



SAMIRA SANTIAGO LIBRELON

**ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA A
AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DA MANCHA-
ANGULAR EM FOLHAS PRIMÁRIAS DO
FEIJOEIRO**

LAVRAS - MG

2013

SAMIRA SANTIAGO LIBRELON

**ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA A AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE
DA MANCHA-ANGULAR EM FOLHAS PRIMÁRIAS DO FEIJOEIRO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Elaine Aparecida de Souza

LAVRAS - MG

2013

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Libreton, Samira Santiago.

Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha-
angular em folhas primárias do feijoeiro / Samira Santiago Libreton.
– Lavras : UFLA, 2013.

65 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2013.

Orientador: Elaine Aparecida de Souza.

Bibliografia.

1. *Pseudocercospora griseola*. 2. Patometria. 3. Melhoramento
genético de plantas. 4. *Phaseolus vulgaris*. I. Universidade Federal
de Lavras. II. Título.

CDD – 631.523

SAMIRA SANTIAGO LIBRELON

**ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA A AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE
DA MANCHA-ANGULAR EM FOLHAS PRIMÁRIAS DO FEIJOEIRO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 27 de fevereiro 2013

Dr. Edson Ampélio Pozza	UFLA
Dra. Ângela de Fátima Barbosa Abreu	EMBRAPA
Dr. Trazilbo José de Paula Júnior	EPAMIG

Dra. Elaine Aparecida de Souza
Orientadora

LAVRAS - MG

2013

A Deus, por me dar força para alcançar os meus objetivos e nunca me deixa
desanimar.

OFEREÇO

Aos meus pais, Paulo Rberto e Marlene e as minhas irmãs, Tamires e Fernanda.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade de cursar o mestrado.

A Deus, por estar sempre ao meu lado, me iluminando e ajudando a vencer os obstáculos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

À professora e orientadora Dra. Elaine Aparecida de Souza pelos ensinamentos transmitidos ao longo do curso.

Aos membros da banca examinadora, Dra. Ângela, Dr. Trazilbo e Dr. Edson Pozza.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, César Brasil, João Bosco, Magno Ramalho, João Candido, José Airton e Elaine, pelos conhecimentos transmitidos.

Aos colegas de pós-graduação, pela convivência e amizade.

Aos companheiros de Laboratório da UFLA, Quélén, Suelen, Larissa, Tânia, Mariana, Lucas e Rafael pelo apoio e amizade.

Aos colegas do GEN (Núcleo de estudo de Genética), Fernanda, Camila, Mariana, Quéllen, Paula, Indalécio, Renato, Breno, Kaio, Vinicius, Luíz Gustavo, Bráulio, Samuel e Gustavo, pelo auxílio na avaliação do meu trabalho.

Aos amigos da pós-graduação, Camila, Fernanda, Amanda, Laiane, Bruna, Suellen, Rafael, Carlão, Renato, Zé Maria, Kaio, pela boa convivência e amizade.

Aos meus pais, Paulo Roberto e Marlene, por todo apoio e confiança em mim depositados em todos os momentos da minha vida, além dos muitos ensinamentos e exemplos de ética, humildade e honestidade.

As minhas irmãs, Tamires e Fernanda, pelo companheirismo e amor.

A todos que de alguma forma fizeram parte de minha vida nesses últimos dois anos.

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de desenvolver uma escala diagramática para avaliar a severidade da mancha-angular em folhas primárias do feijoeiro, visando otimizar a avaliação da reação do feijoeiro à mancha-angular. Foi desenvolvida e validada uma escala diagramática com nove níveis de severidade: 0%; 0,1 a 0,5%; 0,6 a 4,0%; 4,1 a 7,0%; 7,1 a 16%; 16,1 a 26%; 26,1 a 32%; 32,1 a 38% e 38 a 60%. A validação da escala foi realizada por 14 avaliadores, sendo cinco avaliadores com experiência e nove sem experiência na avaliação da severidade da doença. Esses avaliadores estimaram a severidade de 40 folhas de feijoeiro com diferentes níveis de severidade da doença, mensurados previamente por meio do *software Quant*®. A acurácia e a precisão de cada avaliador foram determinadas por regressão linear simples, entre a severidade real, mensurada eletronicamente, e a estimada pelo avaliador, utilizando os *softwares* estatísticos SAS® e R. Após a validação da escala foi realizado outro experimento visando comparar os resultados das avaliações da severidade da mancha-angular realizada pela escala do Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) e pela escala proposta no trabalho. Sem a escala, a maioria dos avaliadores subestimou a severidade da doença. Com a escala, os avaliadores com e sem experiência obtiveram melhores níveis de acurácia e precisão, com os erros absolutos inferiores a 5%. Os avaliadores com experiência apresentaram 88% e 87%, enquanto os avaliadores sem experiência apresentaram 92% e 91% de repetibilidade e reprodutibilidade das estimativas, respectivamente. Em relação à comparação entre as duas escalas, pode-se observar que houve concordância entre elas, exceto para a linhagem ESAL 686. A escala diagramática proposta mostrou-se efetiva na avaliação da severidade da mancha-angular em folhas primárias do feijoeiro. Sua utilização permitirá o emprego da avaliação da reação em folhas primárias do feijoeiro à *P.griseola* visando identificar novas fontes de resistência em bancos de germoplasma e também de progênies superiores nos programas de melhoramento genético.

Palavras-chave: *Pseudocercospora griseola*. Melhoramento genético de plantas. *Phaseolus vulgaris*. Patometria.

ABSTRACT

This study was conducted with the objective to develop a diagrammatic scale to assess the angular leaf spot severity in primary leaves of bean plants, aim to optimize the evaluation of the bean reaction to angular leaf spot. A diagrammatic scale was developed and validated with nine severity levels: 0%, 0.1 to 0.5%, 0.6 to 4.0%, 4.1 to 7.0%, 7.1 to 16%; 16.1 to 26%, 26.1 to 32%, 32.1 to 38% and 38 to 60%. Scale validation was performed by 14 assessors, five assessors with experience and nine inexperienced in assessing disease severity. These assessors estimated the severity of 40 bean leaves with different levels of disease severity, previously measured using the *Quant*® software. The accuracy and precision of each assessor were determined by simple linear regression among the real severity, measured electronically, and estimated by assessors, using the *SAS*® and R statistical software. After scale validation was conducted another experiment in order to compare the severity evaluations results of angular leaf spot conducted by CIAT scale and the proposed scale in this work. Without the scale, the majority of the assessors underestimated the disease severity. With the scale, the assessors with and without experience obtained better accuracy and precision levels, with absolute errors less than 5%. The assessors with experience showed 88% and 87%, while the inexperienced assessors presented 92% and 91% of repeatability and reproducibility of the estimates, respectively. Regarding the comparison between the two scales, can be seen that there was agreement among them, except for the ESAL 686 lineage. The proposed diagrammatic scale proved to be effective in angular leaf spot severity assessing in primary leaves of bean. Its use will enable the assessment use of reaction in primary leaves of bean to *P.griseola* aim to identify new sources of resistance in germplasm banks and also superior progenies in breeding programs.

Keywords: *Pseudocercospora griseola*. Crop Breeding. *Phaseolus vulgaris*. Pathometry.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1	Cultura do feijoeiro	12
2.2	Etiologia	13
2.3	Epidemiologia e sintomatologia da mancha-angular do feijoeiro .	14
2.4	Controle da mancha-angular	16
2.5	Controle genético da mancha-angular	16
2.6	Melhoramento do feijoeiro visando resistência à mancha-angular	18
2.7	Quantificação de doenças	20
2.7.1	Escalas utilizadas para a avaliação da severidade da mancha-angular	22
2.7.2	Elaboração de escala diagramática	26
2.7.3	Validação de escala diagramática	26
3	MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1	Material experimental	28
3.2	Condução dos experimentos	29
3.2.1	Metodologia de inoculação	29
3.2.2	Elaboração da escala diagramática	29
3.2.3	Validação da escala diagramática	30
3.3	Comparação da escala do <i>CIAT</i> (1987) com a escala proposta no trabalho	32
3.3.1	Metodologia de inoculação proposta pelo <i>CIAT</i> (1987)	32
3.3.2	Metodologia de inoculação proposta por Pereira, Abreu e Souza (2011)	33
4	RESULTADOS	34
5	DISCUSSÃO	47
6	CONCLUSÃO	52
	REFERÊNCIAS	53

1 INTRODUÇÃO

O cultivo do feijoeiro em diversas safras permitiu o aumento na produção, no entanto, proporcionou o aumento da incidência da severidade de algumas doenças, entre elas, a mancha-angular. O agente etiológico é o fungo *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous e U. Braun. A mancha-angular ocorre em praticamente todo o país, durante todo o ano, principalmente sob temperaturas em torno de 24°C, em cultivo irrigado (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 1997).

As principais medidas de controle da mancha-angular são: uso de sementes sadias, eliminação dos restos culturais infestados, rotação de cultura, aplicação de fungicidas foliares e plantio de cultivares resistentes (SARTORATO, 2002).

O desenvolvimento de cultivares resistentes a doenças é um dos principais objetivos dos programas de melhoramento genético, sendo seu sucesso dependente da utilização de metodologias precisas na avaliação da severidade das doenças e na seleção das linhagens mais promissoras. No feijoeiro a avaliação da severidade da mancha-angular é realizada frequentemente com o uso de escalas diagramáticas e/ou descritivas. Essas escalas são baseadas na inoculação e na avaliação das plantas de feijoeiro no estágio de desenvolvimento V3, ou seja, quando as duas primeiras folhas trifolioladas estão completamente expandidas. Nesse procedimento, as plantas de feijoeiro permanecem mais tempo na casa de vegetação, o que aumenta o risco de infecção por outros patógenos. Além disso, necessita-se de grande quantidade de inóculo, sendo um fator restritivo, pois muitos isolados de *P.griseola* apresentam baixa taxa de esporulação, o que compromete a sua utilização nos testes de patogenicidade nos programas de melhoramento (SANGLARD et al., 2009). Uma metodologia precoce para avaliar a severidade

da mancha-angular tem sido proposta (PEREIRA; ABREU; SOUZA, 2011). Nesse método a inoculação e a avaliação da severidade são realizadas nas plantas de feijoeiro com folhas primárias (estádio V2), utilizando menor quantidade de inóculo e tempo no teste de patogenicidade. No entanto, não há relatos de uma escala que possa ser utilizada na avaliação da severidade da mancha-angular no estágio V2. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi desenvolver uma escala diagramática para avaliar a severidade da mancha-angular em folhas primárias do feijoeiro, visando otimizar a avaliação da reação do feijoeiro à mancha-angular.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cultura do feijoeiro

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é um dos mais importantes constituintes da dieta do brasileiro, por ser uma excelente fonte proteica, além de possuir bom conteúdo de carboidratos e de ser rico em ferro (PIRES et al., 2005).

O Brasil é o maior produtor mundial de feijão, sendo o Paraná e Minas Gerais, o primeiro e segundo maiores Estados produtores respectivamente. O cultivo dessa leguminosa é realizado em três safras, sendo a primeira denominada “safra das águas”, a segunda “safra da seca” e a terceira “safra de outono/inverno”. Segundo dados da Companhia nacional de abastecimento - CONAB (2012), considerando a área semeada e a produtividade esperada nas três safras, a produção total de feijão na safra 2011/12 deverá chegar a 2,90 milhões de toneladas, 22,3% menor que na safra anterior. Essa queda é consequência dos problemas climáticos que ocorreram durante o período de estabelecimento e do ciclo produtivo do feijão de primeira safra, esses problemas fizeram os produtores migrarem parte da lavoura para outros cultivos, como milho e a soja.

Além dos fatores climáticos a produtividade pode ser influenciada por vários outros fatores, dentre os quais, as doenças são consideradas um dos mais importantes. A cultura do feijoeiro é afetada por mais de 45 diferentes doenças que podem ocorrer no Brasil (BORÉM, 1998), sendo a antracnose, mancha-angular, mofo branco, ferrugem e crestamento bacteriano comum, algumas das doenças de maior importância na cultura.

Até o final da década de 80, a mancha-angular era pouco considerada pelos produtores, uma vez que causava danos apenas no final do ciclo da cultura.

Porém, com o plantio extensivo do feijoeiro, com cultivares de base genética restrita de resistência à doença e o uso de irrigação nas lavouras, a mancha-angular proliferou, e hoje é uma das doenças de maior impacto nas plantações de feijão (PAULA JÚNIOR; ZAMBOLIM, 2006).

No cultivo do feijoeiro da safra da seca tem-se observado maior severidade da mancha-angular, porém, em algumas regiões, tem ocorrido em todas as safras, devido às condições climáticas favoráveis (ITO et al., 2002).

A mancha-angular pode ser encontrada em mais de 60 países do mundo, incluindo o Brasil, levando a perdas de até 80% da produção, dependendo da suscetibilidade das cultivares, das condições ambientais e do estágio de desenvolvimento da cultura (MAHUKU et al., 2003; SARTORATO, 2004; SINGH; SCHWARTZ, 2010).

2.2 Etiologia

O fungo foi descrito primeiramente por Saccardo na Itália e foi nomeado *Isariopsis griseola* Sacc. (SACCARDO, 1878). Posteriormente, Ferraris (1909) propôs uma nova combinação incluindo-o no gênero *Phaeoisariopsis*. Com base em dados morfológicos e de filogenia molecular, *Phaeoisariopsis* é considerado gênero anamórfico de *Mycosphaerella* (CROUS et al., 2001). Crous, Kang e Braun (2006), analisando a sequência do DNA que codifica para a subunidade menor do ribossomo, revelaram que não é possível distinguir *Phaeoisariopsis* de outros dois gêneros de hifomicetos anamórficos de *Mycosphaerella*: *Pseudocercospora* e *Stigmina*. Apesar de *Phaeoisariopsis* ser um nome que antecede *Pseudocercospora*, *Phaeoisariopsis* fora reduzido à espécie tipo, com a maioria das outras espécies transferidas para *Passalora* ou *Pseudocercospora*, reforçando ainda mais a conservação do nome *Pseudocercospora*. Uma nova combinação é então proposta no gênero *Pseudocercospora*, nome que deve ser

conservado em detrimento de *Phaeoisariopsis* e *Stigmina* (BRAUN; CROUS, 2006). *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous e U. Braun passou a ser o novo nome conferido ao agente etiológico da mancha-angular do feijoeiro. É um fungo imperfeito, que pertence à classe dos *Dothideomycetes* (Mitospóricos), ordem *Capnodiales*, família *Mycosphaerellaceae*. Essa espécie é subdividida em dois grupos distintos: *P. griseola* formae *griseola*, que coevoluiu com genótipos de feijoeiro de origem andina e *P. griseola* formae *mesoamericana*, que coevoluiu com genótipos de feijoeiro de origem mesoamericana. Esses dois grupos são definidos com base na gama de hospedeiros, morfologia, características culturais e nas análises das sequências da região ITS e dos genes que codificam para calmodulina e actina (CROUS; KANG; BRAUN, 2006).

P. griseola também é classificado como um fungo hemibiotrófico, tendo ação biotrófica nas fases iniciais do processo de infecção, convivendo com as células vivas das folhas do feijoeiro. Posteriormente, passa a necrotrófico, levando a morte celular do hospedeiro, que resulta nas manchas necróticas angulares, típicas da doença (ALLORENT; SAVARY, 2005).

2.3 Epidemiologia e sintomatologia da mancha-angular do feijoeiro

Os sintomas da mancha-angular podem ocorrer em toda a parte aérea, especialmente nas folhas e vagens (BOREL et al., 2010; LIEBENBERG; PRETORIUS, 1997). Nas folhas primárias, as lesões geralmente são circulares com halos concêntricos de cor castanho-escuro. Nas folhas trifolioladas, as lesões consistem de pequenas manchas que variam de cinza-escuro a marrom e, geralmente, são delimitadas pelas nervuras, o que proporciona o aspecto angular característico da doença. As lesões podem coalescer, causando a desfolha prematura, que compromete o enchimento das vagens, refletindo em perdas na produtividade. Nas vagens, as lesões apresentam-se na forma de manchas

superficiais, geralmente circulares, de coloração castanho-avermelhada com bordos escuros. A infecção pode avançar pelas sementes, as quais se tornam manchadas, mal desenvolvidas e enrugadas (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 1997; PAULA JÚNIOR; VIEIRA; ZAMBOLIN, 2004; PEREIRA; ABREU; SOUZA, 2011).

De acordo com Cardona-Alvarez e Walker (1956) e Correa-Victoria et al. (1989), a infecção e o desenvolvimento da doença podem ocorrer em temperaturas de 16° até 28° C, sendo a ótima em torno de 24° C (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 1997; COELHO et al., 2003). Períodos de alta umidade relativa, alternados por períodos de baixa umidade e ação de ventos são também importantes para o progresso de epidemias.

O fungo inicia a infecção no feijoeiro com a germinação dos esporos, de 3 a 7 dias após a inoculação em temperaturas entre 8° a 32° C, dando origem aos tubos germinativos, que formam apressórios e penetram tanto através da epiderme como por estômatos foliares. Os sintomas aparecem cerca de 8-12 dias após a inoculação, quando então o estroma se desenvolve na cavidade subestomática. Em uma fase mais avançada de seu desenvolvimento, o fungo produz estromas que emergem na superfície foliar, dando origem aos conidióos que liberam os conídios maduros, dando continuidade ao ciclo (MONDA; SANDERS; HICK, 2001).

No campo, o patógeno produz sinêmios na face inferior da folha, com 250 µm de comprimento e 20 µm a 40 µm de largura, compostos de 8 a 40 conidióforos paralelos e escuros e forma tufos visíveis a olho nu. Os conídios são de cor cinza, cilíndricos a fusiformes, às vezes curvos, com um a três septos, medem de 50 µm a 60 µm de comprimento e 7 µm a 8 µm de largura (ZAUMEYER; THOMAS, 1957).

P. griseola na ausência de hospedeiros vivos, sobrevive em restos culturais por período superior a 19 meses e, nas sementes, por nove ou doze

meses (LIEBENBERG; PRETORIUS, 1997). Os principais agentes de disseminação são chuvas, ventos e partículas de solo contaminadas (SINGH; SCHWARTZ, 2010).

2.4 Controle da mancha-angular

O controle da mancha-angular pode ser realizado pela integração de práticas culturais, pelo emprego de fungicidas, tanto no tratamento da semente como em aplicação na parte aérea e pela utilização de genótipos resistentes. Entre as práticas culturais, recomenda-se a utilização de sementes de boa qualidade, produzidas em regiões de inverno ameno e seco, rotação de culturas com gramíneas, preparo do solo com a incorporação profunda de restos de cultura e a manutenção da cultura no limpo. Deve-se utilizar cultivares resistentes sempre que possível; entretanto, o desenvolvimento de tais genótipos é dificultado pela grande variabilidade genética que o patógeno apresenta (SILVA, 2007).

2.5 Controle genético da mancha-angular

Muitos grupos têm voltado seus esforços para o maior entendimento dos genes envolvidos no controle da mancha-angular, assim como as possíveis interações entre eles (BOREL et al., 2010; CAIXETA et al., 2003; MAHUKU et al., 2004; NIETSCHE et al., 2000; VIDIGAL et al., 2010). Alguns trabalhos relatam a ocorrência de herança monogênica, em que a resistência é condicionada por alelos recessivos (CORRÊA et al., 2001; SANTOS FILHO; FERRAZ; VIEIRA, 1976). Entretanto, existem evidências que indicam que mais de um gene está envolvido no controle do caráter. Amaro et al. (2007), ao avaliarem a variabilidade entre linhagens de feijão para resistência à mancha-

angular, observaram graduação nos sintomas observados entre as linhagens consideradas resistentes e atribuíram essa graduação ao efeito ambiental, enfatizando a possível existência de controle poligênico desse caráter.

Caixeta et al. (2005) demonstraram em teste de alelismo que Cornell 49-242 possui um gene com alelo dominante, propondo-se a denominação de Phg-3. México 54 possui três genes, denominados Phg-2, Phg-5 e Phg-6. Em MAR-2 estão presentes dois genes, Pgh-4 e Phg-5². BAT 332 possui um gene Phg-6² e AND 277 possui quatro genes (Pgh-1, Pgh-2², Pgh-3² e Pgh-4²). Mahuku, Iglesias e Jara (2009) observaram que a resistência da linhagem G5686 à raça 31-0 é condicionada por três genes complementares designados Phg_{G5686A}, Phg_{G5686B}, Phg_{G5686C}, nos quais o alelo dominante é responsável pela resistência. Segundo Teixeira et al. (2005), a cultivar Jalo EEP558 possui um alelo dominante que tem conferido resistência a várias raças presentes na região sul de Minas Gerais.

Além dos vários genes e alelos identificados em diversos trabalhos, que conferem resistência à mancha-angular, alguns estudos mostram que ocorrem diferentes genes de resistência em diferentes órgãos das plantas como folha e vagem (BOREL et al., 2010).

Há evidências de que os patógenos apresentam raças diferentes em função da coevolução patógeno-hospedeiro. Esse fato foi observado principalmente para *P. griseola* (GUZMÁN et al., 1995; PASTOR-CORRALES; JARA, 1995). O feijoeiro foi domesticado em pelo menos duas regiões distintas, a mesoamericana e a andina (GEPTS; BLISS, 1986; VIEIRA et al., 2005), devido a esse isolamento reprodutivo, isolados de *P. griseola* apresentam alta afinidade por tipos específicos de feijões. Em condições de campo, foi observado que isolados andinos estão associados a genótipos de origem andina (grãos grandes), enquanto genótipos mesoamericanos são

predominantemente infectados por isolados mesoamericanos (PASTOR-CORRALES; JARA, 1995).

Devido à ampla variabilidade patogênica, a baixa resistência apresentada pelo germoplasma adaptado às condições do Brasil e pela baixa eficiência dos métodos empregados na identificação dessa resistência, a obtenção de cultivares com resistência duradoura tem sido dificultada. Por isso é muito importante que o melhorista faça um levantamento da variabilidade do patógeno em cada região onde se pretende implantar a cultura e que constantemente novas fontes de resistência sejam descobertas.

2.6 Melhoramento do feijoeiro visando resistência à mancha-angular

No melhoramento genético do feijoeiro visando resistência à mancha-angular, diversos métodos têm sido utilizados, como a piramidação de genes (ALZATE-MARIN et al., 2009; RAGAGNIN et al., 2003; SANGLARD, 2006), a seleção assistida por marcadores (CAIXETA et al., 2003; MAHUKU; IGLESIAS; JARA, 2009; NIETSCHKE et al., 2000; SINGH; SCHWARTZ, 2010), e a seleção recorrente (AMARO et al., 2007; ARANTES; ABREU; RAMALHO, 2010).

A piramidação de genes tem como fundamento o acúmulo de vários genes de interesse, no caso genes de resistência, em uma única cultivar e é uma estratégia que vem sendo adotada em vários programas de melhoramento de plantas autógamas (RAGAGNIN et al., 2003; SANGLARD et al., 2009)

A seleção assistida por marcadores moleculares é baseada no conceito de que é possível inferir a presença de um gene pela presença de uma marca genética que está estreitamente ligada ao gene. O maior uso dos marcadores moleculares na cultura do feijoeiro está relacionado justamente ao melhoramento visando resistência a doenças (MIKLAS et al., 2006). Diversos

marcadores para genes de resistência à mancha-angular já foram identificados (CAIXETA et al., 2003; CORRÊA et al., 2001; FERREIRA et al., 2000; NIETSCHE et al., 2000). No entanto, nos trabalhos em que esse método é adotado, sempre realiza-se inoculação das plantas com o fungo *P.griseola*, pois o uso de marcadores moleculares ainda não é totalmente confiável no entendimento da complexidade do controle genético da resistência à mancha-angular (MAHUKU; IGLESIAS; JARA, 2009; MIKLAS et al., 2006).

Já a seleção recorrente é um método de melhoramento que permite reunir em uma mesma linhagem vários alelos de interesse. Esse método tem sido utilizado com sucesso no programa de melhoramento do feijoeiro da UFLA para diferentes características como produtividade (RAMALHO; ABREU; SANTOS, 2005; SILVA et al., 2010), porte (CUNHA; RAMALHO; ABREU, 2005; MENEZES JÚNIOR; RAMALHO; ABREU, 2008) e resistência à mancha-angular (AMARO et al., 2007; ARANTES; ABREU; RAMALHO, 2010).

Independente do método utilizado no programa de melhoramento é necessário quantificar os sintomas da doença para identificar as linhagens resistentes. De modo geral, a avaliação da severidade da mancha-angular do feijoeiro é realizada em parcelas em campo, no final do ciclo da cultura de acordo com escalas de notas (AMARO et al., 2007; ARANTES; ABREU; RAMALHO, 2010). Entretanto, nas gerações iniciais dos programas de melhoramento é avaliado um grande número de progênies. Por exemplo, nas gerações iniciais de cada ciclo do programa de seleção recorrente de feijoeiro da UFLA, são avaliadas em torno de 400 progênies com duas repetições, totalizando 800 parcelas. Fica fácil visualizar que a avaliação da severidade da mancha-angular em campo, em todas essas parcelas é extremamente laboriosa (REZENDE, 2010). Além disso, a avaliação pode ser sub ou superestimada conforme a época em que ela é realizada, a ocorrência natural da doença e a

interferência de outras características que normalmente são avaliadas simultaneamente como a resistência a outras doenças.

Uma metodologia para a avaliação da severidade da mancha-angular no estádio V2 foi proposta por Pereira, Abreu e Souza (2011). Essa metodologia apresenta como vantagens: utilizar menor quantidade de inóculo, menor tempo de exposição das plantas na casa de vegetação, evitando a infecção por outros patógenos, apresenta maior praticidade na condução do teste, uma vez que as plantas são cultivadas em bandejas, resultando em menor tempo para a realização do teste de patogenicidade. No entanto, não há relatos de uma escala que avalie a severidade da mancha-angular no estádio V2. Por isso, o desenvolvimento de uma escala diagramática confiável e que viabilize o teste precoce de patogenicidade permitirá aumentar a eficiência da avaliação e da seleção das linhagens resistentes, auxiliando os programas de melhoramento do feijoeiro visando resistência à mancha-angular.

2.7 Quantificação de doenças

A quantificação de doenças de plantas, também denominada fitopatometria, visa avaliar os sintomas das doenças nas plantas e seus sinais, estruturas do patógeno associadas aos tecidos doentes. Métodos exatos e precisos de avaliação de doenças são fundamentais na quantificação confiável de sintomas (MADDEN; HUGHES; VAN DEN BOSCH, 2007). As doenças podem ser quantificadas por métodos diretos de avaliação da incidência e da severidade, e métodos indiretos, tais como a determinação da população do patógeno, sua distribuição espacial e seus efeitos na produção (danos e ou perdas) por meio da desfolha causada (HOSFALL; COWLING, 1978). A quantificação de uma variável que expresse a intensidade de doença, seja ela medida pela incidência ou pela severidade, é necessária, tanto para descrever o

progresso da epidemia e sua relação com o clima ou com medidas de controle, quanto para a validação de modelos de previsão ou para a aplicação do manejo integrado. Portanto, erro na quantificação da doença pode ser super ou subestimado na análise epidemiológica subsequente, interferindo, em maior ou menor grau, nas conclusões alcançadas (CAMPBELL; MADDEN, 1990).

No caso de doenças foliares, a severidade é a variável mais utilizada. A severidade é um método que procura determinar a porcentagem da área de tecido doente (sintomas e/ou sinais visíveis), por meio da medição direta da área afetada, com medidores de área em computador ou por meio do uso de chaves descritivas, diagramáticas, medição automática e sensores remotos (CAMPBELL; MADDEN, 1990). Apresenta como vantagens ser mais precisa, expressando o dano real causado pelos patógenos; caracteriza melhor o nível de resistência a um patógeno e expressa com maior fidelidade a intensidade da doença no campo e os danos causados. Como desvantagem pode-se citar o fato de ser mais trabalhoso, subjetivo e dependente da acuidade do avaliador e da escala (GODOY et al., 1997).

Para avaliar a severidade da mancha-angular do feijoeiro, utiliza-se com frequência escalas diagramáticas ou chaves descritivas. Essas metodologias baseiam-se na Lei de *Weber-Fechner*, segundo a qual a acuidade visual é proporcional ao logaritmo da intensidade do estímulo, ou seja, quanto maior o estímulo recebido, menor a capacidade de discriminação. De acordo com o estímulo, o olho tende a ler tecido doente abaixo de 50% de área lesionada e tecido sadio, acima de 50% (HORSFALL; BARRAT, 1945).

As chaves descritivas ou as classes de severidade da doença são escalas arbitrárias com certo número de graus ou notas para quantificar as doenças. Cada nota da escala representa uma descrição do progresso dos sintomas da doença na planta. As avaliações realizadas com chaves descritivas são muito subjetivas, pois dependem da experiência do avaliador e, por isso, podem

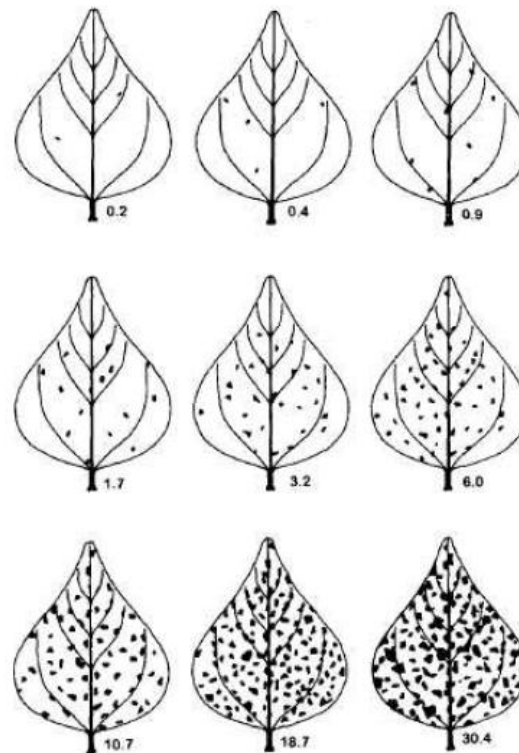
resultar em baixa precisão da avaliação. Já as escalas diagramáticas são representações ilustrativas de diversas partes de plantas com sintomas em diferentes níveis de severidade (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1993). O uso dessas escalas pode reduzir a subjetividade das estimativas de severidade entre os avaliadores, melhorando a acurácia e precisão da avaliação (ANGELOTTI et al., 2008; AQUINO et al., 2008; CORREIA et al., 2011; CUSTÓDIO et al., 2011; HALFELD-VIEIRA; NECHET, 2006; KAWOTA et al., 2008; LENZ et al., 2009, 2010; MICHEREFF; ANDRADE; NORONHA, 2006; NASCIMENTO et al., 2005; NUTTER et al., 2006; SALGADO et al., 2009).

Para avaliar a severidade da mancha-angular do feijoeiro a utilização de escala diagramática tem se mostrado o método mais adequado e fácil (PERRELLA et al., 2008).

2.7.1 Escalas utilizadas para a avaliação da severidade da mancha-angular

As escalas representam, atualmente, a principal ferramenta de avaliação de várias doenças. Para a mancha-angular existem diversas escalas diagramáticas e chaves descritivas disponíveis, com notas que variam de 1 a 5; 1 a 6 ou 1 a 9. Normalmente, as avaliações são baseadas, na porcentagem de área foliar infectada pelo patógeno em plantas no estágio V3. Algumas dessas escalas estão descritas a seguir:

a) escala diagramática com notas que variam de 1 a 9 (GODOY et al., 1997);



- 1 : 0– 0,2% de área foliar com lesões;
- 2 : 0,3 – 0,4% de área foliar com lesões;
- 3 : 0,5 – 0,9% de área foliar com lesões;
- 4 : 1,0 – 1,7% de área foliar com lesões;
- 5 : 1,8 – 3,2% de área foliar com lesões;
- 6 : 3,3 – 6,0% de área foliar com lesões;
- 7 : 6,1 – 10,7% de área foliar com lesões;
- 8 : 10,8 – 18,7% de área foliar com lesões;
- 9 : 18,8 – 30,4% de área foliar com lesões.

- b) chave descritiva com notas de 1 a 9 (CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL - CIAT, 1987) em que;
- 1 : ausência de sintomas;
 - 2 : 0,1 a 1,0% de área foliar com lesões sem esporulação de tamanho pequeno (até 1 mm);
 - 3 : 1,1 a 3,0% de área foliar com lesões sem esporulação de tamanho entre 1,1 e 2 mm;
 - 4 : 0,1 a 5,0 % de área foliar com lesões entre 1 e 2 mm, apresentando esporulação;
 - 5 : 5,1 a 10% de área foliar com lesões de tamanho entre 2 e 3 mm;
 - 6 : 10,1 a 15% de área foliar com lesões de tamanho entre 2 e 3 mm;
 - 7 : 15,1 a 20% de área foliar com lesões de tamanho entre 2 e 3 mm;
 - 8 : 20,1 a 30% de área foliar com lesões maiores de 3mm;
 - 9 : mais de 30% de área foliar com lesões maiores que 3 mm.
- c) chave descritiva com notas que variam de 1 a 5 (SCHWARTZ et al., 1981);
- 1: planta imune: 0% de área foliar infectada;
 - 2 : baixa infecção, 1-2% de área foliar infectada;
 - 3 : infecção moderada, 3-10% de área foliar infectada;
 - 4 : infecção elevada, 11-25% de área foliar infectada;
 - 5 : infecção severa, mais de 26% de área foliar infectada, acompanhada por desfolha.

- d) chave descritiva com notas que variam de 1 a 6 (SCHWARTZ; PASTOR-CORRALES; KATHERMAN, 1981);
- 1: 1% de área foliar infectada pelo patógeno, com lesões menores que 2mm;
 - 2: 10% de área foliar infectada pelo patógeno, com lesões entre 2 e 5mm;
 - 3: 20% de área foliar infectada pelo patógeno, com lesões entre 5-10mm;
 - 4: 40% de área foliar infectada pelo patógeno, com lesões maiores que 10mm;
 - 5: 60% de área foliar infectada pelo patógeno, com lesões maiores que 10mm;
 - 6: 80% de área foliar infectada pelo patógeno, com lesões maiores que 10mm.
- e) chave descritiva com notas que variam de 1 a 6 (IGLIS et al., 1988);
- 0 : sem doença;
 - 1 : 1- 10% de área foliar com lesões;
 - 2 : 11-25% de área foliar com lesões;
 - 3 : 26-50% de área foliar com lesões;
 - 4 : 50% ou mais de área foliar com lesões e necroses;
 - 5 : desfolha.

2.7.2 Elaboração de escala diagramática

Na elaboração de escala diagramática, alguns aspectos devem ser considerados, como as quantidades máximas e mínimas de doença observadas no campo e representadas na escala. A representação dos sintomas da maneira mais próxima possível da realidade e os níveis de severidade, respeitando as limitações da acuidade da vista humana definidas pelas leis de estímulo-resposta de *Webe-Fechner*. Segundo essa lei a acuidade visual é proporcional ao logaritmo da intensidade de estímulo. De acordo com o estímulo de severidade, o olho tende a ler tecido doente abaixo de 50% de área lesionada e tecido sadio acima de 50%. É importante que as escalas diagramáticas sejam reprodutíveis e apresentem níveis suficientes para caracterizar o progresso da doença (HORSFALL; BARRAT, 1945).

2.7.3 Validação de escala diagramática

Após elaborar a escala, essa deve ser validada por diferentes indivíduos a fim de comprovar sua eficiência na estimativa da severidade. A precisão, medida de confiabilidade e/ou repetibilidade nas avaliações de doença, pode ser quantificada pelo coeficiente de determinação das equações de regressão linear estabelecidas entre a severidade real e as estimativas da severidade de uma determinada amostra, pela variância dos erros absolutos (severidade estimada menos severidade real) e pela repetibilidade das estimativas, determinada pela regressão da segunda avaliação em relação à primeira de uma mesma unidade amostral. A precisão será tanto maior quanto mais próximo de 1,0 for o valor do coeficiente de determinação (R^2). A acurácia, representada pelo grau de proximidade entre a estimativa média e a realidade, pode ser quantificada pelo coeficiente angular e pela interseção de linhas de regressão estabelecidas entre a

severidade real e as estimativas da severidade de uma determinada amostra. A acurácia será tanto maior quanto mais próximo de 1,0 for o coeficiente angular e mais próxima de zero for a interseção (LENZ et al., 2009).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material experimental

Foram utilizadas 13 linhagens de feijoeiro com diferentes níveis de resistência: Carioca MG, Branquinho, BRSMG Talismã, BRSMG Madrepérola, Pérola, MAII- 16, MA III3.6, MAVIII 5, MA VIII 78, MA VIII 94, Jalo EEP 558, ESAL 686 e M-20 (Tabela 1).

Foi utilizado o isolado da raça 63-63 de *P. griseola* proveniente da micoteca do Laboratório de Resistência a Doenças da UFLA. Discos de micélio da colônia foram repicados para tubos de ensaio contendo meio folha (SILVEIRA, 1967).

Tabela 1 Linhagens utilizadas no trabalho e suas respectivas reações à *P. griseola*

Linhagens	Reação	Autores
Carioca MG	Suscetível	Pereira, Abreu e Souza (2011)
Branquinho	Suscetível	Iwano (2013)
Talismã	Suscetível	Couto et al.(2008)
Madripérola	Suscetível	Pereira et al.(2013)
Pérola	Moderadamente resistente	Pereira et al.(2013)
MAII 16	Moderadamente resistente*	Pereira et al.(2013)
MA III 3.6	Moderadamente resistente *	Pereira et al.(2013)
MAVIII 5	Moderadamente resistente *	Vieira Júnior et al.(2012)
MA VIII 78	Moderadamente resistente*	Pereira et al. (2013)
MA VIII 94	Moderadamente resistente *	Pereira et al.(2013)
Jalo EEP	Resistente	Teixeira et al.(2005)
ESAL 686	Resistencia na vagem, suscetivel na folha	Pereira, Abreu e Souza (2011)
M-20	Resistência na folha, suscetivel no caule	Pereira, Abreu e Souza (2011)

*Linhagens provenientes do programa de seleção recorrente de feijoeiro da UFLA

3.2 Condução dos experimentos

Para a elaboração e validação da escala diagramática foram conduzidos dois experimentos separados. Ambos os experimentos foram conduzidos em Delineamento em Blocos Casualizados (DBC) com 13 tratamentos (Tabela 1), um isolado da raça (63-63), três repetições e oito plantas por parcela. As 13 linhagens foram plantadas em bandejas de poliestireno de 162 células contendo substrato *Multipant*[®].

3.2.1 Metodologia de inoculação

As linhagens de feijoeiro foram plantadas em bandejas de poliestireno, de 162 células. Após oito dias do plantio, as plântulas foram inoculadas com uma suspensão de inóculo na concentração de $2,0 \times 10^4$ conídios/mL, utilizando a metodologia proposta por Pereira, Abreu e Souza (2011). Essas plântulas foram mantidas em casa de vegetação com temperatura e umidade controladas (25°C e UR 85%). Depois de 15 dias da realização da inoculação, quando as plantas se encontravam no estágio V2, foi realizada a avaliação da reação das linhagens à *P. griseola*.

3.2.2 Elaboração da escala diagramática

Para a elaboração da escala diagramática foram obtidas e coletadas 200 folhas de feijoeiro no estágio V2 com diferentes níveis de severidade da mancha-angular, conforme a metodologia descrita no item 3.2.1. As folhas com lesões foram individualmente digitalizadas por meio de *scanner* e as imagens foram transferidas para um microcomputador, com resolução de 300dpi (CORREIA et al., 2011; SALGADO et al., 2009). Em seguida, a severidade foi

estimada por meio do *software Quant*® (VALE; FERNANDES FILHO; LIBERATO, 2003), servindo de base para avaliar a precisão e acurácia da escala.

Baseando-se na lei de *Weber-Fechner* de acuidade visual (HORSFALL; COWLING, 1978), bem como no valor máximo de severidade da doença constatado nas folhas coletadas na casa de vegetação, foi confeccionada uma escala diagramática logarítmica com nove níveis de severidade. A escala foi elaborada com auxílio do programa *Adobe*® *Photoshop*® 6.0.

3.2.3 Validação da escala diagramática

Para a validação da escala diagramática proposta foram coletadas 40 folhas de feijoeiro no estádio V2 com diferentes níveis de severidade, obtidas conforme a metodologia descrita no item 3.2.1. As folhas coletadas foram escaneadas e sua área foliar total e necrosada foram determinadas por meio do *software Quant*® (VALE; FERNANDES FILHO; LIBERATO, 2003). As imagens das folhas escaneadas foram inseridas aleatoriamente em *slides* individuais para visualização no *Microsoft*® *PowerPoint*® 2010. Posteriormente foram apresentadas a dois grupos de avaliadores. Um grupo foi formado por cinco avaliadores com experiência na avaliação da severidade da mancha-angular e o outro foi formado por nove avaliadores sem experiência.

Os dois grupos participaram do procedimento de validação da escala, o qual foi realizado em três etapas: 1º: os avaliadores estimaram a severidade da mancha-angular baseando-se nas imagens das folhas escaneadas, sem a utilização da escala diagramática; 2º e 3º: os avaliadores estimaram a severidade com o auxílio da escala diagramática proposta com intervalo de sete dias entre as avaliações. A primeira etapa foi realizada como controle para se calcular o quanto de melhoria nas estimativas foi obtido com a utilização da escala. Já a

terceira etapa foi conduzida para quantificar a repetibilidade das estimativas com a escala (por meio da comparação entre as estimativas realizadas entre a segunda e terceira etapa).

Os dados obtidos foram submetidos a análises estatísticas para determinar a acurácia, a precisão e a reprodutibilidade da escala (NUTTER JUNIOR; SCHULTZ, 1995).

A acurácia e a precisão de cada avaliador foram determinadas por meio de regressão linear simples, com a severidade real como variável independente e a severidade estimada pelo avaliador como variável dependente. A acurácia das estimativas de cada avaliador e do conjunto de avaliadores foi determinada pelo teste t aplicado ao intercepto da regressão linear (a), para verificar a hipótese $H_0: a = 0$ ($P=0,05$), e ao coeficiente angular da reta (b), para testar a hipótese $H_0: b = 1$ ($P=0,05$). Valores de intercepto significativamente diferentes de 0 (zero) indicam superestimativa (>0) ou subestimativa (<0) da severidade real a níveis baixos de intensidade da doença, enquanto valores de coeficiente angular da reta que desviam significativamente de 1 (um) indicam superestimativa (>1) ou subestimativa (<1) sistemática da severidade real de todos os níveis de intensidade da doença.

A precisão das estimativas foi determinada pelo coeficiente de determinação da regressão (R^2), pela variância dos erros absolutos (severidade estimada menos severidade real) e pela repetibilidade das estimativas, determinada pela regressão da segunda avaliação em relação à primeira de uma mesma unidade amostral. A reprodutibilidade das estimativas foi determinada pelos valores de R^2 obtidos de regressões lineares entre as severidades estimadas pelos diferentes avaliadores combinados aos pares (CAMPBELL; MADDEN, 1990; NUTTER JÚNIOR et al., 1993). As análises de regressão foram efetuadas com auxílio do *software* estatístico SAS[®] e o R.

3.3 Comparação da escala do *CIAT* (1987) com a escala proposta no trabalho

Após a escala ter sido desenvolvida e validada foram conduzidos dois experimentos simultaneamente, sendo um baseado na metodologia de inoculação e avaliação proposta pelo *CIAT* (1987) que é utilizada como padrão para a avaliação da reação das linhagens à *P. griseola*. O outro baseado na metodologia de inoculação proposta por Pereira, Abreu e Souza (2011) e avaliação utilizando a escala diagramática proposta no presente trabalho. Foram utilizadas as mesmas linhagens e o mesmo isolado da raça de *P.griseola* citado no item 3.1.

3.3.1 Metodologia de inoculação proposta pelo *CIAT* (1987)

O experimento foi conduzido em DBC com 13 tratamentos (Tabela 1), um isolado, três repetições e cinco plantas por parcela. As 13 linhagens foram plantadas em vasos de 3L contendo solo. Cada vaso representava uma parcela.

A inoculação foi realizada no estágio V3, ou seja, quando as folhas trifolioladas estão totalmente expandidas, com uma suspensão de inóculo na concentração de $2,0 \times 10^4$ conídios/mL. As plantas inoculadas foram mantidas em casa de vegetação com temperatura e umidade controladas (25°C e UR 85%). Após 15 dias da inoculação, as plantas foram avaliadas quanto à severidade da mancha-angular, de acordo com a escala descritiva de 1 a 9 proposta pelo *CIAT* (1987). Nessa escala consideram-se como resistentes (reação incompatível) as plantas com notas variando de 1 a 3 e suscetível (reação compatível) as plantas com nota igual ou superior a 4.

3.3.2 Metodologia de inoculação proposta por Pereira, Abreu e Souza (2011)

O experimento foi conduzido em DBC com 13 tratamentos (Tabela 1), um isolado da raça (63-63), três repetições e 8 plantas por parcela. As 13 linhagens foram plantadas em bandejas de poliestireno de 162 células contendo substrato *Multipiant*[®]. A metodologia de inoculação foi realizada conforme descrito no item 3.2.1. A avaliação da reação das linhagens à *P. griseola* foi realizada 15 dias após a inoculação utilizando a escala proposta no presente trabalho.

4 RESULTADOS

Baseando-se na lei de *Weber-Fechner* de acuidade visual (HORSFALL; COWLING, 1978), bem como na forma, distribuição e frequência das lesões, foi construída, com a ajuda do editor gráfico *Photoshop*® 6.0, uma escala diagramática logarítmica com nove níveis de severidade: 0%; 0,1 a 0,5%; 0,6 a 4,0%; 4,1 a 7,0%; 7,1 a 16%; 16,1 a 26%; 26,1 a 32%; 32,1 a 38% e 38,1 a 60% (Figura 1). O valor máximo de severidade da mancha-angular nas folhas do feijoeiro coletadas na casa de vegetação foi de 60%. Valores acima de 60% são dificilmente encontrados, pois estão relacionados à senescência e queda prematura das folhas.

Na validação da escala diagramática, os valores do intercepto relacionados a 78% dos avaliadores sem experiência na avaliação e sem o uso da escala, diferiram significativamente de zero ($P \leq 0,05$) indicando a presença de desvios constantes. Em relação aos valores do coeficiente angular da reta, 100% dos avaliadores sem experiência diferiram significativamente de 1 ($P \leq 0,05$) indicando a presença de desvios sistemáticos. Com a utilização da escala 100% dos avaliadores sem experiência apresentaram valores do intercepto significativamente iguais a zero ($P \leq 0,05$) e 66,66% apresentaram valores dos coeficientes angulares significativamente iguais a 1 ($P \leq 0,05$) (Tabela 2).

Sem o uso da escala 40% dos avaliadores com experiência apresentaram valores dos interceptos significativamente diferentes de zero ($P \leq 0,05$) indicando a presença de desvios constantes. Já em relação aos valores do coeficiente angular da reta, 100% dos avaliadores com experiência diferiram significativamente de 1 ($P \leq 0,05$) indicando a presença de desvios sistemáticos.

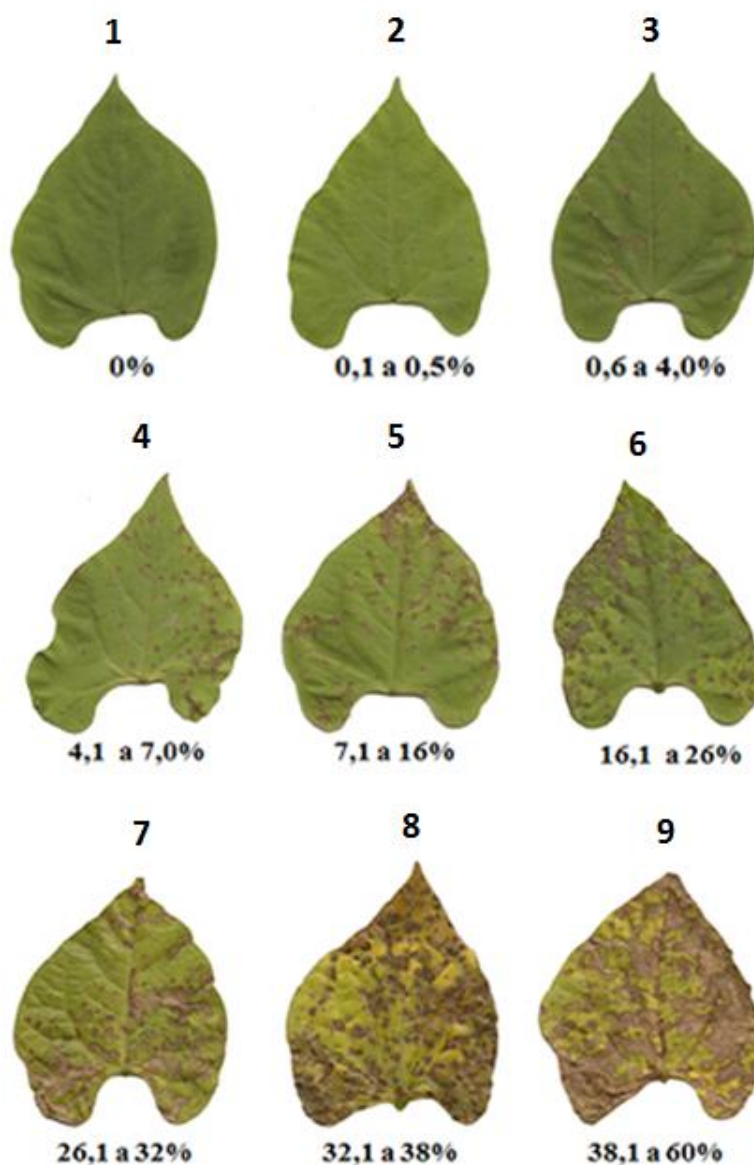


Figura 1 Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha-angular em folhas primárias do feijoeiro. As notas da escala variam de 1 a 9 em que: 1: ausência de lesões; 2 : 0,1 a 0,5% de área com lesões; 3 : 0,6 a 4,0% de área com lesões; 4 : 4,1 a 7,0% de área com lesões; 5 : 7,1 a 16% de área com lesões; 6 : 16,1 a 26% de área com lesões; 7 : 26,1 a 32% de área com lesões; 8 : 32,1 a 38% de área com lesões; 9 : 38,1 a 60% de área com lesões.

Na primeira avaliação utilizando a escala todos os avaliadores com experiência passaram a apresentar valores do intercepto significativamente iguais a 0 ($P \leq 0,05$) e em relação aos valores dos coeficientes angulares, 60% dos avaliadores com experiência, foram significativamente iguais a 1 ($P \leq 0,05$) (Tabela 2). Portanto, o uso da escala permitiu eliminar os desvios constantes e reduzir os desvios sistemáticos das estimativas dos avaliadores.

A análise da precisão das estimativas visuais da severidade sem a utilização da escala diagramática realizada pelos avaliadores com experiência justificou de 85 a 90% da variação (R^2) na mensuração eletrônica da doença, com média de 87% (Tabela 2). Com a utilização da escala, na primeira avaliação, as estimativas visuais explicaram 80 a 89% da variação, com média de 87% e na segunda avaliação variaram 85 a 90%, com média de 89%. Já as estimativas da severidade sem a utilização da escala realizada pelos avaliadores sem experiência justificou de 76 a 91% da variação (R^2) na mensuração eletrônica da doença, com média de 83%. Já com o auxílio da escala, os avaliadores sem experiência, melhoraram sua precisão, com coeficientes de determinação variando de 86 a 96% com média de 91% e 88 a 96%, com média de 93% na primeira e segunda avaliações, respectivamente.

Tabela 2 Coeficiente de determinação (R^2), intercepto (a), coeficiente angular da reta (b) de equações de regressão linear simples relacionando estimativas visuais da mancha-angular efetuadas por avaliadores, sem e com o auxílio da escala diagramática, à severidade real determinada eletronicamente

Avaliador com Experiência	Sem o emprego da escala			1º avaliação com a escala			2º avaliação sem a escala		
	R^2	a	b	R^2	a	b	R^2	a	b
1'	0,8683	-3,1084*	0,7755*	0,8819	1,3678	0,9063	0,8535	0,5467	1,0655
2'	0,8409	-2,001	0,6840*	0,8075	1,2235	0,7819*	0,8971	0,9904	0,7924*
3'	0,9035	-2,7342*	0,8562*	0,8909	0,2253	0,8598*	0,8973	-0,308	0,8602*
4'	0,9086	-1,1337	1,7490*	0,8749	0,3912	1,1409	0,8996	0,3966	0,9856
5'	0,8534	-2,3113	0,8660*	0,8897	-2,1356	0,9027	0,9074	-0,7055	0,8447*
Média	0,8749		0,9861	0,8689			0,8909		
Avaliador sem Experiência	Sem o emprego da escala			1º avaliação com a escala			2º avaliação sem a escala		
	R^2	a	b	R^2	a	b	R^2	a	b
1	0,783	-2,7919	0,6429*	0,9277	0,4287	0,8755*	0,9665	-0,1341	0,9264*
2	0,9124	-2,8967*	0,8200*	0,9348	-1,4241	0,9186*	0,9323	-1,226	0,8927*
3	0,7804	-6,2592*	0,6909*	0,8785	0,4928	1,0403	0,9546	-0,179	0,9522
4	0,7611	-4,3369*	0,7615*	0,8646	0,0223	0,9652	0,914	0,2312	0,9221
5	0,8686	-3,6261*	0,7653*	0,9368	-1,5067	0,9756	0,942	-0,7964	0,8789*
6	0,8578	-1,5837	0,6845*	0,8835	-1,9093	0,8723*	0,881	-0,6298	0,8446*
7	0,863	-4,1794*	0,7079*	0,9104	-0,298	0,7807*	0,9072	-1,1966	0,8917*
8	0,8531	-3,7515*	0,7657*	0,9694	0,9659	0,8996*	0,9498	1,0079	0,9618
9	0,8445	-4,2517*	0,7674*	0,9199	1,2668	0,8381*	0,9365	-0,0692	0,8912*
Média	0,8359		0,7340	0,9139			0,9315		

*valores estatisticamente diferentes de 0 para o intercepto da regressão linear (a) e diferentes de 1 para coeficiente angular (b) no teste “t” a 95% de confiança

Os erros absolutos reduziram com o uso da escala diagramática (Figuras 2 e 3). Sem o uso da escala os erros absolutos variaram de -9,5% a 5,68, com média de -5,41% para as estimativas dos avaliadores com experiência e de -15,43 a -6,66% com média de -9,58% para as estimativas dos avaliadores sem experiência. Enquanto que com o uso da escala na primeira avaliação, os erros absolutos variaram de -3,90 a 0,03%, com média de -1,24% para as estimativas dos avaliadores com experiência e de -4,38 a 1,02% com média de -1,70% para as estimativas dos avaliadores sem experiência. Já na segunda avaliação com o uso da escala, os erros absolutos variaram de 0,19 a -3,45%, com média de -0,89% para as estimativas dos avaliadores com experiência e de -3,37 a 0,48% com média de -1,87% para as estimativas dos avaliadores sem experiência (Tabela 3).

Em geral, os avaliadores evidenciaram boa repetibilidade nas estimativas da severidade da mancha-angular do feijoeiro com o uso da escala diagramática, pois a quantidade média de variação na primeira avaliação explicada pela segunda avaliação foi de 87,8% para as estimativas dos avaliadores com experiência e 92% para os avaliadores sem experiência (Tabela 4). A maioria dos valores do intercepto e do coeficiente angular da reta não diferiram significativamente de zero e 1, respectivamente. Entre as duas avaliações somente para um avaliador com experiência (1') e dois sem experiência (7 e 8) os valores do coeficiente angular da reta foram significativamente diferentes de 1, indicando assim, elevada precisão das estimativas para a maioria dos avaliadores.

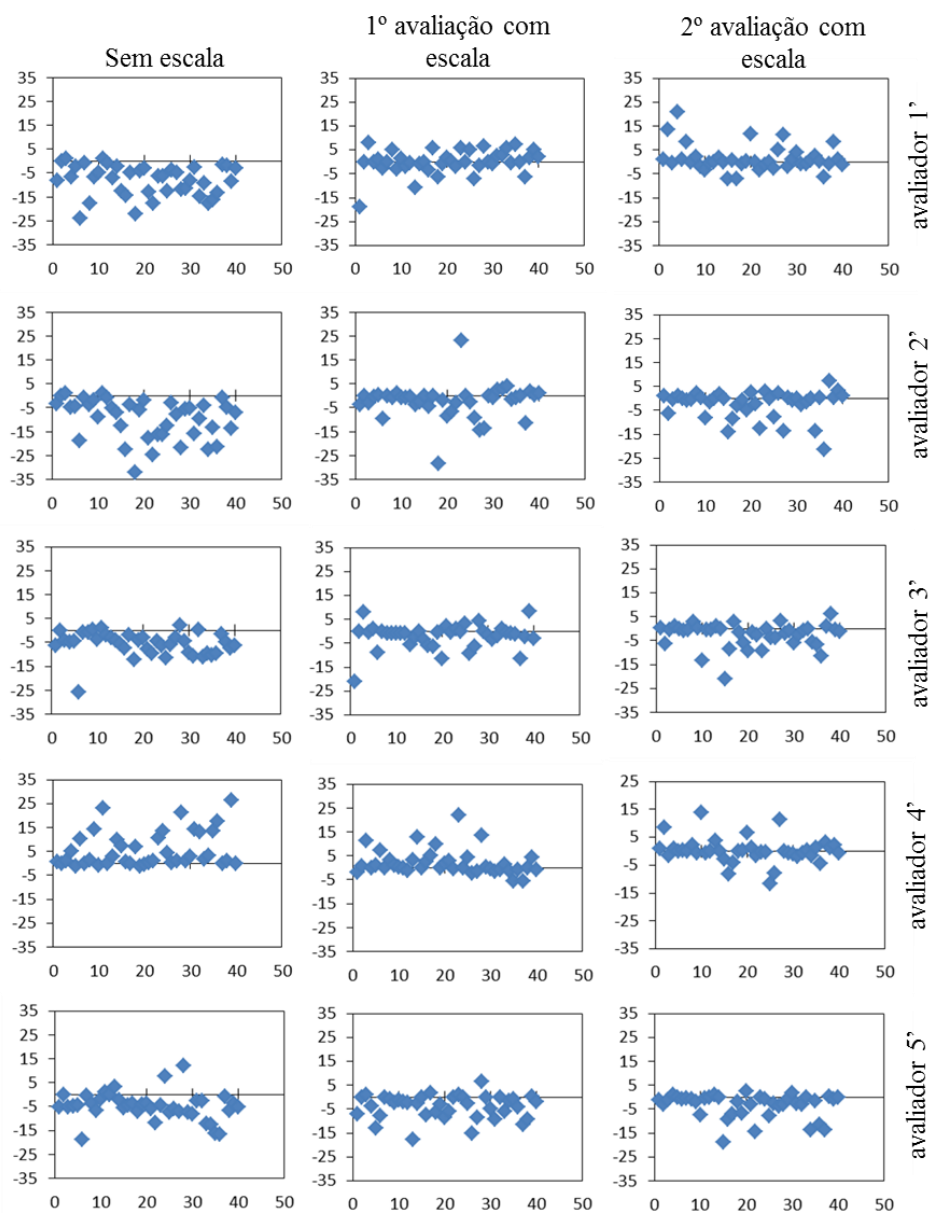


Gráfico 1 Erros absolutos das estimativas da severidade da mancha-angular do feijoeiro, obtidos por 5 avaliadores com experiência na avaliação da doença, sem e com o uso da escala

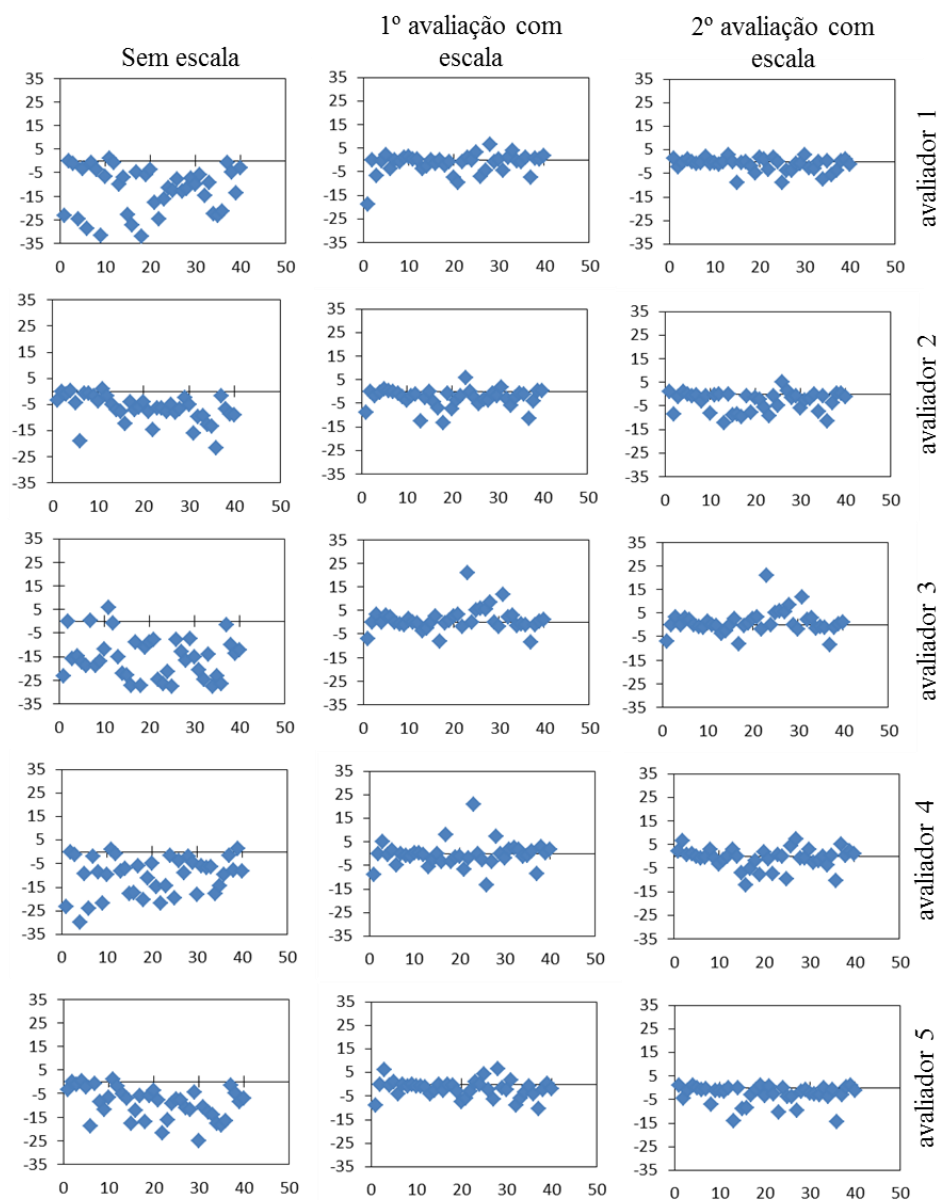


Gráfico 2 Erros absolutos das estimativas da severidade da mancha-angular do feijoeiro, obtidos por 9 avaliadores sem experiência na avaliação da doença, sem e com o uso da escala

(...continua...)

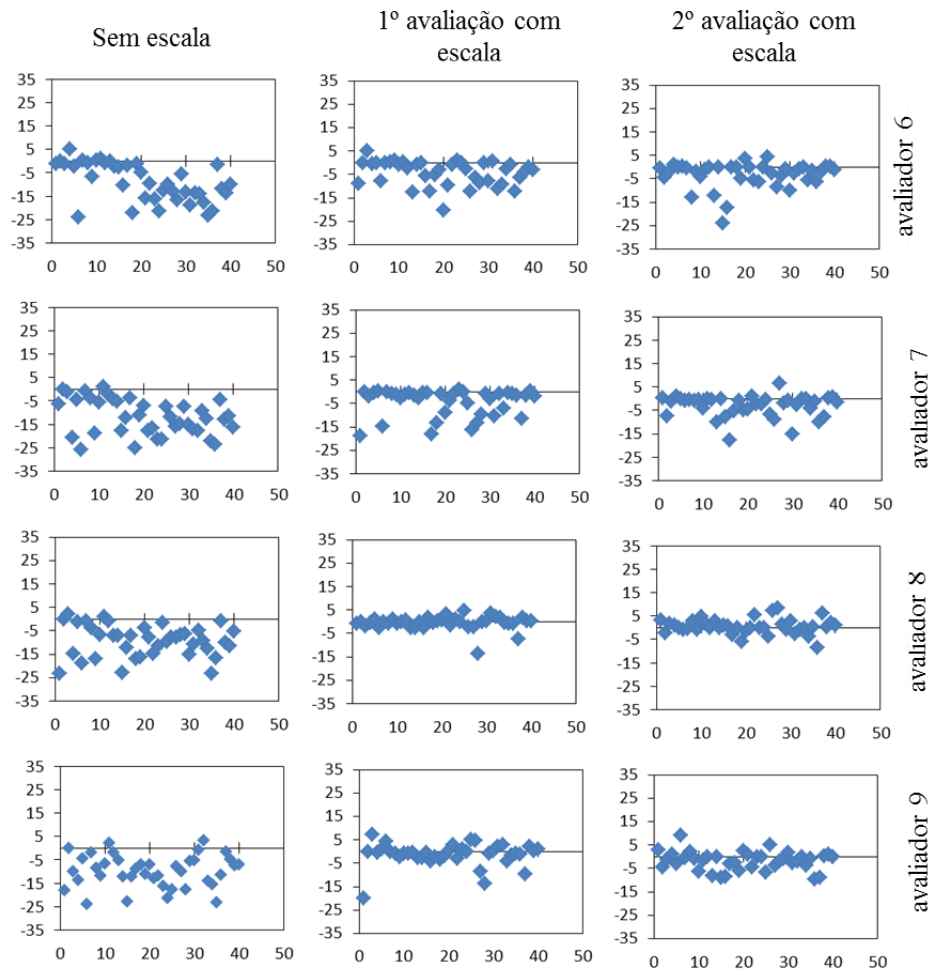


Tabela 3 Valores dos erros absolutos das estimativas da severidade da mancha-angular do feijoeiro de cada avaliador, com experiência e sem experiência

Avaliador com experiência	Sem o uso da escala	1º avaliação com escala	2º avaliação com escala
1'	-8,13825	0,03425	1,38925
2'	-9,51325	-2,41325	-2,48575
3'	-5,58825	-2,06325	-2,67575
4'	5,68425	2,10425	0,19925
5'	-9,51325	-3,90325	-3,4582
Média	-5,41375	-1,24825	-0,89325
Avaliador sem experiência	Sem o uso da escala	1º avaliação com escala	2º avaliação com escala
1	-12,2633	-1,53825	-1,27825
2	-6,66325	-2,81325	-3,08825
3	-15,4383	1,02675	-0,90325
4	-10,1633	-0,49075	-0,95325
5	-9,11325	-1,90075	-2,87075
6	-8,88825	-4,27575	-3,37075
7	-11,7883	-4,38825	-3,07325
8	-9,26325	-0,51825	0,48175
9	-9,86325	-1,24325	-1,81825
Média	-9,58325	-1,7055	-1,87492

Tabela 4 Repetibilidade das estimativas, determinada pela regressão da segunda avaliação em relação à primeira de uma mesma unidade amostral

Avaliador com Experiência	Repetibilidade		
	R ²	a	B
1'	0,9008	1,5736	0,7942*
2'	0,8673	0,5964	0,9686
3'	0,9356	0,9703	1,0977
4'	0,7985	1,3156	1,0485
5'	0,8918	-0,793	1,0192
Média	0,8788		
Avaliador sem Experiência	Repetibilidade		
	R ²	a	B
1	0,9487	0,6947	0,9396
2	0,9651	0,1105	1,0096
3	0,8696	1,1097	1,062
4	0,9056	0,1063	1,0241
5	0,9248	-0,169	1,0705
6	0,9181	-0,6878	0,9883
7	0,9294	1,6226	0,8425*
8	0,9236	0,6303	0,8897*
9	0,9017	2,1094	0,901
Média	0,9207		

*valores estatisticamente diferentes de 0 para o intercepto da regressão linear (a) e diferentes de 1 para coeficiente angular (b) no teste “t” a 95% de confiança

A reprodutibilidade das avaliações entre os avaliadores combinados aos pares, também pode ser utilizada como um indicativo de precisão de um método de avaliação de doenças (NUTTER JÚNIOR et al., 1993). As regressões lineares entre as severidades estimadas entre os cinco avaliadores com experiência e entre os nove avaliadores sem experiência, quando não utilizaram a escala diagramática, produziram coeficientes de determinação (R^2) médio de 0,86 em ambos os grupos. Na primeira e segunda avaliações com o uso da escala, os coeficientes de determinação (R^2) para os avaliadores com experiência foi em média de 85% e 87% respectivamente (Tabela 5) e para os avaliadores sem experiência foi de 89% na primeira avaliação e 91% na segunda (Tabela 6).

Tabela 5 Coeficientes de determinação (R^2) de equações de regressão linear simples relacionando as estimativas da mancha-angular entre avaliadores com experiência na avaliação, sem o auxílio da escala diagramática e com auxílio da escala diagramática

Sem o uso da escala				
Avaliador	2	3	4	5
1	0,9192	0,9032	0,8361	0,8723
2		0,877	0,7978	0,7913
3			0,8799	0,9272
4				0,8268
Média				0,8630
Primeira avaliação com o uso da escala				
Avaliador	2	3	4	5
1	0,8118	0,9437	0,8403	0,9023
2		0,8034	0,7565	0,7894
3			0,8748	0,903
4				0,8527
Média				0,8478
Segunda avaliação com o uso da escala				
Avaliador	2	3	4	5
1	0,8703	0,8469	0,8324	0,9154
2		0,8968	0,8434	0,9341
3			0,8221	0,9014
4				0,8701
Média				0,8733

Observou-se que houve concordância na classificação das linhagens quando utilizou-se a escala proposta pelo *CIAT* (1987) e a escala proposta no presente trabalho. Os resultados obtidos com ambas as escalas foram semelhantes (Tabela 7), exceto para a linhagem Esal 686. Essa linhagem apresentou reação de suscetibilidade à *P.griseola* no estágio V2 e reação de resistência no estágio V3.

Tabela 7 Resultado da avaliação das linhagens utilizando a metodologia de inoculação proposta por Pereira, Abreu e Souza (2011) e avaliação utilizando a escala diagramática proposta no presente trabalho, e utilizando a metodologia de inoculação e avaliação proposta pelo *CIAT* (1987)

Linhagens	Nota Média V2	Reação à <i>P.griseola</i>	Nota Média V3	Reação à <i>P.griseola</i>
Carioca MG	4,26	Suscetível	3,62	Suscetível
Branquinho	7,11	Suscetível	5,0	Suscetível
Talismã	4,93	Suscetível	4,1	Suscetível
Madrepérola	6,86	Suscetível	5,2	Suscetível
Pérola	4,83	Suscetível	3,78	Suscetível
MAII 16	3,36	Suscetível	3,58	Suscetível
MAIV 3.36	3,0	Resistente	2,94	Resistente
MA VIII 5	4,19	Suscetível	4,25	Suscetível
MA VIII94	5,91	Suscetível	4,2	Suscetível
Jalo EEP	2,73	Resistente	2,11	Resistente
Esal 686	4,95	Suscetível	1,77	Resistente
M-20	2,82	Resistente	2,41	Resistente

5 DISCUSSÃO

Os níveis de sintomas representados em cada nota da escala proposta no trabalho são bem mais elevados, quando comparadas com a escala do *CIAT*. Isso ocorreu porque na escala proposta no trabalho foram avaliadas plantas no estágio juvenil, ou seja, estágio de desenvolvimento V2. Plantas nesse estágio são mais propícias à infecção pelo patógeno (COSTA et al., 2006; MEDEIROS, 2004). Sendo assim, quando se avalia plantas em estágios iniciais de desenvolvimento espera-se observar sintomas mais severos. Então, para que a escala proposta reproduzisse resultados semelhantes aos obtidos pela escala do *CIAT* (1987) foi necessário aumentar os níveis de sintomas representados em cada nota da escala.

A comparação dos dados das análises de regressão dos avaliadores, com e sem o auxílio da escala diagramática, demonstrou que a escala foi efetiva para aumentar a acurácia e a precisão nas avaliações da doença (Tabela 1). Resultados semelhantes foram encontrados em outros trabalhos (ANGELOTTI et al., 2008; AQUINO et al., 2008; CORREIA et al., 2011; CUSTÓDIO et al., 2011; HALFELD-VIEIRA; NECHET, 2006; KAWOTA et al., 2008; LENZ et al., 2009, 2010; MICHEREFF; ANDRADE; NORONHA, 2006; NUTTER JÚNIOR; ESKERL; NETTO, 2006; SALGADO et al., 2009).

Na análise da precisão das estimativas visuais da severidade sem a utilização da escala diagramática, observou-se que os avaliadores sem experiência tiveram maior precisão nas estimativas quando utilizaram a escala, que os avaliadores com experiência (Tabela 2). Esse resultado indica que os avaliadores com experiência mesmo utilizando uma nova escala, tendem a avaliar a severidade da mancha-angular baseando-se na escala que utilizavam anteriormente, pois já estavam adaptados e familiarizados com a mesma. Para resolver esse problema deve-se realizar o treinamento prévio desses avaliadores.

De forma geral, sem o uso da escala ambos os avaliadores com e sem experiência apresentaram coeficientes angulares (b) significativamente diferentes de 1 ($P \leq 0,05$) e menores que 1 ($b < 1$), exceto para o avaliador (4'), indicando que subestimaram sistematicamente a severidade real em todos os níveis de intensidade da doença. Em relação aos valores do intercepto (a) sem o uso da escala, 40% e 78% dos avaliadores com e sem experiência respectivamente, diferiram significativamente de zero ($P \leq 0,05$) e os valores foram menores que zero ($a < 0$), indicando a presença de desvios constantes e subestimação da severidade real a níveis baixos de intensidade da doença (Tabela 2). Esses resultados assemelham-se aos constatados na validação das escalas diagramáticas para cercosporiose da alface (GOMES; MICHEREFF; MARIANO, 2004) e queima das folhas do inhame (MICHEREFF et al., 2000). No entanto, os resultados contrastam com a maioria dos estudos envolvendo validação de escalas diagramáticas (ANGELOTTI et al., 2008; CORREA et al., 2001; CUSTÓDIO et al., 2011; MICHEREFF; ANDRADE; NORONHA, 2006; SALGADO et al., 2009; SPÓSITO et al., 2004), nos quais ficou evidente a tendência dos avaliadores em superestimar os níveis de severidade das doenças.

A presença de desvios sistemáticos nas mensurações da mancha-angular do feijoeiro, mesmo entre aqueles avaliadores com bons níveis de precisão, indica a divergência entre estimativas acuradas e precisas, como constatado por Nutter et al. (1993). Avaliações realizadas com baixa acurácia não representam sérios problemas, uma vez que os desvios normalmente seguem o mesmo padrão. Nesse caso, os possíveis desvios, caso não possam ser corrigidos pelo treinamento, poderiam ser compensados por equações de calibração para cada avaliador envolvido no estudo, como realizado por Shaw e Royle (1989). A correção desses desvios pode ser importante nos patossistemas em que decisões de manejo sejam baseadas em limiares de doença (NUTTER et al., 1985).

Quando a avaliação foi realizada com o auxílio da escala diagramática 100% dos avaliadores, com e sem experiência melhoraram a acurácia de suas estimativas. Todos os valores do intercepto da regressão linear foram significativamente iguais a zero ($P \leq 0,05$), indicando a ausência de desvios constantes. Já em relação aos valores dos coeficientes angulares, 60% e 67% dos avaliadores com e sem experiência respectivamente, foram significativamente iguais a 1 ($P \leq 0,05$), evidenciando redução dos desvios sistemáticos (Tabela 2).

A utilização da escala também permitiu reduzir os valores dos erros absolutos das estimativas, quando comparados com os obtidos sem a utilização da escala (LENZ, 2009; MICHEREFF; ANDRADE; NORONHA, 2006; NASCIMENTO et al., 2005; NUTTER JÚNIOR; SCHULTZ, 1995; SPOSITO et al., 2004). A maioria dos erros absolutos foi inferior a 10%, mesmo quando os avaliadores não utilizaram a escala para estimar a severidade da doença, demonstrando boa precisão das estimativas dos avaliadores. Segundo critérios utilizados para avaliar escalas, baseados nos erros absolutos, valores inferiores a 5% são considerados excelentes, enquanto até 10% são considerados bons (NUTTER JÚNIOR; SCHULTZ, 1995). Com a utilização da escala todos os avaliadores enquadraram-se na faixa de excelente, ou seja, os erros absolutos das estimativas foram inferiores a 5% (Gráfico 1 e 2). A presença de algum nível de erro absoluto nas mensurações é comum e pode ser compensada pela rapidez e padronização que o uso de escalas diagramáticas proporciona (STONEHOUSE et al., 1994).

Os avaliadores evidenciaram boa repetibilidade nas estimativas da severidade da mancha-angular do feijoeiro com o uso da escala diagramática, pois a quantidade média de variação na primeira avaliação explicada pela segunda avaliação foi alta, tanto para as estimativas dos avaliadores com experiência quanto para os avaliadores sem experiência (Tabela 4). Os valores

do intercepto e a maioria dos valores dos coeficientes angulares da reta não diferiram significativamente de zero e um, respectivamente, indicando elevada precisão das estimativas dos avaliadores.

A reprodutibilidade das estimativas entre os avaliadores também pode ser utilizada como indicativo de análise da precisão da escala. Segundo Nutter Jr. et al. (1993), diferentes avaliadores utilizando uma mesma escala e avaliando o mesmo material devem estimar os mesmos valores de severidade, cuja significância é verificada por meio de regressões lineares entre as severidades estimadas pelos avaliadores, aos pares. Com a utilização da escala, nas duas avaliações os valores do coeficiente de determinação (R)² foram elevados para ambos os avaliadores com e sem experiência (Tabela 5 e 6). Esses resultados corroboram aos constatados na validação de escalas diagramáticas para outros patossistemas (DÍAZ; BASSANEZI; BERGAMIM FILHO, 2001; NUTTER et al., 1995). Portanto, quando a escala diagramática para mancha-angular foi utilizada, os dados estimados pelos diferentes avaliadores estiveram próximos a uma concordância perfeita, indicando alta precisão.

As diferenças entre os avaliadores na determinação da severidade da mancha-angular do feijoeiro corroboram com as observações feitas por Nutter Júnior e Schultz (1995) em relação à habilidade humana diferenciada para discriminar níveis de doença.

Comparando os resultados obtidos da avaliação da severidade da mancha-angular, utilizando a escala proposta pelo CIAT (1987) e a escala proposta no presente trabalho, pode-se observar que houve concordância entre ambas. As linhagens classificadas como resistentes ou suscetíveis pela escala do CIAT, obtiveram a mesma classificação quando avaliadas utilizando a escala proposta no trabalho, exceto para a linhagem Esal 686 (Tabela 7). Essa linhagem apresentou reação de suscetibilidade à *P.griseola* no estádio V2 e reação de resistência no estádio V3, esperava-se que em ambos os estádios (V2 e V3) a

linhagem apresentasse reação de suscetibilidade. Provavelmente, pode ter ocorrido alguma falha durante a inoculação dessa linhagem.

Conforme todos os resultados obtidos no presente trabalho, a escala proposta poderá ser utilizada com confiança. O uso da metodologia de inoculação em folhas primárias (PEREIRA; ABREU; SOUZA, 2011) juntamente com a escala proposta, permitirá grandes ganhos nos programas de melhoramento de feijoeiro visando resistência à mancha-angular. A possibilidade de realizar o teste de patogenicidade precocemente otimizará a seleção de genótipos resistentes nos programas de melhoramento, bem como a caracterização de linhagens de bancos de germoplasma de feijoeiro. Essas atividades são conduzidas de forma rotineira nos programas de melhoramento de várias instituições de pesquisa do Brasil, tais como (UFLA, UFV, Embrapa Arroz e Feijão e IAPAR) (MODA-CIRINO et al., 2012). Nessas instituições a maioria das avaliações é realizada em campo no final do ciclo da cultura. Devido a isso, essas avaliações podem ser sub ou superestimadas conforme a época em que ela é realizada, a ocorrência natural da doença e a interferência de outras características que normalmente são avaliadas simultaneamente como resistência a outras doenças. Todos esses fatores tornam a avaliação da severidade da mancha-angular laboriosa e pouco precisa. Sendo assim, fica fácil observar que a adoção da metodologia de inoculação nas folhas primárias associada à escala proposta no trabalho, permitirá maior praticidade e resultados mais precisos nas avaliações da severidade da mancha-angular do feijoeiro. Além disso, permitirá também reduzir o tempo para a realização do teste de patogenicidade. Esses fatores contribuirão para que os programas de melhoramento visando resistência à mancha-angular tenham ganhos maiores devido à seleção criteriosa de novas fontes de resistência e também na seleção de progênies superiores.

6 CONCLUSÃO

A escala diagramática proposta mostrou-se efetiva na avaliação da severidade da mancha-angular em folhas primárias do feijoeiro.

A escala diagramática proposta permitirá o emprego da avaliação da reação em folhas primárias do feijoeiro à *P.griseola* visando identificar novas fontes de resistência em bancos de germoplasma e também de progênies superiores nos programas de melhoramento genético.

REFERÊNCIAS

- ANGELOTTI, F. et al. Diagrammatic scale for assessment of grapevine rust. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, p. 439-443, 2008.
- ALLORENT, D.; SAVARY, S. Epidemiological Characteristics of Angular Leaf Spot of Bean: a systems analysis. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 113, p. 329–341, 2005.
- ALZATE-MARIN, A. L. et al. Association of dominant and recessive genes confers anthracnose resistance in stem and leaves of common bean. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 157, n. 1, p. 70-72, Jan. 2009.
- AMARO, G. B. et al. Phenotypic recurrent selection in the common bean with Carioca- type grains for resistance to *Phaeoisariopsis griseola*. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirao Preto, v. 30, n. 3, p. 584-588, 2007.
- AMORIM, L. et al. Clorose variegada dos citros: uma escala diagramática para avaliação da severidade da doença. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 174-180, 1993.
- AQUINO, L. A. et al. Elaboração e validação de escala diagramática para quantificação da mancha de ramularia do algodoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 4, p. 361-363, 2008.
- ARANTES, L. O.; ABREU, A. F. B.; RAMALHO, M. A. P. Eight cycles of recurrent selection for resistance to angular leaf spot in common bean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 10, n. 3, p. 232-237, Sept. 2010.
- BERGAMIN FILHO, A; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1996. p. 299.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia, doenças das plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1997. p. 376-399.

BOREL, J. C. et al. Inheritance of resistance to angular leaf spot in the bean pods. **Annual Report of Bean Cooperative**, Fort Collins, v. 53, p. 230-231, 2010.

BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. 22. ed. Viçosa, MG: UFV, 1998. 453 p.

BRAUN, U.; CROUS, P. W. Proposal to conserve the name *Pseudocercospora* against *Stigmina* and *Phaeoisariopsis*. **Taxon**, Utrecht, v. 55, p. 803, 2006.

CAIXETA, E. T. et al. Allelic relationships for genes that confer resistance to angular leaf spot in common bean. **Euphytica**, Wageningen, v. 145, n. 3, p. 237-245, Oct. 2005.

CAIXETA, E. T. et al. Inheritance of angular leaf spot resistance in common bean line BAT 332 and identification of RAPD markers linked to the resistance gene. **Euphytica**, Wageningen, v. 134, n. 3, p. 297-303, Dec. 2003.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: J. Wiley, 1990. p. 532.

CARDONA-ALVAREZ, C.; WALKER, J. C. Angular leaf spot of bean. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 49, p. 610-615, 1956.

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. **Standard system for the evaluation of bean germoplasm**. Cali, 1987. 54 p.

COELHO, R. R. et al. Determinação das condições climáticas que favorecem o desenvolvimento da ferrugem e da mancha angular do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 5, set./out. 2003.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira**: grãos: safra 2011/2012, décimo primeiro levantamento. Brasília, 2012.

CORRÊA, R. X. et al. Herança da resistência à mancha-angular do feijoeiro e identificação de marcadores moleculares flanqueando o loco de resistência. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 27-32, jan./mar. 2001.

CORREA-VICTORIA, F. J. **Pathogenic variation, production of toxic metabolites, and isoenzymes analysis in *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferr.** 1987. 154 p. Thesis (PhD in Plant Pathology) – Michigan State University, Michigan, 1987.

CORREIA, K. C. et al. Escala diagramática para avaliação da severidade da antracnose em pinha. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 1, p. 1-4, jan. 2011.

COSTA, I. F. D. et al. Resistência de seis cultivares de soja ao *Colletotrichum truncatum* (Schwein) em dois estádios fenológicos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 6, p. 1684-1688, 2006.

COUTO, M. A.; SANTOS, J. B.; FERREIRA, J. L. Melhoramento do feijoeiro comum com grão tipo carioca, visando resistência à antracnose e à mancha angular. **Ciências agrotecnológica**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1643-1648, 2008.

CROUS, P. W. et al. Re-evaluating the taxonomic status of *Phaeoisariopsis griseola*, the causal agent of angular leaf spot of bean. **Mycologia**, New York, v. 93, p. 1081-1101, 2001.

CROUS, P. W.; KANG, J. C.; BRAUN, U. A phylogenetic redefinition of anamorph genera in *Mycosphaerella* based on ITS rDNA sequence and morphology. **Mycologia**, New York, v. 55, p. 163-173, 2006.

CUNHA, W. G.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Selection aiming at upright growth habit common bean with carioca type grains. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 5, n. 4, p. 379-386, 2005.

CUSTÓDIO, A. A. P. et al. Comparison and validation of diagrammatic scales for brown eye spots in coffee tree leaves. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1067-1076, 2011.

DÍAZ, C. G.; BASSANEZI, R. B.; BERGAMIM FILHO, A. Desenvolvimento e validação de uma escala diagramática para *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 27, n. 1, p. 35-39, 2001.

FERRARIS, T. Oservazioni micologiche su specie del gruppo Hyphales (Hyphomycetae): Sul. Gen. Isariopsis Fers. Sacc. **Annales Mycologici**, Berlin, v. 7, p. 273-286, 1909.

FERREIRA, C. F. et al. Inheritance of angular leaf spot resistance in common bean and identification of a RAPD marker linked to a resistance gene. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 4, p. 1130-1133, July 2000.

GODOY, C. V. et al. Diagramatic scale for bean: development and validation. **Journal of Plant Disease and Protection**, Stuttgart, v. 104, n. 4, p. 336-345, 1997.

GOMES, A. M. A.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R. Elaboração e validação de escala diagramática para cercosporiose da alface. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, n. 1, p. 39-43, 2004.

HALFELD-VIEIRA, B. A.; NECHET, K. L. Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da mancha de cercospora em melancia.

Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 31, p. 46-50, 2006.

HORSFALL, J. C.; BARRATT, R. W. An improved grading system for measuring plant diseases. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 35, p. 665, 1945.

HORSFALL, J. G.; COWLING, E. B. Pathometry: the measurement of plant disease. In: HORSFALL, J. G.; COWLING, E. B. (Ed.). **Plant disease: an advanced treatise: how disease develops in populations**. New York: Academic, 1978. v. 2, p. 119-136.

ITO, M. F. et al. A cultura do feijoeiro comum e a mancha-angular no Estado de São Paulo. In: SARTORATO, A.; THUNG, M. (Ed.). **Memórias da participação brasileira no I Taller Internacional obre Ia Mancha Angular de Frijol**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2002. (Documentos On Line, 132). Disponível em: <http://www.cnpaf.embrapa.br/publicacao/serie_documentos/doc_132/132_1.htm>. Acesso em: 22 jun. 2012.

IWANO, F. K. **Estratégias de avaliação da severidade da mancha-angular no feijoeiro**. 2013. 54 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

KAWOTA, L. S. et al. Escala diagramática para avaliar severidade de mildio na soja. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 9, n. 1, p. 105-110, 2008.

LENZ, G. et al. Elaboração e validação de escala diagramática para quantificação da mancha de isariopsis da videira. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 8, nov. 2009.

LENZ, G. et al. Escala diagramática para avaliação de severidade de mancha-parda em arroz. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 4, p. 752-758, 2010.

LIEBENBERG, M. M.; PRETORIUS, Z. A. A review of angular leaf spot of

common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **African Plant Protection**, Queenswood, v. 3, n. 2, p. 81-106, Aug. 1997.

MADDEN, L. V.; HUGHES, G.; VAN DEN BOSCH, F. **The study of plant disease epidemics**. Saint Paul: Minnesota, 2007. 432 p.

MAHUKU, G. S. et al. Inheritance and characterization of angular leaf spot resistance gene presence in common bean accession G. 10474 and identification of an ALFP marker linked to the resistance gene. **Crop Science**, Madison, v. 44, p. 1817-1824, 2004.

MAHUKU, G. S. et al. Sources of resistance to angular leaf spot (*Phaeoisariopsis griseola*) in common bean core collection, wild *Phaseolus vulgaris* and secondary gene pool. **Euphytica**, Wageningen, v. 130, n. 3, p. 303-313, 2003.

MAHUKU, G. S.; IGLESIAS, A. M.; JARA, C. Genetics of angular leaf spot resistance in the Andean common bean accession G5686 and identification of markers linked to the resistance genes. **Euphytica**, Wageningen, v. 167, n. 3, p. 381-396, June 2009.

MEDEIROS, L. A. M. **Resistência genética do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) ao *Colletotrichum lindemuthianum***. 2004. 116 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004.

MENEZES JÚNIOR, J. A. N.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Seleção recorrente para três caracteres do feijoeiro. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 4, p. 833-838, 2008.

MICHEREFF, S.J.; MAFFIA, L.A.; NORONHA, M.A. Escala diagramática para avaliação da severidade da queima das folhas do inhame. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.25, n.4, p.612-619, 2000.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; NORONHA, M. A. Development and validation of a diagrammatic key for *Cercospora* leaf spot of sweet pepper. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 3, p. 260-266, 2006.

MIKLAS, P. N. et al. Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: from classical to MAS breeding. **Euphytica**, Wageningen, v. 147, n. 1, p. 105-131, 2006.

MODA-CIRINO, V. et al. Mancha Angular. In: _____. **Melhoramento de feijoeiro-comum e prevenção de doenças**. Viçosa, MG: EPAMIG Zona da Mata, 2012. p. 157.

MONDA, E. O.; SANDERS, F. E.; HICK, A. Infection and colonization of bean leaf by *Phaeoisariopsis griseola*. **Plant Pathology**, Osney Mead, v. 50, n. 1, p. 103-110, Feb. 2001.

NASCIMENTO, A. R. P. et al. Elaboração e validação de escala diagramática para cancro bacteriano da videira. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 31, n. 1, p. 59-64. 2005.

NIETSCHKE, S. et al. RAPD and SCAR markers linked to a gene conferring resistance to angular leaf spot in common bean. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 148, n. 2, p. 117-121, Feb. 2000.

NUTTER JÚNIOR, F. W.; ESKERL, P. D.; NETTO, R. A. Disease assessment concepts and the advancements made in improving the accuracy and precision of plant disease data. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 115, p. 95-103, 2006.

NUTTER JÚNIOR, F. W. et al. Assessing the accuracy, intrarater repeatability, and inter-rater reliability of disease assessment systems. **Phytopathology**, St. Paul, v. 83, n. 8, p. 806-812, 1993.

NUTTER JÚNIOR, F. W.; SCHULTZ, P. M. Improving the accuracy and precision of disease assessments: selection of methods and use of computer-aided training programs. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v. 17, n. 1, p. 174-184, 1995.

PASTOR-CORRALES, M. A.; JARA, C. La evolucion de *Phaeoisariopsis griseola* com el frijol comum en America Latina. **Fitopatologia Colombiana**, Santa Fe de Bogota, v. 19, n. 1, p. 15-22, 1995.

PAULA JÚNIOR, T. J.; VIEIRA, R. F.; ZAMBOLIN, L. Manejo integrado de doenças do feijoeiro. **Informe Agropecuario**, Belo Horizonte, v. 25, n. 223, p. 99-103, jul. 2004.

PAULA JÚNIOR, T. J.; ZAMBOLIM, L. Doenças. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas Gerais**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2006. p. 359-414.

PARRELLA, R. A. C. **Alternativas para avaliação de severidade da mancha angular no feijoeiro comum**. 2008. 90 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

PEREIRA, R.; ABREU, M. J.; SOUZA, E. A. Alternative method to assess the reaction of common bean lines to pseudocercospora griseola. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 54, p. 104-105, 2011.

PEREIRA, R. et al. Evaluation of resistance in common bean genotypes to the causal agent of angular leaf spot. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 56, 2013.

PIRES, C. V. et al. Composição físico-química de diferentes cultivares de feijão (*phaseolus vulgaris*). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 16, n. 2, p. 157-162, abr./jun. 2005.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SANTOS, J. B. Genetic progress after four cycles of recurrent selection for yield and grain traits in common bean. **Euphytica**, Wageningen, v. 144, n. 1, p. 23-29, Feb. 2005.

RAMALHO, M. A. P. et al. Repercussão na ocorrência da Mancha Angular na produtividade de grãos de linhagens de feijão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 4., 2007, São Lourenço. **Anais...** São Lourenço: UFLA, 2007. 1 CD ROM.

RAGAGNIN, V. A. et al. Avaliação da resistência de isolinhas de feijoeiro ao *Colletotrichum lindemuthianum*, *Uromyces appendiculatus* e *Phaeoisariopsis griseola*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 6, p. 591-596, nov./dez. 2003.

SACCARDO, P. A. *Isariopsis griseola* Sacc. **Michelia**, v. 1, p. 273, 1878.

SALGADO, M. et al. Diagrammatic scale to evaluate severity of phoma leaf blight of coffee trees. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 6, p. 422-427, 2009.

SANGLARD, D. A. et al. An efficient protocol for isolation, sporulation and maintenance of *pseudocercospora griseola*. **Annual Report of Bean Cooperative**, Fort Collins, v. 52, p. 62-63, 2009.

SANGLARD, D. A. **Melhoramento genético do feijoeiro com ênfase na piramidação de resistência à mancha-angular**. 2006. 84 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.

SANTOS FILHO, H. P.; FERRAZ, S.; VIEIRA, C. Resistencia à mancha-angular (*Isariopsis griseola* Sacc.) no feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres**, Vicoso, MG, v. 23, n. 127, p. 226-230, maio/jun. 1976.

SARTORATO, A. Identification of *Phaeoisariopsis griseola* pathotypes from five States of Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 78-81, 2002.

SARTORATO, A. Pathogenic variability and genetic diversity of *Phaeoisariopsis griseola* isolates from two counties in the State of Goias, Brazil. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 152, n. 7, p. 385-390, Aug. 2004.

SCHWARTZ, H. F. et al. Dry bean yields losses caused by Ascochyta, angular and white leaf SDots in Colombia. **Plant Disease**, St. Paul, v. 65, n. 6, p. 494-496, June 1981.

SCHWARTZ, H. F.; PASTOR-CORRALES, M.; KATHERMAN, M. J. Dry bean disease loss assessment. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 71, p. 1007, 1981.

SINGH, S. P.; SCHWARTZ, H. F. Breeding common bean for resistance to diseases: a review. **Crop Science**, Madison, v. 50, p. 2199-2223, 2010.

SILVA, G. S. et al. Estimation of genetic progress after eight cycles of recurrent selection form common bean grain yield. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 10, n. 4, p. 351-356, Dec. 2010.

SILVA, K. J. D. **Variabilidade entre isolados de *Phaeoisariopsis griseola***. 2007.153 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

SILVEIRA, G. A. **Evaluación de la resistencia de frijol a la mancha angular: algunos aspectos fisiológicos de *Isariopsis griseola* Sacc. y patogenicidad de algunas cepas colectadas en Costa Rica**. 1967. 60 p. Tese (Mestrado em Fitopatologia) - Turrialba: Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas da OEA, 1967.

SPÓSITO, M. B. et al. Elaboration and validation of diagrammatic scale to evaluate black spot severity in citrus fruits. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 81-85, 2004.

STONEHOUSE, J. Assessment of andean bean diseases using visual keys. **Plant Pathology**, Osney Mead, v. 43, p. 519-527, 1994.

TEIXEIRA, F. F. et al. QTL Mapping for angular leaf spot in common bean using microsatellite markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Vicosa, MG, v. 5, n. 3, p. 272-278, Sept. 2005.

VALE, F. X. R. et al. Quant: a software for plant disease severity assessment. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 8., 2003. New Zealand. **Anais...** Christchurch: [s. n.], 2003. p. 105.

VIDIGAL, F. P. S. et al. Molecular markers linked to angular leaf spot resistant genes in common bean accessions from eastern africa and brazil. **Annual Report of Bean Cooperative**, Fort Collins, v. 53, p. 92-93, 2010

VIEIRA, C. et al. Melhoramento do feijão. In: BOREM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2005. p. 301-392.

VIEIRA JÚNIOR, I. C. et al. Reação de linhagens de feijoeiro do programa de seleção recorrente visando resistência à *Pseudocercospora griseola* a dois isolados do Patógeno. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 25., 2012, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2012. 1 CD ROM.

ZAUMEYER, W. J.; THOMAS, H. R. **A monographic study of bean diseases and methods for their control**. Washington: USDA, 1957. 255 p.