

# Obtenção de linhagens de feijoeiro resistentes ao crestamento bacteriano comum originadas do cruzamento entre *Phaseolus vulgaris* e *P. acutifolius*

Carlos A. Rava<sup>1</sup>, Joaquim G.C. da Costa<sup>1</sup>, Aloísio Sartorato<sup>1</sup>, Maria J. de O. Zimmermann<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Pesquisador, Bolsista do CNPq., Dr., EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAF), Caixa Postal 179, 74.001-970. Goiânia, GO.

<sup>2</sup> Pesquisador, Dr., EMBRAPA-CNPAF.

Aceito para publicação em 14/02/96.

## RESUMO

Rava, C. A., Costa, J.G.C. da, Sartorato, A., Zimmermann, M.J. de O. Obtenção de linhagens de feijoeiro resistentes ao crestamento bacteriano comum originadas do cruzamento entre *Phaseolus vulgaris* e *P. acutifolius*. **Summa Phytopathologica**, v. 22, p. 33-36, 1996.

Quatro populações na geração  $F_3$ , introduzidas da Universidade da Califórnia, oriundas do cruzamento de *Phaseolus vulgaris* com *P. acutifolius* e retrocruzadas duas vezes para *P. vulgaris*, foram inoculadas em casa de vegetação por incisão da folha primária com uma suspensão de  $5 \times 10^7$  ufc/ml do isolado Xp CNF 15 de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*, selecionando-se plantas do tipo *P. vulgaris* resistentes. Na geração  $F_4$ , utilizando-se a técnica descrita, foi realizada a seleção entre famílias e, na geração  $F_5$ , seleção entre e dentro das famílias. As plantas individuais selecionadas foram utilizadas como progenitores em 125 cruzamentos com linhagens de elite (LM 10363, LM 21124, LM 21322, LM 30013, LM 30074, LM 30303, LM 30923, CNF 178 e A 252) e cultivares recomendadas pela pesquisa (Ouro, Rubi e Rio Doce). As sementes das populações na geração  $F_2$  foram semeadas no campo e as plantas inoculadas

30 dias após a semeadura realizando-se um polvilhamento com areia e, a seguir, pulverizando-as com uma suspensão de  $10^8$  ufc/ml do isolado Xp CNF 15. Após a floração foram eliminadas as plantas que apresentaram maior intensidade de sintomas (seleção massal negativa). Este processo foi repetido nas gerações  $F_3$  e  $F_4$  efetuando-se, nesta última, a seleção de plantas individuais que originaram 346 famílias em  $F_5$ , as quais foram inoculadas e selecionadas a campo, obtendo-se 124 linhagens em  $F_6$ . Estas linhagens foram inoculadas na folha primária em casa de vegetação conforme metodologia descrita e, as vagens das linhagens resistentes, inoculadas mediante injeção de  $2\mu l$  de uma suspensão com  $10^8$  ufc/ml. Dezenas de linhagens cuja intensidade de sintomas foi inferior à testemunha resistente foram colocadas à disposição do Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária e utilizadas em cruzamentos com linhagens resistentes à antracnose.

Palavras-chave adicionais: *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*, resistência genética, cruzamento interespecífico.

## ABSTRACT

Rava, C.A., Costa, J.G.C. da, Sartorato, A., Zimmermann, M.J. de O. Development of dry bean lines resistant to common bacterial blight from a cross between *Phaseolus vulgaris* and *P. acutifolius*. **Summa Phytopathologica**, v. 22, p. 33-36, 1996.

*Four F<sub>3</sub> populations, introduced from the University of California and derived from a cross between Phaseolus vulgaris and P. acutifolius by backcrossing twice to P.vulgaris, were inoculated in the greenhouse, with the isolate Xp CNF 15 of Xanthomonas campestris pv. phaseoli and the resistant plants of the P. vulgaris type were selected. Inoculations were made by clipping the primary leaves with scissors previously dipped in a bacterial suspension of 5x10<sup>7</sup> ufc/ml. In the F<sub>4</sub> generation, selection was made within the families while, in the F<sub>5</sub>, it was done between and within families. The individual plants selected were utilized as parents in 125 crosses using elite breeding lines (LM 10363, LM 21124, LM 21322, LM 30013, LM 30074, LM 30303, LM 30923, CNF 178 and A 252) and improved bean cultivars (Ouro, Rubi and Rio Doce). The F<sub>2</sub> populations were inoculated in the field, 30 days after planting by dusting with sand followed by spraying with a bacterial suspension (10<sup>8</sup> ufc/ml) of the isolate Xp CNF 15. After flowering, the plants showing*

*severe disease symptoms were eliminated (negative mass selection). The same process was repeated in F<sub>3</sub> and F<sub>4</sub> generations. The individual plant selection resulted in 346 F<sub>5</sub> families. One hundred and twenty four F<sub>6</sub> lines were obtained from the F<sub>5</sub> by adopting the same inoculation and selection procedure. In the greenhouse, selected lines were evaluated again on the primary leaf by using the above described method and the pods of resistant lines were inoculated in the laboratory by injecting of 2μl of 10<sup>8</sup> ufc/ml of the bacterial suspension. Sixteen lines exhibiting less disease symptoms than the resistant control were obtained and these were made available to the National System of Agricultural Research. They were also utilized in crosses with lines resistant to anthracnose.*

*Additional Keywords:* *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*, genetic resistance, interspecific cross.

O crestamento bacteriano comum (CBC), incitado por *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye, tem sido encontrado em quase todas as regiões produtoras de feijão do país, apresentando grande importância no norte do Estado do Paraná, no Estado do Rio de Janeiro e no Brasil Central, principalmente no plantio das “água” (18).

Um dos meios ideais para a sobrevivência da bactéria é a semente, em cujo interior pode permanecer viável durante muitos anos, constituindo importante veículo de disseminação à curta e o principal à longa distância (19).

O controle químico do CBC, em geral, tem sido pouco eficiente (8, 9, 17), e as medidas de controle cultural, incluindo a rotação de culturas e o emprego de sementes livres de patógenos, são de aplicabilidade bastante restrita em regiões onde prevalece o cultivo de subsistência.

Portanto, a obtenção de cultivares comerciais com um grau adequado de resistência proporciona uma proteção adicional dentro de um sistema integrado de controle, visando a redução das perdas ocasionadas pela doença. O melhoramento para resistência ao CBC tem apresentado dificuldades devido à natureza quantitativa do caractere (4, 7, 12, 14). Entretanto, a constatação da existência do efeito gênico aditivo para a resistência permite predizer alta eficiência na seleção, uma vez que esse efeito pode ser fixado durante a homozigose numa espécie autógama como o feijoeiro comum (14).

Uma das limitações dos programas de melhoramento para resistência ao CBC resulta da estreita base genética das fontes de resistência utilizadas, restringindo-se principalmente às linhagens Great Northern (GN) Nebraska 1 Sel. 27 (2, 3, 5, 11) e Tlalnepantla 64 (PI 207.262) (15). Por este motivo, foi conduzido um trabalho de seleção e hibridação utilizando populações segregantes do cruzamento interespecífico de *Phaseolus vulgaris* com *P. acutifolius*, com a finalidade de se obter linhagens resistentes ao patógeno.

## MATERIAL E MÉTODOS

Quatro populações na geração  $F_3$ , oriundas do cruzamento interespecífico de *Phaseolus vulgaris* com *P. acutifolius*, retrocruzadas duas vezes para *P. vulgaris*, e cujos últimos progenitores recorrentes estão especificados no Quadro 1, foram introduzidas da Universidade da Califórnia. As sementes destas populações foram semeadas em copos descartáveis com 300 ml de capacidade e onze dias após a semeadura, as plântulas foram inoculadas mediante incisão das folhas primárias com uma tesoura mergulhada em uma suspensão de  $5 \times 10^7$  ufc/ml do isolado Xp CNF 15 (13). Nove dias após a inoculação, as plantas foram avaliadas utilizando-se uma escala variando de 0 a 6 graus (13). As plantas  $F_5$  selecionadas foram transplantadas para vasos e mantidas em telado até a obtenção das sementes. Na geração  $F_4$  utilizando-se a técnica anteriormente descrita, foi realizada a seleção entre famílias, e na geração  $F_5$ , seleção entre e dentro das famílias. As plantas  $F_5$  selecionadas foram utilizadas como progenitores em cruzamentos com as linhagens de elite LM 10363, LM 21124, LM 21322, LM 30013, LM 30074, LM 30923, CNF 178 do Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão-CNPAP, a linhagem A 252 do Centro Internacional de Agricultura Tropical-CIAT e as cultivares recomendadas, Ouro, Rubi e Rio Doce.

As sementes das populações na geração  $F_2$  foram semeadas no campo e as plantas inoculadas 30 dias após, aplicando um

jato de areia com um polvilhador costal motorizado com a finalidade de provocar ferimentos e, a seguir, pulverizando-as com uma suspensão de  $10^8$  ufc/ml do isolado Xp CNF 15 (10). Após a floração, foram eliminadas as plantas com intensidade de sintomas superior ao grau 5 (seleção massal negativa) numa escala de nove graus (16) procedendo-se, posteriormente, a colheita de uma vagem por planta para reconstituir as populações. O mesmo processo de seleção foi realizado nas gerações  $F_3$  e  $F_4$ , porém, as sementes das plantas das populações na geração  $F_3$  foram subdivididas por cor do grão e procedeu-se a seleção de plantas individuais, nas subpopulações da geração  $F_4$ .

Quadro 1. Número de plantas selecionadas nas gerações  $F_3$ ,  $F_4$  e  $F_5$  de populações oriundas de cruzamentos interespecíficos de *Phaseolus vulgaris* com *P. acutifolius* retrocruzados para *P. vulgaris*.

Último progenitor recorrente	RC <sub>2</sub>					
	SS	PS	FP	F <sub>4</sub>	F <sub>5</sub>	F <sub>5</sub>
Dark Red Kidney	115	31	31	27	17	38
Sutter Pink	87	25	25	19	18	33
Small White 59	173	20	20	8	4	5
Gloria	131	14	14	14	5	2

RC<sub>2</sub> = Segundo retrocruzamento. SS = Semente semeada. PS = Planta selecionada.

FP = Família plantada. FS = Família selecionada.

As sementes das famílias na geração  $F_5$  foram semeadas no campo em linhas de 2m, intercalando-se, a cada duas, uma da cultivar suscetível Rosinha G2, que foram inoculadas com o isolado Xp CNF 15, como descrito anteriormente, e avaliadas quanto à severidade do CBC estimando-se a percentagem de área foliar afetada (1). Também foi avaliada, sob condições de infecção natural, a intensidade de sintomas de ferrugem (*Uromyces phaseoli* var. *typica*), mancha angular (*Isariopsis griseola*) e, por ocasião da colheita, o tipo de planta (arquitetura) e a adaptação. Com base na reação às doenças e nas características agronômicas, foram selecionadas linhagens na geração  $F_6$ .

Estas linhagens foram inoculadas nas folhas primárias em casa de vegetação, conforme a metodologia descrita anteriormente (13). As que apresentaram intensidade de sintomas inferior à testemunha resistente PI 207.262 foram posteriormente inoculadas nas vagens mediante a injeção, entre os grãos, de 2 µl de uma suspensão com  $10^8$  ufc/ml do isolado Xp CNF 15 e mantidas em câmara úmida durante três dias a 28°C e 12 horas de iluminação. A avaliação foi realizada três dias após a inoculação medindo-se com paquímetro dois diâmetros perpendiculares de cada lesão. Foi calculada a relação entre a intensidade de sintomas apresentados pelas linhagens e a testemunha resistente (L/TR).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o processo de seleção das populações introduzidas realizada nas gerações  $F_3$ ,  $F_4$  e  $F_5$  foram eliminados os indivíduos

com nota superior ao grau 2 e os que apresentavam folhas lanceoladas do tipo feijão tepari (*P. acutifolius*). O número de plantas inoculadas e selecionadas nestas gerações consta no Quadro 1.

As etapas de seleção nas gerações segregantes e famílias provenientes dos cruzamentos entre as plantas  $F_5$  selecionadas com as linhagens de elite e as cultivares recomendadas são apresentadas, em forma resumida, no Quadro 2. Das 124 populações  $F_2$  obtidas, cinco foram eliminadas por apresentarem plantas tipo tepari e 33 por suscetibilidade ao CBC.

**Quadro 2.** Etapas de seleção nas populações, famílias e linhagens, provenientes dos cruzamentos entre as plantas selecionadas do cruzamento interespecífico entre *P. vulgaris* e *P. acutifolius* com linhagens de elite do CNPAF, CIAT e cultivares recomendadas.

Geração	Semeadura	Atividades
$F_2$	124 populações	Inoculação com <i>X. campestris</i> pv. <i>phaseoli</i> na folha. Eliminadas cinco populações com tipo tepari. Seleção massal negativa. Eliminadas 33 populações por suscetibilidade ao CBC. Selecionadas 86 populações.
$F_3$	86 populações	Inoculação com <i>X. campestris</i> pv. <i>phaseoli</i> na folha. Eliminadas 33 populações por suscetibilidade ao CBC. Seleção massal negativa. Selecionadas 53 populações e divididas em 152 subpopulações por tipo de grão.
$F_4$	152 subpopulações	Inoculadas com <i>X. campestris</i> pv. <i>phaseoli</i> na folha. Eliminadas 52 subpopulações suscetíveis ao CBC. Seleção massal negativa. Avaliação para tipo de planta e adaptação. Seleção individual de 346 plantas.
$F_5$	346 famílias	Inoculação com <i>X. campestris</i> pv. <i>phaseoli</i> na folha. Avaliação para CBC, MA, FE, tipo de planta e adaptação. Eliminadas 222 famílias. Selecionadas 124 linhagens.
$F_6$	124 linhagens	Inoculadas com <i>X. campestris</i> pv. <i>phaseoli</i> na folha primária. Eliminadas 83 linhagens suscetíveis. Selecionadas 41 resistentes.
	41 linhagens	Inoculação com <i>X. campestris</i> pv. <i>phaseoli</i> na vagem. Eliminadas 25 suscetíveis. Selecionadas 16 resistentes.

CBC = Crestamento bacteriano comum. MA = Mancha angular. FE = Ferrugem.

Na geração  $F_1$ , foram eliminadas 33 populações por suscetibilidade ao CBC, e as sementes das 53 populações selecionadas foram divididas por tipo de grão em 152 subpopulações  $F_4$ . Destas, foram eliminadas 52 subpopulações por suscetibilidade ao CBC, e dentro das subpopulações remanescentes foram selecionadas 346 plantas.

Na geração  $F_5$ , foram eliminadas 222 famílias por suscetibilidade ao CBC, mancha angular, ferrugem, tipo de planta indesejável e má adaptação, sendo selecionadas 124 linhagens. Destas, após inoculação na folha primária com *X. campestris* pv. *phaseoli*, foram selecionadas 41 linhagens que apresentaram intensidade de sintomas inferior à testemunha resistente Tlalnepantla 64. Posteriormente, as vagens destas linhagens foram inoculadas, sendo selecionadas 16 com intensidade de sintomas inferior à testemunha resistente Tlalnepantla 64.

No Quadro 3 encontra-se a reação ao CBC, em folha e vagem, destas 16 linhagens com relação à testemunha resistente, o tipo de grão, a avaliação do tipo de planta, da adaptação e a reação sob condições de ocorrência natural de ferrugem e mancha angular.

**Quadro 3.** Avaliação das linhagens provenientes do cruzamento interespecífico de *Phaseolus vulgaris* com *P. acutifolius* em relação ao crescimento bacteriano comum, ferrugem, mancha angular, tipo de grão e adaptação.

Identificação	Tipo do grão	Avaliação no campo <sup>1</sup>					CBC:L/TR	
		CBC	FEI	MAF	TP	AD	Folha	Vagem
CB 911924	PI	2	1	2	6	5	0,48	0,00
CB 911884	PI	1	1	3	4	6	0,62	0,00
CB 911823	PI	1	1	4	4	6	0,64	0,00
CB 911814	PI	1	1	6	4	7	0,71	0,00
CB 911852	PI	3	1	5	6	6	0,76	0,00
CB 911821	PI	1	1	6	5	6	0,86	0,00
CB 912001	PI	3	1	5	6	6	0,88	0,00
CB 911791	P	4	1	3	5	5	0,90	0,00
CB 911898	PI	1	1	5	5	6	0,90	0,00
CB 912018	PI	4	1	3	5	5	0,92	0,00
CB 911877	P	1	1	4	5	6	0,94	0,00
CB 911790	P	2	1	2	5	6	0,95	0,00
CB 911809	PI	1	3	3	6	6	0,97	0,00
CB 911921	PI	1	3	2	4	6	0,37	0,00
CB 911994	PI	4	1	2	6	6	0,66	0,47
CB 911889	PI	1	1	4	5	6	0,68	0,48

<sup>1</sup> Avaliação de doenças e características agronômicas segundo Costa et al., 1990 (1).

CBC = Crestamento bacteriano comum. FEI = Ferrugem, intensidade. MAF = Mancha angular na folha. TP = Tipo de planta. AD = Adaptação. L/TR = Relação entre a intensidade de sintomas apresentados pelas linhagens e a testemunha resistente. PI = Pintado. P = Preto.

Existem em cultivo no estado do Paraná, as cultivares IAPAR 14, IAPAR 16 e IAPAR 31 resistentes ao CBC. Segundo MODACIRINO (1995)<sup>1</sup>, a cultivar GN Nebraska 1 Sel. 27 faz parte da genealogia destas cultivares.

<sup>1</sup> Comunicação pessoal.

A cultivar GN Nebraska 1 Sel. 27 (6) foi selecionada entre progêneres do cruzamento interespecífico de *P. vulgaris* com *P. acutifolius* (7). As linhagens oriundas do Centro Internacional de Agricultura Tropical, BAT 614 e BAT 93, possuem na genealogia dois genótipos resistentes ao CBC: Tlalnepantla 64 (5) e GN Tara (2). A cultivar GN Tara foi selecionada por COYNE & SCHUSTER (2) sendo sua resistência proveniente da 'Great North Nebraska 1 Sel. 27'. Embora não seja conhecida a identidade da entrada de feijão tepari utilizada por HONMA (7) no cruzamento interespecífico que originou a cultivar GN Nebraska 1 Sel. 27, existe a possibilidade de que a mesma seja geneticamente diferente da utilizada na Universidade da Califórnia e que deu origem às linhagens resistentes ao CBC obtidas no presente trabalho. Este fato poderá ser esclarecido em estudos da hereditariedade da resistência ao CBC que se encontram em andamento no CNPAF.

No CNPAF, as 16 linhagens resistentes ao CBC estão sendo utilizadas em cruzamentos com linhagens resistentes à antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*), com o objetivo de se obter linhagens com resistência a estes dois patógenos. Estas linhagens foram também colocadas à disposição do Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. COSTA, J.G.C. da, RAVA, C.A., SARTORATO, A., PURISSIMO, J.D. **Catálogo de linhagens de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) do CNPAF**: reação às principais doenças e avaliação de características agronômicas. Goiânia: EMBRAPA-CNPAF, 1990. 31p.
02. COYNE, D.P., SCHUSTER, M.L. 'Tara', a new Great Northern dry bean variety tolerant to common blight bacterial disease. Lincoln: University of Nebraska, 1969. 10p. (Agricultural Experiment Station Bulletin, 506).
03. COYNE, D.P., SCHUSTER, M.L. 'Jules', a Great Northern dry bean variety tolerant to common blight bacterium. **Plant Disease Reporter**, Washington, v.54, p.557-559, 1970.
04. COYNE, D.P., SCHUSTER, M.L. Breeding and genetics studies of tolerance to several bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Euphytica**, Dordrecht, v.23, p.195-204, 1974.
05. COYNE, D.P., SCHUSTER, M.L., AL-YASIRI, S. Reaction studies of bean species and varieties to common blight and bacterial wilt. **Plant Disease Reporter**, Washington, v.47, p.534-537, 1963.
06. COYNE, D.P., SCHUSTER, M.L., HARRIS, L. Inheritance, heritability, and response to selection for common blight (*Xanthomonas phaseoli*) tolerance in *Phaseolus vulgaris* field bean crosses. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.86, p.373-379, 1965.
07. HONMA, S. A bean interspecific hybrid. **Journal Heredity**, Baltimore, v.47, p.217-220, 1956.
08. MARINGONI, A.C. Controle químico do crescimento bacteriano comum do feijoeiro e seu efeito na transmissão de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye pelas sementes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.25, p.1151-1156, 1990.
09. MARLAT, R.B. Effectiveness of streptomycin for control common bacterial blight. **Plant Disease Reporter**, Washington, v.39, p.13-214, 1965.
10. MELO, P.E., FARIA, J.C. Inoculação de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) com *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*, em campo. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 2, 1987, Goiânia. **Resumos...** Goiânia: EMBRAPA-CNPAF, 1987. p. 88.
11. OLIARI, L., MENEZES, J.R., de, MOHAN, S.T., KRANZ, W.M., RIBEIRO, P.G.F., MODA-CIRINO, V. IAPAR-14 Nova cultivar de feijoeiro. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 2, 1987, Goiânia. **Resumos...** Goiânia: EMBRAPA-CNPAF, 1987. p. 105.
12. POMPEU, A.S., CROWDER, L.V. Inheritance of resistance of *Phaseolus vulgaris* L. (dry beans) to *Xanthomonas phaseoli* Dows. (common blight). **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.24, p.1055-1063, 1973.
13. RAVA, C.A. Patogenicidade de isolamentos de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, p.445-448, 1984.
14. RAVA, C.A., ZIMMERMANN, M.J.O., ROMEIRO, R.S. Inheritance of resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye in *Phaseolus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.4, p.709-727, 1987.
15. RAVA, C.A., COSTA, J.G.C. da, SARTORATO, A. Obtenção e seleção de linhagens de *Phaseolus vulgaris* resistentes à *Xanthomonas campestris* e à raça alfa-Brasil de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Ciência e Prática**, Lavras, v.16, p.381-388, 1992.
16. RAVA, C.A., COSTA, J.G.C. da, SARTORATO, A., PURISSIMO, J.D. **Catálogo do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.):** reação de linhagens e cultivares às principais doenças. Goiânia: EMBRAPA-CNPAF, 1988. 122p.
17. VENETTE, J.R., JONES, D.A. Control of common bacterial blight on pinto beans. **Fungicide and Nematicide Tests**, Raleigh, v.37. p.63, 1982.
18. VIEIRA, C. **Doenças e pragas do feijoeiro**. Viçosa: UFV, 1983. 231p.
19. ZAUMEYER, W.J., THOMAS, H.R. **A monographic study of bean diseases and methods for their control**. Washington: USDA, 1957. 255p. (Technical Bulletin, 868).