

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS - CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
MESTRADO EM PRODUÇÃO VEGETAL

PEDRO PATRIC PINHO MORAIS

**SELEÇÃO FENOTÍPICA EM POPULAÇÕES SEGREGANTES DE
FEIJÃO VISANDO RESISTÊNCIA À MURCHA DE
CURTOBACTERIUM (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*)**

LAGES - SC

2012

PEDRO PATRIC PINHO MORAIS

**SELEÇÃO FENOTÍPICA EM POPULAÇÕES SEGREGANTES DE
FEIJÃO VISANDO RESISTÊNCIA À MURCHA DE
CURTOBACTERIUM (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*)**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de mestre no Curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC.

Orientador: Altamir Frederico Guidolin

LAGES – SC

2012

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária
Renata Weingärtner Rosa – CRB 228/14ª Região
(Biblioteca Setorial do CAV/UDESC)

Morais, Pedro Patric Pinho
Seleção fenotípica em populações segregantes de feijão visando
resistência à murcha de curtobacterium (*Curtobacterium flaccumfaciens*
pv. *flaccumfaciens*) / Pedro Patric Pinho Moraes; orientador: Altamir
Frederico Guidolin. – Lages, 2012.
55f.

Inclui referências.
Dissertação (mestrado) – Centro de Ciências Agroveterinárias /
UDESC.

1.Murcha bacteriana. 2.Eficiência de seleção. 3.Caracteres agrônômicos .
I. Título.

CDD – 635.652

PEDRO PATRIC PINHO MORAIS

**SELEÇÃO FENOTÍPICA EM POPULAÇÕES SEGREGANTES DE
FEIJÃO VISANDO RESISTÊNCIA À MURCHA DE
CURTOBACTERIUM (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*)**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre no Curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC.

Banca Examinadora

Orientador: _____

Dr. Altamir Frederico Guidolin
UDESC/Lages - SC

Co-orientador: _____

Dr. Jefferson Luís Meirelles Coimbra
UDESC/Lages - SC

Membro: _____

Dr. Haroldo Tavares Elias
EPAGRI/ Florianópolis - SC

Membro: _____

Dr. Rogério Luiz Backes
EPAGRI/ Chapecó - SC

Lages, Santa Catarina, 10 de Julho de 2012

Dedico aos meus pais, José Luiz e Izaíra;

A minha avó Prudência;

A Luzara minha irmã;

E minha noiva Carla;

Dedico a vocês mais esta conquista galgada com esforço e determinação, que não foi a primeira, nem mesmo a última.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, fonte de criatividade, discernimento e inteligência humana;

A família, local seguro e acolhedor para se abrigar em épocas turbulentas da vida;

Aos orientadores e capacitadores de pessoas para o meio científico, Altamir Frederico Guidolin e Jefferson Luís Meirelles Coimbra;

Aos amigos e Colegas do mestrado e do Grupo Imagem que me ajudaram nos experimentos em casa de vegetação e a campo, nas análises e no convívio harmonioso ao longo destes dois anos: Diego Toaldo, Carlos Lemes, Luciano Rogério, Murieli Sabrina, Thiago Giroto, Thayse Candiago, Jussara Cristina, Robson Spader, Jéssica Lunelli, Rodolfo Schmit, Diego Pavarin, Mayra Juline, Daiane Corrêa, Fernanda Grimaldi, Edicléia Zulian, Jefferson Vieira e Marcos Hendges;

A UDESC, CNPq, CAPES e FAPESC, pela disponibilidade da realização do mestrado, concessão de bolsa e apoio financeiro no desenvolvimento deste trabalho.

“A imaginação é mais importante que a ciência, porque a ciência é limitada, ao passo que a imaginação abrange o mundo inteiro.”

(Albert Einstein)

RESUMO

MORAIS, Pedro Patric Pinho. Seleção fenotípica em populações segregantes de feijão visando resistência à murcha de curtobacterium (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*). 2012. 55f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Lages, 2012.

A murcha de curtobacterium (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*) tem se mostrado uma das doenças emergentes mais importantes na cultura do feijão. Seus sintomas ocorrem desde murchas nas folhas até à morte da planta infectada. O controle está baseado em uso de sementes sadias, rotação de cultura e principalmente cultivares resistentes. Assim, o objetivo deste trabalho foi estimar a eficiência da seleção em populações segregantes de feijão para resistentes à murcha de curtobacterium e indicar o melhor período do ciclo da cultura para proceder a seleção das plantas resistentes e também testar a campo a efetividade da seleção em casa de vegetação. Para atingir estes objetivos foram usados cruzamentos convergentes entre Aruã x Guará, Pyatã x Guará e Pyatã x Pérola, dando origem a populações segregantes que nas das gerações F₂, F_{2:3} e F_{3:4} foram inoculadas com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* cff 2634 e avaliadas segundo uma escala de notas referentes aos sintomas comuns da doença aos 20, 40 e 60 dias após a inoculação. O teste a campo da efetividade da seleção em casa de vegetação usou os mesmos cruzamentos, entretanto as populações avaliadas são relativas às gerações F_{2:3}, F_{3:4} e F_{4:5} sendo posteriormente mensurados os caracteres agrônômicos como altura de planta, inserção do primeiro legume, diâmetro do caule, número de legumes por planta, número de grãos por planta, peso em gramas de grãos por linha e resistência à murcha de curtobacterium. Através dos dados pôde se estabelecer que as populações segregantes de Aruã x Guará, Pyatã x Guará e Pyatã x Pérola possuem comportamento semelhante em relação à resistência aos sintomas da murcha de curtobacterium. A seleção foi efetiva para as populações oriundas de Aruã x Guará e Pyatã x Pérola e o período propício para distinguir e selecionar de maneira confiável as plantas segregantes ocorre entre 40 e 60 dias após a inoculação. Foi da mesma forma observado que existe divergência genética e superioridade de plantas selecionadas sobre plantas não selecionadas e genitores, indicando a campo que a seleção em casa de vegetação visando resistência à murcha de curtobacterium foi efetiva.

Palavras-chave: Murcha bacteriana. Eficiência de seleção. Caracteres agrônômicos.

ABSTRACT

MORAIS, Pedro Patric Pinho. Phenotypic selection in bean's segregating populations for bacterial wilt resistance (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*). 2012. 55f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Lages, 2012.

The bacterial wilt (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*) has showed one of the most important diseases in the bean crop. Its symptoms occur from wilts at leaves to death of the infected plant. The control is based on the use of healthy seeds, crop rotation and especially resistant cultivars. The goal of this study was to estimate the efficiency of selection in segregating populations of beans for bacterial wilt resistance and indicate the best time of the cycle to make the selection of resistant plants and also to test in field the effectiveness selection at greenhouse for resistance to this disease. To achieve these objectives were used converging crosses between Aruã x Guará, Pyatã x Guará and Pyatã x Pérola, originating F₂, F_{2:3}, F_{3:4} which were subsequently inoculated with *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* cff 2634 and evaluated according to a scale related to the common symptoms of the disease at 20, 40 and 60 days after inoculation. The field test of the effectiveness selection at greenhouse was used the same crosses, however, the populations used were in the generations F_{2:3}, F_{3:4} and F_{4:5}, subsequently measured the agronomic traits such as plant height, first pod, stem diameter, number of pods per plant, number of grains per plant, grain weight in grams per line and resistance to bacterial wilt. Through the data can be established that the populations of Aruã x Guará, Pyatã x Guará and Pyatã x Pérola have similar behavior in relation to resistance to the bacterial wilt symptoms. The selection was effected for the coming populations of Aruã x Guará and Pyatã x Pérola. The favorable time for distinguishing and selecting reliably segregating plants is between 40 and 60 days after inoculation. It was likewise observed that there is genetic diversity and superiority of selected plants on not select plants and their parents, indicating in the field that the greenhouse selection for resistance to bacterial wilt was effective.

Key words: Bacterial wilt. Selection efficiency. Agronomic traits.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1- Efeitos genotípicos preditos usando BLUP (β) ao nível individual dos sintomas referentes à murcha de *curtobacterium* nas populações F_2 , $F_{2:3}$ e $F_{3:4}$ dos cruzamentos Pyatã x Pérola, Pyatã x Guará e Aruã x Guará. UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.....26
- Figura 2- Dendrograma resultante da análise de sete caracteres agronômicos avaliados: *i*) altura de planta (Al); *ii*) inserção do primeiro legume (IPL); *iii*) diâmetro do caule (Dm); *iv*) número de legumes por planta (NLP); *v*) número de grãos por planta (NGP); *vi*) peso(g) de grãos por linha (P); *vii*) resistência à murcha de *curtobacterium* (RCB), avaliados em nove populações segregantes com dois níveis de seleção (plantas selecionadas e não selecionadas) e quatro genitores (Aruã, Pyatã, Guará e Pérola), utilizando a distância de Mahalanobis como medida da distância genética. UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.....40

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Efeitos genotípicos preditos usando BLUP (β) e contrastes para avaliações de sintomas referentes à murcha de *curtobacterium* aos 20, 40 e 60 dias após inoculação. UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.....27
- Tabela 2 - Probabilidades de espaços de inferências restritos entre populações F_2 , $F_{2:3}$ e $F_{3:4}$ dos cruzamentos Aruã x Guará, Pyatã x Guará e Pyatã x Pérola aos 20, 40 e 60 dias após inoculação referente aos sintomas da murcha de *curtobacterium*. UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.....28
- Tabela 3 - Estimativas de médias e erros padrões (EP) referentes aos sintomas de murcha da *curtobacterium* em populações F_2 , $F_{2:3}$ e $F_{3:4}$ dos cruzamentos Aruã x Guará, Pyatã x Guará e Pyatã x Pérola aos 20, 40 e 60 dias após inoculação. UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.....29
- Tabela 4 - Probabilidades de espaços de inferências restritos entre populações F_2 , $F_{2:3}$ e $F_{3:4}$ dos cruzamentos Aruã x Guará, Pyatã x Guará e Pyatã x Pérola aos 60 dias após inoculação referentes aos sintomas da murcha da *curtobacterium*. UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.....29
- Tabela 5 - Probabilidades de espaços de inferências restritos entre populações F_2 , $F_{2:3}$ e $F_{3:4}$ dos cruzamentos Aruã x Guará, Pyatã x Guará e Pyatã x Pérola referentes aos sintomas da murcha de *curtobacterium*. UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.....30
- Tabela 6 - Herdabilidades (h^2 %) e ganhos de seleção preditos (GS, GS%) entre as populações F_2 , $F_{2:3}$ e $F_{3:4}$ para resistência à murcha de *curtobacterium* nos cruzamentos Aruã x Guará, Pyatã x Guará e Pyatã x Pérola. UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.....31
- Tabela 7 - Resumo da análise de variância multivariada por meio de quatro testes estatísticos nos fatores de seleção (Sel) e população dentro de seleção Pop(Sel) em sete caracteres agrônômicos avaliados simultaneamente: *i*) altura de planta (Al); *ii*) inserção do primeiro legume (IPL); *iii*) diâmetro do caule (Dm); *iv*) número de legumes por planta (NLP); *v*) número de grãos por planta (NGP); *vi*) peso(g) de grãos por linha (P); *vii*) resistência à murcha de *curtobacterium* (RCB). UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.....39
- Tabela 8 - Autovalores (λ_i) e variação percentual acumulada correspondente (%) explicada pelas variáveis canônicas (VC_n) e coeficientes canônicos padronizados (CCP) para o fator seleção (Sel) e população dentro de seleção Pop(Sel) em nove populações segregantes com plantas selecionadas e não selecionadas e seus respectivos genitores

(Aruã, Pyatã, Guará e Pérola) para sete caracteres agronômicos avaliados: *i*) altura de planta (Al); *ii*) inserção do primeiro legume (IPL); *iii*) diâmetro do caule (Dm); *iv*) número de legumes por planta (NLP); *v*) número de grãos por planta (NGP); *vi*) peso(g) de grãos por linha (P); *vii*) resistência à murcha de *curtobacterium* (RCB). UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.....41

Tabela 9 - Coeficiente da taxa de discriminação paralela ($TDP = r \times CCH$) para VC_1 e VC_2 nos fatores seleção (Sel) e VC_1 , VC_2 , VC_3 e VC_4 em população dentro de seleção Pop(Sel) para sete caracteres agronômicos avaliados: *i*) altura de planta (Al); *ii*) inserção do primeiro legume (IPL); *iii*) diâmetro do caule (Dm); *iv*) número de legumes por planta (NLP); *v*) número de grãos por planta (NGP); *vi*) peso(g) de grãos por linha (P); *vii*) resistência à murcha de *curtobacterium* (RCB). UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.....42

Tabela 10 - Contraste entre populações segregantes com plantas selecionadas, coeficientes canônicos padronizados (CCP) e teste F para a comparação dos contrastes testados pela estatística de Lambda de Wilks em sete caracteres agronômicos avaliados: *i*) altura de planta (Al); *ii*) inserção do primeiro legume (IPL); *iii*) diâmetro do caule (Dm); *iv*) número de legumes por planta (NLP); *v*) número de grãos por planta (NGP); *vi*) peso(g) de grãos por linha (P); *vii*) resistência à murcha de *curtobacterium* (RCB). UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.....44

Tabela 11 - Contrastes entre plantas selecionadas dentro de populações segregantes com genitores (Aruã, Pyatã, Guará e Pérola), coeficientes canônicos padronizados (CCP) e teste F para a comparação dos contrastes testados pela estatística de Lambda de Wilks em sete caracteres agronômicos avaliados: *i*) altura de planta (Al); *ii*) inserção do primeiro legume (IPL); *iii*) diâmetro do caule (Dm); *iv*) número de legumes por planta (NLP); *v*) número de grãos por planta (NGP); *vi*) peso(g) de grãos por linha (P); *vii*) resistência à murcha de *curtobacterium* (RCB). UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.....45

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	14
1.1 Cultura do Feijão	14
1.2 Murcha de curtobacterium (<i>Curtobacteriumflaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i>).....	15
1.2.1 Transmissão	16
1.2.3 Sintomas.....	16
1.2.3 Controle	17
1.2.4 Herança da resistência à murcha causada por <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i>	18
1.3 Melhoramento genético de plantas visando resistência à doenças	18
1.3.1 Método Genealógico	20
2. CAPÍTULO I	22
2.1 SELEÇÃO PRECOCE EM POPULAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJÃO PARA RESISTÊNCIA À MURCHA DE CURTOBACTERIUM	22
2.1.1 Resumo.....	22
2.1.2 Abstract	22
2.1.3 Introdução.....	23
2.1.4 Material e Métodos.....	24
2.1.5 Resultados e Discussão	26
2.1.6 Conclusões	33
3. CAPÍTULO II.....	34
3.1 A SELEÇÃO PARA RESISTÊNCIA À MURCHA DE CURTOBACTERIUM EM CASA DE VEGETAÇÃO GERA RESULTADOS SATISFATÓRIOS A CAMPO?.....	34
3.1.1 Resumo.....	34
3.1.2 Abstract	35
3.1.3 Introdução.....	35
3.1.4 Material e Métodos.....	36
3.1.5 Resultados e Discussão	39
3.1.6 Conclusões	46
4. CONCLUSÃO GERAL	47
REFERÊNCIAS	48
ANEXOS	55

1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Cultura do Feijão

O feijão pertence ao gênero *Phaseolus*, ordem *Rosales*, subtribo *Phaseolinae*, tribo *Phaseoleae*, subfamília *Papilionoideae* e família *Leguminosae* (MELCHIOR, 1964). Debouck (1988) classifica os três centros de diversidade genética em: Mesoamericano, Norte e Sul dos Andes. Suas espécies, especialmente o feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) são amplamente distribuídas no mundo todo, além de poderem ser cultivadas nos trópicos, também se desenvolvem em zonas temperadas dos hemisférios Norte e Sul. Revisões do gênero indicam que o número de espécies pode variar de 31 a 52, sendo que somente cinco são cultivadas: *P. vulgaris* L., *P. lunatus* L., *P. coccineus* L., *P. acutifolius* A. Gray e *P. polyanthus* Greeman (DEBOUCK, 1999).

O feijão é sensível tanto às geadas quanto às altas temperaturas. Sensível também as condições de secas durante as épocas críticas do florescimento ao enchimento das vagens (ARAÚJO et al., 1996). O excesso de chuvas durante o florescimento pode causar a queda de flores e aumenta a ocorrência de enfermidades. Exige cuidados em relação à alta ou baixa umidade do solo, alta ou baixa temperatura do ar, ventos fortes, além de ser conhecido como planta muito suscetível a doenças e pragas. A própria arquitetura da planta é deficiente tendo um sistema radicular limitado, entretanto exigente em insumos químicos (ARAÚJO et al., 1996).

No Brasil, o feijão é cultivado nos mais variados tipos de solo, clima e sistema de produção, tais como o cultivo solteiro, consorciado ou intercalado com uma ou mais espécies (YOKOAMA et al., 1996). A cultura do feijão é explorada em três épocas no Brasil, o feijão das águas ou feijão de 1º safra: aquele em que o plantio se faz nos meses de outubro, novembro e dezembro acompanhando o início da estação chuvosa; o feijão da seca ou feijão de 2º safra (safrinha): efetuado nos meses de janeiro e fevereiro, sob condições normais, quando se pode contar com o índice de chuva para o desenvolvimento inicial das plantas, havendo oscilações climáticas o plantio poderá se estender até meados do mês de março. A cultura nesta época está menos sujeita às doenças e a colheita geralmente acontece com tempo seco, tendo assim um produto de alta qualidade; o cultivo de inverno ou também chamado de terceira época: cultivado nos meses de abril, maio e junho, é o que detêm

os maiores aportes de tecnologia e é conduzido sob irrigação garantindo elevadas produtividades (EMBRAPA, 1981).

Em Santa Catarina, o feijão tem sido semeado em duas épocas, chamadas de cultivo de safra e de safrinha. O cultivo de safra normalmente compreende os meses de setembro a novembro e o cultivo de safrinha, os meses de janeiro e fevereiro (BISOGNIN et al, 1997). Este mesmo autor cita que por meio do zoneamento agroclimático da cultura de feijão para Santa Catarina, no Planalto Catarinense não se recomenda o cultivo de safrinha, devido à possibilidade de ocorrência de baixas temperaturas no final do ciclo da cultura, as quais podem limitar o rendimento de grãos.

Os levantamentos de safra da Conab (2012), mostram que a produção brasileira de feijão na safra de 2011/12 foi de 3,1 milhões de toneladas com média nacional de produtividade de 855 kg.ha⁻¹ plantadas em 3,6 milhões de hectares. Santa Catarina produziu 122 mil toneladas do grão, 24% a menos que a safra 2010/11 que foi de 160 mil toneladas. A produtividade no Estado foi de 1399 kg.ha⁻¹, inferior aos 1543 kg.ha⁻¹ da safra passada. Estes valores são menores devido a menor área plantada na safra de 2011/12 em relação a 2010/11, 87 mil contra 104 mil hectares respectivamente. Devido a estas produções, Santa Catarina é o oitavo estado produtor de feijão do Brasil, considerado assim que esta é uma cultura de importância no estado.

1.2 Murcha de *Curtobacterium* (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*)

Entre os patógenos causadores de doenças bacterianas que podem causar prejuízos ao feijão, estão *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseolli*, *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* e *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (SAETTLER, 1991). A bactéria *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* pertencente ao Domínio Bactéria, Filo *Actinobacteria*, Classe *Actinobacteria*, Subclasse *Actinobacteride*, Ordem *Actinomycetales*, Subordem *Micrococcineae*, Família *Microbacteriaceae*, caracterizada como bastonetes retos, ligeiramente curvos ou em forma de cunha e curtos (0,3 a 0,6 por 1 a 3µm), móvel por um ou mais flagelos polares ou subpolares, gram-positiva, aeróbia obrigatória e não forma endósporo. Em meio de cultura extrato de levedura-glicose-ágar, as bactérias apresentam colônias ligeiramente convexas, sem viscosidade, semifluidas e de coloração amarela, laranja ou vermelha, podendo também produzir um pigmento solúvel em água de coloração azul ou púrpura (DAVIS e VIDAVER, 2001). Além disso, desenvolve-se bem em temperaturas

ótimas de 24 a 37°C, com temperaturas máximas entre 35 a 37°C e apresenta tolerância a presença de sal, com 7% a 9% de NaCl (BRADBURY, 1986).

Há indicação de existência de ampla diversidade genética entre isolados de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, conforme demonstram Souza et al. (2006) avaliando 26 isolados e Wendland et al. (2008) avaliando sete isolados. Esta bactéria é a responsável pela murcha de *curtobacterium* ao qual tem se mostrado uma das doenças emergentes mais importantes na cultura do feijão. Em nosso país a doença foi constatada no ano de 1995 no estado de São Paulo (MARINGONI e ROSA, 1997) e hoje se encontra distribuída em grande parte das principais regiões produtoras de feijão do Brasil. Em 2001 foi identificado seu aparecimento no estado de Goiás e Distrito Federal (UESUGI et al., 2003) e no estado de Santa Catarina o primeiro relato ocorreu no município de Campos Novos (LEITE JUNIOR et al., 2001). Recentemente a doença foi encontrada nos municípios de Faxinal dos Guedes, Guatambú, Ipuacu, Ponte Serrada e Tigrinhos (THEODORO et al., 2004).

1.2.1 Transmissão

A principal forma de transmissão da bactéria é por meio de sementes contaminadas, as quais podem estar infectadas ou apenas infestadas. A transmissão entre plantas ocorre via raiz e parte aérea na ordem de 10 a 20% de transmissibilidade (MIRANDA FILHO, 2010). As sementes infectadas podem apresentar coloração amarelada, laranja ou púrpura, como consequência do crescimento bacteriano, e se tornarem enrugadas, no entanto, na maioria das vezes nenhum sintoma é visível. A sobrevivência do patógeno nas sementes e no solo pode ocorrer por dois anos ou por períodos mais longos (TEGLI et al., 2002). Outros relatos apontam que a bactéria *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* sobrevive por 25 anos em sementes infectadas e estocadas em temperatura ambiente (BURKHOLDER, 1945).

1.2.3 Sintomas

Os sintomas da doença nas lavouras geralmente aparecem em reboleiras, embora plantas isoladas e com sintomas possam ser encontradas. A bactéria ataca todas as partes da planta acima do solo, podendo levá-la a morte na fase inicial ou reduzir o crescimento, resultando em queda na produtividade da planta. Em condições ambientais favoráveis à

doença, as plantas adultas infectadas apresentam folhas murchas, porém em condições menos favoráveis, a diagnose é dificultada, pois a murcha ocorre lentamente até a fase de maturação dos grãos. A murcha é a principal característica da doença, sendo o resultado da degeneração dos vasos do xilema pelas bactérias, que promove falha no transporte de seiva, deixando o caule internamente escurecido, seguida de amarelecimento e flacidez da área foliar, com posterior seca do tecido (HEDGES, 1926). Os sintomas de escurecimento vascular, conjuntamente com os sintomas de murcha, se assemelham aos sintomas da murcha de fusarium, causado pelo fungo *Fusarium oxisporum* f. sp. *phaseoli*, motivo este que promove uma confusão na detecção da doença a campo. A semelhança entre os sintomas destas duas doenças provavelmente é um motivo que atrasou a constatação da doença no território brasileiro (UESUGI et al., 2003).

1.2.3 Controle

A murcha de *Curtobacterium*, na ocasião da sua descoberta, em 1920, causava morte em cerca de 90% das plantas infectadas pelo patógeno (HEDGES, 1922), podendo estes valores mudar conforme a virulência do patógeno. Nos anos subsequentes foi considerada como uma das principais doenças da cultura do feijão, ocasionando em alguns anos, perda total de produção (HEDGES, 1926). O controle desta fitobactéria está fundamentado no uso de cultivares resistentes, rotação de culturas e uso de sementes sadias (MARINGONI e CAMARA, 2006; ALENCAR et al., 2008; HERBES et al., 2008) uma vez que o controle químico não é uma opção presente, pois não há produtos registrados para o controle da bactéria. Após o surgimento na lavoura, o controle de bactérias em plantas infectadas é possível exclusivamente com a erradicação da cultura (ROMEIRO, 2005). Entretanto, algumas precauções podem ser tomadas para minimizar a intensidade da manifestação da doença como o manejo adequado da cultura, que inclui o estado nutricional das plantas, sendo este um fator que pode ser manipulado visando melhores resultados. Todos os nutrientes minerais essenciais são importantes em relação à incidência ou severidade das doenças de plantas, para tanto é necessária adubação adequada de acordo com a análise de solo (MARINGONI, 2003; THEODORO e MARINGONI, 2006).

As sementes de feijão inoculadas com *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* e tratadas com agentes de controle biológico (*Rhizobium leguminosarum*) resultaram na redução da incidência e severidade da murcha de *Curtobacterium* e aumento na emergência das plântulas,

assim como em sua altura (HUANG et al., 2007). A utilização do tratamento térmico na erradicação de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* pode ser uma alternativa para o controle da bactéria em sementes de feijão. Sementes embebidas por 2h em água e tratadas por 3h a uma temperatura de 60°C reduziram significativamente o número de células bacterianas em sementes de feijão (ESTEFANI et al., 2007).

1.2.4 Herança da resistência à murcha causada por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*

Valentini et al. (2011), estudaram a herança para resistência a murcha de *curtobacterium*, para isto foram utilizados genótipos IAC Carioca Aruã (Aruã), IAC Carioca Pyatã (Pyatã) e IAC Carioca Tybatã que são genitores portadores de alelos que condicionam resistência à murcha de *Curtobacterium* (MARINGONI, 2002). Pérola e SCS 202 Guará (Guará) são genótipos suscetíveis à doença (THEODORO e MARINGONI, 2006). Dois cruzamentos entre genótipos resistentes e suscetíveis, Aruã x Guará e Pyatã x Pérola, foram realizados, dando origem às gerações fixas P₁, P₂ e F₁ e às gerações segregantes F₂, RC₁ e RC₂.

O estudo observou que o genitor Pyatã apresenta a melhor capacidade geral de combinação e é adequado o seu uso em blocos de cruzamentos, para o desenvolvimento de cultivares de feijão resistentes à murcha de *curtobacterium*. E que os efeitos aditivos têm maior participação na variância genética total, quanto ao controle genético de resistência à murcha de *curtobacterium*. A herança da resistência à murcha de *curtobacterium* nestes cruzamentos é governada por mais de três genes e a herdabilidade no sentido restrito quanto à resistência à doença é de 29% para o cruzamento Aruã x Guará e de 44% para o cruzamento Pyatã x Pérola.

1.3 Melhoramento genético de plantas visando resistência as doenças

O melhoramento de plantas é a arte e a ciência de melhorar geneticamente plantas para o benefício da humanidade (POEHLMAN, 1965). Segundo este mesmo autor, a arte do melhoramento depende da habilidade do melhorista de observar diferenças nas plantas que podem ter importância econômica. Esta habilidade de observação e percepção foi muito importante para os primeiros melhoristas conseguirem selecionar genótipos que são em muitos casos utilizadas até hoje. Já o conhecimento da genética das plantas permite ao

melhorista uma base segura e objetiva para definir os melhores cruzamentos, quais os métodos de seleção a serem utilizados e quais as progênies que deverão prosseguir no programa (BERNARDO, 1991).

Bueno et al. (2006) relatam que de forma geral os objetivos do melhoramento são: *i*) Aumento de produtividade, sendo este o principal objetivo na maioria dos programas de melhoramento. Geralmente, uma nova cultivar só é lançada no mercado quando tem maior produtividade do que as cultivares que já estão sendo plantadas pelo agricultor; *ii*) A incorporação de novas áreas bem como a adaptação das plantas para novos ambientes de produção é um importante objetivo para muitas culturas. Um bom exemplo de sucesso é o caso da soja. A criação de cultivares de soja com período juvenil foi essencial para a expansão desta cultura para locais de menores latitudes como o Cerrado; *iii*) O aumento da qualidade também é um parâmetro que está sendo procurado, no caso do feijão, os programas de melhoramento tem procurado genótipos com maiores teores de proteínas; *iv*) O aperfeiçoamento de caracteres agrônômicos voltados para o uso de consorciamento entre culturas como o caso do milho e do feijão; *v*) Resistência a doenças. As doenças provocam muitos prejuízos para os agricultores e a obtenção de cultivares resistentes ou tolerantes são uma das exigências nos programas de melhoramento.

A cultura do feijão no Brasil é submetida a vários estresses bióticos devido a patógenos, ao qual causam redução expressiva na produtividade e afetam a qualidade do produto. Entre as alternativas de controle, o uso de cultivares mais resistentes tem sido procurada (RAMALHO, 2007). Segundo Borém (2009), o uso de cultivares resistente é o método de controle preferido, simplesmente por ser o mais barato e de mais fácil utilização.

Em razão do fator tempo ou do demasiado período para desenvolver uma cultivar, o melhorista deve tentar prever necessidades futuras em termos de resistência genética a patógenos e iniciar a seleção e melhoramento de plantas resistentes antes de uma possível epidemia ou alastramento do patógeno e da doença. Fato este ocorrido no melhoramento de cafeeiro. Em 1970 quando a ferrugem (*Hemileia vastatrix*) se tornou um problema fitopatológico para o cafeeiro, existiam previamente (desde 1953), estudos e melhoramento feitos pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) com genótipos provenientes da África e da Índia, desenvolvidos especificamente para resistência ao fungo da ferrugem, assim a cultura do café não foi afetada abruptamente com o prejuízo derivado da doença.

Gonçalves-Vidigal e Poletine (1999) esclarecem que na condução de um programa de melhoramento visando resistência à determinada doença, algumas etapas devem ser seguidas. A primeira é verificar a variabilidade do patógeno na região. Dessa forma, são identificadas as

raças e ou isolados mais frequentes, aos quais serão alvos 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, o foco muda para a realização dos cruzamentos dirigidos. Consequente a obtenção de F_1 , procura-se conduzir e selecionar as plantas segregantes.

Segundo Allard (1971), os métodos de melhoramento convencionais conhecidos como retrocruzamento e o método genealógico, são os mais indicados para a transferência de fatores de resistência. Em quaisquer destes métodos, um parental é escolhido por suas boas qualidades agronômicas e o outro é selecionado baseando-se num nível elevado de resistência, que esteja governado por um número mínimo de genes.

1.3.1 Método Genealógico

O método genealógico (*pedigree*) é um dos mais usados no melhoramento vegetal de autógamias. Pode ser entendido como um método de condução de populações segregantes obtidos através do cruzamento entre linhagens ou cultivares (PINTO, 1995). Este método foi inicialmente proposto por Hjalman Nilsson. Louis de Vilmorin, citado por Allard (1971), usava seleção individual de plantas com teste de progênie, metodologia que deu origem ao método genealógico convencional, que tem sido utilizado tanto no melhoramento de espécies autógamias quanto alógamas (BORÉM, 2009). O princípio do método genealógico é a seleção individual de plantas nas populações segregantes, bem como a avaliação de cada progênie separadamente por meio do teste de progênie.

As plantas fenotipicamente superiores são selecionadas e colhidas separadamente. Cada planta F_2 selecionada é conduzida em uma fileira na geração $F_{2:3}$. As linhas $F_{2:3}$ são avaliadas durante o ciclo da espécie e aquelas consideradas superiores são selecionadas individualmente. Cada planta F_3 selecionada é conduzida em uma fileira na geração $F_{3:4}$, de modo semelhante ao procedimento na geração anterior, as linhas $F_{3:4}$ consideradas superiores são novamente submetidas à seleção individual de plantas. Esse procedimento de seleção das melhores linhas e também das melhores plantas é repetido nas gerações seguintes até que o nível de homozigose desejado esteja alcançado. Durante as primeiras gerações de autofecundação, deve ser selecionadas as plantas com base nos caracteres mono ou

oligogênicos. Com o avanço das gerações, a ênfase pode ser dada às características um pouco mais complexas ou quantitativas.

Uma das principais características deste método é o registro da genealogia de cada linha, que permite estabelecer o grau de parentesco entre as linhas selecionadas. O registro inicia-se com a numeração de cada planta F_2 selecionada. O princípio deste método é que a seleção com teste de progênie e o conhecimento da genealogia dos tipos selecionados permitem a maximização da eficiência da seleção. Assim quando as linhagens atingirem elevado grau de homozigose, aquelas que apresentam ancestral comum a uma ou duas gerações anteriores devem ser consideradas geneticamente semelhantes e apenas uma delas deve ser preservada para avaliações futuras (BORÉM, 2009). Segundo o mesmo autor, além do controle parental este método tem com a vantagem o descarte de plantas inferiores em gerações iniciais, permite a utilização dos dados para estudos genéticos e possibilita também o treinamento de melhoristas. Entretanto as desvantagens estão na condução de uma única geração ao ano, na elevada necessidade de mão de obra em campo experimental ao qual requer pessoal qualificado para selecionar os ideótipos desejáveis no programa de melhoramento. Devido a estas desvantagens, foram desenvolvidas inúmeras alterações no método para contornar estas limitações como o método Bulk dentro de Progênies, Seleção Gamética, Método Genealógico modificado por Lupton e Whitehouse e o Método Genealógico Modificado por Valentine (1984).

O Método Genealógico Modificado por Valentine propõe o uso de casas de vegetações para acelerar o processo de avanço de gerações. Esta pesquisadora recomenda que os cruzamentos entre genitores sejam realizados em casa de vegetação, sendo que as gerações F_1 e F_2 são conduzidas neste mesmo ambiente. Posteriormente a obtenção da geração F_3 , estas são conduzidas a campo e avaliadas em relação às características quantitativas. Verifica-se por meio destas alterações no método Genealógico que o melhoristas deve estar sempre disposto a avaliar a possibilidade de modificar as metodologias utilizadas, visando torná-las mais adequadas para diferentes situações (BORÉM, 2009).

Levando em consideração as necessidades de adaptação na condução e seleção de plantas segregantes. Foi conduzido e selecionado populações segregantes visando à resistência à murcha de *curtobacterium* em casa de vegetação baseado nas alterações de Valentine para o método Genealógico, no entanto, estabeleceram-se modificações. Foram feitos todos os passos conforme as alterações proposta por Valentine, entretanto, o diferencial fica a cargo das seleções individuais de plantas para resistência à doença que foram efetuados até $F_{3:4}$.

2 CAPÍTULO I

2.1 SELEÇÃO PRECOCE EM POPULAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJÃO PARA RESISTÊNCIA À MURCHA DE CURTOBACTERIUM

2.1.1 Resumo

A murcha de *curtobacterium* é uma doença emergente na cultura do feijão, sendo seu principal controle o uso de cultivares resistentes. Assim o objetivo deste trabalho foi estimar a eficiência da seleção para resistência à murcha de *curtobacterium* em populações segregantes de feijão e indicar o melhor período do ciclo da cultura para proceder a seleção das plantas resistentes. Para isto, foram usados cruzamentos convergentes entre Aruã x Guará, Pyatã x Guará e Pyatã x Pérola, dando origem as populações F_2 , $F_{2:3}$ e $F_{3:4}$ que posteriormente foram inoculadas com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* cff 2634 e avaliadas segundo uma escala de notas referentes aos sintomas comuns da doença aos 20, 40 e 60 dias após a inoculação. Verificou-se que as populações segregantes de Aruã x Guará, Pyatã x Guará e Pyatã x Pérola possuem comportamento semelhante dentro de cada geração em relação à resistência aos sintomas da murcha de *curtobacterium*. Os maiores progressos de seleção em relação ao aumento de resistência à doença foram para as populações oriundas de Aruã x Guará e Pyatã x Pérola e o período propício para distinguir e selecionar de maneira confiável as plantas segregantes ocorre entre 40 e 60 dias após a inoculação.

Palavras-chave: Resistência genética. Murcha bacteriana. Período de seleção.

2.1.2 Abstract

The bacterial wilt is an emerging disease in bean's crop, and its main controlling with the use of resistant cultivars. Thus the objective of this study was to estimate the efficiency of selection for resistance to bacterial wilt in segregating populations of beans and indicate the best time of the cycle to make the selection of resistant plants. To this end, we used crosses between converging Aruã x Guará, Pyatã x Guará and Pyatã x Pérola, giving the F_2 , $F_{2:3}$ and $F_{3:4}$ which were subsequently inoculated with *Curtobacterium flaccumfaciens* pv.

flaccumfaciens cff 2634 and evaluated according a scale related to the common symptoms of the disease at 20, 40 and 60 days after inoculation. It was found that the segregating population of Aruã x Guará, Pyatã x Guará and Pyatã x Pérola have similar behavior within generations in relation to resistance of the bacterial wilt symptoms. The further progresses of selection in relation to increased resistance to the disease were for populations from Aruã x Guará and Pyatã x Pérola. The favorable time for distinguishing and selecting reliably segregating plants occurs between 40 and 60 days after inoculation.

Key words: Genetic resistance. Bacterial wilt. Selection period.

2.1.3 Introdução

A cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é afetada por vários tipos de patógenos que causam doenças e acarretam perdas significativas na produção. Entre estes, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (MARINGONI e ROSA, 1997), responsável pela murcha de curtobacterium e que tem se mostrado uma das doenças bacterianas emergentes de grande importância na cultura do feijão (VALENTINI et al., 2010). A murcha é o principal sintoma da doença, resultado da degeneração dos vasos do xilema pelas bactérias, que promovem falhas no transporte de seiva, deixando o caule internamente escurecido, seguido de amarelecimento e flacidez da área foliar com posterior seca do tecido (HEDGES, 1926).

No Brasil a doença foi relatada em 1995 no estado de São Paulo (MARINGONI e ROSA, 1997) e atualmente está distribuída em grande parte das principais regiões produtoras de feijão do Brasil. No estado de Santa Catarina há relatos de ocorrência nos municípios de Campos Novos (LEITE JUNIOR et al., 2001), Faxinal dos Guedes, Guatambú, Ipuacu, Ponte Serrada e Tigrinhos (THEODORO et al., 2004). A presença da murcha de curtobacterium nos vários municípios catarinenses indica adaptabilidade do patógeno ao hospedeiro em diferentes ambientes, demonstrando a necessidade da adoção de medidas para seu controle. Isto é um agravante, pois não existem cultivares recomendadas para Santa Catarina que sejam resistentes a *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (THEODORO e MARINGONI, 2006).

O controle preventivo desta bactéria esta fundamentado no uso de cultivares resistentes, rotação de cultura e uso de sementes sadias (MARINGONI e CAMARA, 2006; ALENCAR et al., 2008; HERBES et al., 2008). Entretanto, o uso cultivares resistentes constitui um dos mais importantes meios de controle de doenças de plantas cultivadas, sendo

uma das medidas mais econômica e a que menos afeta o custo de produção (KIMATI et al., 2005). Sempre que existir fontes satisfatórias de resistência e que possibilitem o processo de melhoramento, o emprego deste controle deve ser utilizado.

O objetivo deste trabalho foi estimar a eficiência da seleção para resistência à murcha de *Curtobacterium* em populações segregantes de feijão e indicar o melhor período do ciclo da cultura para proceder a seleção das plantas resistentes.

2.1.4 Material e Métodos

As populações segregantes foram obtidas por meio de cruzamentos convergentes das cultivares IAC Carioca Pyatã (Pyatã) e IAC Carioca Aruã (Aruã) considerados resistentes à doença (MARINGONI, 2002), já Pérola SCS 202 Guará (Guará) possuem reação de suscetibilidade (THEODORO e MARINGONI, 2006). Com esta constituição genética foram planejados cruzamentos com IAC Carioca Aruã x SCS Guará, IAC Carioca Pyatã x SCS Guará e IAC Carioca Pyatã x Pérola. Os cruzamentos foram realizados na safra 2009/10, seguidos da condução de plantas F_1 até primeira geração segregante (F_2). A partir de F_2 (2010/2) foi feita a seleção individual de plantas, originando 80 plantas em $F_{2:3}$. A seleção das plantas dentro e entre linhas em $F_{2:3}$ originou 54 plantas em $F_{3:4}$ (2011/2).

As nove populações segregantes formadas pelas gerações F_2 , $F_{2:3}$ e $F_{3:4}$ dos três cruzamentos juntamente com as populações fixas dos genitores, foram submetidas a inoculação com *Curtobacterium*. Este procedimento foi realizado aos nove dias após a emergência das plantas conforme a metodologia de Maringoni (2002), utilizando o isolado de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* cff 2634, proveniente da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP). A bactéria foi cultivada em meio de cultura nutriente-sacarose-ágar (NSA) por 48 horas, a uma temperatura de 28°C em câmara de crescimento bacteriano. Após o crescimento das bactérias foi procedida a diluição das mesmas em solução salina a 0,85% de NaCl até atingir uma concentração de 10^8 u.f.c.mL⁻¹, medidas em espectrofotômetro com densidade óptica de 600nm. A inoculação foi realizada por meio de duas punções no caule (entre as folhas cotiledonares e primárias), utilizando uma haste reta previamente umedecida na solução bacteriana.

Para as inferências de resistência das populações à murcha de *Curtobacterium* foram procedidas as avaliações referentes aos sintomas da doença aos 20, 40 e 60 dias após a inoculação da bactéria nas plantas, ou seja, em períodos que englobaram desde o crescimento vegetativo (V3) até o enchimento de vagens (R8). Para estas avaliações foi empregada a

escala de notas adaptada de Maringoni (2002), onde: 0: sem sintomas de doença (Anexo A); 1: sintoma de mosaico nas folhas; 2: poucas folhas murchas (1 a 3 folhas, menos de 10% das folhas das plantas); 3: poucas folhas murchas, 15% das folhas das plantas; 4: poucas folhas murchas, 20% das folhas das plantas; 5: aproximadamente 25% de folhas apresentando murcha e amarelecimento; 6: aproximadamente 40% de folhas apresentando murcha e amarelecimento; 7: aproximadamente 50% de folhas murchas, amarelecimento e necrose de folíolos e/ou plantas com nanismo; 8: aproximadamente 60% de folhas murchas, amarelecimento e necrose de folíolos e/ou plantas com nanismo; 9: aproximadamente 75% ou mais de folhas com murcha e/ou necrose, queda prematura de folhas, nanismo severo e/ou morte da planta (Anexo B). A separação de plantas resistentes e suscetíveis teve como padrão as notas de 0 - 2 (resistentes) e 2,1 - 9 (suscetíveis), adaptadas a partir de Coyne (1965). Entretanto a seleção de plantas também levou em consideração a necessidade de uma menor pressão de seleção em função do número de plantas usadas e da manutenção da variabilidade genética, deste modo, foi selecionado plantas para compor as gerações seguintes em função das notas que variam entre 0 – 4.

As populações foram conduzidas e avaliadas em casa de vegetação utilizando para isto um delineamento inteiramente casualizado com números diferentes de plantas por geração, sendo cada planta uma repetição. Estas foram semeadas e conduzidas em recipientes plásticos com volume de 1,5 kg de substrato.

As análises estatísticas utilizadas seguiram a metodologia de Littell (2006) e Coimbra (2004) utilizando o seguinte modelo misto:

$$Y_{ikl} = \mu + a_k + b_l + e_{ikl}$$

Onde, μ : média geral; a_k : valores dos efeitos fixos i ; b_l : valores dos efeitos aleatórios; e_{kl} : erro do modelo. Este modelo possui vantagem, pois possibilita fazer predição de efeitos aleatórios na presença de efeito fixo por meio do melhor preditor linear não-viesado (*Best Linear Unbiased Prediction* - BLUP).

Um fator limitante encontrado nas análises ao longo do tempo é derivado das avaliações dos sintomas da doença ao longo do tempo, que não são passíveis de casualização além de estarem muito próximas umas das outras (intervalo de 20 dias), de maneira que os erros tendem a estar correlacionados. Isto implica na violação da pressuposição da independência dos erros. A correlação dos erros geralmente esta associada à posição relativa das unidades experimentais no espaço ou no tempo. Em muitas situações é esperado que as unidades próximas no tempo fossem mais semelhantes do que unidades distantes. Nestes casos para sanar esta dificuldade, deve ser escolhida a estrutura da matriz G (matriz de

variância e covariância) que melhor se ajuste ao modelo, assim os resultados das estimativas de BLUPs se aproximarão dos resultados do BLUE (*Best Linear Unbiased Estimator*), para isto três matrizes de variância e covariância (AR1, TOEP1 e CS) foram avaliadas conforme o critério de informação Akaike (AIC) ao qual indica o melhor ajuste de matriz G.

A análise de variância, contrastes ($H_0: \mu_1 = \mu_2$, $H_A: \mu_1 \neq \mu_2$) e espaços de inferências restritos foram submetidos ao teste F a 5% de significância. As estimativas de herdabilidades e ganhos de seleção foram estimados segundo Ramalho (2008).

2.1.5 Resultados e Discussão

A análise de variância para os cruzamentos (efeito fixo) mostrou que não há diferença significativa ($Pr > F = 0,94$) entre os níveis deste fator. Isto indica que as populações segregantes nos três cruzamentos têm um comportamento semelhante para resistência à doença.

Considerando os efeitos aleatórios (Avaliação e População) e suas estimativas de valores genotípicos (BLUP's) para as populações e suas interações com os cruzamentos bem como entre as avaliações ao longo do tempo. Pôde ser determinado que as populações segregantes nos três cruzamentos possuem comportamentos semelhantes (Figura 1).

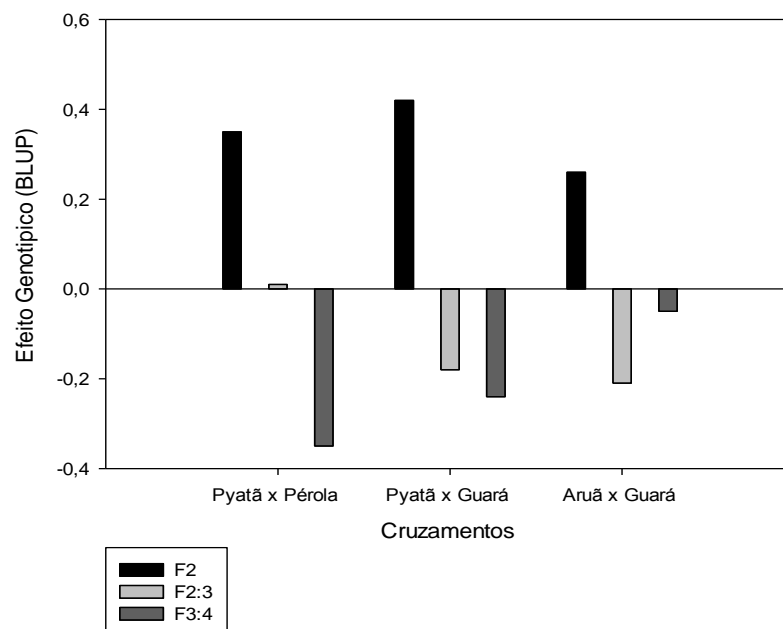


Figura 1: Efeitos genotípicos preditos usando BLUP (β) ao nível individual dos sintomas referentes á murcha de *curtobacterium* nas populações F₂, F_{2:3} e F_{3:4} dos cruzamentos Pyatã x Pérola, Pyatã x Guarã e Aruã x Guarã. UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.

O comportamento semelhantes destas populações é verificado em F_2 onde as estimativas BLUPs sempre são superiores a média geral ($\mu = 3,60$), já ao longo das populações $F_{2:3}$ e $F_{3:4}$ as estimativas são negativas, inferiores a média geral, representando a menores valores das notas dos sintomas atribuídos à murcha de *curtobacterium*.

Após a determinação da matriz G adequada ao modelo, AR1, foram procedidas às estimativas das avaliações ao longo do tempo (20, 40 e 60 dias após inoculação); estas estimativas indicaram que aos 20 dias os sintomas são menores em relação a média geral (-0,53) aumentando gradativamente ao longo dos dias e das avaliações, chegando a notas de 0,48 acima da média geral após 60 dias de inoculação com *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Tabela 1). Nesta mesma Tabela, os contrastes feitos para as avaliações mostraram que existem diferenças significativas entre as três épocas. Avaliando estes dois resultados, foi evidenciado que os sintomas ocasionados pela doença nas plantas são progressivos e diferentes ao longo do tempo.

Tabela 1: Efeitos genotípicos preditos usando BLUP (β) e contrastes para avaliações de sintomas referentes à murcha de *curtobacterium* aos 20, 40 e 60 dias após inoculação. UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.

Avaliações (dias após inoculação)	β	Contrastes	Pr > F
20	-0,53	Av.20 vs Av.40	0,0275
40	0,04	Av.20 vs Av.60	0,0183
60	0,48	Av.40 vs Av.60	0,0321

$H_0: \mu_1 = \mu_2, H_A: \mu_1 \neq \mu_2$

As avaliações ao longo do tempo para os três níveis de avaliação testados (Tabela 2), mostram por meio dos espaços de inferências que o comportamento ou diferenças entre as avaliações são semelhantes nos três cruzamentos, tanto nas populações F_2 como em $F_{2:3}$ e $F_{3:4}$. Em F_2 não ocorrem diferenças significativas entre a primeira avaliação (Av.20) e a segunda (Av.40) e entre a segunda e a terceira avaliação (Av.60). Nas populações $F_{2:3}$ e $F_{3:4}$ existem diferenças em todos os espaços de inferência testados (Av.20 vs Av.40 e Av.40 vs Av.60). Extrapolando estes resultados pode se determinar que as diferenças gerais encontradas entre os contrastes (Tabela 1) nas três épocas testadas são explicadas justamente pela diferença ocorrida entre $F_{2:3}$ e $F_{3:4}$.

As inferências entre estas três épocas de avaliações da doença esboçam e direcionam o melhor período de seleção de plantas que é alcançado entre 40 a 60 dias após a inoculação, pois é neste período que ocorrem as maiores notas para os sintomas das plantas, facilitando a seleção e distinguibilidade entre plantas suscetíveis e resistentes. Este período não pode ser anterior aos 40 dias devido à instabilidade dos sintomas que ainda progridem para escalas de notas mais altas, isto pode levar ao erro de selecionar uma planta aparentemente resistente (sem sintomas) aos 20 dias, no entanto, aos 40 ou 60 dias após a inoculação esta mesma planta é classificada como suscetível. O período propício para seleção também não pode ser demasiadamente superior aos 60 dias, pois poderão ocorrer erros de avaliação entre os sintomas da doença com o amarelecimento e a senescência foliar natural.

Tabela 2: Probabilidades de espaços de inferências restritos entre populações F_2 , $F_{2:3}$ e $F_{3:4}$ dos cruzamentos Aruã x Guará, Pyatã x Guará e Pyatã x Pérola aos 20, 40 e 60 dias após inoculação referente aos sintomas da murcha de *curtobacterium*. UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.

Avaliações	Cruzamentos/Populações		
	F_2	$F_{2:3}$	$F_{3:4}$
Aruã x Guará			
Av.20 vs Av.40	0,1552	0,0063	0,0174
Av.40 vs Av.60	0,4181	0,0153	0,0460
Pyatã x Guará			
Av.20 vs Av.40	0,4528	0,0077	0,0057
Av.40 vs Av.60	0,9640	0,0188	0,0134
Pyatã x Pérola			
Av.20 vs Av.40	0,2930	0,0240	0,0029
Av.40 vs Av.60	0,7059	0,0657	0,0063

$H_0: \mu_1 = \mu_2, H_A: \mu_1 \neq \mu_2$

As estimativas das médias e os erros padrões das populações nas três avaliações ao longo do tempo são apresentados na Tabela 3. As estimativas corroboram os efeitos genotípicos mostrados, logo, quanto maior o período entre a inoculação e a avaliação dos sintomas, maior são as estimativas das médias, ou seja, mais pronunciados são os sintomas na planta. Nestas estimativas também é mostrado que os valores são decrescente conforme avançam as gerações, a consequência deste fato é que populações na geração $F_{3:4}$ possuem

maior nível médio de resistência à doença ou menores notas atribuídas aos sintomas apresentados pela planta.

Tabela 3: Estimativas de médias e erros padrões (EP) referentes aos sintomas de murcha da *curtobacterium* em populações F₂, F_{2:3} e F_{3:4} dos cruzamentos Aruã x Guará, Pyatã x Guará e Pyatã x Pérola aos 20, 40 e 60 dias após inoculação. UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.

Populações	Cruzamentos/Avaliações					
	20	EP	40	EP	60	EP
-	Aruã x Guará					
F ₂	2,68	0,74	5,16	0,74	7,58	0,74
F _{2:3}	0,20	0,74	2,59	0,74	5,11	0,74
F _{3:4}	0,49	0,74	2,98	0,74	5,40	0,74
-	Pyatã x Guará					
F ₂	3,05	0,74	5,54	0,74	7,96	0,74
F _{2:3}	0,29	0,74	2,77	0,74	5,19	0,74
F _{3:4}	0,04	0,74	2,52	0,74	4,94	0,74
-	Pyatã x Pérola					
F ₂	2,83	0,74	5,31	0,74	7,73	0,74
F _{2:3}	1,00	0,74	3,48	0,74	5,90	0,74
F _{3:4}	0,44	0,74	2,04	0,74	4,46	0,74

As estimativas das médias foram usadas nos espaços de inferências ao qual mostraram que não há diferenças significativas nas principais comparações que são entre F₂ vs F_{2:3} e F_{2:3} vs F_{3:4}, quando avaliados aos 20 e 40 dias após a inoculação nos três cruzamentos. As únicas diferenças encontradas são na terceira avaliação (60 dias) em todos os cruzamentos e na maioria das populações (Tabela 4).

Isto é um demonstrativo que as reações sintomáticas das plantas em relação à doença não diferem mesmo mudando as populações até os primeiros 40 dias da infecção. No entanto estes resultados são obtidos em condições com pouca interferência ambiental, logo é necessário fazer estas mesmas inferências a campo, com maior pressão do ambiente (estresses bióticos e abióticos) sobre as plantas. Pela observação das diferenças encontradas na terceira avaliação é possível correlacionar que estas foram as responsáveis por diferenciarem as populações em modo geral dentro de cada cruzamento (Tabela 5), assim as populações em F₂

difere de $F_{2:3}$ e $F_{3:4}$ em todos os cruzamentos e $F_{2:3}$ difere de $F_{3:4}$ apenas no cruzamento de Pyatã x Pérola.

Tabela 4: Probabilidades de espaços de inferências restritos entre populações F_2 , $F_{2:3}$ e $F_{3:4}$ dos cruzamentos Aruã x Guarã, Pyatã x Guarã e Pyatã x Pérola aos 60 dias após inoculação referentes aos sintomas da murcha da curtobacterium. UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.

Populações	Cruzamentos	Avaliação	Pr>F
F_2 vs $F_{2:3}$	Aruã x Guarã	60	0,0175
F_2 vs $F_{3:4}$	Aruã x Guarã	60	0,0357
$F_{2:3}$ vs $F_{3:4}$	Aruã x Guarã	60	0,3271
F_2 vs $F_{2:3}$	Pyatã x Guarã	60	0,0104
F_2 vs $F_{3:4}$	Pyatã x Guarã	60	0,0085
$F_{2:3}$ vs $F_{3:4}$	Pyatã x Guarã	60	0,1228
F_2 vs $F_{2:3}$	Pyatã x Pérola	60	0,0297
F_2 vs $F_{3:4}$	Pyatã x Pérola	60	0,0068
$F_{2:3}$ vs $F_{3:4}$	Pyatã x Pérola	60	0,0298

$H_0: \mu_1 = \mu_2, H_A: \mu_1 \neq \mu_2$

Tabela 5: Probabilidades de espaços de inferências restritos entre populações F_2 , $F_{2:3}$ e $F_{3:4}$ dos cruzamentos Aruã x Guarã, Pyatã x Guarã e Pyatã x Pérola referentes aos sintomas da murcha de curtobacterium. UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.

Populações	Cruzamentos	Pr > F
F_2 vs $F_{2:3}$	Aruã x Guarã	0,0001
F_2 vs $F_{3:4}$	Aruã x Guarã	0,0001
$F_{2:3}$ vs $F_{3:4}$	Aruã x Guarã	0,0100
F_2 vs $F_{2:3}$	Pyatã x Guarã	0,0001
F_2 vs $F_{3:4}$	Pyatã x Guarã	0,0001
$F_{2:3}$ vs $F_{3:4}$	Pyatã x Guarã	0,3736
F_2 vs $F_{2:3}$	Pyatã x Pérola	0,0001
F_2 vs $F_{3:4}$	Pyatã x Pérola	0,0001
$F_{2:3}$ vs $F_{3:4}$	Pyatã x Pérola	0,0001

$H_0: \mu_1 = \mu_2, H_A: \mu_1 \neq \mu_2$

Com base nas diferentes análises, contrastes e espaços de inferências entre fatores fixos e aleatórios, são identificados três peculiaridades ou razões pela qual os cruzamentos e conseqüentemente suas populações são semelhantes em relação à resistência à murcha de *curtobacterium*: *i*) estimativas e espaços de inferências para as populações segregantes são semelhantes; *ii*) mesmo comportamento das populações nas avaliações ao longo do tempo; *iii*) formação dos cruzamentos, onde o segundo e terceiro cruzamento possuem em comum o genitor Pyatã, que é muito próximo em relação à resistência do genitor do mesmo programa de melhoramento Aruã, que compõe o primeiro cruzamento.

A herdabilidade é uma estimativa que varia conforme a característica estudada, método de estimação, diversidade da população, nível de endogamia da população, tamanho da amostra, número e tipo de ambiente considerado, unidade experimental e na precisão do experimento e na coleta de dados (BORÉM, 2009). Levando em consideração isto, as estimativas de herdabilidade nas populações variaram conforme a geração e o cruzamento de origem, assim as menores estimativas estão nas populações F₂ e nas populações oriundas em Pyatã x Guará.

Tabela 6: Herdabilidades (h^2 %) e ganhos de seleção preditos (GS, GS%) entre as populações F₂, F_{2:3} e F_{3:4} para resistência à murcha de *curtobacterium* nos cruzamentos Aruã x Guará, Pyatã x Guará e Pyatã x Pérola. UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.

Cruzamentos	F ₂		
	h^2 (%)	GS	GS (%)
Pyatã x Pérola	40,47	-0,82	-15,87
Pyatã x Guará	07,94	-0,21	-03,77
Aruã x Guará	38,64	-0,78	-15,28
-	F _{2:3}		
Pyatã x Pérola	64,44	-1,12	-34,22
Pyatã x Guará	12,88	-0,18	-06,27
Aruã x Guará	37,55	-0,43	-16,25
-	F _{3:4}		
Pyatã x Pérola	67,55	-0,61	-22,10
Pyatã x Guará	28,55	-0,25	-09,60
Aruã x Guará	51,32	-0,40	-13,56

Os maiores coeficientes de herdabilidade estão dentro das populações nas gerações $F_{3:4}$ e naquelas oriundas do cruzamento Pyatã x Pérola (Tabela 6). As herdabilidades inferiores são resultados de uma maior variância ambiental do genitor Guará ao qual tende a aumentar a variância ambiental e conseqüentemente diminuir a variância genética nas populações advindas de Pyatã x Guará. Sendo o objetivo principal a diminuição dos sintomas ou então o aumento da resistência das populações ao longo dos ciclos de seleção. Os ganhos de seleção devem ser negativos. Dessa forma os ganhos de seleção preditos demonstram que há maiores retrocessos da doença nas populações em Pyatã x Pérola em comparação com populações oriundas de Pyatã x Guará e Aruã x Guará. Os menores retrocessos das populações em Pyatã x Guará são devidos aos baixos coeficientes de herdabilidade e diferenciais de seleção.

Existe neste caso a possibilidade do aumento da eficiência da seleção, pois quando se seleciona uma menor proporção de indivíduos (planta com notas de 1 a 2 para os sintomas) o valor do diferencial de seleção é aumentado e conseqüentemente o ganho de seleção. Entretanto, um índice de seleção rigoroso é conveniente apenas no ponto de vista fitopatológico (CÂNDIDA et al., 2009), pois os indivíduos selecionados por apresentarem menores notas em relação aos sintomas terão um número reduzido de murchas, amarelecimentos e nanismo causado pela bactéria, resultando na diminuição da fonte de inóculo e na disseminação da doença. Por outro lado, uma seleção rigorosa diminui a variabilidade genética da população selecionada, o que não é aconselhável no processo de melhoramento (CÂNDIDA et al., 2009). Devido a este fato que se dá a importância da manutenção da variabilidade genética, logo foram selecionadas apenas plantas com notas de sintomas entre 1 e 4.

É observado que plantas resistentes possuem algumas murchas, inferiores a 10% das folhas da planta. A resistência das plantas segundo Halluka et al. (1978) pode ser condicionada pela menor quantidade de bactéria nos tecidos infectados pelo patógeno, indicando existir algum tipo de mecanismo (bioquímico ou físico) na planta que dificulta a colonização. Maringoni (2002) evidenciou nas cultivares Carioquinha e IAC Carioca (suscetíveis à murcha de *Curtobacterium*) que o tecido vascular xilemático é o principal ponto onde existe a presença de grande quantidade de células bacterianas, levando a degeneração dos vasos do xilema e falha no transporte de seiva, ao qual gera os sintomas típicos da doença. Já as plantas com resistência possuem projeções protoplasmáticas para o interior dos vasos de xilema, o que sugere o início da formação de tilose, ou seja, projeções que se entrelaçam e formam uma barreira com estruturas rendilhada (MARINGONI, 2002; SOUZA et al., 2006a).

Segundo estes mesmos autores, isto é consequência da atuação de mecanismos físicos e bioquímicos de resistência nestes genótipos. Esta hipótese é reforçada devido ao fato que em genótipos suscetíveis estas mesmas estruturas não são encontradas.

O *Curtobacterium* é um patógeno recente no Brasil e já é detectado em várias regiões que cultivam o feijão. Medidas para evitar a disseminação do patógeno para outras localidades são indispensáveis, dessa forma, o uso de cultivares resistente é considerado um meio eficiente para a o controle do patógeno e conseqüentemente da doença. Assim o desenvolvimento e a seleção de plantas até aqui conduzidas são um prognóstico de futuras linhagens com resistência à murcha de *curtobacterium*.

2.1.6 Conclusões

As populações segregantes dentro de F_2 , $F_{2:3}$ e $F_{3:4}$ nos cruzamentos Aruã x Guará, Pyatã x Guará e Pyatã x Pérola possuem comportamento semelhantes em relação à resistência da murcha de *curtobacterium*, entretanto os ganhos de seleção preditos para resistência à doença foram maiores nas populações de Aruã x Guará e Pyatã x Pérola, em apenas dois ciclos de seleção.

As populações segregantes de Pyatã x Guará possuem os menores ganhos de seleção devido a combinação de baixas herdabilidades e de baixos diferenciais de seleção.

O período propício para distinguir e selecionar de maneira confiável as plantas segregantes ocorre entre 40 e 60 dias após a inoculação.

3 CAPÍTULO II

3.1 A SELEÇÃO PARA RESISTÊNCIA À MURCHA DE CURTOBACTERIUM EM CASA DE VEGETAÇÃO GERA RESULTADOS SATISFATÓRIOS A CAMPO?

3.1.1 Resumo

Devido às peculiaridades do Planalto Catarinense só é possível uma única safra por ano de feijão, assim o processo de seleção de cultivares visando a resistência a murcha de *curtobacterium* a campo também se resume a um ciclo ao ano. Entretanto o uso de casa de vegetações tem promovido condições para se obter diversos ciclos de seleções em um curto período de tempo e em condições ambientais controladas. Por isto este trabalho teve como objetivo testar a campo a efetividade da seleção em casa de vegetação para resistência à murcha de *curtobacterium*, analisando para isto a divergência genética em diferentes caracteres agronômicos de populações segregantes com plantas selecionadas, não selecionadas e seus respectivos genitores. Foram testados para isto nove populações com diferentes níveis de seleção e em diferentes gerações $F_{2,3}$, $F_{3,4}$ e $F_{4,5}$, incluído também quatro genitores, totalizando 13 populações. Foram avaliados sete caracteres agronômicos, posteriormente submetidos a análise de variância multivariada. Os contrastes foram feitas de modo a se comparar plantas selecionadas com não selecionadas e genitores. A distância genética entre todos os pares das populações e seus níveis de seleção foi estimada pela distância generalizada de Mahalanobis. A observação dos resultados por meio dos contrastes e formação dos grupos pela distância de Mahalanobis demonstram que é evidente a divergência genética de plantas submetidas à seleção para resistência à murcha de *curtobacterium* em comparação com as plantas não selecionadas bem como aos genitores, mostrando serem superiores aos mesmos, afirmando a campo a efetividade da seleção para resistência à murcha de *curtobacterium* em casa de vegetação.

Palavras-chave: Murcha bacteriana. Efetividade de seleção. Caracteres agronômicos.

3.1.2 Abstract

Because of the peculiarities of the Santa Catarina's plateau, is possible only one bean crop per year, so the process of cultivars selection aiming resistance to bacterial wilt at field also comes down to one cycle per year, therefore the use of greenhouses has been promoting more conditions to obtain several cycles of selections in a short period of time and under controlled environmental conditions. Therefore, this study aimed to test at field the effectiveness of selection in the greenhouse for resistance to bacterial wilt *Curtobacterium*, analyzing it for genetic diversity in different agronomic characters in segregating populations with plants selected, not selected and their parents. Were tested for these nine populations with different levels of selection in different generations such as $F_{2:3}$, $F_{3:4}$, and $F_{4:5}$, also included four parents, totaling 13 populations. In these populations were assessed seven agronomic traits, subsequently subjected to multivariate analysis. The contrasts were made in order to compare plants selected with not selected and parents. The genetic distance between all pairs of populations and their levels of selection was estimated by the Mahalanobis distance. The observation of the results by contrasts and formation of groups by the Mahalanobis distance is clearly demonstrated that there is genetic divergence of plants subjected to selection for resistance to bacterial wilt compared with not selected plants as well as the parents, showing that they are superior to same, affirming in the field effectiveness of selection for resistance to bacterial wilt in greenhouse.

Key words: Bacterial wilt. Selection effectiveness. Agronomic characters.

3.1.3 Introdução

Estima-se que ocorrem perdas de 15% no rendimento do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) devido às doenças (MENTEN, 2008). Por este motivo os programas de melhoramento genético no Brasil têm dado ênfase na obtenção de linhagens mais resistentes às doenças causadas por vírus, fungos e bactérias (RAVA e COSTA, 2001).

Entre as bactérias que podem causar prejuízos ao feijão estão *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseolli*, *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* e *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, esta última responsável pela murcha de *curtobacterium* que atualmente vem causando sérios danos e prejuízos à produção e cultivo de feijão na

região Centro-Sul do Brasil (SOUZA et al., 2006). O controle do *C. flaccumfaciens* está fundamentado no uso de cultivares resistentes, rotação de culturas e uso de sementes sadias (MARINGONI e CAMARA, 2006; ALENCAR et al., 2008; HERBES et al., 2008). Entretanto, o uso de cultivar resistente é uma das medidas mais eficientes e econômicas (RAVA e COSTA, 2001).

No Planalto Catarinense só é possível fazer uma safra por ano, não é recomendável o cultivo de safrinha devido à possibilidade de ocorrência de baixas temperaturas no final do ciclo da cultura (BISOGNIN et al., 1997). Em consequência qualquer processo de seleção de plantas a campo para resistência a murcha de *curtobacterium* pode ser feita apenas uma vez a cada ano. Já a seleção em casa de vegetação além de contornar esta desvantagem, possibilita proteção das plantas contra o excesso de chuva e sol, evita estresse hídrico, reduz os custos com defensivos e maximiza a proteção contra pragas e doenças (OLIVEIRA, 1995). Porém tem custo alto, não possibilitando a seleção para outros caracteres agrônômicos, além de ser mais trabalhosa, podendo não refletir as condições de cultivo em campo (SILVA et al., 2011).

Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo testar a campo a efetividade da seleção em casa de vegetação para resistência à murcha de *curtobacterium*.

3.1.4 Material e Métodos

As populações segregantes foram obtidas por meio de cruzamentos convergentes das cultivares IAC Carioca Pyatã (Pyatã) e IAC Carioca Aruã (Aruã) considerados resistentes à doença (MARINGONI, 2002); SCS 202 Guará (Gaurá) e Pérola, com reação de suscetibilidade (THEODORO e MARINGONI, 2006). Com esta constituição genética foram planejados cruzamentos com IAC Carioca Aruã x SCS 202 Guará, IAC Carioca Pyatã x SCS 202 Guará e IAC Carioca Pyatã x Pérola. Os cruzamentos foram realizados na safra 2009/10, seguidos da condução de plantas F_1 até primeira geração segregante (F_2). A partir de F_2 (2010/2) foi feita a seleção individual de plantas, originando 80 plantas em $F_{2:3}$. A seleção das plantas dentro e entre as linhas em $F_{2:3}$ originou 54 plantas em $F_{3:4}$. Na seleção feita em $F_{3:4}$ foram gerados 70 plantas em $F_{4:5}$ (2011/2). A separação de plantas resistentes e suscetíveis teve como padrão as notas de 0 - 2 (resistentes) e 2,1 - 9 (susceptíveis), adaptadas a partir de Coyne (1965).

Em todos os processos de seleções foram retiradas amostragens das sementes advindas das plantas selecionadas bem como das plantas não selecionadas. Assim foram testados nove populações segregantes abrangendo as gerações $F_{2:3}$, $F_{3:4}$ e $F_{4:5}$ nos três cruzamentos: i) $F_{2:3}$

AruãxGuará; *ii*) F_{3,4} AruãxGuará; *iii*) F_{4,5} AruãxGuará; *iv*) F_{2,3} PyatãxGuará; *v*) F_{3,4} PyatãxGuará; *vi*) F_{4,5} PyatãxGuará; *vii*) F_{2,3} PyatãxPérola; *viii*) F_{3,4} PyatãxPérola; *ix*) F_{4,5} PyatãxPérola, sendo que nas populações segregantes existe dois níveis de seleção de plantas: plantas selecionada e não selecionadas. Incluem-se também os quatro genitores (populações fixas): *i*) IAC Carioca Aruã; *ii*) SCS 202 Guará; *iii*) IAC Carioca Pyatã; *iv*) Pérola, formando no total 13 populações.

As populações foram semeadas em campo experimental da Universidade do Estado de Santa Catarina na cidade de Lages-SC, safra agrícola de 2011/12. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado usando como unidade experimental linhas de três metros de comprimento com plantas segregantes das diferentes populações, sendo o espaçamento entre as linhas de 0,5 metros. A equação do modelo estatístico multivariado (MANOVA) foi utilizado. Este tipo de modelo tem a mesma expressão da equação para a situação univariada, sendo os termos escalares substituídos por vetores, onde cada um dos termos é um vetor de dimensão “*v*” cujos elementos são identificados pelo mesmo símbolo do fator com acréscimo de um “*j*” subscrito para identificar a correspondente variável resposta (ROCHA et al., 2009). As análises estatísticas utilizadas seguiram a metodologia de Rencher (2002) e Coimbra (2004) utilizando o seguinte modelo:

$$Y_{ikl} = \mu + a_k + b_l + ab_{kl} + e_{ikl}$$

Onde, μ : média geral esperada, a_k : o fator diferencial do nível *i* do fator *A*; b_l : fator diferencial do nível *l* do fator *B*; ab_{kl} : fator diferencial da interação do *k*-ésimo nível do fator *A* com o *l*-ésimo nível do fator *B*; e_{ikl} : erro experimental.

Para a realização da análise de variância multivariada e posterior análise dos contrastes foram avaliados sete caracteres agrônômicos nas 13 populações. Deste modo foram mensurados: *i*) Al - altura de planta (cm); *ii*) IPL - inserção do primeiro legume (cm); *iii*) Dm - diâmetro do caule (mm); *iv*) NLP - número de legumes por planta; *v*) NGL - número de grãos por planta; *vi*) P(g) - Peso(g) de grãos por linha; *vii*) RCB - resistência à murcha de *Curtobacterium*, analisadas por meio da reação sintomática das plantas a infecção bacteriana. A pesquisa na área das ciências biológicas comumente quantifica inúmeras variáveis inter-relacionadas, sendo a análise multivariada ser mais apropriada para análise de dados biológicos obtidos a campo (COIMBRA et al., 2007).

Especificamente para a mensuração da resistência à murcha de *Curtobacterium* foram anteriormente procedidas às inoculações da bactéria aleatoriamente em cinco plantas por unidade experimental. Este procedimento foi realizado aos nove dias após a emergência das plantas conforme a metodologia de Maringoni (2002), utilizando o isolado de *Curtobacterium*

flaccumfaciens pv. *flaccumfaciens* cff 2634, proveniente da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP). A bactéria foi cultivada em meio de cultura nutriente-sacarose-ágar (NSA) por 48 horas, a uma temperatura de 28°C em câmara de crescimento bacteriano. Após o crescimento das bactérias foi procedida a diluição das mesmas em solução salina a 0,85% de NaCl até atingir uma concentração de 10^8 u.f.c.mL⁻¹, medidas em espectrofotômetro com densidade óptica de 600nm. A inoculação foi realizada com duas punções no caule (entre as folhas cotiledonares e primárias), utilizando uma haste reta previamente umedecida na solução bacteriana. As avaliações dos sintomas da doença foram realizadas aos 20, 40 e 60 dias após a inoculação da bactéria nas plantas, ou seja, em períodos que englobaram desde o crescimento vegetativo (V3) até o enchimento de vagens (R8). Para estas avaliações foi empregada a escala de notas adaptada de Maringoni (2002), onde: 0: sem sintomas de doença; 1: sintoma de mosaico nas folhas; 2: poucas folhas murchas (1 a 3 folhas, menos de 10% das folhas das plantas); 3: poucas folhas murchas, 15% das folhas das plantas; 4: poucas folhas murchas, 20% das folhas das plantas 5: aproximadamente 25% de folhas apresentando murcha e amarelecimento; 6: aproximadamente 40% de folhas apresentando murcha e amarelecimento; 7: aproximadamente 50% de folhas murchas, amarelecimento e/ou necrose de folíolos, plantas com nanismo; 8: aproximadamente 60% de folhas murchas, amarelecimento e/ou necrose de folíolos, plantas com nanismo; 9: aproximadamente 75% ou mais de folhas com murcha e/ou necrose, queda prematura de folhas, nanismo severo e/ou morte da planta.

Os contrastes entre os vetores médios na situação multivariada podem ser definidos como: $\delta = c_1\mu_1 + c_2\mu_2 + \dots + c_k\mu_k$, avaliados da seguinte forma de: $H_0: c = 0$, $H_A: c \neq 0$, sendo c uma combinação linear dos vetores de médias $\mu_1, \mu_2, \dots, \mu_t$, ou $c = c_1\mu_1 + c_2\mu_2 + \dots + c_t\mu_t$ e c_1, c_2, \dots, c_t são escalares constantes tais que: $c_1 + c_2 + \dots + c_t = 0$. Um estimador não viesado de δ é dado pelo correspondente vetor médio da amostra: ' $\delta = c_1y_1 + c_2y_2 + \dots + c_ky_k$ ' (RENCHE, 2002). Foram testados 18 contrastes não ortogonais pré-definidos a 5% de significância pelo teste F, comparados pelos testes de Lambda de Wilks, Pillai's Trace, Hotelling-Lawley e Roy's Greatest Root. Nove destes contrastes foram dentro das populações com plantas selecionadas nas diferentes gerações, os demais contrastes confrontaram as plantas selecionadas nas populações segregantes com os seus genitores: $C_1 = F_{2:3AxG-S}$ vs $F_{3:4AxG-S}$; $C_2 = F_{2:3AxG-NS}$ vs $F_{4:5AxG-S}$; $C_3 = F_{3:4AxG-S}$ vs $F_{4:5AxG-S}$; $C_4 = F_{2:3PxG-S}$ vs $F_{3:4PxG-S}$; $C_5 = F_{2:3PxG-S}$ vs $F_{4:5PxG-S}$; $C_6 = F_{3:4PxG-S}$ vs $F_{4:5PxG-S}$; $C_7 = F_{2:3PxP-S}$ vs $F_{3:4PxP-S}$; $C_8 = F_{2:3PxP-S}$ vs $F_{4:5PxP-S}$; $C_9 = F_{3:4PxP-S}$ vs $F_{4:5PxP-S}$; $C_{10} =$ Aruã, Guará vs $F_{2:3AxG-S}$; $C_{11} =$ Aruã, Guará vs $F_{3:4AxG-S}$; $C_{12} =$ Aruã, Guará vs $F_{4:5AxG-S}$; $C_{13} =$ Pyatã, Guará vs $F_{2:3PxG-S}$; $C_{14} =$ Pyatã, Guará

vs F_{3:4PxG-S}; C₁₅= Pyatã, Guará vs F_{4:5PxG-S}; C₁₆= Pyatã, Pérola vs F_{2:3PxP-S}; C₁₇= Pyatã, Pérola vs F_{3:4PxP-S}; C₁₈= Pyatã, Pérola vs F_{4:5PxP-S}.

A distância genética entre as populações foi estimada pela distância generalizada de Mahalanobis. Com base na matriz de dissimilaridade genética gerada foi construído um dendrograma englobando todas as populações e os níveis de seleção.

3.1.5 Resultados e Discussão

O resultado obtido pela verificação da homogeneidade da matriz de covariância por meio da estatística de verossimilhança generalizada ($\chi^2 = 1862,29$; GL= 336 e; $Pr > \chi^2 = 0,0001$) justifica o procedimento de testes para situação da matriz de covariância heterogênea.

Na Tabela 7 é verificado que houve significância ($Pr < 0,05$) para o fator seleção e população (seleção). Neste último fator, através da sua decomposição, determina-se um fator simples (população) e um de interação (população x seleção). Isto é um indicativo do comportamento diferenciado dos níveis de seleção e das 13 populações avaliadas considerando segregantes e genitores.

Tabela 7: Resumo da análise de variância multivariada por meio de quatro testes estatísticos nos fatores de seleção (Sel) e população dentro de seleção Pop(Sel) em sete caracteres agronômicos avaliados simultaneamente: *i*) altura de planta (Al); *ii*) inserção do primeiro legume (IPL); *iii*) diâmetro do caule (Dm); *iv*) número de legumes por planta (NLP); *v*) número de grãos por planta (NGP); *vi*) peso(g) de grãos por linha (P); *vii*) resistência à murcha de *curtobacterium* (RCB). UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.

Fator	Teste estatístico	Valor	Valor F	Pr>F
Sel	Lambda de Wilks	0,79	13,44	0,0001
	Pillai's Trace	0,21	13,04	0,0001
	Hotelling-Lawley	0,25	13,84	0,0001
	Roy's Greatest Root	0,22	23,97	0,0001
Pop(Sel)	Lambda de Wilks	0,42	05,21	0,0001
	Pillai's Trace	0,73	04,74	0,0001
	Hotelling-Lawley	1,01	05,75	0,0001
	Roy's Greatest Root	0,61	24,69	0,0001

H₀: $\mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k$, H_A: $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \dots \neq \mu_k$.

As diferenças entre as populações são relativas principalmente quando se inclui genitores estáveis para a maioria dos caracteres avaliados, contrastando com populações segregantes em vários níveis de homozigose. Esta diferença foi potencializada ao caminho que se aumentou o número de variáveis analisadas em cada população. A interação entre população e seleção ocorre devido à formação dos dois níveis distintos dentro do fator seleção: plantas selecionadas, plantas não selecionadas. Assim, a interação é significativa em função do comportamento contrastante entre plantas selecionadas e não selecionadas dentro de uma mesma população.

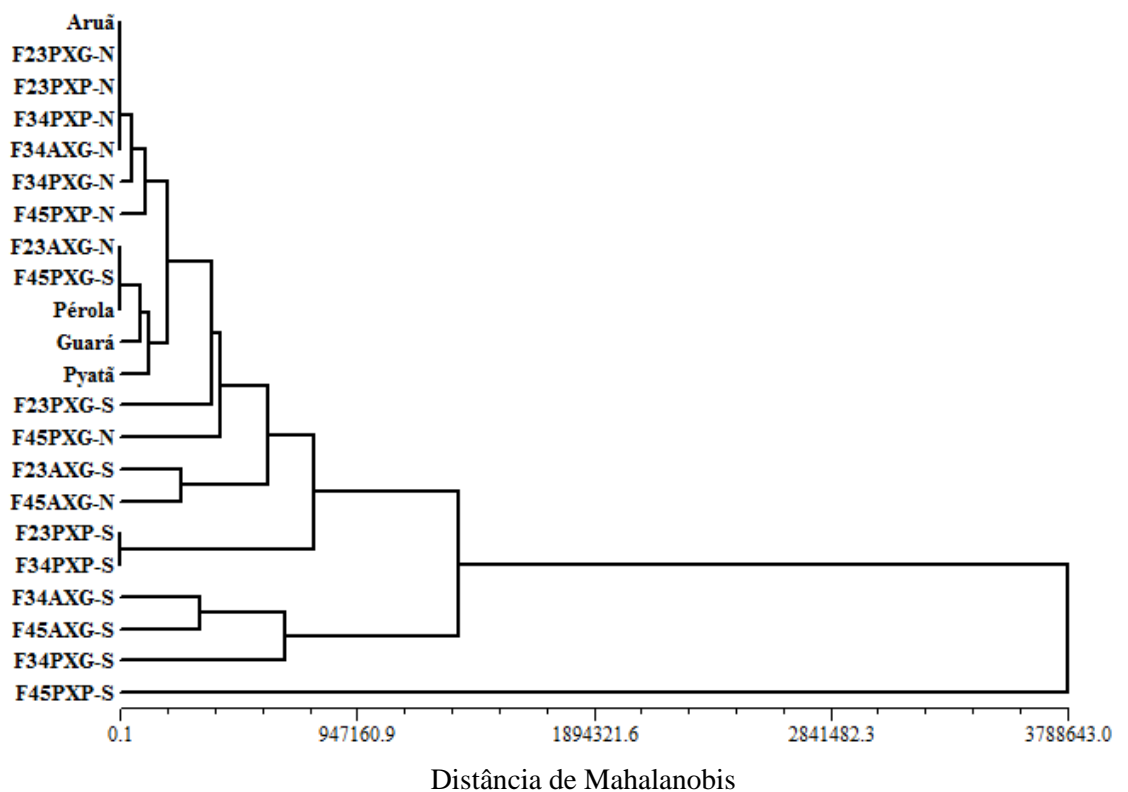


Figura 2: Dendrograma resultante da análise de sete caracteres agrônômicos avaliados: *i*) altura de planta (Al); *ii*) inserção do primeiro legume (IPL); *iii*) diâmetro do caule (Dm); *iv*) número de legumes por planta (NLP); *v*) número de grãos por planta (NGP); *vi*) peso(g) de grãos por linha (P); *vii*) resistência à murcha de *curtobacterium* (RCB), avaliados em nove populações segregantes com dois níveis de seleção (plantas selecionadas e não selecionadas) e quatro genitores (Aruã, Pyatã, Guará e Pérola), utilizando a distância de Mahalanobis como medida da distância genética. UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.

A Figura 2 auxilia na demonstração gráfica desta nas diferenças entre as populações segregantes, genitores e os níveis de seleção. Verifica-se a formação de cinco agrupamentos:

i) Aruã, F_{2:3}PxG-N, F_{2:3}PxP-N, F_{3:4}PxP-N, F_{3:4}AxG-N, F_{3:4}PxG-N, F_{4:5}PxP-N; *ii)* F_{2:3}AxG-N, F_{4:5}PxG-S, Pérola, Guará, Pyatã; *iii)* F_{2:3}PxG-S, F_{4:5}PxG-N, F_{2:3}AxG-S, F_{4:5}AxG-N; *iv)* F_{2:3}PxP-S, F_{3:4}PxP-S, F_{3:4}AxG-S, F_{4:5}AxG-S, F_{3:4}PxG-S; *v)* F_{4:5}PxP-S. De modo particular e mais restrito, existe uma grande separação entre as plantas selecionadas e não selecionadas em todas as populações, sendo que não há nos agrupamentos uma mesma população segregante com os dois níveis de seleção simultaneamente. Neste mesmo contexto as plantas selecionadas estão em grupos separados dos genitores com exceção de F_{2:3}AxG-N e F_{4:5}PxG-S, que estão no mesmo grupo de Pyatã e Guará.

Na seleção, a primeira variável canônica explica 86% da variância total nos caracteres avaliados, sendo que o caractere P(g) e RCB são os responsáveis pelos maiores pesos na diferenciação dos níveis de seleção tanto em VC₁ quanto na VC₂ (Tabela 8).

Tabela 8: Autovalores (λ_i) e variação percentual acumulada correspondente (%) explicada pelas variáveis canônicas (VC_i) e coeficientes canônicos padronizados (CCP) para o fator seleção (Sel) e população dentro de seleção Pop(Sel) em nove populações segregantes com plantas selecionadas e não selecionadas e seus respectivos genitores (Aruã, Pyatã, Guará e Pérola) para sete caracteres agrônomicos avaliados: *i)* altura de planta (Al); *ii)* inserção do primeiro legume (IPL); *iii)* diâmetro do caule (Dm); *iv)* número de legumes por planta (NLP); *v)* número de grãos por planta (NGP); *vi)* peso(g) de grãos por linha (P); *vii)* resistência à murcha de *curtobacterium* (RCB). UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.

Fator	Variáveis canônicas	Autovalores		Coeficientes canônicos padronizados						
		λ_i	(%)	Al	IPL	Dm	NLP	NGP	P(g)	RCB
Sel	VC ₁	0,22*	86,0	-0,33	-0,22	0,62	0,36	-0,12	0,75	0,34
	VC ₂	0,03*	100,0	0,69	0,30	-0,15	-0,60	0,31	0,70	0,25
Pop(Sel)	VC ₁	0,61*	61,0	-0,22	0,65	0,59	0,36	0,54	0,09	-0,22
	VC ₂	0,17*	79,0	0,09	0,06	0,29	0,22	-0,71	0,47	0,45
	VC ₃	0,09*	87,1	0,24	-1,14	0,64	-0,39	0,25	0,27	-0,16
	VC ₄	0,06*	93,1	-0,54	0,79	-0,67	-1,23	1,05	0,99	1,80
	VC ₅	0,03 ^{ns}	97,5	0,58	-0,68	0,25	1,84	-1,17	-1,79	-0,68
	VC ₆	0,02 ^{ns}	99,1	1,07	0,45	-0,45	-0,07	0,33	0,78	-0,38
	VC ₇	0,01 ^{ns}	100,0	-0,09	-0,32	-0,42	0,71	0,30	0,62	-0,01

* significativo a 5% de probabilidade de erro pela estatística de teste da razão de verossimilhança; ^{ns} não significativo a 5% de probabilidade de erro pela estatística de teste da razão de verossimilhança.

No fator população(seleção), as três primeiras variáveis canônicas (VC₁=0,61; VC₂=0,17; VC₃=0,09) obtiveram valores acumulados de 87,1% da variação total contida no

conjunto de caracteres analisados, explicando assim grande parte da variação existente entre as populações e sua interação com os níveis de seleção (Tabela 8). Observa-se que para o primeiro componente principal, os descritores de maior contribuição na discriminação ou dissimilaridade de população(seleção) foram IPL, diâmetro de caule e NGP, no segundo componente, destacaram-se: P(g) e RCB; quando se incluiu o terceiro componente, os caracteres diâmetro de caule, NGP e P(g) apresentaram maior contribuição.

A avaliação dos coeficientes canônicos dentro de cada VC_n traz valores relativos, não conclusivos, mostrando caracteres que dependendo da VC_n analisada podem contribuir tanto para a dissimilaridade quanto para a similaridade dos níveis da seleção e de população(seleção). Por isto deve ser analisado um parâmetro que leve em consideração todos os coeficientes canônicos dentro das principais variáveis canônicas, avaliando de forma geral o efeito de separação gerada pelos caracteres. Isto pode ser alcançado usando a análise do coeficiente da taxa de discriminação paralela (TDP) (Tabela 9).

Tabela 9: Coeficiente da taxa de discriminação paralela ($TDP = r \times CCH$) para VC_1 e VC_2 no fator seleção (Sel) e VC_1 , VC_2 , VC_3 e VC_4 em população dentro de seleção Pop(Sel) para sete caracteres agrônômicos avaliados: *i*) altura de planta (Al); *ii*) inserção do primeiro legume (IPL); *iii*) diâmetro do caule (Dm); *iv*) número de legumes por planta (NLP); *v*) número de grãos por planta (NGP); *vi*) peso(g) de grãos por linha (P); *vii*) resistência à murcha de *curtobacterium* (RCB). UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.

Caracteres	TDP	
	Sel	Pop(Sel)
Al	-0,01	-0,16
IPL	-0,04	0,28
Dm	0,23	0,50
NLP	0,04	-0,09
NGP	0,01	0,37
P(g)	0,44	0,55
RCB	0,19	0,42

Segundo Coelho et al. (2007), o coeficiente da TDP é obtido por meio do produto entre os valores dos coeficientes canônicos padronizados (CCP) e os valores dos coeficientes de correlação canônica (r). No coeficiente da TDP, valores de caracteres positivos indicam efeito de separação, sendo que os caracteres com os maiores valores apresentam maior peso

na separação ou dissimilaridade entre os níveis de seleção e população(seleção), porém os valores negativos expressam efeito de supressão dos caracteres na separação, ou seja, expressam semelhanças entre os caracteres (CRUZ-CASTILLO et al., 1994). Assim de forma conclusiva o P(g), diâmetro de caule e RCB são efetivamente os caracteres de maior peso na dissimilaridade tanto nos níveis de seleção quanto em população(seleção).

Pela análise da diferença entre os níveis de seleção e dos caracteres que auxiliam na sua dissimilaridade, ou seja, os caracteres que mostram onde existem as maiores diferenças de plantas selecionadas em relação as plantas não selecionadas. É possível enfatizar que a seleção para resistência à murcha de *curtobacterium* foi eficiente e que as plantas selecionadas possuem comportamento superior quando testadas a campo. Para auxiliar, a verificação dos valores das médias em plantas selecionadas são de (6,35mm) para Dm, (20,9) para NLP, (84,7) para NGP, (72,20g) para P(g) e (2,36) para RCB. As médias de plantas não selecionadas possuem valores menores, (5,55mm) para Dm, (12,08) para NLP, (47,51) para NGP, (46,79g) para P(g) e (3,24) para RCB. O déficit destes caracteres (Dm, NLP, NGL, P(g) e RCB) nas plantas não selecionadas é devido à obstrução dos canais xilemáticos pelo patógeno inoculado, deste modo, a passagem de água e nutrientes é dificultada, resultando em diminuição da formação de botões florais, legumes e grãos posteriormente. O aumento do diâmetro de caule auxilia no aumento de volume e quantidade de tecidos condutores evitando assim obstrução abrupta dos tecidos xilemáticos, fornecendo de forma normalizada as substâncias necessárias para a manutenção fisiológica da planta. Bleicher e Balmer (1993) aumentaram a resistência a *Exserohilum turcicum* usando a seleção recorrente em milho, conduzidos em casa de vegetação. Parrela et al., (2008) verificou selecionando 224 populações com base na resistência a Antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*), com cruzamentos entre os genitores CNFC 10706 x H147, que o melhoramento visando a resistência a determinada doença foi positivo tanto para o aumento da resistência à doença mas também na melhoria de outros caracteres agrônômicos como produtividade e porte ereto.

Os caracteres avaliados são de grande importância, pois contribuem para o aumento de produtividade e são facilitadores de práticas culturais no plantio e principalmente as operações envolvendo a colheita, onde a dimensão e caracterização do diâmetro do caule, inserção do legume e a estatura de planta são de suma importância (SHIMADA et al., 2000), pois propiciam o uso de colheita mecanizada. Entretanto, é fundamental a inclusão de caracteres que componham o rendimento como NGP, NLP que possuem correlação direta e positiva ao rendimento de grãos, sendo que o aumento dos seus valores refletirá no aumento da produtividade (COIMBRA et al., 1999; RIBEIRO et al, 2001; RIBEIRO et al., 2004). Mas

de forma concisa se busca um equilíbrio entre os caracteres agronômicos, para que a planta tenha um ideótipo que maximize o rendimento de grãos, levando em consideração os demais caracteres associados ao rendimento, sendo de grande importância em um programa de melhoramento balancear os caracteres objetivados com os demais caracteres associados, como por exemplo, um aumento expressivo do número de legumes pode não ser suportado por uma planta que não apresentar incremento no diâmetro do caule (ROCHA et al., 2009).

De acordo com a Tabela 10, verifica-se que a maioria dos contrastes envolvendo plantas selecionadas dentro das diferentes populações, são significativos, excetuando C₅ e C₇. Nesta Tabela, os caracteres P(g) e RCB são uns dos componentes que mais auxiliam na dissimilaridade entre as populações com plantas selecionadas.

Tabela 10: Contraste entre populações segregantes com plantas selecionadas, coeficientes canônicos padronizados (CCP) e teste F para a comparação dos contrastes testados pela estatística de Lambda de Wilks em sete caracteres agronômicos avaliados: *i*) altura de planta (Al); *ii*) inserção do primeiro legume (IPL); *iii*) diâmetro do caule (Dm); *iv*) número de legumes por planta (NLP); *v*) número de grãos por planta (NGP); *vi*) peso(g) de grãos por linha (P); *vii*) resistência à murcha de curtopacterium (RCB). UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.

Contrastes	Coeficientes canônicos padronizados							Pr>F
	Al	IPL	Dm	NLP	NGP	P(g)	RCB	
C ₁	0,03	0,01	-0,27	0,60	-0,86	1,48	0,03	0,0001
C ₂	0,22	-0,26	0,41	0,39	-1,25	1,31	-0,06	0,0008
C ₃	-0,25	0,40	-1,07	0,47	0,31	0,67	0,15	0,0172
C ₄	0,21	0,01	-0,94	-0,10	0,42	1,01	-0,13	0,0001
C ₅	0,23	0,04	0,98	0,30	-0,31	0,05	0,30	0,1707
C ₆	0,35	0,03	-0,45	0,06	0,27	1,09	0,01	0,0001
C ₇	-0,24	-0,13	0,29	-0,62	0,85	0,08	0,99	0,0549
C ₈	0,27	-0,15	0,42	-0,88	1,25	0,09	0,67	0,0001
C ₉	0,68	-0,06	0,26	-0,55	0,81	0,03	-0,19	0,0343

C₁= F_{2:3AxG}-S vs F_{3:4AxG}-S; C₂= F_{2:3AxG}-NS vs F_{4:5AxG}-S; C₃= F_{3:4AxG}-S vs F_{4:5AxG}-S; C₄= F_{2:3PxG}-S vs F_{3:4PxG}-S; C₅= F_{2:3PxG}-S vs F_{4:5PxG}-S; C₆= F_{3:4PxG}-S vs F_{4:5PxG}-S; C₇= F_{2:3PxP}-S vs F_{3:4PxP}-S; C₈= F_{2:3PxP}-S vs F_{4:5PxP}-S; C₉= F_{3:4PxP}-S vs F_{4:5PxP}-S. $U = \frac{|E|}{|E+H|}$

Os caracteres P(g) e RCB estão correlacionados negativamente, pois na maioria das populações em F_{2:3}, existem os maiores valores para o sintomas das plantas e menores valores para P(g), já em F_{4:5} há menores valores para sintomas da doença e os maiores valores para

P(g). Exemplo este em F_{2:3}AxG-S com (3,24) para RCB e (70,41g) para P(g), por outro lado em F_{4:5}AxG-S, RCB possui valor de (2,68) e (109,30g) de P(g). Assim dentro do nível de plantas selecionada existem graus de resistência que tendem a aumentar ao longo dos ciclos de seleção, influenciando positivamente os demais caracteres agronômicos.

As plantas selecionadas dentro de cada população comparadas com os genitores (Tabela 11), demonstra que apenas o sexto contraste ($Pr > F = 0,90$) não foi significativo.

Tabela 11: Contrastes entre plantas selecionadas dentro de populações segregantes com genitores (Aruã, Pyatã, Guará e Pérola), coeficientes canônicos padronizados (CCP) e teste F para a comparação dos contrastes testados pela estatística de Lambda de Wilks em sete caracteres agronômicos avaliados: *i*) altura de planta (Al); *ii*) inserção do primeiro legume (IPL); *iii*) diâmetro do caule (Dm); *iv*) número de legumes por planta (NLP); *v*) número de grãos por planta (NGP); *vi*) peso(g) de grãos por linha (P); *vii*) resistência à murcha de *curtobacterium* (RCB). UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.

Contrastes	Coeficientes canônicos padronizados							Pr>F
	Al	IPL	Dm	NLP	NGP	P(g)	RCB	
C ₁₀	-0,34	0,03	0,49	-0,64	1,31	0,29	0,04	0,0001
C ₁₁	-0,16	0,03	0,07	0,06	0,12	1,19	0,05	0,0001
C ₁₂	-0,06	-0,14	0,57	-0,14	-0,01	1,03	-0,01	0,0001
C ₁₃	0,22	0,05	1,15	-0,19	-0,06	-0,38	0,29	0,0012
C ₁₄	0,43	0,06	-0,43	-0,26	0,50	1,06	0,02	0,0001
C ₁₅	-0,02	-0,09	0,45	1,15	-0,54	1,01	0,01	0,9083
C ₁₆	0,33	-0,18	0,38	0,42	-0,35	0,89	0,49	0,0001
C ₁₇	0,47	-0,13	0,27	0,74	-0,78	0,92	0,07	0,0001
C ₁₈	0,26	-0,13	0,22	1,26	-1,44	1,19	0,19	0,0020

C₁₀= Aruã, Guará vs F_{2:3}AxG-S; C₁₁= Aruã, Guará vs F_{3:4}AxG-S; C₁₂= Aruã, Guará vs F_{4:5}AxG-S; C₁₃= Pyatã, Guará vs F_{2:3}PxG-S; C₁₄= Pyatã, Guará vs F_{3:4}PxG-S; C₁₅= Pyatã, Guará vs F_{4:5}PxG-S; C₁₆= Pyatã, Pérola vs F_{2:3}PxP-S; C₁₇= Pyatã, Pérola vs F_{3:4}PxP-S; C₁₈= Pyatã, Pérola vs F_{4:5}PxP-S. $U = \frac{|E|}{|E+H|}$

Nos demais contrastes da Tabela 11, identificou-se que houve incrementos em todos os caracteres, no entanto, os maiores incrementos em relação aos genitores foram para o diâmetro de caule, P(g). Estes incrementos são propiciados devido a uma maior heterose nas populações segregantes em relação aos genitores, o vigor híbrido em feijão pode manifestar-se de diversas formas, uma dessas são na produção de grãos e seus componentes (COYNE, 1965). Em autógamias a heterose tende a diminuir seu efeito ao longo de sucessivas autofecundações, reduzindo a influência dos genes dominantes e sobredominantes em relação

aos genes aditivos, assim o comportamento das populações segregantes ao longo das gerações ou ciclos de autofecundações pode mudar em função do fator genético por meio dos genes de ação dominante ou aditivo e também em função do ambiente.

Características relacionadas a produtividade são caracteres quantitativos assim são necessários muitos ciclos de autofecundação para atingir a homozigose, já a resistência a murcha de *curtobacterium*, governada por três a quatro genes (VALENTINI et al., 2011) é fixada em menos ciclos, de forma que os alelos de resistência dos genitores Pyatã e Aruã estão na sua grande maioria incorporados nas plantas selecionadas. Provavelmente devido a este fato que existe pouco ou quase nenhum incremento na resistência de plantas selecionadas em relação aos genitores. De modo oposto, é possível ver que os menores incrementos são para AI e IPL, estes resultados negativos reduzem o efeito da variável resposta em questão, ou seja, eles se aproximam mais dos valores das plantas não selecionadas e genitores.

Observando os resultados da divergência genética nos níveis de seleção, entre plantas selecionadas e não selecionadas, somado aos resultados dos contrastes. Constata-se que a partir deste ponto é possível selecionar as próximas gerações através de caracteres agronômicos como AI, NLP, NGP e Produtividade, deixando de lado às seleções visando à resistência a doença, pois há resultados que constata a superioridade ou resistência das plantas selecionadas dentro das populações segregantes.

3.1.6 Conclusão

A seleção de plantas segregantes em casa de vegetação visando à resistência à murcha de *curtobacterium* é propícia devido ao fato que esta possibilitou a superioridade e a divergência genética de plantas selecionada em relação a plantas não selecionadas a campo.

4 CONCLUSÃO GERAL

O melhoramento genético de plantas é uma das ferramentas eficaz para o controle de doenças onde a utilização de produtos químicos não é possível, como por exemplo, doenças de origem bacterianas. O enfoque nestas ideias propiciou a condução de populações segregantes oriundas de cruzamentos entre pais suscetíveis e resistentes à murcha do *curtobacterium*, assim as seleções em casa de vegetação mostraram efetividade e maiores ganhos de seleção nas populações oriundas dos cruzamentos Aruã x Guará e Pyatã x Pérola. A seleção em casa de vegetação mostrou ser efetiva também a campo através da divergência genética e superioridade de plantas selecionadas sobre plantas não selecionadas e genitores. Dois caminhos podem ser seguidos a partir deste trabalho. O primeiro se refere aos ciclos de seleção que podem ser praticados a campo com ênfase em caracteres agronômicos direcionados para o rendimento de grãos, pois sendo a resistência à murcha de *curtobacterium* um caractere governado por poucos genes, alguns processos de autofecundação foram suficientes para incorporar os alelos de resistência ao *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* cff 2634. O segundo caminho segue as observações de comportamento das populações selecionadas para outros isolados da bactéria, podendo gerar resultados que auxiliarão na explicação da existência ou não de resistência ampla destas populações frente aos diferentes isolados.

REFERÊNCIAS

- ABREU, A. F. B. et al. Utilização da produtividade de grãos na seleção para resistência ao *Colletotrichum lindemuthianum* no feijoeiro. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras. v.27, p.363-369, 2003.
- AMARANTE, C. V. T.; CHAVES, D. V.; ERNANI, P. R. Análise multivariada de atributos nutricionais associados ao “bitter bit” em maçãs “Gala”. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, p.841-846, 2006.
- ALLARD, R. W. **Princípios do melhoramento genético de plantas**. Rio de Janeiro. USAID, 1971, 381p.
- ALENCAR, N. E. et al. Avaliação fenotípica de genótipos de feijoeiro comum a isolados de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. **Anais do Congresso Nacional de Pesquisa de Feijão**, Campinas, p.957-960, 2008.
- ARAÚJO, R. S. et al. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: POTAFOS, 1996, 786p.
- BLEICHER, J.; BALMER, E. Efeitos da seleção recorrente fenotípica sobre a resistência a *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonarde and Suggs em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.28, p.1291-1295, 1993.
- BERNARDO, R. Correlation between tests cross performance of lines at early and last selfing generation. **Theoretical Applied Genetics**, v.82, p.17-21, 1991.
- BORÉM, A. MIRANDA, G. V. **Melhoramento de Plantas**. 5.ed. rev. ampl. Viçosa: Editora UFV, 2009, 529p.
- BISOGNIN, D. A. et al. Desempenho de cultivares de feijão em semeadura tardia no planalto catarinense. **Ciência Rural**, v.27, p.193-199, 1997.
- BRADBURY, J. F. **Guide to plant pathogenic bacteria**. Farhan House: C.A.B. International, Oxfordshire, UK, 1986, 332p.
- BURKHOLDER, W. H. The longevity of the pathogen causing the wilt of the common bean. **Phytopathology**, v.35, p.743-744, 1945.

CÂNDIDA, D. V. et al. Controle genético da murcha do fusário (*Fusarium oxysporum*) em feijoeiro comum. **Tropical plant pathology**, v.34, p. 379-384, 2009.

COELHO, C. M. M. et al. Diversidade genética em acessos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência Rural**, v37, p.1241–1247, 2007.

COIMBRA, J. L. M. et al. **Fundamentos do SAS aplicado a experimentação agrícola**. Pelotas : Ed. Universitária / UFPEL, 2004, 246p.

COIMBRA, J. L. M. et al. Path analysis. I: Analysis of the yield of grains and its components. **Ciência Rural**, v. 29, p. 213-218, 1999.

COIMBRA, J. L. M et al. Técnicas multivariadas aplicadas ao estudo da fauna do solo: contrastes multivariados e análise canônica discriminante. **Ceres**, v.54, p.270-276, 2007.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, oitavo levantamento**. Brasília, 2012, 35p.

CRUZ-CASTILLO, J. G. et al. Applications of canonical discriminant analysis in horticultural research. **Hortscience**, Alexandria, v.29, p.1115-1119, 1994.

COYNE, D. P. Component interaction in relation to heterosis for plant height in *Phaseolus vulgaris* L. **Crop Science**, 5: p.17-18, 1965.

DAVIS, M. J.; VIDAVER, A. K. Coryneform plant pathogens. In: Schaad, N. W., Jones, J. B., Chun, W. (Ed.). **Plant pathogenic bacteria**. 3rd ed. St. Paul, USA: APS Press, 2001, p.218-235.

DEBOUCK, D. G. Phaseolus germplasm exploration. In: GEPTS, P. (Ed.). **Genetic resources of Phaseolus beans**. Dordrecht: Kluwer, 1988, p.3-29.

DEBOUCK, D. G. Diversity in Phaseolus species in relation to the common bean. In: SINGH, S. P. (Ed.). **Common bean improvement in the twenty-first century**. Dordrecht: Kluwer, 1999, p.25-52.

EMBRAPA. Departamento Técnico-Científico, (Brasília, DF). **Programa Nacional de Pesquisa de Feijão**. Brasília: EMBRAPA, 1981, 117p.

ESTEFANI, R. C.; MIRANDA FILHO, R. J.; UESUGI, C. H. Tratamentos térmico e químico de sementes de feijoeiro: eficiência na erradicação de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* e efeitos na qualidade fisiológica das sementes. **Fitopatologia Brasileira**, v.35, p.434-438, 2007.

GARCIA, A. et al. Influência das variáveis ambientais no progresso da antracnose do feijoeiro e eficiência de tiofanato metílico + clorotalonil no controle da doença. **Ciência e Agrotecnologia**, p.1709-1715, v.31, 2007.

GONÇALVES-VIDIGAL, M. C.; POLETINE, J. P. Melhoramento Genético de Plantas. In: DESTRO, D. **Resistência as doenças**, 1999, p.

HALLUKA, M. et al. Population trends of *Corynebacterium flaccumfaciens* strain in leaves of *Phaseolus* species. **Fitopatologia Brasileira**, p.13-26, 1978.

HEDGES, F. A. Bacterial wilt of bean caused by *bacterial flaccumfaciens* nov. sp. **Science**, v. 55, p.433-434, 1922.

HEDGES, F. A. Bacterial wilt of bean (*Bacterium flaccumfaciens* hedges) including compartments with bacterium phaseoli. **Phytopathology**, v.16, p.1-22, 1926.

HERBES, D. H. et al. Detecção de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em sementes de feijão produzidas em Santa Catarina. **Tropical Plant Pathology**, v.33, p.153-156, 2008.

HUANG, H. C.; ERICKSON, R. S.; HSIEH, T. F. Control of bacterial wilt of bean (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*) by seed treatment with *Rhizobium leguminosarum*. **Crop Protection**, v.26, p.1055-1061, 2007.

LEITE JÚNIOR, R. P. et al. Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro no Paraná e Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira**, v.2 (Suplemento): p.303-304, 2001.

LITTELL, R. C. et al. **SAS for Mixed Models**. 2 ed. Cary, NC: SAS Institute Inc. 2006, 814p.

MELCHIOR, H. A. **Engler's syllabus der pflanzenfamilien**. 12. ed. Berlin: Gebrüder Bornträger, 1964, 666p.

MENTEN, J. O. M. Importância de novos defensivos agrícolas no manejo de doenças no feijoeiro. **Anais do Congresso Nacional de Pesquisa de Feijão**, p.957-960, 2008.

MARINGONI, A. C.; ROSA, E. F. Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, v.23, p.160-162, 1997.

MARINGONI, A. C. Comportamento de cultivares de feijoeiro comum à murcha de curtobacterium. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, p.157-162, 2002.

MARINGONI, A. C. Alterações nos teores de macronutrientes em plantas de feijoeiro infectadas por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, p.217-222, 2003.

MARINGONI, A. C.; CAMARA, R. C. *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* detection in bean seeds using a semi-selective culture medium. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, p.451-455, 2006.

MIRANDA FILHO, R. J. Etiologia, Epidemiologia e Fisiologia da murcha de *Curtobacterium*. **Tese** (Doutorado em Fitopatologia). UNB – Brasília, 2005, 107p.

OLIVEIRA, M. R. V. O emprego de casas-de-vegetação no Brasil: vantagens e desvantagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.30, p.1049-1060, 1995.

PARRELLA, N. N. L. D. et al. Seleção de famílias com resistência a antracnose, produtividade e grão tipo carioca. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, p.1503-1509, 2008.

PINTO, R. J. B. **Introdução ao Melhoramento Genético de Plantas**. EDUEM, Maringá, 1995, 275p.

POEHLMAN, J. M. **Mejoramiento Genético de las Cosechas**. Limura-Willey, México. 1965, 453p.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. **Genética na Agropecuária**. 4. ed. Lavras: Editora UFLA, 2008. v.1, 463p.

RAMALHO, M. A. P. **Melhoramento genético do feijoeiro visando a resistência as doenças**. 2007. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2007_1/MelFeijoeiro/index.htm>. Acesso em: 05 junho de 2012.

RAVA, C. A.; COSTA, J. G. C. Reação de cultivares de feijoeiro comum à murcha-de curtobacterium. In: Reunião Sul-Brasileira de Feijão, 5.; Reunião Anual Paranaense, **Anais**. Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, p.55-56, 2001.

RENCHER, A. C. **Methods of multivariate Analysis**. 2.ed. New York: A Wiley-Interscience publication, 2002, 740p.

RIBEIRO, N. D. et al. Correlações genéticas de caracteres agromorfológicos e suas implicações na seleção de genótipos de feijão carioca. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.7, p.93-99, 2001.

RIBEIRO, N. D. et al. Alterações em caracteres agromorfológicos em função da densidade de plantas em cultivares de feijão. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.10, p.167-173, 2004.

ROCHA, F. et al. Seleção em populações mutantes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) para caracteres adaptativos. **Revista Biotemas**, v.22, p.19-27, 2009.

ROMEIRO, R. S. **Bactérias fitopatogênicas**. 2.ed. Viçosa: Ed. UFV, 2005, 417p.

ROSAL, C. J. S. et al. Seleção precoce para a produtividade de grãos no feijoeiro. **Bragantia**, v.59, p.189-195, 2000.

SANTOS, C. A.; ARAÚJO, F. P. Aplicação de índices para seleção de caracteres agrônômicos de feijão-de-corda. **Ciência Agrônômica**, v.32, p.78-84, 2001.

SAETTLER, A.W. Diseases caused by bacteria. In: HALL, R. **Compendium of Bean Diseases**. St. Paul: APS, 1991, p.29-32.

SILVA, G. O. et al. Seleção para resistência de genótipos de cenoura aos nematóides-das-galhas. **Horticultura Brasileira**, v.29, 2011.

SHIMADA, M. M.; ARF, O.; SÁ, M. E. Componentes do rendimento e desenvolvimento do feijoeiro de porte ereto sob diferentes densidades populacionais. **Bragantia**, v.59, p.181-187, 2000.

SOUZA, V. L.; MARINGONI, A. C.; KRAUSE-SAKATE, R. Variabilidade genética em isolados de *Curtobacterium flaccumfaciens*. **Summa Phytopathologica**, v.32, p.170-176, 2006.

SOUZA, V. L.; MARINGONI, A. C.; ITO, M. F. Resistência genética em genótipos de feijoeiro a *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. **Summa Phytopathologica**, v.32, p.339-344, 2006a.

SOUZA, V. L.; MARINGONI, A. C. Análise ultraestrutural da interação de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em genótipos de feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v.34, p.318-320, 2008.

TEGLI, S.; SERENI, A.; SURICO, G. PCR – based assay for the detection of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in bean seeds. **Letters in Applied Microbiology**, v.35, p.331-337, 2002.

THEODORO, G. F.; MARINGONI, A. C.; HEMP, S. Distribuição de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em lavouras de feijoeiro comum no Estado de Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira**, 29 (Suplemento): v.39, 2004.

THEODORO, G. F.; MARINGONI, A. C. Effect of potassium levels in the severity of bacterial wilt in common bean cultivars. **Summa Phytopathologica**, v.32, p.139-146, 2006.

UESUGI, C. H.; FREITAS, M. A.; MENEZES, J. R. Ocorrência de *Curtobacterium Flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro, em Goiás e no Distrito Federal. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p.324, 2003.

VALENTINE, J. Accelerated pedigree selection. An alternative to individual plant selection in the normal pedigree breeding method in the self-pollinated cereals. **Euphytica**, v.33, p.943-951, 1984.

VALENTINI, G. et al. *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*: Etiologia, detecção e medidas de controle. **Biotemas**, v.23, p.1-8, 2010.

VALENTINI, G. et al. Herança da resistência em feijão à murcha causada por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, p.1045-1052, 2011.

VIEIRA, C. **Curso de melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, 1964, 245p.

YOKOYAMA, L. P.; BANNO, K.; KLUTHCOUSKI, J. Aspectos socioeconômicos da cultura. In: ARAÚJO, R. S. et al. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: ABPPF, 1996. p.1-21.

WENDLAND, A. et al. **Padrão de sintomas de isolados de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em dois genótipos de feijoeiro (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 33)**. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, Brasil, 2008, 19p.

KIMATI et al. **Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas**. 4.ed. São Paulo, Agronômica Ceres, 2005, 663p.

ANEXOS



Anexo A: Planta de feijão sem sintomas de murcha de curtobacterium após 60 dias de inoculação com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* cff 2634. UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.



Anexo B: Planta de feijão morta em função da murcha de curtobacterium após 60 dias de inoculação com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* cff 2634. UDESC - IMEGEM, Lages/SC, 2012.