

Reação de Genótipos Provenientes de uma População de Mapeamento para Resistência a Murcha de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em Feijoeiro-Comum

Gabriela Guimarães Papa¹, Márcio V. de C.B. Cortês², Maythsulene I. S. Oliveira³, Stella C. D. Valdo Lima⁴, Leonardo Cunha Melo⁵, Helton Santos Pereira⁶, Luís Cláudio de Faria⁷, Thiago L. P. O. de Souza⁸, Joaquim G. C. da Costa⁹, Gustavo de Faria Theodoro¹⁰, Adriane Wendland^{11*}

Resumo

Avaliou-se a ocorrência de murcha de *Curtobacterium* (*Cff*) e murcha de *Fusarium* (*Fop*) em plantas de feijoeiro provenientes de retrocruzamentos de duas cultivares, Ouro Branco e CNFP 10132, nas dependências da Embrapa Arroz e Feijão em Santo Antonio de Goiás-GO, sob condições de casa de vegetação. Foram utilizados 12 genótipos diferentes inoculados com os isolados Cff 33, Cff 25 e Fop 101, Fop 102. Os sintomas das doenças foram quantificados e seus resultados analisados estatisticamente. As avaliações das médias dos genótipos tanto inoculados com *Cff*, quanto com *Fop* apresentaram diferenças significativas em relação à resistência de cada um.

Introdução

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das mais importantes fontes de proteína vegetal consumida pelos seres humanos, sendo o Brasil o segundo maior produtor desta leguminosa ficando atrás somente da Índia, em virtude da quantidade de área plantada. Dentre os fatores que mais interferem na produção do feijão, estão as doenças, que podem causar até 100% de perda na produção (Ito, 2004).

A murcha-de-*Curtobacterium* do feijoeiro, causada pelo patógeno *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* foi relatada pela primeira vez no Brasil em 1995 no Estado de São Paulo (Marigoni e Rosa, 1997). Posteriormente a doença se disseminou para os Estados de Goiás, Distrito Federal, Santa Catarina e Mato Grosso do Sul (Theodoro et al. 2010). A murcha de *Fusarium*, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, era considerada uma doença secundária até a década de 70. Porém com o aumento da produção de feijão irrigado, esta doença começou a ter espaço significativo nas preocupações dos agricultores de feijão.

Os sintomas das duas doenças se assemelham na obstrução dos feixes xilemáticos, ocorrendo o amarelecimento e murcha nas folhas, em casos mais severos nanismo e consequente morte da planta. O que diferem visivelmente nas duas doenças é o escurecimento nítido do caule quando atacado por *F. oxysporum* (Wendland, 2010).

A população de mapeamento utilizada no presente trabalho foi formada em 2009, através dos genitores CNFP 10132 (suscetível) e Ouro Branco (resistente), contrastantes para a resposta à murcha de *Curtobacterium*. A geração F_{5,7} foi avaliada fenotipicamente para reação à doença em março de 2010, e a genotipagem dessa população foi realizada em 2010 (Lara et al, 2010). Os genótipos foram avaliados em

¹ Graduanda em Agronomia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul/ Estagiária da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, E-mail: gabriela5601@hotmail.com;

² Analista da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO. E-mail: marcio.cortes@embrapa.br

³ Mestranda em Produção Vegetal da Universidade Federal de Goiás/ Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, E-mail: maythsulene@gmail.com

⁴ Doutoranda em Genética e Melhoramento da Universidade Federal de Goiás/ Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, E-mail: sdiasvaldo@gmail.com

⁵ Pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO. E-mail: leonardo.melo@embrapa.br

⁶ Pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO. E-mail: helton.pereira@embrapa.br

⁷ Pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO. E-mail: luis.faria@embrapa.br

⁸ Pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO. E-mail: thiago.souza@embrapa.br

⁹ Pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO. E-mail: joaquim.caprio@embrapa.br

¹⁰ Professor de Fitopatologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, E-mail: gustavo.theodoro@ufms.br

¹¹ Pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO. E-mail: adriane.wendland@embrapa.br

*Autora para Correspondência

condições de campo e casa de vegetação para as doenças Cff e Fop e os materiais mais resistentes foram selecionados para confirmação dessa característica sob condição de inoculação artificial dos dois patógenos.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido nas dependências da Embrapa Arroz e Feijão, sob condições de casa de vegetação, localizada em Santo Antonio de Goiás, GO. Foram utilizados 12 genótipos diferentes, provindos de retrocruzamentos das cultivares Ouro Branco com CNFP 10132 e quatro isolados, sendo dois de *Cff* e dois de *Fop*. Os genótipos utilizados e os isolados estão listados na Tabela 1.

Tabela 1 - Relação dos genótipos e isolados utilizados no experimento.

Genótipo	Procedência
Ouro Branco x CNFP 10132.27	F _{5:7}
Ouro Branco x CNFP 10132.42	F _{5:7}
Ouro Branco x CNFP 10132.49	F _{5:7}
Ouro Branco x CNFP 10132.62	F _{5:7}
Ouro Branco x CNFP 10132.65	F _{5:7}
Ouro Branco x CNFP 10132.66	F _{5:7}
Ouro Branco x CNFP 10132.112	F _{5:7}
Ouro Branco x CNFP 10132.113	F _{5:7}
Ouro Branco x CNFP 10132.121	F _{5:7}
Ouro Branco x CNFP 10132.124	F _{5:7}
Ouro Branco x CNFP 10132.125	F _{5:7}
Ouro Branco x CNFP 10132.162	F _{5:7}
Isolados	
Cff 33	UnB ^{1*}
Cff 25	*
Fop 101	**
Fop 102	**

¹Isolado cedido por UESUGI (Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília).

*Isolados de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, da EMBRAPA Arroz e Feijão.

**Isolados de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, da EMBRAPA Arroz e Feijão.

As sementes dos genótipos utilizados tiveram seu peso de cem sementes, seu tamanho e coloração contabilizados, antes que fossem semeadas com o intuito de conhecer sua características e seleção para fins comerciais, como mostra a Tabela 2.

Tabela 2 – Características morfológicas dos genótipos da população F_{5:7} de Ouro Branco x CNFP 10132

ID	Genótipo	Cor	Tamanho (cm)	Peso de 100 sementes(g)
1	Ouro Branco x CNFP 10132.42		Grãos branco-pérola	1,69 29,6
2	Ouro Branco x CNFP 10132.62		Grãos pretos	2,01 27,3
3	Ouro Branco x CNFP 10132.65	Mistura de grãos pretos e grãos marrom-claro rajados		2,03 30,3
4	Ouro Branco x CNFP 10132.66		Grãos pretos	2,01 27,7

5	Ouro Branco x CNFP 10132.112	Grãos pretos	1,88	27,9
6	Ouro Branco x CNFP 10132.113	Predomina grãos pretos	2,00	27,9
7	Ouro Branco x CNFP 10132.125	Predomina os grãos pretos	1,91	27,4
8	Ouro Branco x CNFP 10132.162	Grãos pretos	1,99	26,2
9	Ouro Branco x CNFP 10132.27	Predomina grãos marrom-claro rajados	1,99	27,4
10	Ouro Branco x CNFP 10132.124	Grãos marrom-escuros rajados	1,85	22,7
11	Ouro Branco x CNFP 10132.121	Mistura de grãos branco-pérola e grãos pretos	1,90	27,9
12	Ouro Branco x CNFP 10132.49	Mistura de grãos branco-pérola e grãos pretos	1,95	25,2

Para realizar o experimento inteiramente casualizado, foram utilizados cinco vasos com três plantas de cada genótipo, inoculados com cada isolado e um vaso de cada genótipo como testemunha, inoculada com água, totalizando 240 vasos. A inoculação de *Cff* aconteceu dez dias após o plantio. As plantas foram perfuradas artificialmente nas hastes entre as folhas cotiledonares e as folhas primárias, com uma seringa contendo a suspensão bacteriana padronizada na concentração de 10^8 UFC.mL⁻¹. As testemunhas também foram inoculadas igualmente com água, para que todas as plantas sofressem as mesmas injúrias. Para os isolados de *Fop*, a inoculação aconteceu junto ao transplante das plantas aos vasos, as raízes foram cortadas a cinco cm da sua extremidade e mergulhadas em uma solução com o fungo por cinco minutos, posteriormente transplantadas para seus respectivos vasos.

Os isolados *Cff* 33 e *Cff* 25 foram recuperados, através da repicagem em placas de petri, em meio de ágar nutriente, por 72 horas á 24°C. Já os isolados *Fop* 101 e *Fop* 102 foram recuperados da coleção, onde estavam em papel filtro com sílica gel, e repicados em placas de petri em meio de Tochinai, por 72 horas na mesa agitadora á uma rotação de 110 rpm.

Os sintomas avaliados para os genótipos inoculados com *Cff* foram mosaico (MO), flacidez (FLA), queima de bordo foliar (QB), encarquilhamento de bordo foliar (EB), murcha (MUR), nanismo (NAN) e morte (MT). Já para os genótipos inoculados com *Fop* foi avaliada a porcentagem de murcha nas folhas.

As avaliações das plantas foram realizadas 15, 18 e 20 dias após a inoculação com *Cff*, e aos 21 dias após a inoculação com *Fop*, utilizando escalas de severidade de 1 a 9, sendo 1 a ausência da doença e 9 a planta morta. As médias obtidas foram avaliadas pelo teste proposto por Scott-Knott (1974) ao nível de 5% de probabilidade. Foram consideradas plantas resistentes as que obtiveram média de notas entre 1 a 3, intermediárias de 3,1 a 5 e suscetíveis de 5,1 a 9.

Resultados e Discussão

A resistência dos doze genótipos inoculados com *Cff* e *Fop* foi avaliada e suas médias foram analisadas estatisticamente (Tabela 3).

Tabela 3 - Reação média de doze genótipos inoculados com *Cff* e *Fop* em ensaios conduzidos em casa de vegetação (Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO)

Genótipo	ID	Cff 25	Cff 33	Fop 101	Fop 102
		Médias das Avaliações	Médias das Avaliações	Médias das Avaliações	Médias das Avaliações

7° Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas

Ouro Branco		3.4 b*	4.5 b	2.5 a	1.0 a
X	1				
CNPAF 10132.42					
Ouro Branco		3.1 b	3.6 b	2.2 a	3.2 a
X	2				
CNPAF 10132.62					
Ouro Branco		4.3 a	3.7 b	5.0 a	2.2 a
X	3				
CNPAF 10132.65					
Ouro Branco		3.2 b	2.3 c	2.2 a	2.7 a
X	4				
CNPAF 10132.66					
Ouro Branco		3.5 b	4.2 b	2.7 a	1.0 a
X	5				
CNPAF 10132.112					
Ouro Branco		3.3 b	3.0 c	3.0 a	2.2 a
X	6				
CNPAF 10132.113					
Ouro Branco		3.1 b	3.9 b	2.2 a	1.0 a
X	7				
CNPAF 10132.125					
Ouro Branco		3.2 b	3.8 b	2.2 a	1.0 a
X	8				
CNPAF 10132.162					
Ouro Branco		3.0 b	3.4 b	3.0 a	3.0 a
X	9				
CNPAF 10132.27					
Ouro Branco		3.4 b	2.0 c	5.5 a	2.2 a
X	10				
CNPAF 10132.124					
Ouro Branco		5.6 a	6.4 a	3.7 a	3.0 a
X	11				
CNPAF 10132.121					
Ouro Branco		5.3 a	6.4 a	2.7 a	2.2 a
X	12				
CNPAF 10132.49					

CV%	17,71	26,24	37,80	33,43
-----	-------	-------	-------	-------

*Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Quando relacionados à murcha de *Curtobacterium* os genótipos identificados como 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10 tiveram suas médias da severidade da doença menores que os genótipos identificados como 3, 11 e 12, diferindo entre si estatisticamente. Os genótipos 11 e 12, mesmo não diferindo entre si com o 3, tiveram suas médias altas, caracterizando assim como cultivares suscetíveis ao isolado Cff 25. Para os genótipos inoculados com Cff 33, as médias de severidade tiveram uma maior oscilação, os genótipos identificados como 4, 6 e 10 foram os que atingiram menor severidade, considerados o grupo de cultivares resistentes à murcha de *Curtobacterium*. Já para os identificados como 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8 e 9, em virtude de suas respectivas médias, foram considerados moderadamente resistentes. Os genótipos com as médias mais altas foram os 11 e 12, distinguindo-se dos demais pela maior suscetibilidade ao patógeno.

Nas análises realizadas para os genótipos inoculados com os isolados de *Fop*, as médias de severidade mostraram que não houve diferença entre elas. Entre os genótipos inoculados com o isolado *Fop* 101 e 102, destacaram-se os genótipos 1, 5, 7 e 8 que foram altamente resistentes à murcha de *Fusarium*, não apresentando nenhum sintoma da doença. O genótipo 10 foi o mais suscetível, com nota média relativamente elevada em relação aos demais genótipos, quando inoculado com *Fop* 101.

Comparando os melhores genótipos pela reação conjunta às duas doenças e pelas características morfológicas e comerciais do grão, os melhores genótipos que podem ser utilizados como fonte de resistência a ambas as doenças são o 1, 2, 4, 6, 8 e 9 caracterizados como resistentes para ambas as doenças, vemos os que os identificados como genótipos 1 e 9 (que possui grãos claros), e os genótipo 4 e 8 (de grãos pretos) possuem além da resistência a ambas as doenças, também possuem características comerciais favoráveis aos consumidores.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária de Arroz e Feijão pela oportunidade da realização deste trabalho e pelo espaço cedido. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pela concessão da bolsa de produtividade, de iniciação científica (PIBIC) e de mestrado.

Referências

- Ito MA (2004) **Patoenicidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Phaseoli*, adubação nitrogenada e produtividade de feijão** 61 f Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz – Universidade de São Paulo.
- Lara LAC et al (2010) Regiões genômicas do feijão associadas à resistência à murcha-de-*Curtobacterium*. In: Anais, **XIX Congresso de pós-graduação da UFPA**, Lavras, p.1-4.
- Margiori AC and Rosa EF (1997) Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro no Estado de São Paulo **Summa Phytopathol** **23**: 160-162.
- Pereira JM, Vieira and Marrara LO (2002) Reação de cultivares e linhagens de feijão à murcha-de-*Fusarium* **Revista Ceres** **41**: 71-74.
- Scott AJ and Knott MA (1974) A Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance **Biometrics** **30**: 507-512.
- Theodoro, G. D. F et al (2010) First report of bacterial wilt of common bean caused by *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in Mato Grosso do Sul. **Journal of Plant Pathology**, v. 92, n. 4, p. 107.
- Valentini G et al (2010) *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* **Revista Biotemas** **23**: 34-41.
- Wendland A (2010) Murcha de *Curtobacterium* se espalha pelo Brasil **Revista A Granja** **733**: 1-2.