando resistência ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Departamento de Biologia, área de Genética e Melhoramento de Plantas, da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG. O local situa-se a 21°58' de latitude Sul e 45°22' de longitude Oeste, com altitude média de 910 metros. A precipitação anual média é de 1.471 mm, com médias de temperaturas máxima de 22,6°C e mínima de 15,8°C.

### 2.1 Metodologias de inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em feijoeiro

Para testar as metodologias de inoculação, foram utilizadas quatro linhagens de feijoeiro: duas delas classificadas anteriormente como suscetíveis (Carioca e CNFC 10443) e duas consideradas resistentes (Carioca MG e BRSMG Majestoso). O delineamento utilizado foi o inteiramente ao acaso, com cinco repetições, segundo o esquema fatorial 4 x 7. A parcela era constituída de um vaso com uma planta.

Foi utilizado o isolado Fop 01 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Fop), coletado em plantas de feijoeiro no campo experimental do Departamento de Biologia. As plantas infectadas apresentavam abundante esporulação externa à haste, de coloração rosada (Anexo 1, Figura 1A), facilitando, dessa forma, o isolamento do fungo (Bianchini et al., 1997).

O isolamento foi realizado com o auxílio de uma agulha entomológica, recolhendo-se os esporos e, então, transferindo-os para placas de Petri contendo meio de cultura ágar água (AA), batata dextrose ágar (BDA) ou extrato de malte. Após dois ou três dias de crescimento nesses meios, um segmento da colônia era repicado para placas de Petri contendo meio BDA. As placas sempre foram

mantidas em BOD, com temperatura de  $24^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ , sob iluminação contínua, para favorecer a esporulação do fungo (Ribeiro & Ferraz, 1984). A conservação dos isolados foi realizada em tubos de ensaio contendo meio de cultura BDA, imersos em óleo mineral e armazenados em BOD, à temperatura de  $24^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Para a produção do inóculo, segmentos do meio conservado eram repicados para placas de Petri contendo os meios de BDA e de extrato de semente de feijão dextrose ágar (ESFDA), os quais, segundo Ribeiro & Ferraz (1984), proporcionaram produção satisfatória de macroconídios para inoculação. As placas foram incubadas em BOD durante 10 dias, em temperatura de  $24^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ , sob iluminação contínua. A suspensão de esporos foi preparada minutos antes de cada inoculação, sendo utilizada concentração de  $1 \times 10^6$  conídios/ml (macro e microconídios).

A semeadura das linhagens foi realizada em bandejas de isopor de 128 células, contendo substrato Plantmax para horticultura, sendo colocadas em casa de vegetação para germinação e crescimento das plantas. Quando as plantas estavam com 9-10 dias após a semeadura (primeiro par de folhas unifolioladas completamente expandida), foi implantado o experimento. As metodologias avaliadas são descritas a seguir.

#### **a) Imersão de raízes na suspensão de esporos, com corte do sistema radicular (Pastor-Corrales & Abawi, 1987)**

As plantas foram retiradas das bandejas e o sistema radicular foi lavado em água corrente, cortando-se  $1/3$  do seu comprimento com o auxílio de uma tesoura, e mergulhado na suspensão de esporos durante cinco minutos. As raízes das plantas testemunhas foram mergulhadas em água destilada.

**b) Imersão de raízes na suspensão de esporos, sem o corte do sistema radicular**

As plantas foram retiradas das bandejas, o sistema radicular foi lavado em água corrente e mergulhado na suspensão de esporos, durante cinco minutos. As raízes das plantas testemunhas foram mergulhadas em água destilada.

**c) Deposição de gota da suspensão na haste**

As plantas foram retiradas da bandeja de isopor, juntamente com o substrato, sem lavagem ou danificação do sistema radicular e transplantadas em vasos. A inoculação consistiu na deposição de uma gota de 150µl da suspensão de esporos na haste das plantas e posterior perfuração da mesma com o auxílio de uma agulha, para a penetração da suspensão.

**d) Aspersão da suspensão de esporos nas folhas**

As plantas foram retiradas da bandeja de isopor, sem lavagem ou danificação no sistema radicular e transplantadas em vasos contendo substrato. A inoculação consistiu na aspersão da suspensão de esporos nas folhas, até o ponto de escorrimento e manutenção em câmara úmida durante 48 horas.

**e) Injeção da suspensão de esporos na haste**

As plantas foram retiradas da bandeja de isopor, sem lavagem do sistema radicular e transplantadas em vasos contendo substrato. Com o auxílio de uma seringa, injetou-se 0,1 ml da suspensão de esporos na haste.

**f) Perfuração do solo e deposição de 10 ml da suspensão**

As plantas foram retiradas da bandeja de isopor, sem lavagem do sistema radicular, e transplantadas em vasos contendo substrato. Com o auxílio

de um canivete, o solo ao redor das raízes foi perfurado várias vezes e, então, depositaram-se 10 ml da suspensão de esporos no local.

#### **g) Perfuração do solo e deposição de 30 ml da suspensão**

As plantas foram retiradas da bandeja de isopor, sem lavagem do sistema radicular e transplantadas em vasos contendo substrato. Com o auxílio de um canivete, o solo ao redor das raízes foi perfurado várias vezes e, então, depositaram-se 30 ml da suspensão de esporos no local.

Em todas as metodologias, após as inoculações, as plantas foram mantidas em sala climatizada, com temperatura de  $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas, durante o período das avaliações. As plantas eram regadas a cada dois dias e receberam 1,0 g de adubo da formulação 8-28-16 de NPK, dez dias após a inoculação.

A avaliação da reação das linhagens ocorreu aos 21 dias após a inoculação (DAI), baseada no índice de severidade da doença desenvolvido pelo CIAT (Pastor-Corrales & Abawi, 1987), no qual: 1 = nenhum sintoma foliar ou vascular; 3 = 1% a 10% de folhas sintomáticas, suave murchamento de plantas e descoloração vascular no hipocótilo; 5 = 11% a 25% de folhas sintomáticas, moderada murcha nas plantas e descoloração vascular extensa até o primeiro nó; 7 = 26% a 50% de folhas sintomáticas, severa murcha de plantas e descoloração vascular por toda a haste e pecíolo e 9 = planta morta (Anexo A, Figura 2A). As linhagens com média de 1 a 3 foram consideradas resistentes; com médias de 3,1 a 6 intermediárias e de 6,1 a 9, suscetíveis (Salgado & Schwartz, 1993; Elena & Papas, 2002).

As notas de severidade foram submetidas à análise de variância e as médias agrupadas pelo teste de Scott & Knott (1974), utilizando o programa Sisvar.

## **2.2 Idade das plantas no momento da inoculação**

Foi utilizado um experimento semelhante ao do item 2.1, exceto que a inoculação foi realizada pelo método de imersão de raízes com o corte do sistema radicular (Pastor-Corrales & Abawi, 1987). Os tratamentos avaliados (idades de inoculação) foram aos 7, 8, 9, 10, 12 e 14 dias após a semeadura. O delineamento foi inteiramente ao acaso, segundo o esquema fatorial 4 x 6, sendo quatro linhagens e seis idades de avaliação.

A severidade foi avaliada por meio da escala de notas (item 2.1), aos 28 DAI. Procedeu-se à análise de variância das notas e estimaram-se as equações de regressão linear e quadrática para as linhagens utilizando-se o programa Sisvar.

## **2.3 Épocas de avaliação da severidade da doença**

Para verificar a melhor época de avaliar a severidade da doença, foi acompanhado o progresso da doença de 18 linhagens do experimento de valor de cultivo e uso (VCU), conduzido em Minas Gerais, no período de 2005/2006, pela Universidade Federal de Lavras (UFLA), Universidade Federal de Viçosa (UVF), Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Arroz e Feijão) e Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig). As linhagens avaliadas, todas de grão tipo carioca, foram: RC-I-8, MAI-2-5, CV-46, MAI-8-9, CV-55, CNFC-10443, CNFC-8065, CNFC-8959, CNFC-8075, VC-6, VC-7, VC-8, VC-9, VC-10, VC-11, VC-12, OP-NS-331 e VC-3. Como testemunhas utilizaram-se as cultivares Carioca (suscetível) e Carioca MG (resistente).

O isolado do fungo, a condução do experimento e o modo de avaliação foram os mesmos já descritos no item 2.1. O método de inoculação utilizado foi o de imersão de raízes, com corte do sistema radicular (Pastor-Corrales & Abawi, 1987). As avaliações ocorreram aos 7, 14, 21 e 28 dias após a inoculação (DAI). Adotou-se o delineamento inteiramente ao acaso, com 15 repetições. Cada parcela era constituída de um vaso com uma planta.

A análise da variância, com parcelas subdivididas no tempo, utilizando o programa SAS, foi efetuada considerando o seguinte modelo:

$$Y_{ijl} = m + t_i + r_{j(i)} + a_l + (at)_{il} + e_{(ijl)}$$

em que:

$Y_{ijl}$ : é a observação referente à linhagem  $i$ , na repetição  $j$ , na época  $l$ ;

$m$ : é a média geral;

$t_i$ : é o efeito da linhagem  $i$ , com  $i= 1, 2, \dots, 20$ ;

$r_{j(i)}$ : é o efeito da repetição  $j$ , dentro da linhagem  $i$ , com  $j= 1, 2, \dots, 15$ ;

$a_l$ : é o efeito da época de avaliação  $l$ , com  $l= 1, 2, 3, 4$ ;

$(at)_{il}$ : é o efeito da interação entre épocas de avaliação e linhagens;

$e_{(ijl)}$ : é o erro experimental.

Foram estimadas também as correlações de Spearman entre as épocas de avaliação (Steel et al., 1997), utilizando o programa SAS.

#### **2.4 Efeito do número de repetições na eficiência da seleção de linhagens de feijão**

Foi conduzido um experimento em que foram avaliadas as mesmas 20 linhagens de feijoeiro do experimento anterior, com 15 repetições. O procedimento experimental foi o mesmo adotado no item 2.3. A inoculação foi efetuada aos dez dias após a semeadura e a avaliação, por meio de escala de notas, aos 21 DAI.

Realizaram-se as análises de variância das notas de severidade, dados transformados para raiz quadrada de  $(x + 0,5)$  (Marques Júnior et al., 1997), considerando número de repetições variando de cinco a 15. Em cada número de repetições, exceto o 15, evidentemente, foram simuladas 600 possibilidades. Em cada situação procedeu-se a análise de variância, estimou-se o coeficiente de variação (CV) e o coeficiente de determinação [ $R^2 = (SQ_{tratamento}/SQ_{total})*100$ ]. A

simulação foi realizada utilizando o software estatístico R, versão 2.5.1 ([www.r-project.org](http://www.r-project.org)).

A partir das médias das notas obtidas pelas linhagens, considerando uma das simulações, tomada ao acaso, foram estimadas as correlações classificatórias de Spearman (Steel et al., 1997) envolvendo todos os diferentes números de repetições considerados, utilizando-se o programa SAS.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Metodologias de inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em feijoeiro

Constatou-se diferença significativa ( $P \leq 0,01$ ) entre as metodologias de inoculação avaliadas, entre as linhagens avaliadas e na interação linhagens x metodologias (Tabela 1). Algumas linhagens foram classificadas de modo diferente, de acordo com a metodologia empregada (Tabela 2). Contudo, como era esperado, para a cultivar Carioca MG, identificada previamente como resistente (Rocha Júnior et al., 1998), as notas de severidade de doença foram praticamente as mesmas em todas as metodologias, confirmando a sua performance anterior. Já com relação à cultivar Carioca, avaliada como testemunha suscetível (Ribeiro & Ferraz, 1984; Balardin et al., 1990; Piza, 1993; Nascimento et al., 1995b; Rava et al., 1996), o comportamento já não foi coincidente nas diferentes metodologias. Inclusive, em três delas (metodologias d, e, f), a cultivar foi considerada como resistente. O mesmo fato foi constatado para a linhagem CNFC 10443 e a cultivar BRSMG Majestoso, cujo desempenho não foi o mesmo nas diferentes metodologias.

Em uma situação como esta, a decisão a respeito de qual metodologia adotar não é fácil. Entretanto, considerando os aspectos práticos de manejo, as metodologias a e b (imersão de raízes na suspensão de esporos, com e sem o corte do sistema radicular, respectivamente) discriminaram bem as cultivares e são, relativamente, de fácil condução.

Os métodos em que se realiza a imersão de raízes favorecem a penetração do patógeno, devido à maior exposição da área das raízes aos conídios. Quando inoculadas de acordo com esses métodos, as linhagens foram bem discriminadas, portanto, eles são os de maior eficiência.

A metodologia g (perfuração do solo e deposição de 30 ml da suspensão de esporos) discriminou bem as cultivares, porém menos eficiente que as metodologias a e b. Deve ser enfatizado, contudo, que ela é limitada pela grande quantidade de suspensão necessária para se realizar uma inoculação. Considerando, por exemplo, que se realize a inoculação em 500 plantas, utilizando-se uma planta por vaso, o que é rotina nos trabalhos de melhoramento, seriam necessários 15 litros de suspensão de esporos.

TABELA 1. Resumo da análise de variância das notas de severidade da doença, utilizando diferentes metodologias de inoculação.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>
Linhagens	3	365,11	121,70**
Metodologias	6	422,64	70,44**
Linhagens x metodologias	18	262,04	14,56**
Erro	112	301,20	2,69
<b>Média</b>			<b>3,49</b>

TABELA 2. Notas de severidade do *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* e reação, utilizando diferentes metodologias de inoculação em feijoeiro.

<b>Metodologias de inoculação</b>	<b>Linhagens</b>								<b>Média</b>
	<b>Carioca</b>		<b>CNFC-10443</b>		<b>Carioca MG</b>		<b>BRSMG Majestoso</b>		
a) Método de imersão de raízes com corte do sistema radicular	8,6 a <sup>1</sup>	S <sub>2</sub>	9,0 a	S	1,0 a	R	4,6 a	I	5,8
b) Imersão de raízes, sem corte do sistema radicular	8,2 a	S	9,0 a	S	1,8 a	R	5,0 a	I	6,0
c) Deposição de gota da suspensão na haste	6,8 a	S	1,8 d	R	1,4 a	R	2,6 b	R	3,2
d) Aspersão da suspensão de esporos em folhas	1,0 c	R	1,0 d	R	1,0 a	R	1,0 b	R	1,0
e) Injeção da suspensão de esporos na haste	1,8 c	R	4,2 c	I	1,0 a	R	1,0 b	R	2,0
f) Perfuração do solo e deposição de 10 ml da suspensão	2,8 c	R	5,2 b	I	1,4 a	R	1,0 b	R	2,6
g) Perfuração do solo e deposição de 30 ml da suspensão	4,6 b	I	6,2 b	S	1,0 a	R	3,8 a	I	3,9
<b>Média</b>	<b>4,8</b>		<b>5,2</b>		<b>1,2</b>		<b>2,7</b>		<b>3,5</b>
<b>CV (%)</b>									<b>46,95</b>

<sup>1</sup>- Médias seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo, pelo teste de Scott-Knott, a 1% de probabilidade; <sup>2</sup>- reação: R- resistente, I- intermediário, S – suscetível;

### 3.2 Idade das plantas no momento da inoculação

O resumo da análise de variância das notas de severidade de *Fusarium oxysporum* nas linhagens de feijão em função das idades das plantas no momento da inoculação é apresentado na Tabela 3. Observa-se que as fontes de variação linhagens, idades e a interação linhagens x idades foram significativas ( $P \leq 0,05$ ). Esta última fonte de variação indica que o comportamento das cultivares não foi coincidente quando as plantas apresentavam diferentes idades na inoculação, sendo um indicativo de que pode haver uma idade ideal/recomendada para a inoculação das plantas.

Quando se estudou o efeito da idade em função da linhagem, verificou-se que apenas para a linhagem Carioca a fonte de variação idade foi não significativa. Contudo, a equação de regressão quadrática explicou 89,85% da variação, indicando que ocorreu diferença na resposta à idade para esta linhagem. Para as demais linhagens, o efeito da idade foi sempre significativo ( $P \leq 0,01$ ). Em todos os casos, apenas a regressão linear foi significativa. Verifica-se, inclusive, que o  $R^2$  do modelo quadrático apresentou pequeno incremento em relação ao linear.

Na Figura 1 estão apresentadas as equações de regressão, em função da idade, para todas as linhagens. Observou-se uma tendência de diminuição das notas de severidade da doença à medida que as plantas eram inoculadas mais tardiamente. A idade das plantas na inoculação que se apresentou mais eficaz na discriminação das cultivares foi até os dez dias após a semeadura. Com dez dias, as plantas apresentavam as folhas unifolioladas completamente expandidas. Quando as plantas são mantidas por maior período na câmara climatizada, elas tendem a estiolar. Como consequência, as avaliações de severidade do patógeno são mascaradas. De modo geral, os resultados obtidos neste trabalho são compatíveis com as idades de inoculação utilizadas por outros pesquisadores

(Ribeiro & Hagedorn, 1979; Piza, 1993; Salgado & Schwartz, 1993; Nascimento et al., 1995a e 1995b; Rava et al., 1996; e Rocha Júnior et al., 1998).

TABELA 3. Resumo da análise de variância das notas de severidade do *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em linhagens de feijão submetidas à inoculação em diferentes idades das plantas.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	R <sup>2</sup> (%)
<b>Linhagens</b>	3	782,53	260,84 **	
<b>Idades</b>	5	62,00	12,40 *	
<b>Cultivares x Idades</b>	15	267,87	17,86 **	
<b>Idade/Carioca</b>	5	39,08	7,81 <sup>ns</sup>	
<b>Linear</b>	1	4,61	4,61 <sup>ns</sup>	11,80
<b>Quadrática</b>	1	30,49	30,49 *	89,85
<b>Desvio</b>	3	3,96	1,32	
<b>Idade/CNFC 10443</b>	5	93,87	18,69 **	
<b>Linear</b>	1	37,65	37,67 *	40,11
<b>Quadrática</b>	1	2,54	2,54 <sup>ns</sup>	42,81
<b>Desvio</b>	3	53,68	17,89	
<b>Idade/Carioca MG</b>	5	93,47	18,77 **	
<b>Linear</b>	1	18,45	18,45 *	19,74
<b>Quadrática</b>	1	8,88	8,88 <sup>ns</sup>	29,24
<b>Desvio</b>	3	66,14	22,05	
<b>Idade/ BRSMG Majestoso</b>	5	103,47	20,69 **	
<b>Linear</b>	1	87,55	87,55 **	84,82
<b>Quadrática</b>	1	0,55	0,55 <sup>ns</sup>	85,15
<b>Desvio</b>	3	15,37	5,12	
<b>Erro</b>	<b>96</b>	<b>553,60</b>	<b>5,77</b>	
<b>Média</b>				<b>5,50</b>
<b>CV (%)</b>				<b>29,10</b>

R<sup>2</sup> – Coeficiente de determinação.

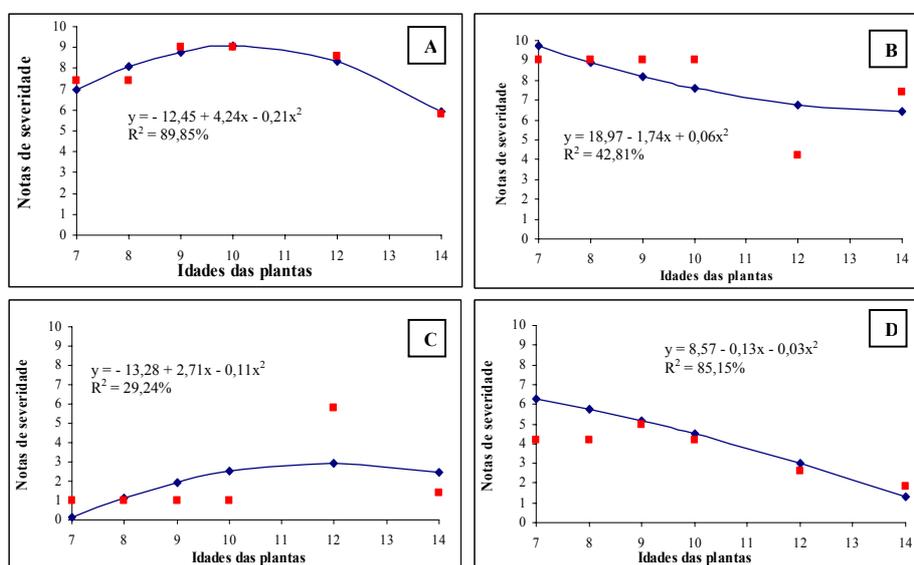


FIGURA 1. Regressões de severidade da murcha-de-fusarium por idades das plantas na inoculação (—♦— dados estimados; ■ dados observados). A. Carioca; B. CNFC 10443; C. Carioca MG e D. BRSMG Majestoso.

### 3.3 Épocas de avaliação da severidade da doença

A análise de variância das notas de severidade da doença, envolvendo as diferentes épocas de avaliação, apresentou diferença significativa ( $P \leq 0,01$ ) para as fontes de variação linhagens, épocas e a interação épocas x linhagens (Tabela 4). A significância desta última fonte de variação mostra que o comportamento das linhagens não foi coincidente nas diferentes épocas de avaliação. Isso indica, em princípio, que existem épocas mais apropriadas para a avaliação da severidade do *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em um programa de *screening* de linhagens de feijão.

TABELA 4. Resumo da análise de variância das notas de severidade do *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* obtido no experimento envolvendo linhagens de feijão avaliadas em diferentes épocas.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>
Linhagens	19	33,26 **
Repetição/linhagens	79	6,62 **
Épocas	3	96,40 **
Épocas x linhagens	57	5,99 **
Erro	237	2,03
<b>CV (%)</b>		<b>21,41</b>
<b>R<sup>2</sup> (%)</b>		<b>78,73</b>
<b>Média</b>		<b>2,24</b>

Verificou-se que, aos sete dias após a inoculação (DAI), quase nenhum sintoma da doença havia sido apresentado pelas linhagens inoculadas. Isto é devido ao fato de fungo penetrar pela raiz e colonizar o sistema vascular da planta, provocando murcha e amarelecimento. Esse período de sete dias não foi suficiente para causar entupimento dos vasos, devido ao crescimento do micélio do fungo no interior dos vasos e deposição de tiloses como reação da planta à colonização, para impedir a passagem de água e nutrientes para a parte aérea da planta. Após os 14 DAI, os sintomas começaram a aparecer com maior intensidade, aumentando de severidade até os 21 DAI e estabilizando após este período (Figura 2). Piza (1993) e Cavalcanti et al. (2002) também constataram a ocorrência de sintomas apenas após os 15 dias da inoculação.

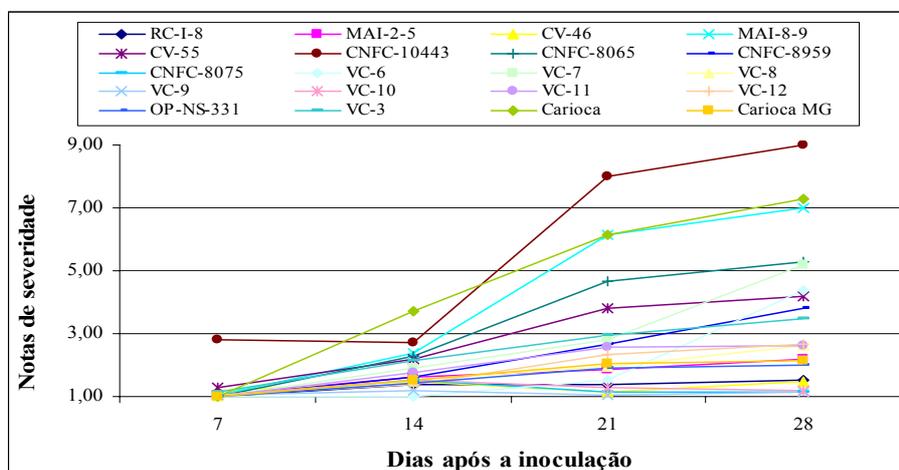


FIGURA 2. Progresso da doença obtido para as linhagens de feijão nas diferentes épocas de avaliação após a inoculação com *Fusarium oxysporum*.

Muito embora tenha ocorrido interação significativa entre épocas x linhagens, verifica-se, no gráfico da Figura 2, que, considerando somente as linhagens resistentes (notas inferiores a 3,0), a partir dos 14 dias, o comportamento foi semelhante. Já considerando as linhagens suscetíveis (notas superiores a 6,1), houve pequena mudança de comportamento da avaliação aos 14 dias para as demais épocas. Já aos 21 e 28 DAI, esse comportamento foi semelhante. Esses resultados são corroborados pelas estimativas das correlações classificatórias de Spearman ( $r$ ) (Tabela 5).

A estimativa de  $r$ , considerando as épocas de 21 e 28 dias foi de 0,91\*\*, ou seja, nessas duas épocas, a classificação das linhagens com relação à reação ao *F. o. f.sp. phaseoli* foi praticamente a mesma. Quando a época foi inferior a 21 dias, os sintomas não se manifestaram, a ponto de permitir uma boa discriminação das linhagens. Nessa condição, as estimativas das correlações foram de menor magnitude.

TABELA 5. Estimativas das correlações das notas de severidade do *Fusarium oxysporum*, nas diferentes épocas de avaliação.

Épocas de avaliação	Épocas de avaliação		
	14 <sup>1</sup>	21	28
7	0,18	0,08	0,02
14		0,85**	0,71*
21			0,91**

<sup>1</sup>- Épocas de avaliação, em dias após a inoculação (DAI); \*, \*\* - estimativa da correlação significativa a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.

Com base no exposto, constata-se que no *screening* de linhagens de feijoeiro, com relação ao dano causado pelo fungo *F. o. f.sp. phaseoli*, utilizando a metodologia de imersão de raízes, as avaliações podem ser realizadas aos 21 dias. Na literatura, há relatos de que as avaliações foram efetuadas após os 30 dias (Nascimento et al., 1998; Alves-Santos et al., 2002; Cavalcanti et al., 2002). Essa redução de nove dias, que aparentemente pode ter pequeno significado, é expressiva, pois flexibiliza o programa de melhoramento para esse caráter, possibilitando, inclusive, que se adotem vasos de menor dimensão, o que reduz os custos das avaliações.

### 3.4 Efeito do número de repetições na eficiência da seleção de linhagens de feijão

Um dos principais problemas na avaliação da resistência aos patógenos é que o número de linhagens a serem avaliadas, normalmente, é grande, exigindo grande demanda de mão-de-obra. Evidentemente, quanto maior o número de repetições utilizado, maior é o esforço despendido nas avaliações. Contudo, se o número de repetições for pequeno, a precisão pode ser reduzida, diminuindo a eficiência da seleção (Ramalho et al, 2005). Por isso é aconselhável identificar o número mínimo de repetições a serem utilizadas, sem

prejudicar a eficiência do processo seletivo. Para identificar esse número, foram simulados experimentos com número de repetições variando de 5 a 15.

Na avaliação da eficiência de um experimento, as principais alternativas são as estimativas de precisão experimental. Entre as estimativas utilizadas, o coeficiente de variação experimental (CV) é um dos mais empregados. Nas simulações realizadas, as análises de variância mostraram que, quando a precisão foi avaliada por meio do CV, as estimativas variaram muito pouco entre os diferentes números de repetições utilizados. Por exemplo, com cinco repetições, na média das 600 simulações, o CV foi de 32,4%; já com 15 repetições, foi de 32,5% (Tabela 6). Observa-se, inclusive, que os valores dos limites inferior e superior foram bem semelhantes. Infelizmente, na maioria dos trabalhos envolvendo a avaliação da reação ao *Fusarium oxysporum*, os autores não utilizaram a análise de variância, apenas classificaram as linhagens em grupos de reação de acordo com a nota obtida (Pastor-Corrales & Abawi, 1987; Balardin et al., 1990; Piza, 1993; Rava et al., 1996; Sala et al., 2006), o que evidentemente, pode restringir a comparação entre as médias. Um único relato de análise de variância, neste tipo de avaliação, foi o trabalho realizado por Nascimento et al. (1995b).

É oportuno enfatizar que a precisão avaliada pela magnitude do CV, neste caso, se comparado a outros caracteres, é baixa. Para a produtividade de grãos, por exemplo, em experimentos com feijão, conduzidos no estado de Minas Gerais, a média do CV foi de 19,7% (Matos et al., 2007). Contudo, para a avaliação de patógenos por meio de notas, normalmente, a estimativa do CV é superior à obtida para a produtividade de grãos (Marques Júnior et al., 1997). Deve ser enfatizado que, mesmo com o CV dessa magnitude, ocorre boa discriminação entre as linhagens, o que é fundamental em experimentos desta natureza.

TABELA 6. Coeficientes de variação (CV) e de determinação ( $R^2$ ) obtidos nas análises de variância das simulações de 600 experimentos com diferentes números de repetições.

Variável	Número de repetições										
	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<b>CV (%)</b>	32,4	32,6	32,5	32,4	32,5	32,5	32,5	32,5	32,5	32,6	32,5
<b>LI</b>	27,7	28,7	29,4	29,8	29,9	30,2	30,8	31,2	31,5	31,7	32,5
<b>LS</b>	36,6	35,8	35,1	34,8	34,5	34,2	33,9	33,9	33,5	33,2	32,5
<b>R<sup>2</sup> (%)</b>	41,2	38,5	37,2	36,4	34,9	34,2	33,6	33,2	32,8	32,3	32,0
<b>LI</b>	26,5	26,1	26,4	25,6	26,7	27,7	27,9	28,2	28,7	29,8	32,0
<b>LS</b>	57,5	52,4	49,0	47,2	45,2	42,4	40,7	38,6	37,1	35,7	32,0

Outra estimativa que tem sido proposta como padrão de referência da precisão experimental é o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) (Silva et al., 2002), isto é, a proporção da soma de quadrados totais que é explicada pela soma de quadrados dos tratamentos. As estimativas de  $R^2$  obtidas nas análises de variância das simulações realizadas mostrou que, na média das avaliações, ela variou de 32,0% a 41,2% (Tabela 6). Esses valores evidenciam que o erro associado às notas de severidade é de médio a alto, como já comentado para o CV. Contudo, embora, em média, ocorresse tendência de redução do  $R^2$  com o aumento do número de repetições, em todos os casos ocorreu sobreposição nas estimativas dos intervalos de confiança, indicando que elas podem ser consideradas de mesma magnitude, a 5% de probabilidade.

Outra estratégia para se avaliar o efeito do número de repetições é por meio do desempenho médio das linhagens, nas diferentes situações, isto é, na classificação das linhagens, com relação à resistência e/ou suscetibilidade. Neste contexto, vale salientar que duas testemunhas de reação conhecidas ao patógeno foram incluídas: a Carioca, padrão de suscetibilidade e a Carioca MG resistente. Pelos dados da Tabela 7 observa-se que, na média, essas duas cultivares apresentaram o mesmo comportamento contrastante, nos diferentes

números de repetições, ou seja, elas foram classificadas como resistente e suscetível, independente do número de repetições empregado.

As demais linhagens avaliadas são todas pertencentes ao experimento de Valor de Cultivo e Uso (VCU), conduzido em Minas Gerais, no período de 2005/2006, pelo programa cooperativo da UFLA, UFV, EMBRAPA Arroz e Feijão e EPAMIG. Estas são as linhagens mais promissoras dos programas de melhoramento de feijão, do tipo carioca, dessas instituições. Notou-se que a maioria das linhagens apresentou resistência ao patógeno avaliado. Apenas CV-55, MAI-8-9, CNFC 10443 e CNFC 8065 apresentaram reação intermediária e ou suscetível. Constatou-se, novamente, que o número de repetições empregado não alterou a classificação das linhagens avaliadas.

Para confirmar a observação anterior, foi estimada a correlação classificatória de Spearman, considerando a média das simulações, do número de repetições duas a duas. Pelos dados da Tabela 8, constata-se que as estimativas das correlações foram todas significativas ( $P \leq 0,01$ ) e com magnitude superior a 0,72; inclusive, a predominância foi de estimativas de  $r$  superiores a 0,92. É importante salientar que a correlação entre 5 e 15 repetições foi de 0,80, indicando que, com cinco repetições, a classificação das linhagens foi equivalente à obtida com 15 repetições, como já mencionado.

TABELA 7. Notas médias de severidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em linhagens de feijoeiro, em função do número de repetições avaliados.

Linhagens	Número de repetições										
	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
RC-I-8	1,8	1,0	1,2	1,2	1,4	1,6	1,1	1,5	1,4	1,4	1,4
MAI-2-5	2,6	2,0	1,1	2,1	2,1	1,8	2,0	2,0	2,0	1,9	1,8
CV-46	1,0	1,3	1,2	1,0	1,0	1,2	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1
MAI-8-9	4,2	5,5	6,5	7,3	7,3	6,3	6,1	6,0	6,3	5,9	6,1
CV-55	1,4	2,3	3,2	3,5	5,2	3,4	4,0	3,3	3,6	3,4	3,8
CNFC-10443	4,2	4,6	5,0	4,7	5,0	5,6	5,1	5,6	4,3	5,2	5,0
CNFC-8065	3,4	5,0	4,7	4,0	4,0	3,9	5,0	4,4	5,0	4,2	4,5
CNFC-8959	2,6	2,5	2,0	2,8	2,2	3,5	2,8	3,0	2,6	2,7	2,6
CNFC-8075	1,0	1,1	1,2	1,0	1,2	1,1	1,0	1,0	1,1	1,1	1,1
VC-16	1,8	1,0	1,8	1,7	1,6	1,6	1,0	1,6	1,3	1,5	1,5
VC-7	2,0	3,1	3,2	3,6	2,5	3,2	3,2	2,6	2,8	2,9	2,8
VC-8	1,8	1,5	2,0	2,3	2,0	1,9	1,9	2,1	1,7	2,0	1,9
VC-9	1,0	1,0	1,0	1,1	1,1	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
VC-10	1,4	1,3	1,1	1,1	1,3	1,2	1,2	1,3	1,3	1,2	1,2
VC-11	2,2	3,6	3,1	2,1	2,0	2,8	3,0	2,6	2,6	2,6	2,6
VC-12	3,0	1,5	2,7	3,2	2,0	1,9	2,0	2,6	2,3	2,4	2,4
OP-NS-331	2,2	2,3	1,7	1,1	1,5	1,7	1,9	1,9	1,7	1,9	1,8
VC-3	4,2	2,6	3,5	2,8	2,6	2,2	2,1	2,8	3,2	3,0	2,9
Carioca	7,4	7,0	6,1	6,5	6,8	6,6	6,5	6,0	6,5	6,9	6,5
Carioca MG	1,4	1,5	1,7	1,3	2,5	2,3	2,0	2,1	1,4	2,1	2,0

TABELA 8. Estimativas das correlações das notas de severidade do *Fusarium oxysporum*, entre os diferentes números de repetições avaliados.

Número de repetições	Número de repetições									
	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
5	0,82 <sup>1</sup>	0,76	0,78	0,72	0,74	0,72	0,81	0,83	0,80	0,80
6		0,83	0,79	0,81	0,89	0,94	0,88	0,93	0,90	0,90
7			0,89	0,85	0,88	0,85	0,93	0,91	0,94	0,94
8				0,89	0,88	0,86	0,94	0,93	0,92	0,91
9					0,93	0,90	0,95	0,92	0,95	0,95
10						0,96	0,97	0,93	0,96	0,96
11							0,94	0,95	0,96	0,94
12								0,96	0,99	0,98
13									0,97	0,97
14										0,99

<sup>1</sup>- Coeficiente de correlação de Spearman; todas as correlações foram significativas (P<0,001).

O número de repetições adotado pelos pesquisadores, trabalhando na identificação de linhagens resistentes ao *Fusarium*, tem sido muito variado. A maioria inclusive utiliza mais de 16 plantas para a avaliação (Nascimento et al., 1995a, 1995b; Buruchara & Camacho, 2000; Alves-Santos et al., 2002). Desse modo, as informações obtidas neste trabalho, de que se podem utilizar cinco repetições (plantas), sem prejuízo na precisão e na classificação das linhagens, é muito promissora para os programas de seleção com este patógeno. O menor número de repetições possibilita que os melhoristas e ou fitopatologistas possam avaliar maior número de linhagens com o mesmo dispêndio de recursos anteriormente utilizado.

#### 4 CONCLUSÕES

A metodologia que melhor discrimina as linhagens de feijoeiro quanto à reação ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* é a imersão de raízes na suspensão de esporos, com ou sem o corte do sistema radicular.

A idade ideal das plantas no momento da inoculação é até os dez dias após a semeadura.

A avaliação da reação ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* deve ser realizada com, pelo menos, 21 dias após as inoculações.

Cinco repetições/plantas permitem discriminar eficientemente as linhagens de feijão, com relação à murcha-de-fusarium.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES-SANTOS, F. M.; CORDEIRO-RODRIGUES, L.; SAYAGUÉS, J. M.; MARTÍN-DOMINGUEZ, R.; GARCÍA-BENAVIDES, P.; DÍAZ-MÍNGUEZ, J. M.; ESLAVA, A. P. Pathogenicity and race characterization of *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* isolates from Spain and Greece. **Plant Pathology**, v. 51, p. 605-611, abr. 2002.

BALARDIN, R. S.; PASTOR-CORRALES, M. A.; OTOYA, M. M. Resistência de germoplasmas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) a *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 15, n. 1, p. 102-103, mar. 1990.

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. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, p.376-399.

BURUCHARA, R. A.; CAMACHO, L. Common bean reaction to *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*, the cause of severe vascular wilt in Central Africa. **Journal of Phytopathology**, v. 148, p. 39-45, jan. 2000.

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

ELENA, K.; PAPAS, A. C. Pathogenicity and vegetative compatibility of *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in Greece. **Journal of Phytopathology**, v. 150, p. 495-499, Sept. 2002.

MARQUES JÚNIOR, O. G.; RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F.; SANTOS, J. B. dos. Viabilidade do emprego de notas na avaliação de alguns caracteres do feijoeiro (*Phaseolus Vulgaris* L.). **Revista Ceres**, v. 44, n. 254, p. 411-420, 1997.

- MATOS, J. W. de; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. de F. B. Trinta e dois anos do programa de melhoramento do feijoeiro comum em Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, 2007. No prelo.
- NASCIMENTO, S. R. C.; KUROZAWA, C.; MARINGONI, A. C. Avaliação de raças fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 20, n. 2, p. 214-217, jun. 1995a.
- NASCIMENTO, S. R. C.; MARINGONI, A. C.; KUROZAWA, C. Comportamento de variedades e linhagens de feijoeiro ao *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 20, n. 3, p. 458-463, set. 1995b.
- NASCIMENTO, S. R. C.; MARINGONI, A. C.; KUROSAWA, C. Determinação do efeito da concentração e do tipo de inóculo na severidade dos sintomas da murcha de Fusarium em feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 24, n. 1, p. 8-11, jan./mar. 1998.
- PASTOR-CORRALES, M. A.; ABAWI, G. S. Reactions of selected bean germplasms to infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. **Plant Disease**, v. 71, n. 11, p. 990-993, Nov. 1987.
- PIZA, S. M. de T. Patogenicidade de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* e reação de germoplasma de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). **Summa Phytopathologica**, v. 19, n. 3/4, p. 165-167, 1993.
- RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F.; OLIVEIRA, A. C. de. **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. 2.ed. rev. e atual. Lavras: UFLA, 2005. 322 p.
- RAVA, C. A.; SARTORATO, A.; COSTA, J. G. C. Reação de genótipos de feijoeiro comum ao *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* em casa de vegetação. **Fitopatologia Brasileira**, v. 21, n. 2, p. 296-300, jun. 1996.
- RIBEIRO, C. A. G.; FERRAZ, S. Resistência varietal do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 9, p. 37-44, fev. 1984.
- RIBEIRO, R. de L. D.; HAGEDORN, D. J. Screening for resistance to and pathogenic specialization of *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*, the causal agent of bean yellows. **Phytopathology**, v. 69, n. 3, p. 272-276, Mar. 1979.

ROCHA JÚNIOR, W. C.; SANTOS, J. B.; MENDES-COSTA, M. C. Reação de cultivares e linhagens de feijão à *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 23, n. 3, p. 407-409, Sept. 1998.

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

SALGADO, M. O.; SCHWARTZ, H. F. Physiological specialization and effects of inoculum concentration on *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in common beans. **Plant Disease**, v. 79, n. 5, p. 492-496, May 1993.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v. 30, n. 2, p. 507-512, 1974.

SILVA, F. B.; BRUZI, A. T.; RAMALHO, M. A. P. Precisão experimental na avaliação de cultivares de feijão. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 7., 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 2002. p. 288-291.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H.; MICKEY, D. A. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach**. 3.ed. Boston: The McGraw-Hill, 1997. 666 p.

## **CAPÍTULO 3**

### **REAÇÃO DE LINHAGENS DE FEIJOEIRO AO FUNGO**

*Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*

## RESUMO

PEREIRA, Mônica Juliani Zavaglia. Reação de linhagens de feijoeiro ao fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. N. In: \_\_\_\_\_. **Resistência do feijoeiro a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli***. 2007. Cap. 3, p. 58-78, Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

A ocorrência de patógenos está aumentando com o cultivo sucessivo do feijoeiro sob pivô central. A cada safra a produtividade de grãos reduz, apesar da maior utilização de defensivos agrícolas, inviabilizando economicamente o empreendimento. Entre os patógenos que contribuem para a redução da produtividade está o *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. O emprego de cultivares resistentes é o controle mais eficaz para este patógeno. O objetivo deste trabalho foi classificar as linhagens do banco de germoplasma da Universidade Federal de Lavras (UFLA), quanto a reação ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e, ao mesmo tempo, estimar os parâmetros genéticos e fenotípicos que possam auxiliar em futuros programas de melhoramento para esse caráter. Foram avaliadas 367 linhagens em dez experimentos, das quais 349 são pertencentes ao banco de germoplasma da UFLA e 18 ao experimento de valor de cultivo e uso (VCU) 2005/06. As testemunhas ‘Carioca’ (suscetível) e ‘Carioca MG’ (resistente) foram utilizadas em todos os experimentos. As inoculações foram realizadas segundo a metodologia de corte e imersão de raízes na suspensão de esporos do fungo e as avaliações realizadas aos 21 dias após a inoculação. Constatou-se que 134 linhagens foram classificadas como resistentes. Contudo, a maioria (80,3%) foi de linhagens antigas. Vale salientar, entretanto, que entre as 18 linhagens dos experimentos de VCU, do período de 2005/06, apenas quatro foram suscetíveis. A estimativa da herdabilidade ( $h^2$ ) foi elevada ( $h^2 = 87\%$ ), indicando que, a princípio, o caráter é de fácil seleção.

---

\* Comitê Orientador: Magno Antonio Patto Ramalho – UFLA (Orientador).  
Ângela de Fátima Barbosa Abreu – Embrapa Arroz e Feijão (Co-orientadora).

## ABSTRACT

PEREIRA, Mônica Juliani Zavaglia. Reaction of common bean lines to *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. N . In: \_\_\_\_\_. **Resistance of common bean to *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli***. 2007. Cap. 3, p. 58-78, Thesis (Doctorate in Genetics and Plant Breeding) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.

The occurrence of pathogens is increasing with successive cultivation of common bean under irrigation by Center Pivot system. In each harvest, grain yield reduces, even with the increased mechanization, making the investment unfeasible. Among the pathogens that contribute to yield reduction is *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Resistant cultivars are the most efficient strategy to control the disease. The aims of this work were to classify germoplasm lines of Federal University of Lavras, concerning disease severity and estimate genetic and phenotypic parameters, that can be helpful in future breeding programs for this character. Three hundred and sixty seven lines were evaluated for 10 experiments; 349 from the germoplasma bank at UFLA and 18 from the Value of Cultivation and Use (VCU) experiment of 2005/06. The controls Carioca MG (resistant) and Carioca (susceptible) were used in all experiments. The inoculation methodology was immersion of cut root in a suspension of spores, and evaluation realized at 21 days after inoculation. Resistance was observed in 134 lines, although most of them (80.3%) were selected a long time ago. However, it is important to point out that among the lines from the VCU experiment only four were susceptible. Heritability estimate was high ( $h^2=87\%$ ), showing, that selection should be easy for this character.

---

\* Guidance Committee: Magno Antonio Patto Ramalho – UFLA (Major Professor). Ângela de Fátima Barbosa Abreu – Embrapa Arroz e Feijão (Co-Major Professor).

## 1 INTRODUÇÃO

No cultivo sucessivo do feijoeiro sob pivô central, a ocorrência de doenças está inviabilizando a economicidade do empreendimento. A cada safra a produtividade reduz, mesmo com o uso mais intensivo de defensivos agrícolas. Entre as doenças que contribuem para a redução da produtividade está a murcha-de-fusarium, cujo agente etiológico é o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

Sob condições de temperatura mais elevada associada à alta umidade a dorça causa danos expressivos. Sua atuação depende também da concentração de inóculo, das condições de estresse e de drenagem deficiente do solo. O patógeno já foi identificado em todas as regiões produtoras de feijão do mundo (Pastor-Corrales & Abawi, 1987; Buruchara & Camacho, 2000). Perdas no rendimento de grãos de 30% a 80% já foram registradas, por ser uma doença vascular que, na maioria das vezes, causa a morte da planta (Cramer et al., 2003).

Entre as medidas de controle, o emprego de cultivares resistentes é a mais eficaz. Alguns trabalhos já foram realizados, especialmente no período de 1985 a 1998, visando à identificação de fontes de resistência (Pastor-Corrales & Abawi, 1987; Balardin et al., 1990; Piza, 1993, Rava et al., 1996; Nascimento et al., 1995b; Rocha Júnior et al., 1998). Nestes trabalhos, o número de linhagens avaliadas foi pequeno, embora a maioria das linhagens apresentasse reação intermediária ou de suscetibilidade, algumas foram resistentes ao patógeno.

Nos 35 anos do programa de melhoramento do feijoeiro da Universidade Federal de Lavras (UFLA), foram obtidas centenas de linhagens, especialmente com grãos tipo carioca e com bom potencial produtivo (Matos et al., 2007). Essas linhagens, ao longo do tempo, foram submetidas ao *screening*

na presença de alguns patógenos importantes na região. Contudo, ainda são restritos os trabalhos de avaliação realizados com relação à reação do feijoeiro à murcha-de-fusarium.

Desse modo, foi realizado o presente trabalho, com o objetivo de classificar as linhagens do banco de germoplasma da UFLA em relação à reação a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e, ao mesmo tempo, estimar parâmetros genéticos e fenotípicos que possam auxiliar em futuros programas de melhoramento para esse caráter.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local

O experimento foi realizado no Departamento de Biologia, área de Genética e Melhoramento de Plantas, da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG. O local situa-se a 21°58' de latitude Sul e 45°22' de longitude Oeste, com altitude média de 910 metros. A precipitação anual média é de 1.471 mm, com média de temperatura máxima e mínima de 22,6°C e 15,8°C, respectivamente.

### 2.2 Isolado de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*

As linhagens foram inoculadas com o isolado Fop 01 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Esse isolado foi coletado de plantas de feijoeiro sintomáticas, no campo experimental do Departamento de Biologia. As plantas infectadas apresentavam abundante esporulação, de coloração rosada, externa à haste (Anexo A, Figura 1A), facilitando, dessa forma, o isolamento do fungo (Bianchini et al., 1997).

O isolamento do fungo foi realizado com o auxílio de uma agulha entomológica, recolhendo-se os esporos e, então, transferindo-os para placas de Petri contendo meio de cultura ágar água (AA), batata dextrose agar (BDA) ou extrato de malte. Após dois ou três dias de crescimento nestes meios, um segmento da colônia era repicado para placas de Petri contendo meio BDA. As placas sempre foram mantidas em BOD, com temperatura de 24°C±1°C, sob iluminação contínua, para favorecer a esporulação do fungo (Ribeiro & Ferraz, 1984). A conservação dos isolados foi realizada em tubos de ensaio contendo meio de cultura BDA, imersos em óleo mineral e armazenados em BOD à 24°C±1°C.

Para a produção do inóculo, segmentos do meio conservado foram repicados para placas de Petri contendo os meios de BDA e de extrato de semente de feijão dextrose ágar (ESFDA), os quais, segundo Ribeiro & Ferraz (1984), proporcionam produção satisfatória de macroconídios para inoculação. As placas foram mantidas em BOD durante 10 dias, em temperatura de  $24^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ , sob iluminação contínua. A suspensão de esporos foi preparada minutos antes de cada inoculação, sendo utilizada concentração de  $1 \times 10^6$  conídios/ml (macro e microconídios).

### **2.3 Linhagens avaliadas**

Foram avaliadas 350 linhagens de feijoeiro, provenientes do banco de germoplasma do setor de Genética e Melhoramento de Plantas da UFLA e 18 linhagens do experimento de valor de cultivo e uso (VCU), conduzido em Minas Gerais, no período de 2005/2006, pela Universidade Federal de Lavras (UFLA), Universidade Federal de Viçosa (UVF), Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Arroz e Feijão) e Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig). As avaliações foram realizadas no período de janeiro de 2006 a março de 2007, totalizando dez experimentos. Em todos os experimentos, as linhagens Carioca e Carioca MG foram utilizadas como testemunhas suscetível e resistente, respectivamente. O delineamento utilizado foi inteiramente ao acaso, com cinco repetições e parcelas de uma planta por vaso.

As inoculações foram realizadas utilizando-se a metodologia de imersão de raízes na suspensão de esporos, com corte do sistema radicular (Pastor-Corrales & Abawi, 1987). A semeadura das linhagens foi realizada em bandejas de isopor de 128 células, contendo substrato Plantmax para horticultura, sendo colocadas em casa de vegetação para germinação e crescimento das plantas.

Quando as plantas estavam com 9-10 dias após a semeadura (primeiro par de folhas unifolioladas completamente expandida), foi realizada a inoculação. Para isso, as plantas foram retiradas das bandejas, o sistema radicular foi lavado em água corrente tendo sido cortado 1/3 do seu comprimento com o auxílio de uma tesoura, e mergulhado na suspensão de esporos durante cinco minutos. As raízes das plantas testemunhas foram mergulhadas em água destilada. Depois, foram transplantadas para vasos contendo substrato plantmax para horticultura e mantidas em câmara climatizada, com temperatura de  $22^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas, ou em casa de vegetação, durante a primavera e verão, quando o clima não estava frio. As plantas foram mantidas nestes locais durante o período das avaliações, eram regadas a cada dois dias e receberam 1,0 g de adubo da formulação 8-28-16 de NPK, dez dias após a inoculação.

Em todos os experimentos, as avaliações foram realizadas aos 21 dias após a inoculação (DAI), com base no índice de severidade da doença desenvolvido pelo CIAT, no qual: 1= nenhum sintoma foliar ou vascular; 3 = de 1% a 10% de folhas sintomáticas, suave murchamento de plantas e descoloração vascular no hipocótilo; 5 = 11% a 25% de folhas sintomáticas, moderada murcha nas plantas e descoloração vascular extensa até o primeiro nó; 7 = 26% a 50% de folhas sintomáticas, severa murcha de plantas e descoloração vascular por toda a haste e pecíolo e 9 = planta morta (Anexo A, Figura 2A). As linhagens com média de 1,0 a 3,0 foram consideradas resistentes, de 3,1 a 6,0 intermediárias e 6,1 a 9,0 suscetíveis (Pastor-Corrales & Abawi, 1987; Salgado & Schwartz, 1993; Elena & Papas, 2002).

As notas de severidade foram transformadas para raiz quadrada ( $x + 0,5$ ) e, posteriormente, submetidas à análise de variância dos experimentos combinados, com testemunhas comuns, segundo procedimento semelhante ao

apresentado por Pimentel-Gomes (1990), utilizando o programa SAS, adotando o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = m + t_i + c_j + g_k + cg_{(jk)} + e_{(ijk)}$$

Em que:

m: média geral do experimento;

$t_i$ : efeito das linhagens  $i$ , ( $i = 1, 2, 3, \dots, 369$ );

$c_j$ : efeito das testemunhas comuns a todos os experimentos ( $j = 1, 2$ );

$g_k$ : efeito dos experimentos  $k$ , ( $k = 1, 2, \dots, 10$ );

$cg_{(jk)}$ : efeito da interação entre as testemunhas comuns e os experimentos;

$e_{(ijk)}$ : erro experimental associado à observação  $Y_{ijk}$ , tendo  $e_{ijk} \cap N(0, \sigma^2_e)$ .

Os componentes de variância e a herdabilidade foram obtidas pelos seguintes estimadores:

$$\text{Variância genética entre linhagens } (\sigma^2_L) = (QM_{\text{Linhagens}} - QM_{\text{Erro}})/r$$

$$\text{Variância fenotípica entre média das linhagens } (\sigma^2_{\bar{F}}) = QM_{\text{Linhagens}}/r$$

$$\text{Herdabilidade para a seleção na média das linhagens } (h^2) = (QM_{\text{Linhagens}} - QM_{\text{Erro}})/QM_{\text{Linhagens}}$$

Em que;

QM: o quadrado médio obtido na análise de variância;

r: o número de repetições.

Os intervalos de confiança para a herdabilidade foram estimados utilizando-se a expressão de Knapp et al. (1985).

$$LI = \{1 - [(QM_{\text{Linhagens}}/QM_{\text{Erro}})F_{1-\alpha/2; GLE_{\text{Erro}}, GLL_{\text{Linhagens}}}]^{-1}\}$$

$$LS = \{1 - [(QM_{\text{Linhagens}}/QM_{\text{Erro}})F_{\alpha/2; GLE_{\text{Erro}}, GLL_{\text{Linhagens}}}]^{-1}\}$$

Em que:

F: valor tabelado da distribuição F de Snedecor a partir dos graus de liberdade de linhagens e do erro e do nível de significância ( $\alpha = 0,05$ ).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Evidências disponíveis na literatura apontam para a existência de sete raças patogênicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Alves-Santos et al., 2002). No Brasil, há resultados, não conclusivos, que apontam para a existência de mais de uma raça (Ito et al., 1997; Sala et al., 2006), embora existam vários outros trabalhos que apontam para a ocorrência de apenas uma raça, denominada raça 2 ou brasileira (Ribeiro & Hagedorn, 1979; Nascimento et al., 1995a; Alves-Santos et al., 2002). Neste trabalho, o isolado foi obtido na região, provavelmente representando a raça prevalecente no país.

A eficiência da procura por linhagens resistentes aos patógenos em um programa de melhoramento de plantas depende da precisão em que as avaliações são realizadas. A precisão experimental pode ser avaliada por alguns procedimentos. O mais utilizado é a estimativa do coeficiente de variação experimental (CV). Observa-se, na Tabela 1, que o CV nas análises de variância combinada foi médio (CV=24,4%), se comparado aos normalmente obtidos com a cultura do feijoeiro para a produtividade de grãos (CV=19,7%), por exemplo (Matos et al., 2007). Nesse contexto, deve ser mencionado que a avaliação da murcha-de-fusarium foi efetuada por meio de uma escala de notas variando de 1,0 a 9,0, o que pode ter contribuído para a maior estimativa do erro.

Em trabalho realizado por Hartung & Piepho (2007), foi constatado, por meio de simulação, que a avaliação por meio de escalas de percentagem de severidade (área foliar infectada) foi melhor que a escala de notas. Contudo, a diferença entre elas não foi muito expressiva. Além do mais, com o *Fusarium*, que é um patógeno de sistema vascular, causando murchamento, a utilização da área foliar afetada não se aplica. Considerando outros patógenos do feijoeiro,

Marques Júnior et al. (1997) mostraram que a escala de notas atende às pressuposições básicas da análise de variância, mas, sempre que possível, devem-se utilizar médias de dois ou mais avaliadores.

Outra medida de precisão adotada é o coeficiente de determinação ( $R^2$ ). A estimativa de  $R^2$  obtida neste experimento indica que 68,85% da variação total foi explicada pela fonte de variação linhagens. Esse resultado evidencia que o efeito ambiental, na expressão do caráter é grande, contudo, a maior parte ainda é de natureza genética. Depreende-se que a precisão experimental foi suficiente para classificar as linhagens com relação à resistência ou não ao patógeno.

Constatou-se, como era esperado, dadas as diferentes origens das linhagens, que ocorreu diferença significativa entre elas ( $P \leq 0,01$ ), com relação à resposta à inoculação com *Fusarium* (Tabela 1). Não se constatou diferença significativa entre os experimentos e nem a interação testemunhas comuns x experimentos. Neste contexto, deve ser salientado que as duas testemunhas, uma resistente, a ‘Carioca MG’ e uma suscetível, a ‘Carioca’, apresentaram comportamento coincidente de reação, constatado em outras situações (Pereira, 2007). Esse resultado é importante porque é difícil avaliar um grande número de linhagens, como ocorreu nesse caso, de uma só vez. O comportamento das testemunhas mostrou que o *screening* por etapas é eficiente.

Uma boa metodologia de *screening* de linhagens, com relação a patógenos, é aquela que possibilita discriminar bem todos os genótipos. Isso ocorreu neste trabalho, pois as linhagens receberam notas variando de 1,0 a 9,0 (Figura 1), ou seja, toda a amplitude de variação de notas, com média de 5,28. Trabalhos prévios mostraram a eficiência desta metodologia em discriminar as linhagens com relação à severidade do *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* em feijoeiro (Pereira, 2007).

TABELA 1. Resumo da análise de variância combinada das notas de severidade do *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em linhagens de feijoeiro.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ*</b>	<b>QM*</b>
<b>Experimentos</b>	9	2,39	0,27 <sup>NS</sup>
<b>Linhagens</b>	357	852,78	2,39**
<b>Testemunhas comuns</b>	1	51,71	51,71**
<b>Test comuns x experimentos</b>	9	1,93	0,21 <sup>NS</sup>
<b>Erro</b>	1548	461,87	0,30
<b>Média*</b>		2,24	
<b>CV (%)*</b>		24,40	
<b>R<sup>2</sup> (%)*</b>		68,85	

\* dados transformados em raiz quadrada ( $x + 0,5$ ).

Outro questionamento no *screening* é qual o nível máximo de severidade do patógeno para se considerar uma linhagem como resistente ou não. Na literatura, em avaliações com outros patógenos, também do feijoeiro, utilizando escala de notas variando de 1,0 a 9,0, são consideradas resistentes as linhagens e ou plantas com severidade igual ou inferior a 3,0 (Sartorato & Thung, 2002; Satorato, 2006; Ragagnin et al., 2003). Utilizando esse critério, constatou-se que 36% (134 linhagens) podem ser consideradas como resistentes (Figura 1). Veja, contudo, que mais de 50% das linhagens classificadas como resistentes receberam nota 1,0, ou seja, ausência total de doença.

Como já enfatizado, na literatura foram encontrados alguns relatos de avaliação de linhagens, com relação ao *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. A maioria delas, entretanto, avaliou número restrito de linhagens e foi realizada principalmente no período de 1985 a 1998 (Pastor-Corrales & Abawi, 1987; Balardin et al., 1990; Piza, 1993; Rava et al., 1996; Nascimento et al., 1995b; Rocha Júnior et al., 1998). Embora houvesse diferença entre os resultados obtidos, na maioria das avaliações foram encontradas linhagens resistentes, porém, em menor proporção que a constatada no presente trabalho. Rocha

Júnior et al. (1998), por exemplo, avaliaram 169 linhagens e constataram que 91,7% delas foram suscetíveis.

Outro fato interessante é a grande quantidade de linhagens resistentes no grupo das mais antigas, em relação às mais recentes. Das 134 linhagens classificadas como resistentes, apenas 27 foram obtidas recentemente, ou seja, 7,34% do total avaliado. É comum, na cultura do feijoeiro, que os agricultores de subsistência não adquiram sementes periodicamente. Eles reutilizam os seus grãos como sementes, por várias gerações, o que originou muitas cultivares “landraces”. Algumas delas foram avaliadas no presente trabalho e receberam nota 1,0 (resistentes), como, por exemplo, ‘Manteigão Fosco’, ‘Hulk’ e ‘Baetão’ entre outras. É bem provável que os agricultores tenham selecionado os grãos contra esses patógenos, não utilizando sementes colhidas de plantas doentes para as futuras semeaduras. Por essa razão, muitas linhagens existentes no Banco de Germoplasma da UFLA, que foram obtidas de coletas, são resistentes.

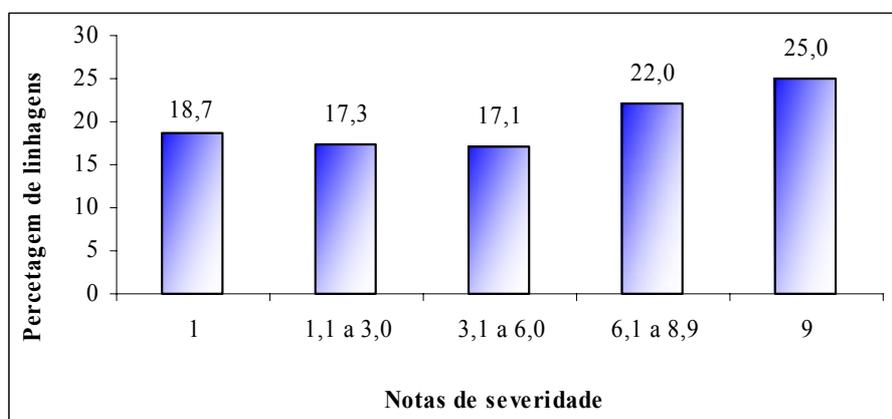


FIGURA 1. Distribuição de freqüência das notas de severidade de linhagens de feijoeiro ao fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

Deve ser enfatizado que, muitas linhagens recentemente obtidas, incluindo as que fizeram parte dos experimentos de VCU de 2005/06, foram resistentes, ou seja, das 18 linhagens deste experimento, 14 foram resistentes. Considerando que nenhum trabalho do programa de melhoramento do feijoeiro realizado no estado de Minas Gerais foi direcionado para esse patógeno, é surpreendente o fato de 134 linhagens terem sido identificadas como resistentes. Depreende-se que alguma seleção “inconsciente” foi realizada contra esse patógeno ao longo do tempo.

Esse é um patógeno que, normalmente, causa a morte prematura das plantas, sobretudo no período de enchimento de grãos. Em consequência, os indivíduos afetados quase não produzem grãos. Como a seleção, ao longo do tempo, vem sendo realizada predominantemente para a produtividade de grãos, indiretamente foram selecionadas linhagens e ou indivíduos resistentes ao patógeno, uma vez que ele é de ocorrência freqüente nas áreas experimentais. A eficiência da seleção indireta para a resistência ao *Colletotrichum lindemuthianum* utilizando a produtividade de grãos já foi constatada (Abreu et al., 2003).

É oportuno comentar que algumas linhagens utilizadas como fonte de resistência a outros patógenos de importância (*Pseudocercospora griseola* ou mancha-angular e *Colletotrichum lindemuthianum* ou antracnose) foram suscetíveis quanto à reação ao *Fusarium*. Entre elas, a G2333, que possui três alelos de resistência ao *C. lindemuthianum* (Co-4<sup>2</sup>, Co-5 e Co-7), sendo que o Co-4<sup>2</sup> confere resistência a todas as raças do patógeno identificadas no Brasil (Sartorato, 2002). Neste experimento, a G2333 foi classificada como suscetível ao *Fusarium*, com nota de severidade de 6,2.

A linhagem Carioca, padrão de suscetibilidade ao patógeno, foi recomendada há mais de trinta anos (Almeida et al., 1977). Essa linhagem foi muito importante para a cultura do feijoeiro na década de 1970, por ter

proporcionado aumento significativo na produtividade de grãos da cultura, sendo tolerante a vários estresses, porém com elevada suscetibilidade ao *Fusarium* (Anexo B, Tabela 1B). Posteriormente, os programas de melhoramento do feijoeiro selecionaram para os caracteres favoráveis da ‘Carioca’ em vários cruzamentos, com o intuito de obter novas linhagens que a substituíssem vantajosamente. Foi associada ao tipo de grão da Carioca a resistência a alguns patógenos. Um cruzamento com sucesso para a resistência foi entre as linhagens Carioca 80 x Rio Tibagi, que originou a Carioca MG. Vale ressaltar que a Carioca 80 é suscetível (nota 9,0) e a Rio Tibagi é resistente (nota 1,0). Um detalhe importante é que a Carioca MG é suscetível à mancha-angular, uma das doenças mais importantes do feijoeiro.

Vale ressaltar também que algumas linhagens de feijoeiro recomendadas para semeadura em Minas Gerais e outros estados apresentam elevada suscetibilidade ao patógeno (Anexo B, Tabela 1B). Entre elas, as cultivares de feijão-preto ‘Valente’ (nota 9,0 de severidade), ‘Uirapuru’ (9,0) e ‘Meia Noite’ (9,0), que foram recomendadas, sobretudo, devido à excelente arquitetura da planta. Essas cultivares não devem ser indicadas para condições em que há relatos de ocorrência desse patógeno.

Muitas outras linhagens, com grãos tipo carioca, estão disponíveis atualmente como fontes de resistência ao *Fusarium*. A OPNS-331, que foi recomendada para o estado de Minas Gerais, com o nome de BRSMG Majestoso, é um exemplo. Merecem destaque também todas as linhagens do VCU carioca, já mencionado, que foram resistentes ao *Fusarium*.

A estimativa da herdabilidade ( $h^2$ ), que mede a proporção da variância fenotípica que é devida às causas genéticas, foi elevada ( $h^2 = 87\%$ ), indicando que, a princípio, é esperado sucesso com a seleção para o caráter (Tabela 2). Neste caso, como se avaliaram linhagens, a variância genética encontrada é toda de natureza aditiva (Souza Junior, 1989; Ramalho et al., 1993). Vale ressaltar

que o intervalo de confiança da estimativa de  $h^2$  foi pequeno. Esse último resultado é expressivo quando se considera que a precisão experimental, comparada com outros caracteres, não foi muito alta. Apesar da  $h^2$  ter sido obtida com dados transformados, isso não modifica a magnitude da estimativa, pois, como a transformação é em função dos dados originais, as estimativas são muito semelhantes. O único relato de estimativa de  $h^2$  para esse caráter foi o de Cross et al. (2000), utilizando regressão entre a média dos genitores e a média da geração  $F_2$ . A estimativa obtida também foi alta ( $h^2 = 85\%$ ).

Embora a avaliação do caráter seja subjetiva, ou seja, por escala de notas, uma estimativa alta de  $h^2$  era esperada, uma vez que, ao que tudo indica, a resistência a esse patógeno deve-se a poucos genes. Há relatos do gene Fop 1, com o alelo dominante sendo o resistente para a raça 2 ou brasileira de *Fusarium* (Ribeiro & Hagedorn, 1979). Também utilizando linhagens brasileiras, Pereira (2007) evidenciou que o controle é monogênico. Contudo, a existência de outros genes de efeito menor não deve ser descartada, devido à ocorrência de ampla variação na expressão fenotípica. É evidente que parte dessa variação é de natureza ambiental, mas variação genética certamente deve ocorrer.

TABELA 2. Estimativas dos parâmetros genéticos e fenotípicos para as notas de severidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, em linhagens de feijoeiro.

<b>Parâmetros</b>	<b>Estimativa*</b>
Variância genética entre linhagens ( $\sigma^2_L$ )	0,42
Variância fenotípica entre média das linhagens ( $\sigma^2_{\bar{F}}$ )	0,48
Herdabilidade para seleção na média das linhagens ( $h^2$ )	0,87
Limite Inferior de $h^2$	0,85
Limite Superior de $h^2$	0,89

\* dados transformados em raiz quadrada ( $x + 0,5$ ).

#### 4 CONCLUSÕES

Das linhagens do banco de germoplasma da Universidade Federal de Lavras (UFLA) avaliadas, 36,5% foram resistentes ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e a herdabilidade do caráter é alta, indicando possibilidade de sucesso na seleção para resistência ao fungo.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, A. de F. B.; RAMALHO, M. A. P.; GONÇALVES, F. M. A.; MENDONÇA, H. A. Utilização da produção de grãos na seleção para resistência ao *Colletotrichum lindemuthianum* no feijoeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 2, p. 356-362, 2003.
- ALMEIDA, L. J.; LEITÃO FILHO, H.; MIYASAKA, S. Características do feijão carioca, um novo cultivar. **Bragantia**, v. 30, p. 33-38, 1977.
- ALVES-SANTOS, F. M.; CORDEIRO-RODRIGUES, L.; SAYAGUÉS, J. M.; MARTÍN-DOMINGUEZ, R.; GARCÍA-BENAVIDES, P.; DÍAZ-MÍNGUEZ, J. M.; ESLAVA, A. P. Pathogenicity and race characterization of *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* isolates from Spain and Greece. **Plant Pathology**, v. 51, p. 605-611, Apr. 2002.
- BALARDIN, R. S.; PASTOR-CORRALES. M. A.; OTOYA, M. M. Resistência de germoplasmas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) a *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 15, n. 1, p. 102-103, mar. 1990.
- 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. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, p. 376-399.
- BURUCHARA, R. A.; CAMACHO, L. Common bean reaction to *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*, the cause of severe vascular wilt in Central Africa. **Journal of Phytopathology**, v. 148, p. 39-45, Jan. 2000.
- CRAMER, R. A.; BYRNE, P. F.; BRICK, M. A.; PANELLA, L.; WICKLIFFE, E.; SCHWARTZ, H. F. Characterization of *Fusarium oxysporum* isolates from common bean and sugar beet using pathogenicity assays and random-amplified polymorphic DNA markers. **Journal of Phytopathology**, v. 151, p. 352-360, June 2003.
- CROSS, H.; BRICK, M. A.; SCHWARTZ, H. F.; PANELLA, L. W.; BYRNE, P. F. Inheritance of resistance to fusarium wilt in two common beans races. **Crop Science**, v. 40, p. 954-958, July/Aug. 2000.

ELENA, K.; PAPAS, A. C. Pathogenicity and vegetative compatibility of *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in Greece. **Journal of Phytopathology**, v. 150, p. 495-499, Sept. 2002.

HARTUNG, K.; PIEPHO, H. P. Are ordinal rating scales better than percent rating? A statistical or psychological view. **Euphytica**, v. 155, n. 1/2, p. 15-26, May 2007.

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

KNAPP, S. J.; STROUP, W. W.; ROSS, W. M. Exact confidence intervals for heritability on a progeny mean basis. **Crop Science**, v. 25, n. 1, p. 192-194, Jan./Feb. 1985.

MARQUES JÚNIOR, O. G.; RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F.; SANTOS, J. B. dos. Viabilidade do emprego de notas na avaliação de alguns caracteres do feijoeiro (*Phaseolus Vulgaris* L.). **Revista Ceres**, v. 44, n. 254, p. 411-420, 1997.

MATOS, J. W. de; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. de F. B. Trinta e dois anos do programa de melhoramento do feijoeiro comum em Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, 2007. No prelo.

NASCIMENTO, S. R. C.; KUROZAWA, C.; MARINGONI, A. C. Avaliação de raças fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 20, n. 2, p. 214-217, jun. 1995a.

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

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

PEREIRA, M. J. Z. **Resistência do feijoeiro ao *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli***. 2007. 102p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. MG.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 13.ed. Piracicaba: Nobel, 1990. 468p.

PIZA, S. M. de T. Patogenicidade de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* e reação de germoplasma de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). **Summa Phytopathologica**, v. 19, n. 3/4, p. 165-167, 1993.

RAGAGNIN, V. A.; ALZATE-MARIN, A. L.; SOUZA, T. L. P. O.; ARRUDA, K. M. A.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Avaliação da resistência de isolinhas de feijoeiro ao *Colletotrichum lindemuthianum*, *Uromyces appendiculatus* e *Phaeoisariopsis griseola*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 6, p. 591-596, nov./dez. 2003.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos; ZIMMERMANN, M. J. de O. **Genética quantitativa em plantas autógamas**: aplicações ao melhoramento do feijoeiro. Goiânia: UFG, 1993. 271 p.

RAVA, C. A.; SARTORATO, A.; COSTA, J. G. C. Reação de genótipos de feijoeiro comum ao *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* em casa de vegetação. **Fitopatologia Brasileira**, v. 21, n. 2, p. 296-300, jun. 1996.

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

RIBEIRO, R. de L. D.; HAGEDORN, D. J. Screening for resistance to and pathogenic specialization of *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*, the causal agent of bean yellows. **Phytopathology**, v. 69, n. 3, p. 272-276, Mar. 1979.

ROCHA JÚNIOR, W. C.; SANTOS, J. B.; MENDES-COSTA, M. C. Reação de cultivares e linhagens de feijão à *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 23, n. 3, p. 407-409, set. 1998.

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

SALGADO, M. O.; SCHWARTZ, H. F. Physiological specialization and effects of inoculum concentration on *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in common beans. **Plant Disease**, v. 79, n. 5, p. 492-496, May 1993.

SARTORATO, A. Determinação da variabilidade do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc.) Scrib. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 7., 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 2002. p. 114-116.

SARTORATO, A.; THUNG, M. Determinação da variabilidade patogênica de *Phaeoisariopsis griseola* e avaliação da mancha angular. In: TALLER INTERNACIONAL SOBRE LA MANCHA ANGULAR DEL FRIJOL, 1., 2002, Santo Antônio de Goiás, GO. **Memórias...** Disponível em: <[http://www.cnpaf.embrapa.br/publicacao/seriedocumentos/doc\\_132/132\\_4.htm](http://www.cnpaf.embrapa.br/publicacao/seriedocumentos/doc_132/132_4.htm)>. Acesso em: 10 jul. 2007

SOUZA JUNIOR, C. L. de. **Componentes de variância genética e suas implicações no melhoramento vegetal.** Piracicaba: FEALQ, 1989. 134 p.

## **CAPÍTULO 4**

### **CONTROLE GENÉTICO DA RESISTÊNCIA DO FEJJOEIRO A *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli***

## RESUMO

PEREIRA, Mônica Juliani Zavaglia. Controle genético da resistência do feijoeiro a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. N. In: \_\_\_\_\_. **Resistência do feijoeiro a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli***. 2007. Cap. 4, p. 79-95, Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

A utilização de cultivares resistentes é a principal estratégia de controle da murcha-de-fusarium, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. O presente trabalho foi realizado com o objetivo de complementar as informações existentes a respeito do controle genético da resistência ao *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, visando auxiliar no gerenciamento dos programas de seleção de plantas e ou progênies resistentes. Foram realizados seis cruzamentos envolvendo três linhagens resistentes (Carioca MG, Esal 583 e Esal 566) e quatro suscetíveis ao fungo (Carioca, CNFC 10443, Uirapuru e Esal 522). As plantas dos genitores, das testemunhas (uma resistente e uma suscetível) das gerações F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> e F<sub>3</sub> foram avaliadas quanto à reação à murcha-de-fusarium utilizando a metodologia de inoculação de imersão de raízes na suspensão de esporos, com o corte do sistema radicular, com concentração de inóculo de 10<sup>6</sup> conídios/ml e a avaliação aos 21 dias após a inoculação. Plantas controle foram mergulhadas em água destilada. Com os dados obtidos, foram estimados os componentes de média e os componentes de variância. Verificou-se que no controle genético da resistência a *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* estão envolvidos genes com interação alélica de dominância, embora a presença de efeitos aditivos também seja expressiva; a herdabilidade do caráter é alta, indicando que o mesmo é de fácil seleção, desde que se adotem critérios eficientes de inoculação e avaliação das plantas e, ao que tudo indica, no controle da resistência está presente um ou poucos genes, com dominância do(s) alelo(s) que confere(m) resistência.

---

\* Comitê Orientador: Magno Antonio Patto Ramalho – UFLA (Orientador).  
Ângela de Fátima Barbosa Abreu – Embrapa Arroz e Feijão (Co-orientadora).

## ABSTRACT

PEREIRA, Mônica Juliani Zavaglia. Inheritance of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* in common bean. *N*. In: \_\_\_\_\_. **Resistance of common bean to *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli***. 2007. Cap. 4, p. 79-95, Thesis (Doctorate in Genetics and Plant Breeding) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.

Resistant lines are the main strategy to control Fusarium wilt in common bean, caused by the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. This work was performed to study the genetic control of resistance of common bean to *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, and help the management of breeding program in selecting resistant plants or progenies. Six crosses were realized involving three resistant lines (Carioca MG, Esal 583 e Esal 566) and four susceptible lines to the fungus (Carioca, CNFC 10443, Uirapuru and Esal 522). Parental plants, the controls (Carioca MG, resistant and Carioca, susceptible), the F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> and F<sub>3</sub> generations were evaluated for reaction to Fusarium wilt. The inoculation was done through cut root immersion in a suspension of spores with 10<sup>6</sup> conidia/ml. Evaluation was carried out 21 days after the inoculation. Control plants were dipped in distilled water. Average and variance components were estimated. The genetic control of resistance involve genes with dominance, although additive effects are also expressive; heritability is high, showing that selection should be easy, since efficient inoculation and selection methods are used; one or few genes, with dominant allele(s) are responsible for resistance.

---

\* Guidance Committee: Magno Antonio Patto Ramalho – UFLA (Major Professor). Ângela de Fátima Barbosa Abreu – Embrapa Arroz e Feijão (Co-Major Professor).

## 1 INTRODUÇÃO

A murcha-de-fusarium, cujo agente etiológico é o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* Kendrick & Snyder, é uma séria doença vascular do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) na América Latina, na África e no noroeste dos Estados Unidos (Buruchara & Camacho, 2000). No Brasil, essa doença recebeu destaque nos últimos anos, em função da maior tecnificação utilizada nas lavouras, dos plantios sucessivos realizados e do cultivo de mais de uma safra de feijão por ano. Essa doença causa murcha vascular, em função da colonização dos vasos, sendo o principal sintoma reflexo o amarelecimento progressivo das folhas inferiores para as superiores.

Informações a respeito do número de raças do patógeno e da variabilidade dentro das raças são limitadas. Consta na literatura a presença de sete raças patogênicas bem distribuídas entre os continentes. No Brasil, há indícios da predominância de uma raça, denominada raça 2 (Alves-Santos et al., 2002).

A existência de variabilidade para a reação a esse patógeno foi relatada em várias oportunidades (Salgado & Schwartz, 1993; Woo et al., 1996; Sala et al., 2006). Há alguns relatos de controle genético da resistência, provavelmente o primeiro foi realizado por Ribeiro & Hagedorn (1979), que identificaram a presença de apenas um gene com dominância do alelo que confere resistência. Mais recentemente, foram relatados outros resultados envolvendo o controle genético de resistência (Salgado et al., 1995; Cross et al., 2000; Brick et al., 2004). Não foi encontrado relato do controle genético da resistência a esse patógeno, utilizando apenas germoplasma desenvolvido no Brasil. Também não foram encontradas informações utilizando as estimativas de componentes de média e de variância no estudo desse caráter.

Considerando que informações do controle genético orientam os melhoristas na tomada de decisões para conduzir programas de melhoramento, foi realizado o presente trabalho, com o objetivo de complementar as informações a respeito do controle genético da resistência à raça 2 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na área experimental do setor de Genética e Melhoramento de Plantas e no Laboratório de Resistência de Plantas do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG.

Foram escolhidas sete linhagens de feijoeiro previamente avaliadas para a reação ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Pereira, 2007), com as quais foram realizados os cruzamentos. As linhagens foram Carioca MG, Esal 566 e Esal 583 no grupo das resistentes e Carioca, Uirapuru, CNFC 10443 e Esal 522 constituindo o grupo das linhagens suscetíveis. Todas as linhagens apresentam grão tipo carioca, exceto a Uirapuru, que possui grão preto.

As linhagens foram semeadas em casa de vegetação, em fevereiro de 2006. Os cruzamentos obtidos entre as linhagens resistentes e suscetíveis foram: Carioca MG x Carioca, Carioca MG x CNFC 10443, Carioca MG x Uirapuru, Esal 583 x CNFC 10443, Esal 583 x Uirapuru e Esal 566 x Esal 522. Foram realizados também cruzamentos entre duas linhagens resistentes (Esal 583 x Esal 566) e duas suscetíveis (Uirapuru x Esal 522).

As sementes  $F_1$  foram semeadas em campo em agosto de 2006, para a obtenção da geração  $F_2$ . As sementes  $F_2$  e as linhagens genitoras foram semeadas em campo em dezembro de 2006, para a obtenção da geração  $F_3$  e a manutenção das sementes dos genitores. Parte das sementes  $F_1$  foi reservada para uso posterior nas avaliações.

Todos os experimentos de campo receberam os tratos culturais recomendados para a cultura do feijoeiro.

As plantas  $F_1$ ,  $F_2$ , os genitores e, quando disponível, a  $F_3$  de um mesmo cruzamento, foram inoculados em um mesmo experimento. As inoculações

foram realizadas utilizando-se a metodologia de imersão de raízes na suspensão de esporos, com o corte do sistema radicular (Pastor-Corrales & Abawi, 1987). A semeadura foi realizada em bandejas de isopor de 128 células, contendo substrato Plantmax para horticultura, sendo colocadas em casa de vegetação para germinação e crescimento das plantas.

Quando as plantas estavam com 9-10 dias após a semeadura (primeiro par de folhas unifolioladas completamente expandida), foi realizada a inoculação. Para isso, as plantas foram retiradas das bandejas, cuidadosamente o sistema radicular foi lavado em água corrente e cortado 1/3 do seu comprimento com o auxílio de uma tesoura e mergulhado na suspensão de esporos, na concentração de  $10^6$  conídios/ml, durante cinco minutos. As raízes das plantas testemunhas foram mergulhadas em água destilada. Depois, foram transplantadas para vasos contendo substrato e mantidas em câmara climatizada, com temperatura de  $22^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas, durante período das avaliações (Anexo A, Figura 3A). As plantas eram regadas a cada dois dias e receberam 1,0 g de adubo da formulação 8-28-16 de NPK, dez dias após a inoculação. Foram avaliadas 5 plantas dos genitores e das testemunhas (Carioca, suscetível e Carioca MG, resistente), 10 a 16 plantas da geração  $F_1$ , 100 plantas da  $F_2$  e 200 plantas da  $F_3$ .

Em todos os experimentos, as avaliações foram realizadas aos 21 dias após a inoculação (DAI), baseadas no índice de severidade da doença desenvolvido pelo CIAT (Anexo A, Figura 2A), no qual: 1 = nenhum sintoma foliar ou vascular, 3 = 1% a 10% de folhas sintomáticas, suave murchamento de plantas e descoloração vascular no hipocótilo, 5 = 11% a 25% de folhas sintomáticas, moderada murcha nas plantas e descoloração vascular extensa até o primeiro nó, 7 = 26% a 50% de folhas sintomáticas, severa murcha de plantas e descoloração vascular por toda a haste e pecíolo; 9 = planta morta. As linhagens com média de 1,0 a 3,0 foram consideradas resistentes, de 3,1 a 6,0

intermediárias e 6,1 a 9,0 suscetíveis (Pastor-Corrales & Abawi, 1987; Salgado & Schwartz, 1993; Elena & Papas, 2002).

As análises consistiram na obtenção das estimativas dos componentes de média, considerando o modelo sem epistasia, utilizando procedimento semelhante ao apresentado por Cruz et al. (2004) e na obtenção das estimativas dos componentes de variância, para os cruzamentos em que se possuía a geração  $F_3$ , utilizando o método dos quadrados mínimos ponderados iterativos, de acordo com Cruz et al. (2004). As estimativas foram obtidas utilizando o software Mapgen (Ferreira & Zambalde, 1997).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os genitores utilizados confirmaram a sua reação de resistência ou suscetibilidade obtida em avaliações prévias (Pereira, 2007). As duas linhagens testemunhas também confirmaram as suas reações em todos os experimentos avaliados. As plantas da geração F<sub>1</sub> de todos os cruzamentos apresentaram pequena variação nos sintomas da doença.

O modelo utilizado nas estimativas dos componentes de médias, contendo apenas  $\hat{m}$ ,  $\hat{a}$  e  $\hat{d}$ , foi suficiente para explicar toda a variação observada. As estimativas dos coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>) foram superiores a 99% (Tabela 1), indicando, como já mencionado, bom ajuste do modelo. Não foi encontrado nenhum relato de estimativa de componente de média, para caracteres associados à resistência de patógenos, utilizando escala de notas, em feijoeiro. Contudo, há relatos de estimativas de componentes de média, para resistência a *Phakopsora pachyrhizi* (ferrugem asiática) em soja (Ribeiro et al., 2007). Esses autores também encontraram, na maioria dos casos, bom ajuste do modelo encontrado com apenas  $\hat{m}$ ,  $\hat{a}$  e  $\hat{d}$ , isto é, sem epistasia. Vale salientar que esses autores utilizaram escala de severidade de doença, em folhas, variando de 0% a 100%.

As estimativas de  $\hat{m}$ ,  $\hat{a}$  e  $\hat{d}$  dos cruzamentos envolvendo os genitores contrastantes para a resistência mostraram que estes valores foram muito semelhantes. Observe, por exemplo, que a estimativa de  $\hat{m}$  variou de 4,57 (cruzamento Carioca MG x Carioca) a 4,92 (Carioca MG x CNFC 10443). Os erros associados à estimativa de  $\hat{m}$  também foram de pequena magnitude, com valores inferiores a 10% da estimativa em todos os casos (Tabela 1).

De modo geral, as mesmas observações relativas a  $\hat{m}$  são válidas para a estimativa de  $\hat{a}$ , ou seja, do efeito aditivo. Elas também foram semelhantes entre os cruzamentos, contudo, o erro associado à estimativa de  $\hat{a}$  apresentou maior variação. Porém, aqui, o erro associado também pode ser considerado pequeno, sendo inferior a 20% em todos os casos.

Observa-se, na Tabela 1, que as estimativas da contribuição dos locos em heterozigose, presença de dominância ( $\hat{d}$ ), também foram semelhantes às estimativas de  $\hat{a}$ . Veja que o grau médio de dominância ( $\hat{gmd}$ ) variou de 0,61 (cruzamento Esal 583 x Uirapuru) a 1,01 (Esal 566 x Esal 522), indicando que no controle do caráter ocorre dominância (Cruz et al., 2004). Como a estimativa de  $\hat{d}$  foi negativa, infere-se que a dominância é no sentido de conferir resistência, pois, no critério de notas empregado, as plantas com menos sintomas recebem as menores notas.

TABELA 1. Estimativas dos componentes de médias, para o caráter notas de severidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, erro padrão associado a cada estimativa, grau médio de dominância ( $\hat{gmd}$ ) e coeficiente de determinação ( $R^2$ ).

Cruzamento	Componentes de média $\pm$ erro padrão			$\hat{gmd}$	$R^2$
	$\hat{m}$	$\hat{a}$	$\hat{d}$		
Carioca MG x Carioca	4,57 $\pm$ 0,36 <sup>1</sup>	-4,00 $\pm$ 0,83 <sup>1</sup>	-3,12 $\pm$ 0,53 <sup>1</sup>	0,78	0,99
Carioca MG x Uirapuru	4,69 $\pm$ 0,04 <sup>1</sup>	-3,58 $\pm$ 0,08 <sup>1</sup>	-2,54 $\pm$ 0,09 <sup>1</sup>	0,71	0,99
Carioca MG x CNFC 10443	4,92 $\pm$ 0,46 <sup>1</sup>	-3,53 $\pm$ 0,56 <sup>2</sup>	-3,17 $\pm$ 0,73 <sup>NS</sup>	0,90	0,99
Esal 583 x CNFC 10443	4,76 $\pm$ 0,33 <sup>1</sup>	-3,20 $\pm$ 0,41 <sup>2</sup>	-3,00 $\pm$ 0,48 <sup>2</sup>	0,93	0,99
Esal 583 x Uirapuru	4,83 $\pm$ 0,32 <sup>1</sup>	-3,55 $\pm$ 0,39 <sup>2</sup>	-2,71 $\pm$ 0,48 <sup>2</sup>	0,61	0,99
Esal 566 x Esal 522	4,88 $\pm$ 0,42 <sup>1</sup>	-2,97 $\pm$ 0,47 <sup>2</sup>	-3,00 $\pm$ 0,55 <sup>2</sup>	1,01	0,99

<sup>1/</sup>estimativas significativas pelo teste t, a 5% de probabilidade; <sup>2/</sup>estimativas significativas pelo teste t, a 10% de probabilidade; <sup>NS/</sup>não significativo.

Obtiveram-se também, para alguns cruzamentos em que se dispunha da geração F<sub>3</sub>, as estimativas dos componentes de variância genética e fenotípica (Tabela 2). Em todos os casos, o ajuste do modelo foi bom, com R<sup>2</sup> superior a 0,92. As estimativas de variância aditiva ( $\hat{\sigma}^2_A$ ) foram semelhantes entre os cruzamentos:  $\hat{\sigma}^2_A = 4,72$ , no cruzamento Carioca MG x Carioca e  $\hat{\sigma}^2_A = 5,69$ , para Carioca MG x Uirapuru. O intervalo de confiança (IC) foi de pequena magnitude e o limite inferior deste intervalo foi sempre positivo, indicando que a  $\hat{\sigma}^2_A$  deve ser diferente de zero.

As estimativas da variância de dominância ( $\hat{\sigma}^2_D$ ) para o cruzamento Carioca MG x Carioca foi quase duas vezes o valor da  $\hat{\sigma}^2_A$ . No cruzamento Carioca MG x Uirapuru o valor da  $\hat{\sigma}^2_D$  foi semelhante a  $\hat{\sigma}^2_A$ . O IC de  $\hat{\sigma}^2_D$  também foi de pequena magnitude e o limite inferior positivo, indicando que a  $\hat{\sigma}^2_D$  deve ser diferente de zero.

As estimativas de variância ambiental ( $\hat{\sigma}^2_E$ ) foram de magnitude inferior ao dos componentes de variância genética, podendo-se inferir que, a princípio, o caráter é pouco influenciado pelo ambiente. Deve-se mencionar que ocorreu um controle rigoroso das plantas a serem inoculadas, no sistema de inoculação e pós-inoculação, e que o desenvolvimento das plantas, em vasos, ocorreu sob condições ambientais controladas (Anexo A, Figura 3A).

A estimativa do grau médio de dominância ( $\hat{g}\hat{m}\hat{d}$ ) foi, em todos os casos, superior ao obtido pelos componentes de média. Vale salientar que as estimativas dos componentes de variância são normalmente associadas a erros mais acentuados, em relação aos componentes de média (Ramalho et al., 1993). Provavelmente, essa é a razão de as estimativas do ( $\hat{g}\hat{m}\hat{d}$ ), especialmente no cruzamento Carioca MG x Carioca, terem sido superiores a 1,0. Contudo,

analogamente ao constatado com os componentes de médias, pode-se inferir que há ocorrência de dominância no controle do caráter.

As estimativas da herdabilidade no sentido restrito ( $\hat{h}^2_r$ ) foram superiores a 34% (Tabela 2). Considerando que a avaliação foi realizada em plantas, essa herdabilidade pode ser considerada de média magnitude. Infelizmente, não foi encontrado, na literatura, nenhum relato de estimativa de  $\hat{h}^2_r$  em plantas no patossistema *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* - feijoeiro.

Estimativas de herdabilidade para a resistência à murcha-de-fusarium foram obtidas por Cross et al. (2000), superiores à obtida no presente trabalho ( $\hat{h}^2_r = 0,85$ ). Porém, essa estimativa foi obtida utilizando-se a regressão das médias dos pais e a média da geração F<sub>2</sub>, envolvendo as populações segregantes (F<sub>2</sub>). Ou seja, a estimativa obtida por Cross et al. (2000) visa a seleção das populações e não dos indivíduos F<sub>2</sub>. Desse modo, a estimativa não é diretamente comparável à obtida neste trabalho. Estimativas de herdabilidade para resistência a outros patógenos no feijoeiro têm sido freqüentes na literatura. Amaro et al. (2007), avaliando mancha-angular (*Pseudocercospora griseola*), utilizaram progênies S<sub>0:1</sub> e obtiveram estimativas de herdabilidade variando, em função do ciclo de seleção recorrente, de 21,8% a 70,5%. Também Ribeiro et al. (2007), estudando o controle genético da ferrugem-asiática-da-soja (*Phakopsora pachyrhizi*), utilizando percentagem de severidade de doença, estimaram a h<sup>2</sup> na média das progênies F<sub>2:3</sub> de 42% a 74%. Aqui os valores também não são diretamente comparáveis porque a estimativa foi na média das progênies e não de indivíduos, como ocorreu no presente trabalho.

As notas atribuídas às plantas da geração F<sub>1</sub> de todos os cruzamentos envolvendo genitores contrastantes para a reação ao patógeno foram sempre inferiores a 3,0. Os resultados da segregação em F<sub>2</sub> se ajustaram, em todos os casos, à proporção esperada de 3 plantas resistentes:1 suscetível (Tabela 3). A

segregação em F<sub>3</sub> se ajustou à proporção de 5 plantas resistentes:3 suscetíveis (Tabela 4). Esses resultados indicam que o controle genético da resistência ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* é monogênico, com dominância do alelo que confere a resistência.

Esses resultados da segregação são coerentes com os obtidos com relação às estimativas dos componentes de média e variância, que evidenciaram a presença de dominância na manifestação do caráter. As altas estimativas das herdabilidades no sentido amplo ( $\hat{h}^2_a$ ), no indivíduo, superiores a 0,76 (Tabela 2), aliadas ao controle ambiental nas avaliações realizadas, também sugerem a presença de poucos genes no controle do caráter.

TABELA 2. Estimativa dos componentes de variância, herdabilidade no sentido restrito ( $h^2_r$ ) e amplo ( $h^2_a$ ), coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e grau médio de dominância ( $g\hat{m}d$ ), das notas de severidade do *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em cruzamentos entre linhagens de feijoeiro.

Parâmetro	Cruzamento	
	Carioca MG x Carioca	Carioca MG x Uirapuru
$\hat{\sigma}^2_A$	4,72	5,69
LI	4,00	4,85
LS	5,66	6,76
$\hat{\sigma}^2_D$	8,77	4,62
LI	7,06	3,76
LS	11,18	5,82
$\hat{\sigma}^2_E$	0,34	3,23
LI	0,19	1,95
LS	0,76	6,36
$\hat{h}^2_r$	0,34	0,42
$\hat{h}^2_a$	0,97	0,76
$R^2$	0,92	0,97
$g\hat{m}d$	1,93	1,27

Resultados de segregação semelhantes a esses, utilizando a raça 2 de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, foram obtidos por Ribeiro & Hagedorn (1979). Outros resultados semelhantes também foram relatados por Cross et al. (2000), utilizando a raça 4 do fungo, em cruzamentos envolvendo linhagens de origem Durango. Contudo, em linhagens de origem Mesoamericana, que são semelhantes às utilizadas no presente trabalho, os autores evidenciaram a existência de controle poligênico para a resistência. Já Brick et al. (2004) constataram que, no controle genético das raças 4 e 5 de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, estão envolvidos genes diferentes, com o alelo dominante sendo o responsável pela resistência para ambas as raças.

TABELA 3. Segregação para a reação ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, em progênies F<sub>2</sub> de oito cruzamentos em feijoeiro-comum.

Cruzamento	Reação	Plantas observadas		$\chi^2_{(3:1)}$	Prob
		Resistentes	Suscetíveis		
Esal 583 x Esal 566	R x R	100	0	...	...
Uirapuru x Esal 522	S x S	6	94	...	...
Carioca MG x Carioca	R x S	69	31	1,92	0,10 – 0,20
Carioca MG x Uirapuru	R x S	69	31	1,92	0,10 – 0,20
Carioca MG x CNFC 10443	R x S	68	32	2,61	0,10 – 0,20
Esal 583 x CNFC 10443	R x S	74	26	0,053	0,80 – 0,90
Esal 583 x Uirapuru	R x S	67	33	3,41	0,05 – 0,10
Esal 566 x Esal 522	R x S	67	33	3,41	0,05 – 0,10

TABELA 4. Segregação para reação do ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, em progênies F<sub>3</sub> de dois cruzamentos em feijoeiro-comum.

Cruzamento	Reação	Plantas observadas		$\chi^2_{(5:3)}$	Probabilidade
		Resistentes	Suscetíveis		
Carioca MG x Carioca	R x S	136	64	2,57	0,10 – 0,20
Carioca MG x Uirapuru	R x S	123	77	0,085	0,70 – 0,80

#### 4 CONCLUSÕES

No controle genético da resistência ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* estão presentes genes com interação alélica de dominância, embora a presença de efeitos aditivos também seja expressiva.

A herdabilidade do caráter é alta, indicando que o mesmo é de fácil seleção, desde que se adotem critérios eficientes de inoculação e avaliação das plantas.

Ao que tudo indica, no controle da resistência estão presentes um ou poucos genes, com dominância do(s) alelo(s) que confere(m) resistência.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES-SANTOS, F. M.; CORDEIRO-RODRIGUES, L.; SAYAGUÉS, J. M.; MARTÍN-DOMINGUEZ, R.; GARCÍA-BENAVIDES, P.; DÍAZ-MÍNGUEZ, J. M.; ESLAVA, A. P. Pathogenicity and race characterization of *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* isolates from Spain and Greece. **Plant Pathology**, v. 51, p. 605-611, Apr. 2002.

AMARO, G. B.; ABREU, A. de F. B.; RAMALHO, M. A. P.; SILVA, F. B. Phenotypic recurrent selection in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) with carioca-type grains for resistance to the fungi *Phaeoisariopsis griseola*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, n. 3, p. 584-588, July/Sept. 2007.

BRICK, M. A.; OGG, J. B.; SCHWARTZ, H. F.; BYRNE, P. F.; KELLY, J. D. Resistance to multiple races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in common bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative – BIC**, v. 47, p. 131-132, Mar. 2004.

BURUCHARA, R. A.; CAMACHO, L. Common bean reaction to *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*, the cause of severe vascular wilt in Central Africa. **Journal of Phytopathology**, v. 148, p. 39-45, Jan. 2000.

CROSS, H.; BRICK, M. A.; SCHWARTZ, H. F.; PANELLA, L. W.; BYRNE, P. F. Inheritance of resistance to fusarium wilt in two common beans races. **Crop Science**, v. 40, p. 954-958, July/Aug. 2000.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3.ed. Viçosa, MG: UFV, 2004. v. 1, 480 p.

ELENA, K.; PAPAS, A. C. Pathogenicity and vegetative compatibility of *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in Greece. **Journal of Phytopathology**, v. 150, p. 495-499, Sept. 2002.

FERREIRA, D. F.; ZAMBALDE, A. L. Simplificação de algumas técnicas especiais da experimentação agropecuária no Mapgen e softwares correlatos. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFORMÁTICA APLICADA A AGROPECUÁRIA E AGROINDÚSTRIA, 1., 1997, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte, 1997. p. 285-281.

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

PEREIRA, M. J. Z. **Resistência do feijoeiro ao *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli***. 2007. 102 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos; ZIMMERMANN, M. J. de O. **Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro**. Goiânia: UFG, 1993. 271 p.

RIBEIRO, R. de L. D.; HAGEDORN, D. J. Inheritance and nature of resistance in beans to *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. **Phytopathology**, v. 69, n. 8, p. 859-861, Aug. 1979.

RIBEIRO, A. S.; MOREIRA, J. U. V.; PIEROZZI, P. H. B.; RACHID, B. F.; TOLEDO, J. F. F. de; ARIAS, C. A. A.; SOARES, R. M.; GODOY, C. V. Genetic control of Asian rust in soybean. **Euphytica**, v. 157, n. 1/2, p. 15-25, Sept. 2007.

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

SALGADO, M. O.; SCHWARTZ, H. F. Physiological specialization and effects of inoculum concentration on *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in common beans. **Plant Disease**, v. 79, n. 5, p. 492-496, May 1993.

SALGADO, M. O.; SCHWARTZ, H. F.; BRICK, M. A. Inheritance of resistance to a Colorado race of *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in common beans. **Plant Disease**, v. 79, n. 3, p. 279-281, Mar. 1995.

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

## ANEXOS

ANEXO A		Página
FIGURA 1A	Esporulação do fungo, de coloração rosada, externamente à haste.....	98
FIGURA 2A	Escala de severidade de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> em feijoeiro, utilizada na avaliação das plantas.....	98
FIGURA 3A	Condições de ambiente controlado em que foram realizados os experimentos de inoculação das gerações segregantes .....	99

**ANEXO B**

**Página**

TABELA 1B	Linhagens de feijoeiro avaliadas, notas de severidade e reação ao <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> .....	100
-----------	--	-----



FIGURA 1A. Esporulação do fungo, de coloração rosada, externamente à haste.

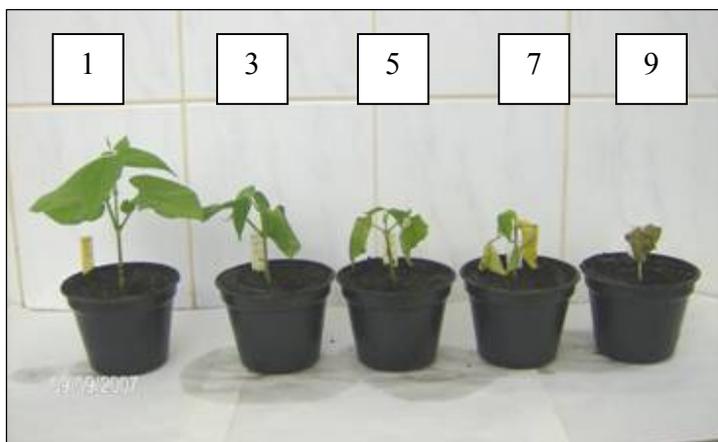


FIGURA 2A. Escala de severidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em feijoeiro, utilizada na avaliação das plantas.



FIGURA 3A. Condições de ambiente controlado em que foram realizados os experimentos de inoculação das gerações segregantes.

TABELA 1B. Linhagens de feijoeiro avaliadas, nota de severidade e reação ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

Linhagem	Nota	Reação	Linhagem	Nota	Reação
ESAL 588	1,0	R	IAPAR 16	1,0	R
CIAT 437	1,0	R	R-17	1,0	R
ESAL 565	1,0	R	PINTADO	1,0	R
ESAL 615	1,0	R	ESAL 656	1,0	R
ESAL 547	1,0	R	FEIJÃO CHILENO	1,0	R
ESAL 583	1,0	R	ESAL 655	1,0	R
ESAL 566	1,0	R	ESAL 607	1,0	R
AROANA	1,0	R	ESAL 651	1,0	R
ESAL 589	1,0	R	ESAL 611	1,0	R
MILIONARIO	1,0	R	CNF 261	1,0	R
CIAT 249	1,0	R	A-242	1,0	R
CIAT 57	1,0	R	DADE	1,0	R
MORUNA ROSA	1,0	R	Coleta 185	1,0	R
BAT 41	1,0	R	H-4-23	1,0	R
DOR 95	1,0	R	VP-11	1,0	R
DOR 196	1,0	R	VP-12	1,0	R
BOLINHA	1,0	R	VP-9	1,0	R
PERRY MARROW	1,0	R	VP-8	1,0	R
RICO PARDO 896	1,0	R	* CV-46	1,0	R
ESAL 618	1,0	R	* CNFC-8075	1,0	R
ESAL 642	1,0	R	* VC-9	1,0	R
ESAL 535	1,0	R	ERIPARSA 1	1,2	R
ESAL 526	1,0	R	CIAT A-296	1,2	R
JALO	1,0	R	ESAL 586	1,4	R
FEIJAO BAGAJO	1,0	R	ESAL 568	1,4	R
ESAL 541	1,0	R	ESAL 633	1,4	R
ESAL 576	1,0	R	MULATINHO 106	1,4	R
Capixaba precoce	1,0	R	ESAL 632	1,4	R
CNF 266	1,0	R	ESAL 601	1,4	R
ESAL 533	1,0	R	ESAL 626	1,4	R
CNF 243	1,0	R	VC-10	1,4	R
BAETAO	1,0	R	ESAL 569	1,6	R
H-87	1,0	R	ESAL 617	1,8	R
ESAL 644	1,0	R	PUAD III	1,8	R
ESAL 609	1,0	R	IAPAR 31	1,8	R
ESAL 533	1,0	R	ESAL 516	1,8	R
BATATINHA	1,0	R	DIACOL CALIMA	1,8	R
HULK	1,0	R	IAPAR 14	1,8	R
ESAL 550	1,0	R	ESAL 640	1,8	R
BAT 304	1,0	R	Z-9	1,8	R
NEGRITO	1,0	R	* RC-I-8	1,8	R
ESAL 530	1,0	R	* VC-6	1,8	R
RIO TIBAGI	1,0	R	* VC-8	1,8	R
CIAT 250	1,0	R	* VC-7	2,0	R
Goiano Precoce	1,0	R	ESAL 563	2,2	R
Manteigão fosco	1,0	R	ESAL 579	2,2	R
FLOR DE MAYO	1,0	R	* VC-11	2,2	R

“... continua ...”

“TABELA 1B, Cont.”

<b>Linhagem</b>	<b>Nota</b>	<b>Reação</b>	<b>Linhagem</b>	<b>Nota</b>	<b>Reação</b>
* OP-NS-331	2,2	R	MA-I-2-10	3,4	I
AN 910408	2,6	R	CV-78	3,4	I
ESAL 619	2,6	R	CV-54	3,4	I
CNF 246	2,6	R	* CV-55	3,4	I
TU x CARIOCA	2,6	R	ESAL 537	3,6	I
CIAT 270	2,6	R	ESAL 502	3,8	I
CAI FOLHA	2,6	R	Coleta 199	3,8	I
ESAL 654	2,6	R	AN 910546	4,2	I
ESAL 647	2,6	R	ESAL 633	4,2	I
FT TARUMÃ	2,6	R	ESAL 591	4,2	I
FEIJÃO FAVINHA	2,6	R	ESAL 590	4,2	I
ESAL 625	2,6	R	ESAL 634	4,2	I
ESAL 606	2,6	R	CARIOCA TU	4,2	I
ESAL 592	2,6	R	* CNFC-8065	4,4	I
ESAL 597	2,6	R	ESAL 564	4,6	I
ESAL 629	2,6	R	ESAL 546	4,6	I
ESAL 585	2,6	R	Feijão desconhecido	4,6	I
ESAL 630	2,6	R	ESAL 620	4,6	I
D-245	2,6	R	IAPAR 20	4,6	I
VP-1	2,6	R	P-180	4,6	I
VP-2	2,6	R	ESAL 595	4,6	I
MA-I-8-13	2,6	R	MA-I-2-10	4,6	I
CV-31	2,6	R	ESAL 658	4,8	I
CV-21	2,6	R	ESAL 503	5,0	I
VC-1	2,6	R	ESAL 524	5,0	I
VP-4	2,6	R	ESAL 553	5,0	I
VI 5500 P	2,6	R	TUC 27	5,0	I
* MAI-2-5	2,6	R	Coleta 155	5,0	I
* CNFC-8959	2,6	R	Z-6	5,0	I
ESAL 644	2,8	R	ESAL 593	5,2	I
* VC-3	2,8	R	ESAL 511	5,4	I
ESAL 621	3,0	R	ESAL 543	5,4	I
ESAL 636	3,0	R	ERIPARSA	5,4	I
ESAL 657	3,0	R	* CNFC-10443	5,4	I
ESAL 610	3,0	R	PARANA 67	5,8	I
Mineiro Precoce	3,0	R	ESAL 646	5,8	I
APORÉ	3,0	R	ESAL 653	5,8	I
* VC-12	3,0	R	ESAL 627	5,8	I
T-16	3,2	I	ESAL 643	5,8	I
T-71	3,2	I	LM 30330	5,8	I
D-205	3,4	I	Coleta 160	5,8	I
R-8	3,4	I	R-27	5,8	I
ESAL 650	3,4	I	H-92	5,8	I
Coleta 231	3,4	I	P-180	5,8	I
R-161	3,4	I	H-4	5,8	I
VI 5700P	3,4	I	T-71	5,8	I
VP-7	3,4	I	R-34	5,8	I

“... continua ...”

“TABELA 1B, Cont.”

<b>Linhagem</b>	<b>Nota</b>	<b>Reação</b>	<b>Linhagem</b>	<b>Nota</b>	<b>Reação</b>
VP-5	5,8	I	CNF 10	7,4	S
VP-10	5,8	I	CIAT 354	7,4	S
VC-4	5,8	I	ESAL 580	7,4	S
MA-I-6-10	5,8	I	Rosinha Maria da Fé	7,4	S
CV-95	5,8	I	P-70	7,4	S
Z-20	5,8	I	VP-6	7,4	S
* MAI-8-9	5,8	I	VP-3	7,4	S
ESAL 512	6,2	S	ANLAV-51	7,4	S
ESAL 521	6,2	S	HP-21	7,4	S
G-2333	6,2	S	HP-16	7,4	S
OURO	6,2	S	Z-28	7,4	S
ESAL 623	6,2	S	RC-I-3	7,4	S
Milion x Mulatin	6,2	S	P-43 (TO x E.501)	7,5	S
ESAL 616	6,4	S	ESAL 527	7,8	S
ESAL 501	6,4	S	ESAL 549	7,8	S
ESAL 582	6,6	S	RIO VERMELHO	8,0	S
Mulatinho Vagem Roxa	6,6	S	D-282	8,0	S
CIAT 430	6,6	S	PF 735687	8,0	S
ESAL 567	6,6	S	NEGRO ARGEL	8,0	S
CV-45	6,6	S	CARIOCA 300 V	8,0	S
CV-13	6,6	S	ESAL 510	8,2	S
ESAL 612	6,8	S	CIAT A-254	8,2	S
IPA-8	7,0	S	ESAL 509	8,2	S
ESAL 613	7,0	S	CORNELL	8,2	S
ESAL 584	7,0	S	CIAT 240	8,2	S
ESAL 686 (P-24)	7,0	S	ESAL 599	8,2	S
P-45 (TO X E. 501)	7,4	S	LM 30333	8,2	S
P-105 PATOS	7,4	S	Coleta 158	8,2	S
LINEA 49	7,4	S	Coleta 194	8,2	S
FRANGUINHO	7,4	S	D-186	8,2	S
CNF 255	7,4	S	D-26	8,2	S
ESAL 523	7,4	S	P-38	8,2	S
ICA PIJAO	7,4	S	RC-I-10	8,2	S
ESAL 536	7,4	S	ESAL 532	8,4	S
ESAL 540	7,4	S	ESAL 517	8,6	S
ESAL 531	7,4	S	ESAL 520	8,6	S
IAPAR 65	7,4	S	ESAL 518	8,6	S
DOR 157	7,4	S	ESAL 603	8,6	S
MAEZINHA	7,4	S	LP-808	8,6	S
ESAL 640	7,4	S	LM 30406	8,6	S
TO	7,4	S	IAPAR 8	8,6	S
ESAL 652	7,4	S	ESAL 513	9,0	S
ESAL 598	7,4	S	ESAL 522	9,0	S
ESAL 604	7,4	S	ROXINHO 31	9,0	S
FT-84-292	7,4	S	ESAL 639	9,0	S
ROXO PV	7,4	S	ESAL 507	9,0	S
ESAL 631	7,4	S	RIO NEGRO	9,0	S

“... continua ... “

“TABELA 1B, Cont.”

<b>Linhagem</b>	<b>Nota</b>	<b>Reação</b>	<b>Linhagem</b>	<b>Nota</b>	<b>Reação</b>
CIAT 539	9,0	S	ESAL 624	9,0	S
PARANA 1	9,0	S	ESAL 512	9,0	S
IPA 1	9,0	S	ESAL 635	9,0	S
CIAT 311	9,0	S	ESAL 635	9,0	S
A 488	9,0	S	ESAL 594	9,0	S
AN 910522	9,0	S	ESAL 506	9,0	S
ESAL 572	9,0	S	ESAL 600	9,0	S
ESAL 505	9,0	S	ESAL 605	9,0	S
ESAL 542	9,0	S	ESAL 587	9,0	S
ESAL 664	9,0	S	CIAT 242	9,0	S
VERMELHO 110	9,0	S	A-354	9,0	S
ESAL 515	9,0	S	ESAL 641	9,0	S
ESAL 516	9,0	S	PRETO 60 dias	9,0	S
ESAL 519	9,0	S	ESAL 683	9,0	S
ESAL 561	9,0	S	Coleta 184	9,0	S
ESAL 565	9,0	S	Coleta 122	9,0	S
ESAL 525	9,0	S	Coleta 208	9,0	S
Porrilo Sintético	9,0	S	Coleta 235	9,0	S
MICHELITE	9,0	S	Coleta 182	9,0	S
ESAL 539	9,0	S	Coleta 224	9,0	S
CNF 252	9,0	S	Coleta 215	9,0	S
CARIOCA 80	9,0	S	Coleta 196	9,0	S
ESAL 514	9,0	S	Coleta 192	9,0	S
SMALL WHITE	9,0	S	Coleta 173	9,0	S
COSTA RICA 1031	9,0	S	ESAL 562	9,0	S
AN 730340	9,0	S	R-10	9,0	S
ESAL 660	9,0	S	R-1	9,0	S
POT 51	9,0	S	P-106	9,0	S
CIAT 245	9,0	S	T-16	9,0	S
LM 30630	9,0	S	R-29	9,0	S
BP-9	9,0	S	R-18	9,0	S
IAPAR 57	9,0	S	H-15	9,0	S
AN 910523	9,0	S	R-3	9,0	SS
ESAL 648	9,0	S	VC-5	9,0	S
LP 806	9,0	S	RC-I-7	9,0	S
PARANÁ	9,0	S	HP-9	9,0	S
ESAL 649	9,0	S	HP-11	9,0	S
FT 120	9,0	S	Valente	9,0	S
ESAL 538	9,0	S	Uirapuru	9,0	S
ESAL 508	9,0	S	Meia Noite	9,0	S
CNF 05	9,0	S	Carioca-Eté	9,0	S
P-76 (TO x E.501)	9,0	S			
FORTUNA 1895	9,0	S	<b>Carioca<sup>1</sup></b>	<b>8,4</b>	<b>S</b>
SAFIRA	9,0	S	<b>Carioca MG<sup>2</sup></b>	<b>2,1</b>	<b>R</b>

\* Linhagens do experimento de Valor de Cultivo e Uso (VCU) 2005/06;

<sup>1</sup>testemunha suscetível; <sup>2</sup>testemunha resistente.