

# Estratégias para eficiência da seleção de feijoeiro quanto à resistência à murcha-de-fusário

Mônica Juliani Zavaglia Pereira<sup>(1)</sup>, Magno Antonio Patto Ramalho<sup>(1)</sup> e Ângela de Fátima Barbosa Abreu<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade Federal de Lavras (Ufla), Departamento de Biologia, Setor de Genética e Melhoramento de Plantas, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000 Lavras, MG. E-mail: mjzpereira@yahoo.com.br, magnoapr@ufla.br <sup>(2)</sup>Embrapa Arroz e Feijão/Ufla, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000 Lavras, MG. E-mail: afbabreu@ufla.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi melhorar a eficiência de seleção de linhagens de feijoeiro, para a resistência ao *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. Foram comparados sete métodos de inoculação do patógeno, em quatro linhagens de feijoeiro, em delineamento inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 4x7, com cinco repetições. A reação das linhagens foi avaliada aos 21 dias após a inoculação. Para identificar a melhor época de avaliação da severidade do patógeno, 18 linhagens de feijoeiro foram submetidas à inoculação do patógeno, pela imersão de raízes na suspensão de esporos, com corte do sistema radicular, em delineamento inteiramente ao acaso, com 15 repetições. O progresso da doença foi acompanhado aos 7, 14, 21 e 28 dias após a inoculação. Com dados de experimento de 20 linhagens de feijoeiro com 15 repetições, foi simulado o efeito do número de repetições, que variou de 5 a 15. Os métodos que melhor discriminaram as linhagens foram os de imersão de raízes na suspensão de conídios – com ou sem o corte do sistema radicular. As avaliações da reação à doença devem ser realizadas com pelo menos 21 dias após a inoculação. Cinco repetições são suficientes para classificar as linhagens de feijoeiro, quanto à resistência à murcha-de-fusário.

Termos para indexação: *Fusarium oxysporum*, épocas de avaliação, inoculação, melhoramento genético, severidade.

## Strategies for the efficiency of common bean selection for resistance to fusarium wilt

Abstract – The objective of this work was to improve the efficiency of common bean lines selection for resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. Seven methods of inoculation were compared, using four common bean lines in a randomized complete design, in 4x7 factorial, with five replications. Lines reaction was evaluated at 21 days after inoculation. In order to identify the best date for severity evaluation, 18 common bean lines were inoculated through root immersion in a suspension of spores, with roots cut, in completely randomized design, with 15 replications. The disease progress was measured at 7, 14, 21 and 28 days after inoculation. The effect of number of replications from 5 to 15 was simulated, using data from 15 replications, with 20 common bean lines. The best methods to discriminate the lines were root immersions in a suspension of spores – with or without cut of the roots. Disease evaluation should be done at least 21 days after inoculation. Five replications are sufficient to classify the lines of common bean to fusarium wilt.

Index terms: *Fusarium oxysporum*, evaluation times, inoculation, genetic improvement, severity.

### Introdução

Com o aumento de cultivos sucessivos de feijoeiro no Brasil, sobretudo em áreas irrigadas, alguns problemas fitossanitários têm-se acentuado. Entre eles vem ganhando importância, a murcha-de-fusário – causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* Schlecht. f.sp. *phaseoli* Kendrick e Snyder.

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

A principal alternativa para atenuar as perdas causadas pela murcha-de-fusário é a utilização de cultivares resistentes. Na obtenção de linhagens resistentes, a primeira etapa é identificar fontes de resistência à doença; a segunda é realizar os cruzamentos das linhagens mais promissoras, para incorporar a resistência em cultivares recomendadas suscetíveis ou aumentar a resistência nas linhagens disponíveis; a terceira é selecionar, nas populações segregantes, os indivíduos ou progênies resistentes.

Em quase todo o programa de melhoramento, há a necessidade de se avaliar o comportamento de linhagens ou progênies com relação à reação à resistência à doença. Esse procedimento, embora possa ser realizado em campo, quase sempre é efetuado em casa de vegetação, onde o controle ambiental é mais eficaz. Na avaliação da resistência, há alguns questionamentos como o número de plantas a ser avaliado por linhagem, a metodologia de inoculação e a época de avaliação, entre outros.

Alguns trabalhos foram realizados, para a melhoria do processo de avaliação de linhagens de feijoeiro quanto à murcha-de-fusário. Dois métodos de inoculação foram avaliados por Cavalcanti et al. (2002): o primeiro consistiu na perfuração do solo, ao redor das plantas, com o auxílio de um escapelo e posterior distribuição de 20 mL da suspensão de conídios; o segundo foi o método de imersão de raízes na suspensão de conídios. Os autores verificaram que o melhor método foi o de imersão de raízes.

O acompanhamento do progresso da doença também deve ser realizado, para se inferir sobre a melhor época de avaliação da reação. Piza (1993) verificou que alguns isolados manifestaram sintomas após 15 dias da inoculação. Porém, Cavalcanti et al. (2002) verificaram que a melhor época para avaliação dos sintomas foi aos 30 dias após a inoculação.

Ainda persistem algumas dúvidas sobre o melhor método de avaliação da resistência a essa doença e, que, uma vez solucionadas, podem otimizar a eficiência das avaliações em grande escala nos programas de melhoramento.

O objetivo deste trabalho foi melhorar a eficiência da seleção de linhagens de feijoeiro quanto à resistência ao *F. oxysporum* f.sp. *phaseoli*.

## Material e Métodos

Os experimentos foram realizados no Departamento de Biologia, Setor de Genética e Melhoramento de Plantas, da Universidade Federal de Lavras (Ufla), Lavras, MG (21°58'S, 45°22'W, altitude média de 910 m). A precipitação anual média é de 1.471 mm, com médias de temperatura máxima de 22,6°C e mínima de 15,8°C.

Foram utilizadas quatro linhagens de feijoeiro: duas classificadas anteriormente como suscetíveis (Carioca – testemunha – e CNFC 10443) e duas consideradas resistentes (Carioca MG – testemunha – e BRSMG Majestoso). O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições (uma planta por vaso, por repetição), em esquema fatorial 4x7, com quatro linhagens e sete métodos de inoculação.

Foi utilizado o isolado Fop 01 de *F. oxysporum* f.sp. *phaseoli* (Fop), obtido de plantas de feijoeiro, coletadas no campo experimental da Ufla. Para a produção do inóculo, segmentos do micélio do fungo conservado em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar), foram repicados para placas de Petri, com os meios de BDA e de extrato de semente de feijão-dextrose-ágar (ESFDA) (Ribeiro, 1982). As placas foram incubadas em BOD durante dez dias, a 24°C±1°C, sob iluminação contínua por lâmpadas fluorescentes a aproximadamente 1,2 m das plantas. A suspensão de esporos foi preparada minutos antes de cada inoculação, com a concentração de 1x10<sup>6</sup> conídios mL<sup>-1</sup> (macro e microconídios).

A semeadura das linhagens foi realizada em 10 de junho de 2006, em bandejas de isopor de 128 células, com substrato Plantmax, mantidas em casa de vegetação para germinação e crescimento, de 18 a 26°C, e com irrigação por aspersão em intervalos de 3 e 5 horas, durante a noite. Quando as plantas tinham de nove a dez dias após a semeadura (primeiro par de folhas unifolioladas completamente expandida), foi realizado o experimento. Os seguintes métodos foram avaliados: imersão de raízes na suspensão de conídios (Pastor-Corrales & Abawi, 1987) – as plantas foram retiradas do substrato, o sistema radicular foi lavado em água corrente e 1/3 de seu comprimento foi cortado e mergulhado na suspensão de conídios, durante 5 min; imersão de raízes na suspensão de conídios, sem o corte do sistema radicular – as plantas foram retiradas do substrato, o sistema radicular foi lavado em água corrente e mergulhado na suspensão de conídios durante cinco minutos; deposição de gota (150 µL) da suspensão de conídios na haste, seguida de perfuração com uma agulha;

aspersão da suspensão de conídios nas folhas, até o ponto de escorrimento, e manutenção das plantas em câmara úmida durante 48 horas; injeção de 0,1 mL da suspensão de conídios na haste, com o auxílio de uma seringa; perfuração do solo ao redor do caule, com um canivete, e deposição de 10 mL da suspensão de conídios; perfuração do solo ao redor do caule, e deposição de 30 mL da suspensão de conídios.

Com exceção dos dois primeiros métodos, as plantas foram retiradas da bandeja de isopor, com o substrato, sem lavagem ou danificação do sistema radicular, e foram transplantadas para os vasos (7 cm altura x 10,5 cm de diâmetro) com substrato Plantmax. Em todos os métodos, após os tratamentos, as plantas foram mantidas em sala climatizada, a  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas, durante as avaliações. As plantas foram regadas a cada dois dias e receberam 1 g de adubo da formulação 8-28-16 de NPK, dez dias após a inoculação.

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

As notas de severidade foram submetidas à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste de Scott & Knott (1974), a 5% de probabilidade, com uso do SISVAR (Ferreira, 2004).

Para determinar a melhor época para avaliação da severidade da doença, foram utilizadas 18 linhagens do experimento de valor de cultivo e uso (VCU), conduzido em MG, de 2005 a 2006, pela Universidade Federal de Lavras, Universidade Federal de Viçosa, Embrapa Arroz e Feijão e Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais. As linhagens avaliadas, todas de grão tipo carioca, foram: RC-I-8, MAI-2-5, CV-46, MAI-8-9, CV-55, CNFC-10443, CNFC-8065, CNFC-8959, CNFC-8075, VC-6, VC-7, VC-8, VC-9, VC-10, VC-11, VC-12, BRSMG Majestoso e VC-3. Como

testemunhas, utilizaram-se as cultivares Carioca (susceptível) e Carioca MG (resistente). A semeadura das linhagens ocorreu em 11 de outubro de 2005.

O isolado do fungo, a condução do experimento e o modo de avaliação foram os mesmos descritos anteriormente. O método de inoculação utilizado foi o de imersão de raízes na suspensão de conídios, com corte do sistema radicular. As avaliações foram realizadas aos 7, 14, 21 e 28 dias após a inoculação do patógeno (DAI). Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com 15 repetições (uma planta por parcela). A análise de variância, com parcelas subdivididas no tempo, foi realizada pelo seguinte modelo:

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

em que:  $Y_{ijl}$  é a observação referente à linhagem  $i$ , na repetição  $j$ , na época  $l$ ;  $m$  é a média geral das notas de severidade;  $t_i$  é o efeito da linhagem  $i$ , com  $i = 1, 2, 3, 4$ ;  $r_{j(i)}$  é o efeito da repetição  $j$ , dentro da linhagem  $i$ , com  $j = 1, 2, \dots, 15$ ;  $a_l$  é o efeito da época de avaliação  $l$ , com  $l = 1, 2, 3, 4$ ;  $(at)_{il}$  é o efeito da interação entre épocas de avaliação e linhagens;  $e_{(ijl)}$  é o erro experimental. Foram estimadas, também, as correlações de Spearman entre as épocas de avaliação (Steel et al., 1997). Com os dados da severidade da doença, foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (Campbell & Madden, 1990), pelo seguinte estimador:

$$\sum_i^{n-1} \left( \frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i)$$

em que:  $n$  é o número de avaliações;  $y_i$  e  $y_{i+1}$  são os valores de severidade, observados em duas avaliações consecutivas;  $(t_{i+1} - t_i)$  é o intervalo entre duas avaliações.

Para avaliar o número de repetições, na eficiência da seleção de linhagens de feijoeiro, foram avaliadas 20 linhagens de feijoeiro, com 15 repetições (uma planta por parcela). O procedimento experimental foi o mesmo adotado no item anterior. A semeadura das linhagens ocorreu em 11 de outubro de 2005, a inoculação foi realizada aos dez dias após a semeadura e a avaliação, por meio de escala de notas (Pastor-Corrales & Abawi, 1987), aos 21 DAI, em delineamento inteiramente ao acaso.

Procedeu-se às análises de variância das notas de severidade, com os dados transformados para  $(x + 0,5)^{0,5}$ , tendo-se considerado o número de repetições de 5 a 15. Em cada número de repetições, exceto o 15, foram simuladas até 600 possibilidades. Em cada situação, procedeu-se à análise de variância, estimou-se o coeficiente de variação (CV) e o coeficiente de determinação [ $R^2 = (SQ_{\text{tratamento}}/SQ_{\text{total}})100$ ]. A partir das médias das notas, obtidas pelas linhagens, tendo-se

considerado uma das simulações tomada ao acaso, foram estimadas as correlações classificatórias de Spearman, com todos os diferentes números de repetições considerados (Steel et al., 1997).

## Resultados e Discussão

Verificou-se diferença significativa ( $p \leq 0,01$ ) na severidade da doença, nas linhagens de feijoeiro submetidas à diferentes métodos de inoculação (Tabela 1). Foi observado também que algumas linhagens apresentaram notas de severidade diferentes, de acordo com o método utilizado. Contudo, como era esperado, para a 'Carioca MG', identificada previamente como resistente (Rocha Júnior et al., 1998), não houve diferença significativa nas notas de severidade de doença entre os métodos avaliados, o que confirmou a sua reação anterior. Avaliada previamente como suscetível (Piza, 1993; Nascimento et al., 1995; Rava et al., 1996), pelo método de imersão de raízes na suspensão de conídios, a cultivar Carioca foi considerada resistente em três métodos utilizados neste trabalho (aspersão da suspensão de conídios em folhas, injeção da suspensão na haste e perfuração do solo e deposição de 10 mL da suspensão). O mesmo fato foi constatado para a linhagem CNFC 10443 e a cultivar BRSMG Majestoso, cuja reação não foi a mesma nos diferentes métodos.

Os métodos que consistem no contato direto da suspensão de conídios com as raízes das plantas favorecem a infecção do patógeno, por este ser considerado patógeno de solo, e por sua penetração no hospedeiro ocorrer via sistema radicular. Os métodos de imersão de raízes, com ou sem corte, e a perfuração do solo, com deposição de 30 mL da suspensão, foram os que melhor favoreceram a infecção do patógeno, em razão da maior área de exposição das raízes aos conídios. Quando infectadas por meio destes métodos, as

linhagens expressaram sua reação ao patógeno. Porém, com os métodos de imersão de raízes, podem-se infectar 500 plantas, com 2 L de suspensão; e com o método de perfuração do solo e deposição de 30 mL da suspensão, o mesmo número de plantas é infectado com 15 L de suspensão de conídios, o que torna os métodos de imersão de raízes mais vantajosos na otimização do trabalho.

Em experimento realizado por Cavalcanti et al. (2002), quando as plantas foram infectadas pelo método de imersão de raízes, as cultivares apresentaram reação diferente de resistência ou suscetibilidade, em comparação ao método de perfuração do solo (com deposição de 20 mL da suspensão de conídios). Ainda, conforme os autores, isso revela maior eficiência do método de imersão de raízes, em razão, possivelmente, da maior exposição da área das raízes aos conídios, o que aumenta a possibilidade de penetração do patógeno.

Os demais métodos avaliados – deposição de gota da suspensão na haste, aspersão em folhas, injeção da suspensão na haste e perfuração do solo com deposição de 10 mL da suspensão – não promoveram a infecção do patógeno de forma eficiente, pois este não foi colocado diretamente em contato com a raízes (locais de penetração), à exceção do último método, no qual, porém, a quantidade de suspensão não foi suficiente para promover a infecção. Conforme Bianchini et al. (1997), a penetração do fungo ocorre próximo à ponta das raízes, mas pode ocorrer também por ferimentos e aberturas naturais em raízes. Assim, a diferença de reação de resistência e suscetibilidade apresentada pelas linhagens, quando infectadas por meio de diferentes métodos, é relativa ao local em que a suspensão de conídios foi colocada em contato com a planta; somente quando colocada em contato com as raízes é que ocorre a penetração e infecção do patógeno (Bianchini et al., 1997).

**Tabela 1.** Notas de severidade da murcha-de-fusário, em linhagens de feijoeiro, submetidas à diferentes métodos de inoculação<sup>(1)</sup>.

Métodos de inoculação	Linhagens			
	Carioca	CNFC-10443	Carioca MG	BRSMG Majestoso
Imersão de raízes	8,6a-S	9,0a-S	1,0a-R	4,6a-I
Imersão de raízes, sem corte	8,2a-S	9,0a-S	1,8a-R	5,0a-I
Deposição de gota da suspensão na haste	6,8a-S	1,8d-R	1,4a-R	2,6b-R
Aspersão da suspensão de esporos em folhas	1,0c-R	1,0d-R	1,0a-R	1,0b-R
Injeção da suspensão de esporos na haste	1,8c-R	4,2c-I	1,0a-R	1,0b-R
Perfuração do solo e deposição de 10 mL da suspensão	2,8c-R	5,2b-I	1,4a-R	1,0b-R
Perfuração do solo e deposição de 30 mL da suspensão	4,6b-I	6,2b-S	1,0a-R	3,8a-I
Média	4,8	5,2	1,2	2,7

<sup>(1)</sup>Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 1% de probabilidade; R: resistente; I: intermediário; S: suscetível; coeficiente de variação: 21,32%.

Da mesma forma que os resultados apresentados por Cavalcanti et al. (2002), esta comparação de métodos veio para dar suporte e ratificar a utilização dos métodos de imersão de raízes (com ou sem corte), pois embora sejam severos, ainda são os que melhor discriminam a reação das linhagens. Para verificar o estresse sofrido pelas plantas de feijoeiro aos métodos de inoculação, plantas-testemunha de todas as linhagens foram manipuladas da mesma forma que as plantas com inoculação de patógenos, porém foram infectadas com água destilada e apresentaram crescimento e desenvolvimento normal, não tendo sido influenciadas pelo processo de transplântio.

Com relação às épocas de avaliação da severidade do patógeno, houve diferença significativa ( $p \leq 0,01$ ) para as fontes de variação linhagens, épocas e a interação épocas x linhagens (Tabela 2). A significância desta

última fonte de variação mostra que o comportamento das linhagens não foi o mesmo, nas diferentes épocas de avaliação. Isto indica, em princípio, que existe uma época recomendada, após a inoculação, para que a avaliação da severidade da doença seja realizada.

Verificou-se que aos sete dias após a inoculação do patógeno (DAI), quase nenhum sintoma da doença foi apresentado pelas linhagens infectadas. A partir dos 14 DAI, a severidade da doença aumentou até os 21 DAI e depois se estabilizou (Tabela 3). Piza (1993) e Cavalcanti et al. (2002) também constataram a ocorrência de sintomas (murcha e amarelecimento das plantas) apenas aos 15 DAI. Houve grande diferença de notas de severidade, entre as cultivares resistentes e suscetíveis, o que pode ser comprovado pela área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) apresentada (Tabela 3). As cultivares MAI-8-9, CV-55, CNFC 10443, CNFC 8065, CNFC 8959, VC-6, VC-7 e Carioca foram suscetíveis.

Embora tenha ocorrido interação significativa entre épocas x linhagens, verificou-se que, considerando-se somente as linhagens resistentes a partir dos 14 dias, o comportamento delas foi semelhante (Tabela 3). Quanto às linhagens suscetíveis, houve pequena mudança de comportamento da avaliação aos 14 dias em relação às demais épocas e, aos 21 e 28 DAI, esse comportamento foi semelhante. Esses resultados são corroborados pelas estimativas das correlações classificatórias de Spearman ( $r$ ) (Tabela 4). Não houve correlação significativa entre

**Tabela 2.** Resumo da análise de variância, das notas de severidade à murcha-de-fusário, em linhagens de feijoeiro avaliadas em diferentes épocas.

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

\*\*Significativo a 1% de probabilidade.

**Tabela 3.** Notas de severidade da murcha-de-fusário, em linhagens de feijoeiro, nas diferentes épocas de avaliação, e área abaixo da curva de progresso da doença total (AACPD).

Linhagem	Épocas de avaliação (dias após a inoculação)				AACPD total
	7	14	21	28	
RC-I-8	1,00	1,40	1,40	1,53	28,47
MAI-2-5	1,07	1,60	1,87	2,20	35,70
CV-46	1,20	1,47	1,13	1,47	27,53
MAI-8-9	1,07	2,40	6,13	7,00	87,97
CV-55	1,27	2,20	3,80	4,20	61,13
CNFC-10443	2,80	2,73	8,00	9,00	116,43
CNFC-8065	1,00	2,29	4,64	5,29	70,50
CNFC-8959	1,00	1,60	2,67	3,80	46,67
CNFC-8075	1,00	1,53	1,13	1,13	26,13
VC-6	1,00	1,00	1,53	4,40	36,63
VC-7	1,00	1,93	2,80	5,20	54,80
VC-8	1,00	1,53	1,93	2,60	36,87
VC-9	1,07	1,20	1,07	1,13	23,57
VC-10	1,07	1,53	1,27	1,20	27,53
VC-11	1,00	1,77	2,57	2,64	43,13
VC-12	1,07	1,36	2,36	2,67	39,07
OP-NS-331	1,00	1,43	1,93	2,00	34,00
VC-3	1,14	2,14	2,93	3,47	51,67
Carioca	1,00	3,73	6,13	7,27	98,00
Carioca MG	1,00	1,53	2,07	2,13	36,17

as épocas 7 e 14, 7 e 21 e 7 e 28 DAI. Para as épocas de 21 e 28 dias, o  $r$  foi de 0,91\*\*, ou seja, nessas duas épocas, a classificação das linhagens foi a mesma. Quando a época foi inferior a 21 dias, as notas de severidade das linhagens foram baixas e muito semelhantes, o que não permitiu a discriminação da reação das linhagens à murcha-de-fusário. Nessa condição, as correlações foram de menor magnitude.

Em relação à reação de linhagens de feijoeiro à murcha-de-fusário, as avaliações podem ser realizadas aos 21 dias. Nascimento et al. (1998), Alves-Santos et al. (2002) e Cavalcanti et al. (2002) realizaram avaliações apenas após os 30 dias. Essa redução de nove dias, que aparentemente pode ter pequeno significado, é expressiva, pois flexibiliza o programa de melhoramento para esse carácter, ao reduzir os custos das avaliações.

Um dos principais problemas na avaliação da resistência às doenças é o número de linhagens a ser avaliado, que normalmente é grande, o que exige grande demanda de mão-de-obra. Evidentemente, quanto maior o número de repetições utilizado, maior é o esforço despendido nas avaliações. Contudo, se o número de repetições for pequeno, a precisão pode ser reduzida, o que diminuiria a eficiência da seleção (Ramalho et al., 2005). Por isso é aconselhável identificar-se o número mínimo de repetições a serem utilizadas, sem prejudicar a eficiência do processo seletivo. Para avaliar a eficiência de um experimento, as principais alternativas são as estimativas de precisão experimental. Entre elas,

o coeficiente de variação experimental (CV) é um dos mais utilizados.

Nas simulações realizadas, observou-se que quando a precisão foi avaliada por meio do CV, as estimativas variaram pouco entre os diferentes números de repetições. Por exemplo, com 5 repetições, em 600 simulações, o CV médio foi de 32,4%, e com 15 repetições, foi de 32,5% (Tabela 5). Observou-se que os valores dos limites inferior e superior foram bem semelhantes. Contudo, na avaliação de resistência a doenças, por meio de notas, normalmente a estimativa do CV é alta (Marques Júnior et al., 1997). Mesmo com o CV dessa magnitude, ocorreu uma boa discriminação entre as linhagens, o que é fundamental nesses experimentos. Infelizmente, na maioria dos trabalhos que avaliaram a reação à murcha-de-fusário, os autores não utilizaram a análise de variância, apenas classificaram as linhagens em grupos de reação, de acordo com a nota obtida (Pastor-Corrales & Abawi, 1987; Piza, 1993; Rava et al., 1996; Sala et al., 2006), o que evidentemente pode restringir a comparação entre as médias. Um único relato de análise de variância, neste tipo de avaliação, foi o trabalho realizado por Nascimento et al. (1995).

Outra estimativa proposta como padrão de referência da precisão experimental é o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) (Silva et al., 2002). As estimativas de  $R^2$ , obtidas nas análises de variância das simulações, variaram de 32 a 41,2%. Esses valores evidenciam que o erro associado às notas de severidade é de médio a alto, assim como para o CV. Contudo, em todos os casos, ocorreu sobreposição nas estimativas dos intervalos de confiança, o que indica que elas podem ser consideradas de mesma magnitude, a 5% de probabilidade (Tabela 5).

O efeito de repetições também pode ser avaliado por meio do desempenho médio das linhagens, nas diferentes situações, isto é, na classificação das linhagens. Observou-se que, na média, as duas testemunhas, 'Carioca' e 'Carioca MG', apresentaram o mesmo comportamento contrastante, independentemente do

**Tabela 4.** Estimativas das correlações das notas de severidade da murcha-de-fusário nas diferentes épocas de avaliação.

Épocas de avaliação (dias após a inoculação)	Épocas de avaliação (dias após a inoculação)		
	14	21	28
7	0,18	0,08	0,02
14	-	0,85**	0,71*
21	-	-	0,91**

\*e \*\*Significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

**Tabela 5.** Coeficientes de variação (CV) e de determinação ( $R^2$ ), obtidos nas análises de variância das simulações de 600 experimentos com diferentes números de repetições.

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

<sup>(1)</sup>LI: limite inferior; LS: limite superior.

número de repetições utilizado (Tabela 6). Notou-se que a maioria das demais linhagens avaliadas apresentou resistência à doença. Das 18 linhagens avaliadas, apenas a CV-55, MAI-8-9, CNFC 10443 e CNFC 8065 apresentaram reação intermediária ou suscetível. Constatou-se, novamente, que o número de repetições utilizado não alterou a classificação das linhagens avaliadas.

Para confirmar esta observação, foram estimadas as correlações classificatórias de Spearman ( $r$ ), tendo-se considerado a média das simulações (Tabela 7). Verificou-se que as correlações foram todas significativas ( $p \leq 0,01$ ) e com magnitude superior a 0,72, com predominância de estimativas de  $r$  superiores a 0,92. A correlação entre 5 e 15 repetições foi de 0,82, o que

indica que com 5 repetições, a classificação das linhagens foi equivalente à obtida com 15 repetições.

O número de repetições, adotado pelos pesquisadores que trabalharam na identificação de linhagens resistentes ao *Fusarium* sp., tem sido muito variado. A maioria utiliza mais de 16 plantas – quatro repetições de quatro plantas –, para a avaliação (Nascimento et al., 1995; Buruchara & Camacho, 2000; Alves-Santos et al., 2002). Assim, as informações obtidas neste trabalho de que se podem utilizar 5 repetições (plantas), sem prejuízo da precisão e da classificação das linhagens, é promissora para os programas de seleção de resistência a essa doença. O menor número de repetições possibilita que um maior número de linhagens seja avaliado, com o mesmo dispêndio de recursos anteriormente utilizado.

**Tabela 6.** Notas médias de severidade da murcha-de-fusário, em linhagens de feijoeiro, em razão do número de repetições avaliado.

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

**Tabela 7.** Estimativas das correlações das notas de severidade da murcha-de-fusário, entre os diferentes números de repetições avaliados<sup>(1)</sup>.

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

<sup>(1)</sup>Coeficiente de correlação de Spearman; todas as correlações foram significativas a 1% de probabilidade.

## Conclusões

1. A imersão de raízes na suspensão de esporos, com ou sem o corte do sistema radicular, discrimina melhor as linhagens de feijoeiro, quanto à reação à resistência à murcha-de-fusário.

2. A avaliação da reação das linhagens de feijoeiro à murcha-de-fusário deve ser realizada com pelo menos 21 dias após as inoculações.

3. Cinco repetições permitem discriminar eficientemente as linhagens de feijoeiro, com relação à reação à murcha-de-fusário.

## Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, pela concessão de bolsa de estudos; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo financiamento do projeto.

## Referências

- ALVES-SANTOS, F.M.; CORDEIRO-RODRIGUES, L.; SAYAGUÉS, J.M.; MARTÍN-DOMINGUEZ, R.; GARCÍA-BENAVIDES, P.; DÍAZ-MÍNGUEZ, J.M.; ESLAVA, A.P. Pathogenicity and race characterization of *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* isolates from Spain and Greece. **Plant Pathology**, v.51, p.605-611, 2002.
- BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.G. Doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; RAZENDE, J.A.M. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p.376-399.
- BURUCHARA, R.A.; CAMACHO, L. Common bean reaction to *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*, the cause of severe vascular wilt in Central Africa. **Journal of Phytopathology**, v.148, p.39-45, 2000.
- CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley & Sons, 1990. 532p.
- CAVALCANTI, L.S.; COELHO, R.S.B.; PEREZ, J.O. Utilização de dois métodos de inoculação na avaliação da resistência de cultivares e linhagens de feijoeiro a *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. **Ciência Rural**, v.32, p.1-5, 2002.
- CRAMER, R.A.; BYRNE, P.F.; BRICK, M.A.; PANELLA, L.; WICKLIFFE, E.; SCHWARTZ, H.F. Characterization of *Fusarium oxysporum* isolates from common bean and sugar beet using pathogenicity assays and random-amplified polymorphic DNA markers. **Journal of Phytopathology**, v.151, p.352-360, 2003.
- ECHANDI, E. Amarillamiento del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) provocado por *Fusarium oxysporum* f. *phaseoli*. **Turrialba**, v.17, p.409-410, 1967.
- ELENA, K.; PAPAS, A.C. Pathogenicity and vegetative compatibility of *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in Greece. **Journal of Phytopathology**, v.150, p.495-499, 2002.
- FERREIRA, D.F. **SISVAR software: versão 4.6**. Lavras: DEX/UFLA, 2004. (Software).
- MARQUES JÚNIOR, O.G.; RAMALHO, M.A.P.; FERREIRA, D.F.; SANTOS, J.B. dos. Viabilidade do emprego de notas na avaliação de alguns caracteres do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ceres**, v.44, p.411-420, 1997.
- NASCIMENTO, S.R.C.; MARINGONI, A.C.; KUROSAWA, C. Comportamento de variedades e linhagens de feijoeiro ao *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. **Fitopatologia Brasileira**, v.20, p.458-463, 1995.
- NASCIMENTO, S.R.C.; MARINGONI, A.C.; KUROSAWA, C. Determinação do efeito da concentração e do tipo de inóculo na severidade dos sintomas da murcha-de-fusário em feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v.24, p.8-11, 1998.
- PASTOR-CORRALES, M.A.; ABAWI, G.S. Reactions of selected bean germplasm to infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. **Plant Disease**, v.71, p.990-993, 1987.
- PIZA, S.M. de T. Patogenicidade de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* e reação de germoplasma de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). **Summa Phytopathologica**, v.19, p.156-167, 1993.
- RAMALHO, M.A.P.; FERREIRA, D.F.; OLIVEIRA, A.C. de. **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. 2.ed. Lavras: UFLA, 2005. 322p.
- RAVA, C.A.; SARTORATO, A.; COSTA, J.G.C. Reação de genótipos de feijoeiro comum ao *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* em casa de vegetação. **Fitopatologia Brasileira**, v.21, p.296-300, 1996.
- RIBEIRO, C.A.G. **Resistência varietal do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Meloidogyne javanica* e a *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* e estudos de interação entre esses organismos**. 70p. 1982. Tese (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- ROCHA JÚNIOR, W.C.; SANTOS, J.B.; MENDES-COSTA, M.C. Reação de cultivares e linhagens de feijão a *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. **Fitopatologia Brasileira**, v.23, p.407-409, 1998.
- SALA, G.M.; ITO, M.F.; CARBONELL, S.A.M. Reação de genótipos de feijoeiro comum a quatro raças de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. **Summa Phytopathologica**, v.32, p.286-287, 2006.
- SALGADO, M.O.; SCHWARTZ, H.F. Physiological specialization end effects of inoculum concentration on *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in common beans. **Plant Disease**, v.77, p.492-496, 1993.
- SCOTT, A.J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v.30, p.507-512, 1974.
- SILVA, F.B.; BRUZI, A.T.; RAMALHO, M.A.P. Precisão experimental na avaliação de cultivares de feijão. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 7., Viçosa, 2002. **Anais**. Viçosa: UFV, 2002. p.288-291.
- STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H.; DICKEY, D.A. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach**. 3<sup>rd</sup> ed. Boston: McGraw-Hill Companies, 1997. 666p.

Recebido em 5 de novembro de 2007 e aprovado em 27 de maio de 2008