HÉLIA ALVES DE MENDONÇA

CONTROLE GENÉTICO DA REAÇÃO AO FUNGO *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. E DA COR DE HALO EM FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. JOÃO BOSCO DOS SANTOS

LAVRAS

MINAS GERAIS-BRASIL

1996

Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e Catalogação da Biblioteca Central da UFLA

Mendonça, Hélia Alves de.
Controle genético da reação ao fungo Colletotrichum lindemuthianum (Sacc. et Magn.) Scrib. e da cor de halo em feijão (Phaseolus vulgaris L.) / Hélia Alves de Mendonça. -- Lavras : UFLA, 1996.
60 p. : il.

Orientadores: João Bosco dos Santos.
Dissertação (Mestrado) - UFLA.
Bibliografia

1. Feijão - Controle genético. 2. Cor - Alelo. 3. Fungo. 4. Doença fúngica. 5. Antracnose. 6. Genótipo - Seleção. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-635.6523

HÉLIA ALVES DE MENDONÇA

CONTROLE GENÉTICO DA REAÇÃO AO FUNGO *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. E DA COR DE HALO EM FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 27/08/1996

Prof. Drª Maria Cristina Mendes Costa

Prof. Dr. Daniel Furtado Ferreira

Prof. Dr. João Bosco dos Santos

(Orientador)

Aos meus pais, José Pinto e Terezinha, que com muito amor, dedicação e empenho, sempre me apoiaram em todas as fases da minha vida.

Ao meu esposo Valério, pelo amor, auxílio, apoio e compreensão.

Aos meus irmãos e cunhados.

Aos demais familiares.

Aos amigos.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor João Bosco dos Santos, pela orientação, disponibilidade, apoio, estímulo e ensinamento transmitidos durante todo o curso e na realização deste trabalho.

Ao professor Magno Antonio Patto Ramalho, pela contribuição valiosa dada durante a realização deste trabalho, demonstrando sempre disponibilidade e amizade, e pelos ensinamentos transmitidos.

Ao professor Daniel Furtado Ferreira, pela disponibilidade, auxílio nas análises estatísticas, sugestões e críticas, que contribuíram na melhoria da qualidade deste trabalho.

À professora Maria Cristina Mendes Costa, pela disponibilidade, sugestões e críticas apresentadas para o êxito deste trabalho.

Aos professores do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, em especial os professores do curso de Genética e Melhoramento de Plantas, César, Samuel e Lisete, pela amizade e ensinamentos transmitidos.

Ao Núcleo de Estudo de Genética (GEN) pelo apoio e oportunidades oferecidas que tanto contribuíram para minha formação profissional.

Aos amigos do curso de Genética e Melhoramento de Plantas: Flávia Avelar, Maurício, Cláudia, Oswaldo, Pedro Hélio, Ângela Abreu, Cíntia, Flávia França, Leonardo, Patrícia, Lucianne, Joelson, André, Mônica, Luciana, Juscélio, Giovana, Renata, Gustavo, Glauber, Cláudio, Leandro, Gabriela, Haroldo, Jaime, Cátia, João, Luís, Moacil, Wilton e demais colegas pelo convívio e amizade.

Aos amigos de outros cursos de pós-graduação pelo convívio e amizade.

Aos funcionários dos laboratórios de Fisiologia Vegetal, Microbiologia e Citologia, pelo companheirismo.

Aos funcionários do Departamento de Biologia e da Biblioteca da UFLA, pelos auxílios prestados.

Aos funcionários de campo, Leninha e Adilson, pela ajuda na realização deste trabalho.

À todos que estiveram presentes e contribuíram de alguma forma para o êxito deste trabalho.

BIOGRAFIA

HÉLIA ALVES DE MENDONÇA, filha de José Pinto de Mendonça e Terezinha Alves Mesquita, natural de Lavras, Estado de Minas Gerais, nasceu em 27 de março de 1970.

Em janeiro de 1994, graduou-se em Engenharia Agronômica pela Escola Superior de Agricultura de Lavras - ESAL, Estado de Minas Gerais.

Em março de 1994, iniciou o curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, na Universidade Federal de Lavras, concluindo-o em agosto de 1996.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURA

RESUMO

MENDONÇA, Hélia Alves de. **Controle genético da reação ao fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn) Scrib. e da cor de halo em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.).** Lavras: UFLA, 1996. 60p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).*

Na obtenção de novas cultivares de feijão, vários fenótipos devem ser considerados como produtividade, reação aos principais patógenos e características aceitáveis pelo consumidor. No caso de resistência aos patógenos, a antracnose, causada por *Colletotrichum lindemuthianum*, é uma das mais importantes, causando grandes reduções na produção. Com relação às características exigidas pelo consumidor, o tipo de grão semelhante ao da cultivar Carioca é o mais preferido. No entanto, foi observado que a maioria das linhagens derivadas da linhagem TO, como a P-45, que possui o alelo de resistência à antracnose, *Mex.2*, possui halo de cor escura, que é indesejável. Assim, o objetivo desse trabalho foi verificar se os genes envolvidos no controle da resistência à antracnose e cor de halo escuro estão ligados e também se o alelo de resistência à antracnose da EMGOPA 201-Ouro é ligado ao que confere a cor amarela do halo presente nessa cultivar. Para isso, os genitores P-45, EMGOPA 201-Ouro e Carioca 300V foram cruzados dois a dois e avaliadas as gerações F_1 e F_2. Com relação à resistência ao *C. lindemuthianum*, as segregações observadas dos cruzamentos P-45 x Carioca 300V e

---

* Orientador: João Bosco dos Santos. Membros da Banca: Maria Cristina Mendes Costa, Daniel Furtado Ferreira.

e Carioca 300V x EMGOPA 201-Ouro, confirmam que em cada genitor resistente existe um único alelo dominante responsável pela resistência à esse patógeno. Já o cruzamento P-45 x EMGOPA 201-Ouro, mostrou que a resistência à antracnose nesses genitores é devida a dois genes independentes. Considerando cor de halo, as segregações observadas nos três cruzamentos, levam a deduzir que existem pelo menos quatro genes envolvidos no controle desse caráter. Quando ambos os caracteres foram analisados em conjunto, a segregação observada do cruzamento Carioca 300V x EMGOPA 201-Ouro, mostrou que o alelo de resistência à antracnose do genitor EMGOPA 201-Ouro é independente dos alelos que determinam a cor amarela do halo. Contudo, da segregação obtida no cruzamento P-45 x Carioca 300V, infere-se que o alelo *Mex.2*, está ligado ao alelo *D*, um dos responsáveis pela cor marrom escura do halo, com uma frequência de recombinação de 6,04% ± 2,32%.

SUMMARY

Genetic control of the reaction to the fungus *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Srib. and of corona color in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)

Obtaining new common bean cultivars, a number of phenotypes must be taken into account such as yield, response to the major pathogens and acceptable characteristics by consumer. In the case of pathogens resistance, anthracnose, caused by *Colletotrichum lindemuthianum*, is one of the most important, causing great decreases in production. As regards the characteristics required by consumer, the type of grain similar to that of the cultivar Carioca is the most preferred. Nevertheless, it was found that most lines derived from the line TO, as P-45, which takes the anthracnose resistance allele, *Mex.2*, posses a corona dark in color, which is undesirable. So, the goal of this work was to verify whether the genes involved in the control of anthracnose resistance and dark colored corona are linked and also whether the allele of anthracnose resistance of the EMGOPA 201-Ouro is linked to which confers the yellow color of the corona present in this cultivar. Therefore, the parents P-45, EMGOPA 201-Ouro and Carioca 300V were crossed two by two and the F_1 and F_2 generations were both evaluated. Concerning the resistance to *C. lindemuthianum* the generations observed from the crosses P-45 x Carioca 300V and Carioca 300V x EMGOPA 201-Ouro, confirm that in each resistant parent, there exists a single dominant allele responsible for the resistance to this pathogen.

But the cross P-45 x EMGOPA 201-Ouro, showed that the resistance to anthracnose in these parents is due to two independent genes. Taking into account corona color, the observed segregations in the crosses, leading to infer that there are at least four genes involved in the control of this character. When both the characters were analysed in conjunction, the observed segregation of the cross Carioca 300V x EMGOPA 201-Ouro, showed the allele of anthracnose resistance of the parent EMGOPA 201-Ouro is independent of the alleles which determine the yellow color of the corona. However, from the segregation obtained in the cross P-45 x Carioca 300V, it follows that the allele *Mex.2* is linked to the allele *D*, one of the responsible for the dark brown color of the corona, with a recombinant frequency of 6.04% ± 2.32%.

1 INTRODUÇÃO

No processo de obtenção de novas cultivares de feijão, vários fenótipos devem ser considerados, como produtividade, reação aos principais patógenos e características aceitáveis pelo consumidor.

No caso de resistência aos patógenos, a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib., é uma das doenças mais importantes causando grandes reduções na produção. Além disso, o patógeno é transmitido pelas sementes e, em geral, os agricultores não se preocupam em utilizar sementes sadias no plantio. Dessa maneira, a obtenção de cultivares resistentes constitui uma alternativa que deve contribuir de forma mais significativa para o controle da doença.

Um agravante no caso do *C. lindemuthianum*, é a ocorrência de várias raças fisiológicas, tornando-se necessário incorporar nas cultivares novos alelos de resistência, para que o controle da doença seja eficiente. Como as fontes de resistência, em geral, não são cultivares adaptadas às nossas condições, elas normalmente, são portadoras de vários fenótipos indesejáveis. Tem sido constatado que algumas linhagens derivadas da cultivar TO, que possui o alelo de resistência *Mex.2*, possuem halo de cor marrom escuro, que é um fenótipo indesejável (Resende, 1989). A partir desse fato tem sido aventado a hipótese de que provavelmente o(s) gene(s) que controlam a cor do halo estejam ligados ao responsável pela resistência ao *C. lindemuthianum*. Tal

fato pode dificultar ou mesmo inviabilizar o uso dessa fonte de resistência na obtenção de novas cultivares aceitáveis pelos consumidores no Brasil.

Diante desses fatos, o objetivo do presente trabalho foi verificar se o alelo *Mex.2*, que confere resistência ao *C. lindemuthianum*, está ligado ao alelo que condiciona a cor marrom escuro no halo, e prever a possibilidade de seleção de genótipos recombinantes, resistentes à esse patógeno e halo sem cor. Objetivou-se, também, identificar o controle genético da resistência a esse patógeno, presente na cultivar EMGOPA 201-Ouro, e mais ainda, se esse alelo de resistência está ligado aos alelos que condicionam a cor amarela do halo que essa cultivar possui.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Antracnose

2.1.1. Etiologia e Sintomatologia

A nomenclatura empregada para a fase anamórfica (imperfeita) do agente causal da antracnose do feijoeiro comum é *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. Este fungo pertence à classe dos Deuteromicetos, ordem Melanconiales e família Melanconiaceae. O micélio é septado e ramificado e sua coloração, à medida que envelhece, varia de hialina a quase negra. Os conídios são hialinos, unicelulares, oblongos à cilíndricos e são produzidos nos acérvulos (corpos de frutificação do patógeno). Em sua fase teleomórfica (perfeita ou sexual), o fungo pertence à classe dos Ascomicetos e à ordem Diaportales com o nome *Glomerela cingulata* (Ston.) Spauld et Scherenk f. sp. *phaseoli* (Kimati, 1980). Produz peritécio mais ou menos arredondado. Os ascos, que são em número médio de 30, contém oito ascósporos desordenados (Bryson et al. 1992).

O patógeno sobrevive de uma estação à outra ou de um cultivo a outro, como micélio dormente dentro do tegumento da semente, nas células dos cotilédones, na forma de esporos, ou em restos culturais. A transmissão à longa distância é realizada pela semente contaminada, e à curta distância, pelos respingos da água de chuva, insetos, animais, homem e implementos agrícolas (Vieira, Vieira e Ramos, 1993).

A doença desenvolve-se principalmente entre as temperaturas de 13° C e 27° C, com um ótimo de 17°C e alta umidade (Kimati, 1980).

Os sintomas de antracnose aparecem em todos os órgãos aéreos da planta, e raramente nas raízes. As lesões formadas no hipocótilo atingem considerável tamanho, começando por uma pequena mancha que cresce gradualmente no caule, no sentido longitudinal. Posteriormente estas lesões tornam-se deprimidas e de coloração marrom-escura (Chaves, 1980). No pecíolo e no caule as lesões são alongadas e deprimidas, de coloração escura, podendo causar queda de folhas e morte da planta (Kimati, 1980). Nas folhas, as lesões ocorrem inicialmente na face abaxial, ao longo das nervuras, como pequenas manchas de cor pardo-avermelhada, as quais, posteriormente, tornam-se de cor café-escura à negra. Tanto as nervuras principais como as secundárias podem apresentar-se infectadas (Chaves, 1980). Quando a infecção é muito severa, formam-se manchas necrosadas nos tecidos adjacentes às nervuras (Vieira, 1967).

Os sintomas mais típicos da doença ocorrem nas vagens, sendo as lesões arredondadas, deprimidas, de tamanho variável, apresentando o centro claro, delimitado por um anel negro levemente protuberante que geralmente se acha rodeado por um bordo de coloração café-avermelhada. As lesões podem coalescer e cobrir parcialmente as vagens. Quando as condições de umidade e temperatura são favoráveis, forma-se uma massa de esporos de

coloração rosada no centro das lesões (Chaves, 1980; Kimati, 1980).

Nas sementes os sintomas se manifestam por manchas pardas levemente deprimidas e de tamanho variado (Kimati, 1980). Estas são, geralmente descoloridas, podendo apresentar cancros cuja coloração varia de amarelo a café-escuro ou negra (Chaves, 1980). As sementes infectadas dão origem a podridões no colo das plantas emergentes e lesões circulares nos cotilédones (Kimati, 1980). Muitas vezes, sementes infectadas podem não apresentar sintomas.

2.1.2 Variabilidade genética de *Colletotrichum lindemuthianum*

O fungo *C. lindemuthianum* possui ampla variabilidade em relação à capacidade de causar doença em várias cultivares. Tal variabilidade é identificada como diferentes raças fisiológicas. As primeiras raças fisiológicas foram identificadas por Barrus (1911), ao constatar que cultivares de feijão, quando inoculadas com isolados de diferentes procedências, tinham comportamento diferenciado, indicando a existência de duas raças distintas do patógeno, as quais foram denominadas alfa e beta. A partir dessa informação, outros trabalhos foram realizados identificando outras raças, como Burkholder (1923) que identificou a raça gama. Schreiber (1932) identificou também as três raças, alfa, beta, gama, enquanto Andrus e Wade (1942) citados por Walker (1969) identificaram a raça delta.

No México, Yerkes Jr. e Ortiz (1956) relataram a ocorrência de dez raças denominadas de MA-1 a MA-10, que foram divididas em três grupos de reação, denominados grupos mexicanos

I, II e III. No grupo mexicano I, identificaram as raças MA-1 a MA-6; no grupo mexicano II, a raça MA-7; e no mexicano III as raças MA-8 a MA-10. Posteriormente, Yerkes Jr. (1958), identificou as raças MA-11, MA-12 e MA-13, pertencentes ao grupo alfa. O grupo brasileiro I foi identificado por Oliveira, Antunes e Costa (1973) e o grupo brasileiro II, por Oliari, Vieira e Wilkison (1973). À semelhança do que foi feito no México, Oliari, Vieira e Wilkison (1973) e Pio-Ribeiro e Chaves (1975), identificaram dez raças, denominadas BA-1 a BA-10, e as colocaram em grupos de raças, sendo BA-1 e BA-2 pertencentes ao grupo alfa, BA-3, ao grupo brasileiro II, BA-4 e BA-5 pertencentes ao grupo brasileiro I, BA-6, BA-7 e BA-8 ao grupo mexicano II, BA-9 ao grupo mexicano I e BA-10 ao grupo delta. As raças BA-1 e BA-2, do grupo alfa, BA-4, do grupo brasileiro I e BA-9, do grupo mexicano I, também foram identificadas por Paradela Filho, Ito e Pompeu (1991). Os mesmos autores também identificaram as raças Alfa-4, Alfa-5, Alfa-6, Alfa-7 e Alfa-8, pertencentes ao grupo alfa; as raças BA-11, BA-12, BA-13, BA-14 e BA-15, pertencentes ao grupo brasileiro; as raças Mex.I-2 e Mex.I-3, pertencentes ao grupo mexicano I; e a raça Delta 2 pertencente ao grupo delta.

Vieira (1983) cita a identificação da raça épsilon por Blondet (1963), da raça lambda por Hubbeling (1974). Em 1976, Hubbeling identificou a raça capa e em 1977, a raça iota. Fouilloux (1976), identificou a raça alfa-brasil. As raças zeta, eta, teta e mu, foram relatadas por Menezes (1985).

2.1.3 Denominação de raças de *Colletotrichum lindemuthianum*

Como os resultados dos diversos trabalhos realizados demonstram que o *C. lindemuthianum* possui ampla variabilidade patogênica, tanto entre, quanto dentro de uma localidade, é necessário a utilização de uma metodologia padrão para identificação e denominação de raças. Procurando uma solução para este problema, Pio-Ribeiro e Chaves (1975), sugeriram que deveria ser estabelecido um sistema de identificação de raças fisiológicas, baseado na definição de uma série de cultivares diferenciadoras que poderiam ser utilizadas internacionalmente. No entanto, os pesquisadores têm utilizados diferentes cultivares diferenciadoras e diferentes sistemas de denominação para as raças, sendo possível que alguns isolados relatados pertencentes à mesma raça sejam, na realidade, raças diferentes e, ou, algumas raças com nomes diferentes, sejam a mesma.

Habgood (1970), também buscando minimizar este problema, apresentou uma proposta para designação de raças fisiológicas, que consiste na utilização de um grupo de cultivares diferenciadoras, em uma ordem fixa pré-estabelecida e de um sistema binário. No caso de *C. lindemuthianum* foram recomendadas doze cultivares diferenciadoras pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT em 1990 (Tabela 1). Cada cultivar recebe um valor, 2^i , onde *2* é o número de classes de reações consideradas (resistente ou suscetível), e o *i* é função da ordem da cultivar. As reações de resistência ou suscetibilidade apresentadas pelas cultivares recebem respectivamente os valores *0* e *1*. Então, para se denominar uma raça, esta deve ser inoculada sobre as doze cultivares diferenciadoras. Utilizando a ordenação já estabelecida, a identificação da raça é obtida pelo somatório dos valores das

cultivares (2^i) que se mostraram suscetíveis (Rava et al., 1993). Por exemplo, se as cultivares diferenciadoras de ordem 1ª, 3ª e 7ª forem suscetíveis, a raça será $2^0 + 2^2 + 2^6 = 69$. Tal raça identificada com esse número, é a única que exibe este comportamento nas diferenciadoras. Esse método, também é útil para denominar os alelos de resistência, e dá idéia do número de genes de resistência do hospedeiro e também o espectro de patogenicidade da raça, isto é, o número de genes de virulência ou o número de diferenciadoras que a raça vence.

O procedimento recomendado pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT (1990), foi empregado em vários trabalhos visando identificar raças de *C. lindemuthianum* (Rava et al., 1993; Rava, Purchio e Sartorato, 1994; Pastor-Corrales et al., 1994; Kelly, Afanador e Cameron, 1994). Na tabela 2 é apresentado uma equivalência do sistema de denominação de raças e o sistema binário proposto por Habgood (1970). Já na tabela 3 é mostrada a distribuição das raças identificadas no Brasil. Como pode ser observado, os Estados de Goiás, Espírito Santo e Paraná foram os que apresentaram maior número de raças diferentes, sendo que no Estado do Espírito Santo foi encontrada a raça de maior virulência (585).

TABELA 1. Sistema de identificação de raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* segundo Habgood (1970).

Cultivares em Ordem de Utilização	Sistema Binário	Valor Numérico das Variedades	
		Suscetível	Resistente
1.Michelite	2^0	1	0
2.Dark Rede Kidney	2^1	2	0
3.Perry Marrow	2^2	4	0
4.Cornell 49-242	2^3	8	0
5.Widusa	2^4	16	0
6.Kaboon	2^5	32	0
7.México 222	2^6	64	0
8.PI 207262	2^7	128	0
9.TO	2^8	256	0
10.TU	2^9	512	0
11.AB 136	2^{10}	1024	0
12.G 2333	2^{11}	2048	0

TABELA 2. Correspondência das denominações de diferentes raças de *C. lindemuthianum* segundo o sistema de classificação binário das raças fisiológicas e grupos do sistema clássico de nomenclatura (modificado de Rava, Purchio e Sartorato, 1994).

	RAÇAS FISIOLÓGICAS	
GRUPO	Diferentes Autores	Sistema Binário
ALFA	Alfa-Brasil	89
	Alfa-Brasil (Wid. R[1])	73
	Alfa-Brasil (Wid. R; TU S[2])	585
	Épsilon (M.222 S[3])	65
	Épsilon (Kab. S[4]; M.222 S)	97
	Eta	81
GAMA	Gama	102
DELTA	Delta	23
	Delta (Wid. R)	7
	Lambda	55
	Lambda (M.222 S)	119
	Capa (Wid. R; M.222 S)	79
	Capa (M.222 S)	95
	Mu	87
	Mu (TO S[5])	343
MEXICANO I	Mex.I (Corn. S[6])	8
	Mex.I (M.222 S)	64
	Mex.I (Corn. S; M.222 S)	72
MEXICANO III	Mex.II	67
	Mex.II (Corn. S)	75
	Mex.II (Wid. S)	83
	Mex.II (TO S)	339
BRASILEIRO	Bras.I	101
	Bras.I	117
	Zeta (Wid. R; M.222 S)	453

[1] Widusa resistente
[2] TU suscetível
[3] México 222 suscetível
[4] Kaboon suscetível
[5] TO suscetível
[6] Cornell 49-242 suscetível

TABELA 3. Distribuição dos isolados e das raças de *Colletotrichum lindemuthianum* identificadas no período de 1989/92 (Rava, Purchio e Sartorato, 1994).

	UNIDADES DA FEDERAÇÃO												
RAÇAS	BA	DF	ES	GO	MG	MS	PB	PE	PR	RJ	RS	SC	SE
	(Números de Isolados)												
7								1					
8				1									
23	1			1				1					
55									1			1	
64			6	2					1		2		
65	5		4				1		4				
67			1										
72			1										
73		2	11	21	1					1			
75			1										
79			1										
81	1				1			1	1				
83				1									
87	3	1	2	3			1	3					
89					1	3			2				1
95									3				
97				1									
101	1												
102									1				
117				2									
119	2			3	3			1					
339						2							
343						1							
453									1		1		
585			1										
Total de Isolados	13	3	28	35	6	6	2	7	14	1	3	1	1

2.1.4 Controle genético da reação ao *Colletotrichum lindemuthianum* e fontes de resistência

Vários trabalhos foram realizados visando estudar o controle genético da reação ao *C. lindemuthianum*. A maioria inclui as raças alfa, beta e gama e, em geral, os resultados foram concordantes, embora algumas discrepâncias tenham surgido em função de diferenças quanto aos genitores e inóculos utilizados. O fato de alguns alelos conferirem resistência a um grande número de raças, e outros à uma única raça, à medida que os estudos sobre controle genético da reação ao patógeno vão sendo desenvolvidos, nota-se que eles vão se tornando mais complexos. Burkholder (1918) foi o primeiro a realizar este estudo, verificando que a resistência conferida às raças alfa e beta foi determinada por um único alelo dominante para cada raça. O mesmo autor, em 1923, verificou que a resistência à raça gama também é conferida por um único alelo dominante.

Trabalhando com uma mistura de isolados do patógeno, diferenciados nos três principais grupos (alfa, beta e gama), Schreiber (1932), verificou também que a resistência a esses três grupos estava baseada em três alelos dominantes de genes independentes, sendo um para cada grupo. Tal conclusão foi verificada a partir da inoculação de populações F_2, oriundas de cruzamentos de genitores resistentes e suscetíveis, com isolados provenientes de um, de dois ou dos três grupos. O mesmo autor, posteriormente, inoculou progênies dos mesmos cruzamentos com uma mistura de outras raças fisiológicas e concluiu que alelos dominantes de pelo menos oito genes são responsáveis pela resistência.

Segundo Andrus e Wade (1942) citados por Walker (1969), a herança da resistência às raças beta e gama, é explicada por um sistema de dez genes em três séries alélica, os

quais exibem interações gênicas dos tipos duplicada e complementar. Além disso, foi proposto um alelo dominante condicionando suscetibilidade, além de interações gênicas mais complexas. Para a raça delta, os autores sugerem que a resistência seja explicada por alelos independentes de três genes.

Foi relatado por Rava e Sartorato (1994), que a resistência às raças alfa, gama e delta em *Phaseolus aborigineus*, que é a forma selvagem de *Phaseolus vulgaris*, é controlada por alelos dominantes de dois genes complementares, para cada uma das raças, e a resistência à raça beta é conferida por um alelo dominante.

Cárdenas, Adams e Andersen (1964) estudaram a herança da resistência às raças alfa, beta e gama. Com relação à raça alfa, a reação de resistência depende de dois locos independentes, sendo que, em qualquer um deles, o alelo dominante é capaz de conferir resistência, comportando-se como genes duplicados. Sistema semelhante confere resistência à raça beta, porém, com alelismo múltiplo e dominância dos alelos que conferem suscetibilidade, além de interações complementares. A resistência à raça gama dependeu de genes com interações duplicadas e complementares, sem alelismo múltiplo. Os referidos autores observaram ligação entre os genes duplicados que governam a reação à raça gama, com aqueles duplicados e complementares que condicionam a reação à raça beta.

Estudando a herança da resistência às raças beta, gama e delta, Muhalet et al. (1981), verificaram que, para a raça beta, a resistência é explicada por quatro locos independentes, sendo que dois deles *Are* e *B*, interagem de forma duplicada e os outros dois, *C* e *X*, de forma complementar. Foi verificado que o gene *B* está representado por uma série alélica, cuja ordem de dominância é $B_3 > B_2 > B_1$, sendo que o alelo B_2 confere resistência e B_1 e B_3 condicionam suscetibilidade. Assim, uma

cultivar de feijão para ser resistente à raça beta deve possuir o alelo dominante *Are* ou a constituição B_2B_2 ou ainda os alelos dominantes complementares *C* e *X*. Quanto à raça gama, os referidos autores propuseram que a resistência depende da presença do alelo dominante *Are* ou do alelo dominante de qualquer um dos locos independentes, *Y* ou *H*. Para a raça delta foi proposto um sistema genético semelhante ao da raça beta, porém, sem alelismo múltiplo. Os alelos dominantes dos locos duplicados *Are* e *M* conferem resistência à essa raça, além de um sistema complementar com dois locos, *N* e *W*, cujos alelos dominantes interagem, condicionando a resistência.

Além das raças alfa, beta, gama e delta, várias outras raças, algumas das quais classificadas como subgrupos destas, foram também investigadas. Entre elas, as raças BA-1 do grupo alfa, BA-4 do grupo brasileiro I e BA-8 do grupo mexicano II (Fukuda, 1982). Segundo este autor, um único alelo dominante é o responsável pela resistência às raças BA-1 e BA-4 e, dois alelos dominantes e complementares conferem resistência à raça BA-8. Outras raças são controladas da seguinte forma (Del Peloso, 1987): a) A raça BA-2 é controlada por quatro genes independentes, sendo que os alelos *Are* e *A* exibem interação duplicada, e, *X* e *Y*, interação complementar; b) A raça BA-5 é controlada por seis genes independentes, sendo eles, o alelo *Are*, os alelos recessivos duplicados *br* e *s*, e os alelos recessivos *q*, *z* e *w*, entre os quais *z* e *w* são complementares a *q*, mas não o são entre si; foi constatado que o genótipo *Br-S-* é epistático em relação ao alelo *Are*; c) A raça BA-10 é controlada por sete genes independentes, sendo que os alelos dominantes *Are*, *R*, *N* e *X* exibem interações complementares, e também os alelos recessivos *t*, *u* e *v*, sendo que *u* e *v* são complementares à *t*, mas não entre si.

Vidigal (1994), estudou a herança da resistência às raças alfa, delta e capa. Para a raça alfa, foram propostos seis

genes independentes; entre eles, os alelos dominantes *Are*, *A*, *Mex*.2 e *W*, apresentam ação individual, podendo qualquer um deles conferir resistência. A resistência também é conferida pela ação dos alelos dominantes de dois genes, *X* e *Y*, que interagem de forma complementar. A resistência à raça delta é explicada pela ação de cinco genes; os alelos dominantes *Are*, *M* e *A'*, têm ação independente, podendo qualquer um conferir resistência. Além deles, os alelos dominantes *N* e *Y* , que são complementares, também conferem resistência. Para a raça capa, a resistência é conferida pela presença de um alelo dominante, *S*, ou , dos alelos dominantes *O* e *R*, de dois genes independentes, que exibem interação complementar.

Pastor-Corrales et al. (1994), inocularam trezentos e oitenta isolados de *C. lindemuthianum*, provenientes de onze países da América Latina, nas linhagens G 2333, Cornell 49-242, México 222, TO, TU, PI 207262 e AB 136, utilizadas como fontes de resistência à esse patógeno. Os autores verificaram que somente a linhagem G 2333 foi resistente à todos os isolados. Para o estudo da herança da resistência presente na linhagem G 2333 utilizando a raça 521, foram avaliadas as gerações F_1 , F_2 e os retrocruzamentos provenientes do cruzamento entre essa linhagem e a linhagem ICA Pijão, que é suscetível. Os autores concluíram que a resistência à raça 521, tanto na fase de seedling, como de planta adulta, é controlada por dois alelos dominantes, de genes independentes e com efeitos iguais.

Em razão da importância em se obter cultivares resistentes à antracnose e do grande número de raças patogênicas, desde a década de 50 os melhoristas estão em busca de novas fontes de resistência. Mastenbroek (1960), identificou o alelo dominante *Are*, presente na linhagem Cornell 49-242, que confere resistência às raças alfa, beta, gama e delta, além das raças épsilon, zeta e lamba (Menezes, 1988), BA-3, BA-4, BA-5 e BA-9 (Oliari, Vieira e Wilkinson, 1973; Oliveira, Antunes e Costa,

1973). Porém, raças como alfa-brasil, capa e iota são capazes de vencer essa resistência (Fouilloux, 1979; Menezes, Mohan e Bianchini, 1982). Assim, novas fontes de resistências foram identificadas, como as linhagens México 222 e México 227, que segundo Bannerot (1969) citado por Fouilloux (1979), possui um alelo dominante *Mex.1*, diferente e independente do alelo *Are*, que confere resistência às raças alfa, beta, delta, épsilon e lambda (Menezes, 1985). Na linhagem TO, foi verificado a presença de um alelo dominante, *Mex.2*, diferente e independente dos alelos *Are* e *Mex.1*, que confere resistência às mesmas raças que o alelo *Mex.1*, além das raças gama, capa, mu, teta, eta, Mexicano I, Brasileiro I e alfa-brasil (Fouilloux, 1976). A linhagem TU, possui um alelo dominante, *Mex.3*, independente dos já descritos e que confere resistência à todas as raças, inclusive à alfa-brasil (Fouilloux, 1976), porém, é vencido pela raça 585, do grupo alfa, identificada no Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão - CNPAF (Rava, Purchio e Sartorato, 1994). Já a linhagem PI 207262 é citada como resistente às raças capa, iota e alfa-brasil (Hubbeling, 1977). Menezes (1985) observou que as linhagens PI 207262 e TO são resistentes às raças alfa, delta, épsilon, eta, teta, capa, lamba e mu e suscetível à raça zeta. Observando as mesmas reações de resistência e suscetibilidade nas linhagens PI 207262 e TO à nove raças fisiológicas de *C. lindemuthianum*, o autor considerou-as semelhantes.

A obtenção de cultivares resistentes ao *C. lindemuthianum* é dificultada pela ocorrência de raças fisiológicas do patógeno e pela herança da resistência à essas raças que varia de simples a complexa, dependendo das raças fisiológicas. Portanto, é necessário a busca de novas fontes de resistência e uma maneira de identificar aquelas com resistência às várias raças. No Brasil, as cultivares FT 120, Rio Negro, IAPAR 14, FT Tarumã, PI 207262, AB 136, Pardo de Minas, são resistentes às raças alfa, delta e capa (Menezes, 1988; Pompeu,

Ito, Dudienas, 1993). No Paraná, Menezes (1988), identificou como resistentes às raças alfa, delta, épsilon, zeta, eta, teta, capa, lambda, as cultivares Rio Negro, IAPAR 20, FT Tarumã, AB 136, G 2338, G 3367, A 373, A 381.

2.2 Morfologia da semente de feijão

A semente de feijão é composta por um embrião envolto pelo tegumento. O tegumento ou testa, corresponde à membrana secundina do óvulo e é uma capa de proteção da semente, onde se localizam os pigmentos. Externamente o tegumento apresenta: hilo, halo, micrópila e rafe (Figura 1). O hilo é uma cicatriz deixada pelo funículo, o qual conecta a semente com a placenta; o halo é um anel em volta do hilo, que às vezes apresenta cor diferente da do tegumento; a micrópila é uma abertura próxima ao hilo, através da qual se realiza principalmente a absorção de água; e a rafe é proveniente da soldadura do funículo com os tegumentos externos do óvulo (Vilhordo, Burin e Gandolfi, 1988).

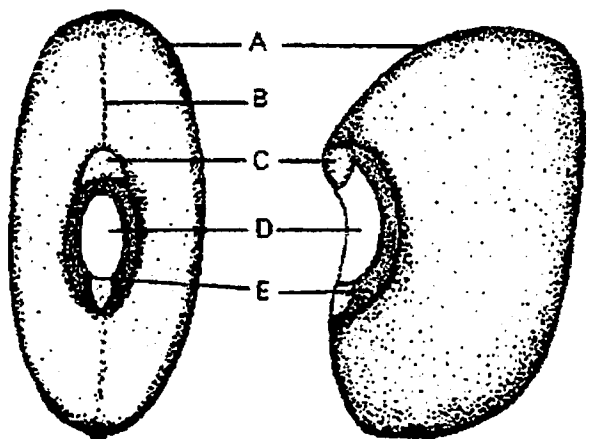

FIGURA 1. Aspecto externo da semente: A. tegumento; B. rafe; C. micrópila; D. hilo; E. halo

2.3 Cor do tegumento das sementes

A cor do tegumento da semente de feijão é objeto de numerosos estudos devido a ampla variabilidade de cores apresentada pelas diversas cultivares (alaranjada, bege, marrom, vermelha, branca, preta, etc.), devido a sua importância no mercado consumidor e também para a identificação dos grupos gênicos e cultivares (Singh, 1991). As sementes podem ter tegumentos com uma só cor ou duas. Neste caso, para identificação, registram-se ambas as cores, sendo que a cor secundária apresenta-se de maneira rajada ou pontilhada, ou ainda em forma de manchas sobre o tegumento. A cor é fundamental na identificação de cultivares, embora seja variável com a idade das sementes, tornando-se um problema na sua definição após armazenada algum tempo. Por isso, ao se fazer uma descrição de cor de tegumentos de sementes de feijão, esta deve ser feita logo após a colheita das sementes. Algumas cultivares apresentam ao redor do hilo, que é branco, um anel de cor diferente da do tegumento, chamado halo. Este pode ter uma ou duas cores, e a cor, também sofre alterações com o tempo de armazenamento da semente (Vilhordo, Burin, Gandolfi, 1988).

Outro problema relacionado à cor é a falta de utilização de uma carta de cores quando da descrição da cor do tegumento, pois muitas vezes esta é descrita em vários matizes, dificultando a comparação de amostras de sementes de feijão.

2.4 Alguns genes envolvidos no controle da cor do halo

O controle genético da cor do tegumento da semente do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é muito complexa, pois, além de estarem envolvidos muitos genes, diferentes pesquisadores os simbolizam com letras diferentes (Basset, 1989) e fornecem explicações diversas para o seu funcionamento. Não existe nem mesmo um consenso para o número de genes envolvidos no controle desse caráter. Basset (1988), cita que há doze genes controlando a cor do tegumento e quatro genes controlando a cor do halo, no entanto, existem interações complexas destes genes com outros e alguns locos têm alelos múltiplos. De acordo com Singh (1993) e Gepts e Debouck (1991), há dezoito genes controlando a cor do tegumento e do halo. A razão dessa complexidade, é que a cor, de acordo com Leakey (1988), é o resultado da mistura de pigmentos dos grupos das antocianinas e dos flavonóides, que são produzidos pelos genes. A presença, ausência e a mistura desses pigmentos origina a grande variabilidade de padrões de coloração.

Em uma revisão realizada por Vieira (1967) e Yarnel (1965) os genes responsáveis pela cor do tegumento foram agrupados da seguinte maneira: a) fundamentais ou básicos; b) complementares ou de coloração; c) modificadores; d) genes de coloração parcial.

Os genes fundamentais ou básicos, são responsáveis pela formação de substâncias indispensáveis à produção de cor nas sementes. No entanto, somente a presença dos genes básicos não é suficiente para a produção de cor, sendo necessário que os genes complementares também estejam presentes. Os genes básicos conhecidos são *P* e *Gri*. Assim, plantas com genótipos *pp* produzem sementes brancas e plantas *P-* podem apresentar sementes brancas na presença de *grigri*, mesmo estando presente os alelos

responsáveis pela cor do tegumento. Basset (1994a), relata que o *gri* é um alelo do loco *P*, e não um gene básico de cor. O autor propôs o símbolo p^{gri} para o novo alelo de *P*, onde a série de dominância e $P > p^{gri} > p$. Assim, *P-* e p^{gri} - produzem tegumento colorido, pois o alelo p^{gri} possui dominância parcial sobre o *p*, mas é totalmente recessivo para *P*.

Os genes complementares ou de coloração, são aqueles cujos alelos dominantes, na presença dos alelos dominantes básicos, produzem diferentes colorações no tegumento. São conhecidos os genes complementares *C*, *J*, *Ins*, *Can*, *G*, *B*, *V* e *R*. Tem sido verificado que o acúmulo de alelos dominantes, em geral, produzem tegumentos mais fortemente coloridos.

Os genes modificadores são aqueles que se manifestam apenas quando estão presentes os alelos dominantes dos genes fundamentais e complementares, modificando as cores por eles produzidas. Entre eles são citados os genes *Och*, *Flav*, *Vir* e *Rk*.

Os genes de coloração parcial são aqueles que causam diferentes distribuições de cor na semente. Entre eles, é importante salientar os que afetam a coloração em regiões próximas ao hilo da semente. Um deles, o gene *Cor*, condiciona a formação de cor no halo. Além do gene *Cor*, também existe o alelo recessivo *mi*, que produz uma linha colorida em torno da micrópila da semente, e o alelo recessivo *mar*, responsável pela formação de uma larga região colorida em volta do hilo.

Evidentemente, os alelos que condicionam cor no halo dependem das diferentes combinações genotípicas que expressam cor no tegumento e incluem os genes básicos, os complementares e até mesmo os modificadores. Por exemplo, o genótipo *P-Gri-* na presença de *J*, *Ins*, *Can*, *G* e *B*, ou da combinação destes com *C*, *R* , e *V*, e também com a participação dos modificadores, produz sementes com halo alaranjado à pardo-violeta. Já a presença de halo marrom, foi relatado por Coelho

(1981), como devida aos alelos dominantes *D* e *P*, sendo que o gene *D* é idêntico aos genes *Ins* e *Can*.

Outros genes que influenciam a cor do halo são os genes *Ers* e *Ers2*, no qual o alelo *Ers2* condiciona a formação de pigmentos coloridos nas regiões próximas ao hilo, mas somente na presença do gene *Ers* (Basset e Blom, 1991). No entanto, Basset (1993), relata que o alelo *Ers2* não tem efeito na formação de cor na região próxima do hilo.

Considerando gene *mar*, Basset (1994b) supõe que o mesmo não seja um gene de cor, mas apenas retarda a formação de pigmentos no tegumento e não tem efeito no desenvolvimento de pigmentos em qualquer outra parte da planta. Já em relação ao alelo *Cor*, Basset (1995), discorda que este seja o responsável pela cor escura do halo. O autor sugere que o caráter halo escuro é efeito pleiotrópico do alelo v^{lae} , o qual condiciona flores rosas, portanto, plantas com flores rosas sempre têm halo escuro e plantas com flores brancas não possuem halo de cor escura.

Na literatura existem várias citações a respeito de genes ligados ou efeitos pleiotrópicos. Aqui será mencionado alguns exemplos de ligação entre genes responsáveis pela cor e outros caracteres. Temple e Morales (1986), sugerem que há ligação entre os gene *I* de resistência ao vírus do mosaico comum do feijoeiro (BCMV) e o gene que condiciona cor de tegumento roxo. No entanto, os autores não excluem a possibilidade que o loco *I* seja pleiotrópico ao BCMV e a cor de grão. Allavena (1989), também observou forte associação entre o gene *I* e tegumento violeta-variegado, indicando ligação entre os genes ou pleiotropia.

Outra ligação observada foi entre o alelo *I*, que confere resistência ao BCMV, e o alelo *B*, que condiciona cor escura na região do hilo (Park e Tu, 1986). Os autores verificaram que progênies segregantes que apresentavam a região do hilo amarelo sempre foram suscetíveis ao vírus, e progênies

segregantes que apresentavam a região do hilo de cor escura, sempre foram resistentes ao BCMV.

Segundo Basset (1988), as fontes originais de resistência à podridão da raiz têm todas tegumentos coloridos. Deakin e Dukes (1975), confirmaram a ligação entre o gene que determina essa resistência e genes que condicionam cor no tegumento, porém, os autores não obtiveram segregantes com semente branca e níveis aceitáveis de resistência. Já Dickson e Boettger (1977), relataram a obtenção de recombinantes com tegumento branco e excelente nível de resistência à podridão da raiz. As diferenças nos resultados podem ser devidas, em parte, ao uso de diferentes genótipos para resistência e diferentes patótipos de podridão da raiz.

Em uma revisão do mapa de ligação de feijão realizada por Basset (1991), são citadas as seguintes ligações entre genes responsáveis pela produção de cor e outras características:

a) Genes *Aeq* e *tri* distantes 39 cM, sendo *Aeq* considerado por alguns autores como um dos alelos do gene *C*, e responsável pelo estandarte escuro. O alelo *tri* produz três cotilédones;

b) Gene *fin* distante de *No* de 31 cM. O alelo *fin* é responsável pelo hábito de crescimento determinado e o alelo *No* condiciona flores rosas;

c) Gene *V* distante 10cM de *rf*, sendo o alelo *V* responsável pela cor violeta das flores e o alelo *rf* responsável por folhagem reclinada.

d) Gene *t* distante 36cM de *cl* , onde o alelo *t* condiciona sementes parcialmente coloridas e o alelo *cl* determina uma linha circundando cada região colorida do tegumento, incluindo manchas pequenas;

e) Gene *P* distante 12cM de *Est-2*, sendo que o alelo *p* determina tegumento branco e impede a expressão de outros

padrões de cores. O alelo *Est-2* é responsável pela formação da isoenzima esterase-2.

2.5 Métodos utilizados na estimativa de frequência de recombinação entre genes ligados

Quando dois genes estão próximos no mesmo cromossomo, a distribuição deles durante a meiose para formar os gametas, depende da frequência de recombinação entre eles. Dessa forma, é importante estimar essa frequência de recombinação para poder fazer previsões mais precisas das gerações segregantes.

Os procedimentos mais utilizados na estimativa da frequência de recombinação entre dois genes é o cruzamento teste, o método do produto e o método da máxima verossimilhança. O cruzamento teste é o processo mais simples e mais fácil se estimar a frequência de recombinação entre dois genes, pois a descendência desse cruzamento é idêntica à proporção de gametas do heterozigoto, isto é, expressa a proporção de gametas paternais e recombinantes, sendo calculada pela seguinte expressão:

$$\text{freq.de recombinação} = \frac{\text{nº de recombinantes}}{\text{total de descendentes do cruz. teste}} \times 100$$

(Ramalho, Santos, Pinto, 1990). No entanto, no caso do feijoeiro, devido o processo de cruzamento artificial ser trabalhoso e exigir uma certa prática, e a porcentagem de "vingamento" dos cruzamentos ser pequena, o cruzamento teste é pouco utilizado, pois exige-se trabalhar com uma descendência numerosa para

detectar os recombinantes, o que significaria a realização de um grande número de cruzamentos.

O método do produto é simples e é aplicado em conjunto com tabelas como as calculadas por Immer e Henderson (1943), mas este método é limitado para casos onde ocorrem quatro classes de segregações.

O método da máxima verossimilhança, por outro lado, é mais geral e pode ser aplicado em quaisquer dados genéticos para verificar ligação. Visando facilitar a utilização desse método, Allard (1956), deduziu várias expressões, em função de diferentes segregações fenotípicas na geração F_2 e que permitem facilmente estimar a distância entre dois genes ligados.

Um método alternativo e equivalente ao da máxima verossimilhança, consiste na construção de um modelo genético não linear, que também considera as frequências fenotípicas na geração F_2, e é solucionado iterativamente pelo procedimento dos mínimos quadrados não lineares através do método de Gauss-Newton (Gallant, 1987). A vantagem desse procedimento em relação ao de Allard (1956), é que se pode estimar a frequência de recombinação entre dois genes para qualquer tipo de segregação fenotípica e em qualquer geração, portanto, de aplicação mais geral.

MATERIAL E MÉTODOS

Os cruzamentos para a obtenção das populações segregantes e a avaliação das mesmas foram realizadas em casa de vegetação no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

3.1 Material

Os materiais utilizados na obtenção das populações segregantes foram as cultivares Carioca 300V, EMGOPA 201-Ouro e a linhagem P-45. A cultivar Carioca 300V apresenta hábito de crescimento tipo III, sementes de coloração creme com listras marrom-escuro, halo sem cor e suscetível ao *C. lindemuthianum*.

A cultivar EMGOPA 201-Ouro, é oriunda da linhagem PI 207262 (Beebe, Pastor-Corrales, 1991), apresenta hábito de crescimento tipo II, sementes pequenas de cor amarela, halo de cor amarelo-escuro e resistente às raças capa, delta, iota e alfa-brasil (Hubbeling, 1977), alfa, delta, épsilon, eta, teta, capa, lambda e mu (Menezes, 1985) de *C. lindemuthianum*.

A linhagem P-45 foi obtida pelo programa de melhoramento da UFLA, a partir do cruzamento "TO x ESAL 501", apresenta hábito de crescimento tipo III, semente de coloração creme com listras marrom-escuro, halo de cor marrom escuro e resistente ao *C. lindemuthianum*. Esta linhagem é portadora do alelo *Mex.2*, o qual confere resistência às raças alfa, beta, delta, gama, capa, mu, eta, eta, Mexicano I, Brasileiro I, lambda e alfa-brasil de *C. lindemuthianum* (Fouilloux, 1976; Vieira, 1983, Rava e Sartorato, 1994).

3.2 Obtenção das populações segregantes

As gerações F_1 foram obtidas a partir dos seguintes cruzamentos: Carioca 300V x EMGOPA 201-Ouro, Carioca 300V x P-45 e EMGOPA 201-Ouro x P-45. Os cruzamentos foram realizados no segundo semestre de 1994, utilizando metodologia semelhante a apresentada por Ramalho, Santos e Zimmermann (1993). As sementes F_1 de cada cruzamento foram semeadas para a obtenção das sementes F_2. Em razão da cor do halo, da geração F_2, só se expressar nas sementes produzidas pelas plantas F_2, devido ao efeito materno do caráter, e a reação ao *C. lindemuthianum* se expressar em plantas F_2 jovens, tornou-se necessário avaliar a reação das plantas F_2 ao patógeno através das respectivas famílias F_3, porque, sob inoculação, as plantas F_2 suscetíveis seriam eliminadas antes da produção de sementes. Assim, cada planta F_2 foi colhida individualmente, obtendo-se 89 famílias do cruzamento Carioca 300V x EMGOPA 201-Ouro, 184 famílias do cruzamento Carioca 300V x P-45 e 62 famílias do cruzamento EMGOPA 201-Ouro x P-45.

3.3 Avaliação das populações segregantes

Inicialmente foi anotado a cor do halo das sementes de cada família. Em seguida, as 335 famílias foram avaliadas quanto à resistência ao *C. lindemuthianum* (novembro de 1995 à janeiro de 1996). Para essa avaliação, foram semeadas doze sementes de cada família em bandejas plásticas com solo esterilizado. As plantas, com sete dias após a emergência, foram inoculadas pulverizando-se uma suspensão com 1,2 x 10^6 conídios/ml. Após a inoculação, as bandejas foram cobertas com sacos plásticos, para formar uma câmara úmida, e colocadas em uma câmara refrigerada com temperatura em torno de 20° C, com 12 horas de luz e 12 horas de escuro, por 72 horas.

Sete dias após a inoculação, anotou-se a reação quanto ao *C. lindemuthianum* de cada família, que foi de três tipos: a) família com 100% de plantas resistentes, considerada proveniente de uma planta F_2 homozigótica para o alelo de resistência; b) família segregante, considerada proveniente de uma planta F_2 heterozigótica; c) família com 100% de plantas suscetíveis, considerada proveniente de uma planta F_2 homozigótica para o alelo de suscetibilidade. Para avaliação dos sintomas, utilizou-se a escala de notas descrita por Rava et al. (1993), onde são consideradas resistentes as plântulas com graus de 1 a 3 e, suscetíveis aquelas com graus de 4 a 9 (Tabela 4).

O isolamento de *C. lindemuthianum* foi obtido de lesões em vagens de feijão. As vagens foram desinfectadas superficialmente através da imersão em álcool 50% durante 1 minuto, seguida de imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1% durante 2 minutos. Em seguida foram lavadas com água destilada e esterilizadas e colocadas em câmara úmida por 2 dias.

Procedeu-se o isolamento através do plaqueamento de esporos em meio de cultura M_3 de Junqueira et al. (1984). A incubação foi realizada à temperatura de 21° C por um período de 10 dias.

Após o desenvolvimento da colônia, fez-se isolamento monoconidial através de micromanipulação. Uma suspensão de conídios do isolado monoconidial foi inoculada em placa de Petri contendo meio M_3 e deixada 10 dias em incubação até que o fungo tomasse toda a superfície do ágar, constituindo-se assim, o inóculo inicial. Para a multiplicação, utilizou-se o inóculo inicial, onde fez-se a raspagem da superfície do ágar com 10 ml de água destilada e esterilizada. Em cada placa contendo meio M_3, foi colocado 0,5 ml dessa suspensão de conídios e incubadas por 10 dias. Após a incubação, raspou-se a superfície do ágar com 20 ml de água destilada, constituindo-se o inóculo. A concentração utilizada na inoculação foi de $1,6 \times 10^6$ conídios/ml.

A identificação da raça 89 (do grupo alfa) do patógeno foi feita previamente, utilizando-se o sistema binário proposto por Habgood (1970) e as diferenciadoras recomendadas pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT (1990).

TABELA 4. Escala de notas utilizada para avaliação da incidência de antracnose no feijoeiro (folhas, caules e ramos), segundo Rava et al. (1993).

Grau	Descrição
1	Ausência de sintomas;
2	Até 1% das nervuras apresentando manchas necróticas, perceptíveis somente na face inferior da folha;
3	Maior frequência dos sintomas foliares descritas no grau anterior;
4	Até 1% das nervuras apresentando manchas necróticas, perceptíveis em ambas as faces da folha;
5	Maior frequência dos sintomas foliares descritos no grau anterior;
6	Manchas necróticas nas nervuras, perceptíveis em ambas as faces da folha, apresentando algumas lesões nos caules, ramos e pecíolos;
7	Manchas necróticas na maioria das nervuras e em grande parte do tecido adjacente que se rompe. Presença de abundantes lesões nos caules, ramos e pecíolos;
8	Manchas necróticas na quase totalidade das nervuras, ocasionando numerosas rupturas no mesófilo, desfoliação abundante e redução do crescimento das plantas. Lesões muito abundantes nos caules, ramos e pecíolos;
9	Maioria das plantas mortas.

3.4 Análise estatístico-genética dos dados

Para a avaliação da reação ao *C. lindemuthianum*, cor do halo e os dois caracteres simultaneamente, as proporções fenotípicas observadas nas gerações F_2 foram comparadas com as esperadas através do teste de χ^2 (qui-quadrado), conforme descrito por Steel e Torrie (1980).

No caso de ocorrência de ligação entre os genes, a frequência de recombinação (*r*) entre os alelos desses genes, durante a formação dos gametas pelas plantas F_1, para originar a geração F_2, será estimada utilizando-se um processo iterativo, através do procedimento dos mínimos quadrados não lineares, seguindo o modelo genético:

$$Y = \sum_{i=1}^{6} x_i f_i$$

em que, x_i, para $i = 1, 2, \ldots, 6$, representa uma variável indicadora (dummy), assumindo valores *0* ou *1*. Se um determinado indivíduo pertence a classe fenotípica *i*, o valor de x_i corresponde a *1*, se não, o valor de x_i será *0* ;

f_i, para $i = 1, 2, \ldots, 6$, representa a frequência esperada na geração utilizada.

A solução do modelo genético não linear será realizada pelo método Gauss-Newton modificado (Gallant, 1987) e para implementá-la, será necessário a obtenção da primeira derivada parcial em relação ao parâmetro *r*.

Utilizando o procedimento PROC NLIN (SAS®, 1990), será obtido a estimativa da frequência de recombinação entre os alelos.

O ajuste do modelo será avaliado pelo coeficiente de determinação (R^2), que é fornecido pela seguinte expressão:

$$R^2 = 1 - \frac{SQresíduo}{SQtotal\ corrigido}$$

em que, SQresíduo e SQtotal corrigido, serão obtidas da ANAVA de regressão para modelos não lineares (SAS®, 1990).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente é necessário considerar que a avaliação de populações segregantes quanto à reação aos patógenos, oriundas de cruzamentos de pais resistentes versus suscetíveis, é realizada na geração F_2 . No entanto, neste trabalho as avaliações foram feitas em famílias F_3 derivadas de plantas F_2 . Desse modo foi possível avaliar além da reação ao *C. lindemuthianum* a cor do halo da semente de feijão, isso porque a cor do halo possui efeito materno, isto é, esse caráter expressa nas sementes da geração F_1 o fenótipo da mãe, nas da F_2 o fenótipo da geração F_1, e assim sucessivamente. Se a avaliação para a reação ao *C. lindemuthianum* fosse realizada nas plantas da geração F_2 , não seria possível avaliar simultaneamente a cor do halo das sementes, pois as plântulas suscetíveis ao *C. lindemuthianum* morreriam antes de produzir sementes. Assim, nas sementes de cada família F_3 foi anotado a cor do halo devido ao genótipo da planta genitora F_2 e nas plantas jovens da mesma família, foi avaliado a reação ao patógeno. Esse procedimento, além de permitir a obtenção das informações dos dois caracteres, possibilitou obter os resultados referentes à reação ao *C. lindemuthianum* com maior rigor, haja vista que o fenótipo da planta F_2 foi estabelecido a partir da reação de sua família F_3 contendo 12 plantas.

4.1 Controle genético da cor do halo

A cor do tegumento de sementes de feijão tem merecido atenção dos pesquisadores desde a década de 30, quando os primeiros trabalhos foram apresentados mostrando ser este caráter de grande variabilidade. No entanto, para a avaliação desse caráter existem algumas dificuldades, como o grande número de genes envolvidos e a grande variação de tonalidades de cores, dificultando comparações entre os resultados apresentados na literatura, uma vez que a mesma tonalidade de cor pode ser descrita como cores diferentes quando submetida a avaliações por diferentes autores.

Com relação à cor do halo, tem-se as mesmas dificuldades, embora o número de genes envolvidos no controle desse caráter seja menor. As segregações fenotípicas observadas nas gerações F_2 com relação à cor do halo dos cruzamentos P-45 x EMGOPA 201-Ouro, P-45 x Carioca 300V e Carioca 300V x EMGOPA 201-Ouro estão apresentadas na Tabela 5. Neste trabalho, nos três cruzamentos realizados, as segregações das gerações F_2 mostram que existem pelo menos dois genes segregando para a cor do halo. No cruzamento P-45 x EMGOPA 201-Ouro, a segregação observada da geração F_2 ajustou a segregação esperada de 13 amarelos : 3 marrons escuros, indicando que há dois genes de distribuição independente segregando para o caráter, e que está ocorrendo interação entre os genes do tipo dominante recessiva (Ramalho, Santos e Pinto, 1990). Já o cruzamento P-45 x Carioca 300V apresentou uma segregação na geração F_2 para a cor do halo de 12 marrons escuros : 3 amarelos : 1 sem cor, indicando também que há dois genes de distribuição independente segregando para a cor e que está ocorrendo interação gênica do tipo epistasia dominante (Ramalho, Santos e Pinto, 1990). A segregação da geração F_2 do

cruzamento Carioca 300V x EMGOPA 201-Ouro foi de 15 amarelos : 1 sem cor, mostrando também que há dois genes de distribuição independente e que são genes de efeitos duplicados (Ramalho, Santos e Pinto, 1990).

Segundo Vieira (1967) e Yarnell (1965), os genes responsáveis pelas diferentes distribuições de cor no tegumento da semente são os genes de coloração parcial. Entre eles, o *Cor*, que determina cores escuras no halo devido ao genótipo *CorCor*, cores claras devido ao genótipo *Corcor* e o genótipo *corcor* não determina a formação de cor no halo. Contudo, os resultados obtidos nesse estudo indicam que a presença do gene *Cor* é necessária para que a cor se manifeste no halo, mas não é responsável pela formação das cores, sendo estas determinadas pelos genes complementares ou de coloração (*C, J, D, B, G,* etc.).

Pelo exposto, infere-se que, além do gene *Cor*, que é necessário para a cor se manifestar, existem mais três genes responsáveis pela presença de cor no halo, aqui denominados de gene *B, D* e *G*. Indivíduos de genótipos *--D-Cor-gg* possuem halo de cor marrom escura. Indivíduos com os genótipos *B-ddCor-gg* e *----Cor-G-* possuem halo de cor amarela. Indivíduos portadores dos genótipos *bbddCor-gg* não apresentam halo colorido.

Basset (1995), discorda que o alelo *Cor* condicione cor no halo ou que ele seja o responsável pela manifestação de cor no halo. Em um trabalho conduzido pelo autor, onde foram realizados cruzamentos entre progênies com halo escuro e flores rosas versus progênies de flores brancas e ausência de cor no halo, foi observado na descendência apenas dois fenótipos: flores rosas e halo escuro, e flores brancas e halo sem cor. Com isto, o autor sugeriu que o fenótipo halo escuro é devido a efeito pleiotrópico do alelo v^{lae} , o qual condiciona flores rosas, portanto, plantas com flores rosas sempre tem halo escuro e, plantas com flores brancas não possuem halo de cor escura, ou que os genes que determinam halo escuro e flores rosas estão

intimamente ligados, não ocorrendo recombinantes. Outras observações feitas pelo autor sugere que a hipótese de pleiotropia é a mais provável. No entanto, na condução do presente trabalho, foi observado que, tanto a linhagem TO, como a linhagem descendente P-45, possuem halo marrom escuro e flores brancas, contrariando a hipótese de Basset (1995), que halo escuro é efeito pleiotrópico do alelo v^{lae}.

A partir dos fenótipos obtidos nas gerações F_1 e F_2 para a cor do halo dos cruzamentos P-45 x EMGOPA 201-Ouro, P-45 x Carioca 300V e Carioca 300V x EMGOPA 201-Ouro, os genótipos propostos para os genitores são: P-45 - *BBDDCorCorgg* (halo marrom escuro); EMGOPA 201-Ouro - *BBddCorCorGG* (halo amarelo); Carioca 300V - *bbddCorCorgg* (halo sem cor).

Devido estar envolvido pelo menos quatro genes no controle do caráter cor de halo, a obtenção de indivíduos que possuam halo sem cor, a partir de hibridações de linhagens que possuam halo colorido com outras sem halo colorido é dificultada pela necessidade de se manusear uma descendência muito grande. Deve ser mencionado que esse fato é agravado, pois, em programa de melhoramento são considerados vários caracteres, cada um deles condicionado por inúmeros genes, o que torna praticamente impossível associar em um único indivíduo todos os fenótipos favoráveis de uma só vez. Assim, no caso do melhoramento do feijoeiro, com grão tipo Carioca, isto é, creme com estrias marrons, a cor do halo é fator limitante na sua aceitação pelos agricultores e atacadistas. Dessa forma, a melhor opção é trabalhar com descendência numerosa na geração F_2 , procurando identificar somente sementes sem halo colorido e a partir daí selecionar para os outros caracteres.

TABELA 5. Fenótipos obtidos nas gerações F_1 e F_2 para cor do halo de sementes de feijão e resultados dos testes χ^2 para os três cruzamentos.

Cruzamento	Geração	Número	Cor do halo[1] A	M	B	χ^2
P-45 x EMGOPA 201-Ouro	F_1	Obs.	30			
	F_2	Obs.	48	14		
		F.E.[2]	13	3		
		Esp.	50,375	11,625		0,5972
P-45 x Carioca 300V	F_1	Obs.		80		
	F_2	Obs.	40	131	13	
		F.E.	3	12	1	
		Esp.	34,5	138	11,5	1,4275
Carioca 300V x EMGOPA 201-Ouro	F_1	Obs.	50			
	F_2	Obs.	82		7	
		F.E.	15		1	
		Esp.	83,4375		5,5625	0,3963

[1] - A: Amarelo; M: Marrom Escuro; B: Halo Sem Cor
[2] - F.E.: Frequência Esperada

4.2 Controle genético da reação ao *Colletotrichum lindemuthianum*

Considerando a geração F_1 dos cruzamentos P-45 x EMGOPA 201-Ouro, P-45 x Carioca 300 V e Carioca 300V x EMGOPA 201-Ouro, todas as plantas comportaram-se como resistentes (Tabela 6). Já na geração F_2 variaram de acordo com o cruzamento. No caso do P-45 x EMGOPA 201-Ouro, a proporção observada se ajustou à proporção esperada de 15 resistentes : 1 suscetível (Tabela 6). Essa segregação ocorre quando estão envolvidos dois genes com distribuição independente, sendo que o alelo dominante de qualquer um dos genes, sozinho ou em conjunto contribui para a

resistência. Essa segregação é característica de genes de efeitos duplicados (Ramalho, Santos e Pinto, 1990).

Quando se considerou o cruzamento de P-45 x Carioca 300V e também Carioca 300V x EMGOPA 201-Ouro, as segregações observadas na geração F_2 se ajustaram à proporção de 3 resistentes : 1 suscetível (Tabela 6). Infere-se, nesse caso, que o caráter é controlado por apenas um gene com dominância do alelo que condiciona a resistência.

Pelo exposto, depreende-se que provavelmente a linhagem P-45 possui um gene de reação ao *C. lindemuthianum* diferente do presente na cultivar EMGOPA 201-Ouro, pois só assim se explicaria a segregação de 15 resistentes : 1 suscetível no cruzamento entre eles e de 3 resistentes :1 suscetível nos demais.

Na literatura há inúmeros relatos do estudo do controle genético da resistência ao *C. lindemuthianum*. Em alguns desses trabalhos é mencionado a ocorrência de apenas um gene, sendo o alelo dominante responsável pela resistência (Burkholder, 1918; Mastenbroek, 1960; Bannerot (1969), citado por Fouilloux, 1979; Fouilloux 1976; Fukuda, 1982). Em outros casos concluíram que estavam envolvidos mais genes (Schreiber, 1932; Cárdenas, Adams e Andersen, 1964; Muhalet et al., 1981; Vidigal, 1994; Pastor-Corrales et al., 1994), em consequência do uso de genitores diferentes, como no caso do cruzamento P-45 x EMGOPA 201-Ouro.

A linhagem P-45 tem como um dos genitores a linhagem TO, sendo essa linhagem portadora do alelo dominante *Mex.2* (Fouilloux, 1976). Portanto, a linhagem P-45, já que foi selecionada para resistência, deve possuir o genótipo *Mex.2Mex.2*. O alelo *Mex.2* confere resistência a inúmeras raças de *C. lindemuthianum*, tais como alfa, beta, delta, épsilon, lambda, gama, capa, mu, teta, eta, Mexicano I, Brasileiro I e alfa-brasil (Fouilloux, 1976).

A cultivar EMGOPA 201-Ouro é um material introduzido do CIAT com denominação de A-295 (Silva e Moraes, 1987). Essa

cultivar foi obtida pelo CIAT em cruzamentos envolvendo a linhagem PI 207262 (Beebe, Pastor-Corrales, 1991) que é citada como resistente às raças capa, delta, iota e alfa-brasil (Hubbeling, 1977) e às raças alfa, delta, épsilon, eta, teta, capa, lambda e mu (Menezes, 1985). Segundo Menezes (1985), as linhagens PI 207262 e TO são semelhantes, pois o autor observou as mesmas reações de resistência e suscetibilidade quando inoculadas com nove raças fisiológicas de *C. lindemuthianum*. Estudando a herança da resistência à raça alfa, Vidigal (1994) propôs para a linhagem PI 207262, dois genes responsáveis pela resistência ao *C lindemuthianum*, os genes *Q* e *Mex.2*. Como a cultivar EMGOPA 201-Ouro é originada da linhagem PI 207262, é esperado que esta cultivar também possua o alelo de resistência *Mex.2*. Contudo, os resultados obtidos nesse trabalho não concordam com a dedução que o *Mex.2* esteja presente nos dois genitores ao mesmo tempo - P-45 e EMGOPA 201-Ouro. Como salientado, a segregação observada permite inferir que eles possuem genes diferentes, pois só assim é possível explicar os resultados observados. Com relação à observação feita por Menezes (1985) que as linhagens PI 207262 e TO possuem a mesma constituição para resistência ao *C. lindemuthianum*, o que contraria os resultados obtidos nesse trabalho, é necessário comentar que é provável que o autor obteve sempre os mesmos resultados nas inoculações realizadas, porque as linhagens, apesar de possuírem genes diferentes, estes genes conferiram resistência às mesmas raças do fungo. Um fato que reforça essa observação é que essas duas linhagens são recomendadas pelo CIAT (1990) como cultivares diferenciadoras para determinação de raças de *C. lindemuthianum*, portanto não possuem os mesmos genes de resistência, pois se assim fosse, essas linhagens se comportariam como sendo apenas uma diferenciadora. Aliás, de acordo com Rava, Purchio e Sartorato (1994), o alelo presente na linhagem PI 207262 confere resistência às várias raças e entre elas, as raças

339 e 343, que vencem a resistência conferida pelo alelo *Mex.2*, presente na linhagem TO.

Em um trabalho realizado por Pastor-Corrales et al. (1995), estes observaram uma alta suscetibilidade de algumas cultivares diferenciadoras de origem Andina aos isolados de *C. lindemuthianum* coletados na Colômbia e América do Sul. Ao contrário, as cultivares diferenciadoras de origem na América Central foram resistentes aos isolados da América dos Sul. Os autores sugeriram que há um alto grau de especificidade de *C. lindemuthianum*. Como há uma grande troca de feijão entre as regiões produtoras dentro e entre as Américas e com outras partes do mundo, isso tem facilitado a introdução de novas raças de *C. lindemuthianum* em regiões onde elas não existiam. Por isso, há necessidade de se obter cultivares que possuam mais de um gene de resistência, para que essas cultivares sejam resistentes a um grande número de raças e possuam uma resistência mais duradoura, isto é, o surgimento de uma nova raça que "quebre" essa resistência demore mais tempo. Um exemplo que pode ser citado é o trabalho de Pompeu, Dudienas e Ito (1992), onde foi realizado uma série de cruzamentos e retrocruzamentos entre cultivares com ou sem o alelo *Are* e as cultivares TO e TU, portadoras dos alelos *Mex.2* e *Mex.3*, respectivamente. Foram obtidas várias linhagens com as prováveis constituições genéticas: *areareMex.2Mex.2*, *AreAreMex.2Mex.2*, *areareMex.3Mex.3* e *AreAreMex.3Mex.3*.

Uma opção que pode ser utilizada é a realização de cruzamentos e retrocruzamentos entre cultivares com características agronômicas desejáveis e a cultivar diferenciadora G 2333. Essa cultivar foi inoculada com 380 isolados de *C. lindemuthianum* de onze países da América Latina, mostrando ser resistente a todos eles (Pastor-Corrales et al., 1994). No estudo da herança da resistência dessa cultivar à raça 521, os mesmos autores verificaram que a resistência foi controlada por dois alelos dominantes, de genes independentes e

com efeitos iguais. Assim, o ideal seria obter linhagens associando os alelos de resistência ao *C. lindemuthianum* da linhagem G 2333 com outros alelos de resistência, para tornar mais duradoura a resistência e dificultar a seleção de raças que "quebrem" a resistência dos mais favoráveis alelos de resistência disponíveis aos melhoristas, que são os da linhagem G 2333.

TABELA 6. Fenótipos obtidos nas gerações F_1 e F_2 para reação ao *C. lindemuthianum* em feijão e resultados dos testes χ^2 para os três cruzamentos.

Cruzamento	Geração	Número	Reação ao patógeno[1] R	Reação ao patógeno[1] S	χ^2
P-45 x EMGOPA 201-Ouro	F_1	Obs.	30		
	F_2	Obs.	59	3	
		F.E.[2]	15	1	
		Esp.	58,125	3,875	0,2108
P-45 x Carioca 300V	F_1	Obs.	80		
	F_2	Obs.	133	51	
		F.E.	3	1	
		Esp.	138	46	0,7246
Carioca 300V x EMGOPA 201-Ouro	F_1	Obs.	50		
	F_2	Obs.	60	29	
		F.E.	3	1	
		Esp.	66,75	22,25	2,7303

[1] - R: resistente; S: suscetível ao *Colletotrichum lindemuthianum*
[2] - F.E.: Frequência Esperada

4.3 Controle genético da reação ao *Colletotrichum lindemuthianum* e cor do halo

Levando em consideração os caracteres resistência ao *C. lindemuthianum* e cor do halo simultaneamente, as segregações observadas nas gerações F_2 dos cruzamentos P-45 x EMGOPA 201-Ouro, P-45 x Carioca 300V e Carioca 300V x EMGOPA 201-Ouro estão apresentadas na Tabela 7. Considerando o cruzamento Carioca 300V x EMGOPA 201-Ouro, as segregações observadas na geração F_2 ajustaram-se à proporção de 45 amarelos resistentes : 15 amarelos suscetíveis : 3 sem cor resistentes : 1 sem cor suscetível para os caracteres cor de halo e reação ao *C. lindemuthianum*. Infere-se portanto, que os genes que determinam a cor do halo e a reação ao patógeno apresentam distribuição independente, isto é, o alelo de resistência ao *C. lindemuthianum* do genitor EMGOPA 201-Ouro é independente dos alelos que determinam a cor amarela do halo. Portanto, as proporções fenotípicas esperadas em F_2 (Tabela 7) puderam ser obtidas a partir do produto das proporções esperadas relativas a cor do halo (Tabela 5) e reação ao *C. lindemuthianum* (Tabela 6), isto é (15 amarelos : 1 sem cor) (3 resistentes : 1 suscetível) = 45 amarelos resistentes : 15 amarelos suscetíveis : 3 sem cor resistentes :1 sem cor suscetível.

No cruzamento P-45 x EMGOPA 201-Ouro, a proporção observada ajustou-se à proporção esperada de 195 amarelos resistentes : 13 amarelos suscetíveis : 45 marrons escuros resistentes : 3 marrons escuros suscetíveis para cor de halo e reação ao *C. lindemuthianum* [(13 amarelos : 3 marrons escuros) (15 resistentes : 1 suscetível)]. Neste cruzamento também pode-se inferir que há distribuição independente dos genes que determinam cor de halo e reação ao patógeno.

Já no cruzamento P-45 x Carioca 300V, a proporção observada não se ajustou à proporção esperada de 9 amarelos resistentes : 3 amarelos suscetíveis : 36 marrons escuros resistentes : 12 marrons escuros suscetíveis : 3 sem cor resistentes : 1 sem cor suscetível para cor de halo e reação ao patógeno [(3 amarelos : 12 marrons escuros : 1 sem cor) (3 resistentes : 1 suscetível)], indicando que pelo menos um dos genes responsáveis pela determinação de cor está ligado ao gene de reação ao *C. lindemuthianum* do genitor P-45. Como já mencionado, o alelo responsável pela resistência ao *C. lindemuthianum* presente no genitor P-45 é o *Mex.2* e o alelo que determina a cor marrom escura neste genitor é o alelo *D*. Em razão das linhagens resistentes, selecionadas a partir do cruzamento TO x ESAL 501, serem todas possuidoras de halo marrom escuro (Rezende, 1990), é provável que o alelo *Mex.2* de resistência ao *C. lindemuthianum* e o alelo *D* para halo marrom escuro estejam ligados.

Utilizando-se um processo interativo, através do procedimento dos mínimos quadrados não lineares, a estimativa da frequência de recombinação (r) entre os alelos *Mex.2* e *D* do cruzamento P-45 x Carioca 300V foi realizada seguindo o modelo genético:

$$Y=\frac{1}{16}[x_1(4r^2-8r+12)+x_2(-4r^2+8r)+x_3(-3r^2+6r)+x_4(3r^2-6r+3)+x_5(-r^2+2r)+x_6(r^2-2r+1)]$$

A análise detalhando o emprego desse modelo encontra-se no Apêndice.

A solução do modelo genético não linear foi realizada pelo método Gauss-Newton modificado (Gallant, 1987) e para implementá-lo, foi necessário a obtenção da primeira derivada

parcial em relação ao parâmetro *r*, resultando na seguinte equação:

$$\frac{dy}{dr} = \frac{1}{16}[x_1(8r-8)+x_2(-8r+8)+x_3(-6r+6)+x_4(6r-6)+x_5(-2r+2)+x_6(2r-2)]$$

Utilizando o procedimento PROC NLIN (SAS®, 1990), a frequência de recombinação estimada entre os alelos *Mex.2* e *D* foi de 6,04 cM com um erro padrão de 2,32.

O coeficiente de determinação foi de 99,46%, indicando um perfeito ajuste do modelo com as proporções fenotípicas observadas na geração F_2 e confirma a íntima ligação dos genes *Mex.2* e *D*. Tal resultado explica o fato de todas linhagens resistentes, selecionadas a partir do cruzamento TO x ESAL 501, terem também sementes com halo marrom escuro (Rezende, 1990).

A exigência do mercado brasileiro de cultivares com tamanho e cores específicas de grãos, implica na dificuldade em utilizar genitores como fontes de caracteres agronômicos favoráveis como o P-45, que possui o alelo favorável *Mex.2* intimamente ligado ao alelo desfavorável *D*. Só para ilustrar essa exigência de mercado, em 1980 foi lançada pelo Instituto Agronômico de Campinas, uma das primeiras cultivares melhoradas de feijão, a Carioca 80 (Pompeu, 1982), que possui grão semelhante à cultivar Carioca, porém é portadora de halo amarelo, ao contrário da Carioca, que não possui cor diferenciada no halo. Consequentemente, poucos anos após o lançamento, a cultivar já não era utilizada pela maioria dos agricultores. Assim, a ligação dos alelos *Mex.2* e *D* verificada no presente trabalho, constitui-se em uma dificuldade para o melhorista interessado em utilizar o alelo *Mex.2* para o controle da resistência ao *C. lindemuthianum*, uma vez que cultivares com sementes com halo marrom escuro são inaceitáveis pelo mercado brasileiro. No entanto, como se nota na Tabela 7, há possibilidade de associar o

alelo de resistência com o de halo sem cor, pois surgiram recombinantes com esse fenótipo na geração F_2. Com base na frequência de recombinação (r = 6,04cM) espera-se na geração F_2 apenas uma planta do fenótipo desejado entre 137 plantas. Considerando os desvios devido ao acaso em populações finitas, há grande chance de não se encontrar tal fenótipo em populações F_2 com cerca de 137 plantas. Assim, pode-se estimar que o tamanho da geração F_2 para se encontrar o fenótipo desejado com 95% de confiança (Ramalho, Santos e Pinto, 1990) é de 408 plantas. Portanto, há possibilidade de selecionar plantas F_2 resistentes ao *C. lindemuthianum* e com halo sem cor, desde que sejam utilizados cerca de 410 ou mais plantas. É importante salientar que as cultivares melhoradas devem possuir vários caracteres favoráveis, além da resistência. No entanto, o emprego de algumas fontes de resistência como a linhagem P-45, que possui vários alelos desfavoráveis para vários caracteres agronômicos, pode dificultar o trabalho do melhorista. Assim, um procedimento que pode ser utilizado é o retrocruzamento da planta com o fenótipo desejado, selecionada na geração F_2, com a cultivar recorrente Carioca, por algumas gerações. Dessa forma consegue-se uma população segregante com alta frequência de alelos favoráveis para os vários caracteres, aliado à resistência devido ao alelo *Mex.2*.

Com relação ao cruzamento P-45 x EMGOPA 201-Ouro, apesar do teste χ^2 ter dado não significativo, indicando não haver ligação entre os alelos de resistência ao *C. lindemuthianum* e os alelos que determinam a cor do halo, existe ligação entre esses alelos, pois o genótipo do genitor P-45 é $BB\frac{DMex.2}{Dmex.2}CorCorggqq$ e do EMGOPA 201-Ouro é $BB\frac{dmex.2}{dmex.2}CorCorGGQQ$, portanto, na descendência ocorrem recombinantes. No entanto, essa ligação não é detectada neste cruzamento, provavelmente devido, a herança obtida para cor de halo e reação ao patógeno ser pouco

informativa. Confirmando essa observação, quando substitui r nas expressões de frequência esperada $[(-r^2+2r+48)/64 + (r^2-2r+4)/64 + (r^2-2r+12)/64 + (-r^2+2r)/64]$, tanto para $r = 0,5$ como para $r = 0,006$, as frequências fenotípicas esperadas se alteram muito pouco. Para $r = 0,5$ o χ^2 calculado foi de 1,72 (não significativo) e para $r = 0,06$ o χ^2 calculado foi de 0,86 (não significativo). Portanto, as conclusões obtidas para esse cruzamento não são inválidas.

TABELA 7. Fenótipos obtidos nas gerações F_1 e F_2 para reação ao *Colletotrichum lindemuthianum* e cor de halo, resultados dos testes χ^2 para os três cruzamentos e prováveis genótipos dos genitores.

Cruzamento	Geração	Número	Reação ao patógeno e cor do halo[1]						χ^2
			AR	AS	MR	MS	BR	BS	
P-45 x EMGOPA 201-Ouro	F_1	Obs.	30						
	F_2	Obs.	45	3	14	0	-	-	
		F.E.[2]	195	13	45	3	-	-	
		Esp.	47,227	3,1484	10,898	0,73	-	-	1,72
P-45 x Carioca 300V	F_1	Obs.			80				
	F_2	Obs.	4	36	127	4	2	11	
		F.E.	9	3	36	12	3	1	
		Esp.	25,875	8,625	103,5	34,5	8,63	2,86	165,7**
Carioca 300 V x EMGOPA 201-Ouro	F_1	Obs.	50						
	F_2	Obs.	55	27	-	-	5	2	
		F.E.	45	15	-	-	3	1	
		Esp.	62,578	20,859	-	-	4,17	1,39	3,1568

Genitores	Genótipos prováveis	
	Cor do halo	Reação ao patógeno
P-45	*BBDDCorCorgg*	*Mex.2Mex.2qq*
EMGOPA 201-Ouro	*BBddCorCorGG*	*mex.2mex.2QQ*
Carioca 300V	*bbddCorCorgg*	*mex.2mex.2qq*

1 - AR: Amarelo Resistente; AS: Amarelo Suscetível;
MR: Marrom-Escuro Resistente; MS: Marrom-Escuro Suscetível;
BR: Halo Sem Cor Resistente; BS: Halo Sem Cor Suscetível
2 - F.E.: Frequência Esperada

5 CONCLUSÕES

1. A reação de resistência ao *C. lindemuthianum* à raça 89 na linhagem P-45 e na cultivar EMGOPA 201-Ouro é explicada de forma monogênica e devida a um alelo dominante. O alelo presente na cultivar EMGOPA 201-Ouro que confere resistência ao *C. lindemuthianum* foi denominado de *Q* e confirmado a presença, na linhagem P-45, do alelo *Mex.2;*

2. Em relação as cores de halo, pelo menos quatro genes explicam as diferenças existentes entre os três genitores. Assim, foi estabelecido que o genótipo da linhagem P-45 é *BBDDCorCorgg* (halo marrom escuro), da cultivar EMGOPA 201-Ouro é *BBddCorCorGG* (halo amarelo) e da Carioca 300V é *bbddCorCorgg* (halo sem cor);

3. Constatou-se que os alelos responsáveis pela cor amarela do halo presente na cultivar EMGOPA 201-Ouro (*B* ou *G*) são independentes do alelo que confere reação ao *C. lindemuthianum* (*Q*). No entanto, um dos alelos para a cor de halo, especificamente o alelo *D* responsável por halo marrom escuro, está ligado ao alelo *Mex.2,* presente na linhagem P-45 e se recombinam a uma frequência de 6,04% ± 2,32%;

4. O recombinante resistente ao *C. lindemuthianum* e com halo sem cor proveniente do cruzamento P-45 x Carioca 300V e

Carioca 300V x EMGOPA 201-Ouro, são as fontes mais promissoras para utilização dos alelos *Mex.2* e *Q* em futuros trabalhos de melhoramento que vise também obter cultivares com características de grãos aceitáveis pelo consumidor, sendo porém, necessário trabalhar com descendência numerosa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLARD, R.W. Formulas and tables to facilitate the calculation of recombination values in heredity. **Hilgardia**, Oakland, v.24, n.10, p.235-278, Jan. 1956.

ALLAVENA, A. Modification of the seed coat color associated to the *I* gene conferring resistance to BCMV. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, New York, v.32, p.90-91, 1989.

BARRUS, M.F. Variation of varieties of bean in their susceptibility to anthracnose. **Phytopathology**, St. Paul., v.1, p.190-195, 1911,

BASSET, M.J. Linkage mapping of marker genes in common bean. In: GEPTS, P. (Ed.). **Genetic resources in *Phaseolus* beans**. Boston: Klumer Academic Publishers, 1988, p.329-353.

BASSET, M.J. List of genes - *Phaseolus vulgaris* L. **Annual Report of the bean Improvement Cooperative**, New York, v.32, p.1-15, Mar. 1989.

BASSET, M.J. A revised linkage map of common bean. **HortScience**, Alexandria, v.26, n.7, p.834-835, July 1991.

BASSET, M.J. Interaction of two genes, *Fcr* and *Fcr2*, with the *t* allele in common bean that restores color to flowers. **Journal American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.118, n.6, p.881-884, Nov. 1993.

BASSET, M.J. The *griseoalbus* (gray-white) seedcoat color is controlled by an allele (p^{gri}) at the *P* locus in common bean. **HortScience**, Alexandria, v.29, n.10, p.1178-1179, Oct. 1994a.

BASSET, M.J. The margo (*mar*) seed coat character and the *tmar* interaction in common bean. **The Journal of Heredity**, New York, v.85, n.5, p.404-407, Sept./Oct. 1994b.

BASSET, M.J. The dark corona character in seedcoats of common bean cosegregates with the pink flower allele v^{lae} . **Journal American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.120, n.3, p.520-522, May 1995.

BASSET, M.J.; BLOM, A. A new genotype for white seed coat disscovered in "Early Wax" snap bean. **Journal American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.116, n.1, p.131-136, Jan. 1991.

BEEBE, S.E.; PASTOR-CORRALES, M. Breeding for disease resistance. In: SCHOONHOVEN, A. van; VOYSEST, O. (eds.). **Common beans**: research for crop improvement. Cali: CIAT: CAB International, 1991, p.561-617.

BRYSON, R.J.; CATEN, C.E.; HOLLOMON, D.W.; BAILEY, J.A. Sexuality and genetics of *Colletotrichum*. In: BAILEY, J.A.; JEGER, M.J. (eds.). ***Colletotrichum*: biology, pathology and control**. UK: CAB International, p.27-46, 1992.

BURKHOLDER, W.H. The production of an anthracnose resistant White Marrow bean. **Phytopathology**, St. Paul., v.8, p.353-359, 1918.

BURKHOLDER, W.H. The gamma strain of *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Brit. et Cav. **Phytopathology**, St. Paul, v.13, p.316-323, 1923.

CÁRDENAS, F.; ADAMS, M.W.; ANDERSEN, A. The genetic system for reaction of field beans (*Phaseolus vulgaris* L.) to infection by three physiologic races of *Colletotrichum lindemuthianum*. **Euphytica**, Wageningen, v.13, n.2, p.178-186, July 1964.

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. Informe Anual de 1988. In: Programa de Frijol. Cali, CIAT, 1990. p.128-129. (CIAT. Documento de Trabajo, 72), 1990.

CHAVES, G. La antracnosis. In: SCHWARTZ, H.F.; GÁLVEZ, G.E. (eds.). **Problemas de producion del frijol**: enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticas de *Phaseolus vulgaris*. Cali: CIAT, 1980. p.37-53.

COELHO, M.F.B. **Herança da cor do tegumento da semente do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar roxinho**. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária. 1981. 31p. (Tese - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

DEAKIN, J.R.; DUKES, P.D. Breeding snap beans for resistance to disease caused by *Rhizoctonia solani* Kuehn. **HortScience**, Alexandria, v.10, n.3, p.269-271, June 1975.

DEL PELOSO. M.J. **Genética da reação do feijoeiro *(Phaseolus vulgaris* L.) a três raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib.** Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1987. 54p. (Tese - Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).

DICKSON, M.H. BOETTGER, M.A. Breeding for multiple root rot resistance in snap beans. **Journal American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.102, n.4, p.373-377, July 1977.

FOUILLOUX, G.L. Bean antracnose: new genes de resistance. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, New York, v.19, p.36-37, 1976.

FOUILLOUX, G.L. New races of bean anthracnose and consequences on our breeding programs. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON DISEASES OF TROPICAL FOOD CROPS. Louvain la Neuve, 1978. **Proceedings** ... Louvain la Neuve, Universite Catholique de Louvain, 1979, p.221-235.

FUKUDA, W.M.G. **Herança da resistência a três raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. em feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.)** Viçosa: UFV, Imprensa universitária, 1982. 29p. (Tese - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

GALLANT, A.R. **Nonlinear statistical models.** New York:John Wiley, 1987, 610p.

GEPTS, P.; DEBOUCK, D. Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In: SCHOONHOVEN, A.V.; VOYSESR, O. (Eds.). **Common beans:** research for crop improvement. Cali: CIAT: CAB International, 1991, p.7-53.

HABGOOD, H. Designation of physiological races of plant pathogens. **Nature**, New York, v.227, n.5264, p.1267-1269, Sept. 1970.

HUBBELING, N. Selection for resistance to antracnose particulary in respect to the Ebnet race of *Colletotrichum lindemuthianum*. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, New York, v.19, p.49-50, 1976.

HUBBELING, N. The new iota race of *Colletotrichum lindemuthianum*. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, New York, v.20, p.58, 1977.

IMMER, F.R.; HENDERSON, M.T. Linkage studies in barley. **Genetics**, Michigan, v.28, p.419-440, 1943.

JUNQUEIRA, N.T.V.; CHAVES, G.M.; ZAMBOLIN, L.; ROMEIRO, R. da S.; GASPAROTTO, L. Isolamento, cultivo e esporulação de *Mycrocyclus ulei*, agente etiológico do mal das folhas da seringueira. **Revista Ceres**, Viçosa, v.31, n.177, p.322-331, Set. 1984.

KELLY, J.D.; AFANADOR, L.; CAMERON, L.S. New races of *Colletotrichum lindemuthianum* in Michigan and implications in dry bean resistance breeding. **Plant Disease**, St. Paul, v.78, n.9, p.892-894, Sept. 1994.

KIMATI, H. Doenças do feijoeiro - *Phaseolus vulgaris* L. In: GALLI, F. (Ed.). **Manual de Fitopatologia das Plantas Cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. v.2, p.297-318.

LEAKEY, C.L.A. Genotypic an phenotypic markes in common bean. In: GEPTS, P. (Ed.). **Genetic resources in *Phaseolus* beans**. Boston: Klumer Academic Publishers, 1988, p.245-327.

MASTENBROEK, C. A breeding programme for resistance to anthracnose in dry shell haricot beans, based on new gene. **Euphytica**, Wageningen, v.9, n.2, p.177-184, July 1960.

MENEZES, J.R. **Variabilidade patogênica de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib. em *Phaseolus vulgaris* L.** Brasília: Universidade de Brasília, 1985. 65p. (Tese - Mestrado em Fitopatologia).

MENEZES, J.R. *Phaseolus vulgaris* L. e *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. no Estado do Paraná. In: **LA ANTRACNOSIS DEL FRIJOL COMUM, *Phaseolus vulgaris*, EN AMÉRICA LATINA**. Cali: CIAT, 1988. p.41-56. (Documento de Trabajo, 113).

MENEZES, J.R. de; MOHAN, S.K.; BIANCHINI, A. Identificação de raças fisiológicas e *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib., no Estado do Paraná. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 1, Goiânia, 1982. **Anais...** Goiânia: EMBRAPA-CNPAF, 1982. p.297-299.

MUHALET, C.S.; ADAMS, M.W.; SAETTLER, A.W.; GHADERI, A. Genetic system for the reaction of field beans to beta, gamma, and delta races of *Colletotrichum lindemuthianum*. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.106, n.5, p.601-604, Sept. 1981.

OLIARI, L.; VIEIRA, C.; WILKINSON, R.E. Physiologic races of *Colletotrichum lindemuthianum* in the state of Minas Gerais, Brazil. **Plant Disease Report**, Beltsville, v.57, n.10, p.870-872, Oct. 1973.

OLIVEIRA, E.A.; ANTUNES, J.F.; COSTA, J.G.C. Bean anthracnose race survey in south Brazil. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, New York, v.16, p.42-43, 1973.

PARADELA FILHO, O.; ITO, M.F.; POMPEU, A.S. Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v.17, n.20, p.181-187, Jul/Dez 1991.

PARK, S.J.; TU, J.C. Association between BCMV resistant *I* gene and eye color of cv. Steuben. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, New York, v.29, p.4-5, 1986.

PASTOR-CORRALES, M.A.; ERAZO, O.A.; ESTRADA, E.I.; SINGH, S.P. Inheritance of anthracnose resistance in common bean accesion G2333. **Plant disease**, St. Paul, v.78, n.10, p.959-962, Oct. 1994.

PASTOR-CORRALES, M.A.; OTOYA, M.M.; MOLINA, A.; SINGH, S.P. Resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from Middle America and Andean South America in different common bean races. **Plant Disease**, St. Paul, v.79, n.1, p.63-67, Jan. 1995.

PIO-RIBEIRO, G.; CHAVES, G.M. Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. que ocorrem em alguns municípios de Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro. **Experientiae**, Viçosa, v.19, n.6, p.95-118, mar. 1975.

POMPEU, A.S. Catu, Aeté-3, Aroana 80, Moruna 80, Carioca 80 e Aysó: novos cultivares de feijoeiro. **Bragantia**, Campinas, v.41, n.5, p.213-218, Maio 1982.

POMPEU, A.S.; DUDIENAS, C.; ITO, M.F. Linhagens de feijoeiro resistentes ao fungo da antracnosse (*Colletotrichum lindemuthianum*) obtidas pelo uso dos genes *Mex2* e *Mex3*. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v.18, n.3/4, p.220-226, Jul/Dez. 1992.

POMPEU, A.S.; ITO, M.F.; DUDIENAS, C. Localização de novas fontes de resistência no feijoeiro ao fungo da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*). In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 4, Londrina, 1993. **Resumos** ... Londrina, IAPAR, 1993. (Resumo n.41).

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos; PINTO, C.A.B.P. **Genética na agropecuária**. São Paulo: Globo, 1990, 358p.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos; ZIMMERMANN, M.J. de O. **Genética quantitativa em plantas autógamas**: aplicações ao melhoramento do feijoeiro. Goiânia: UFG, 1993. 271p.

RAVA, C.A.; MOLINA, J.; KAUFFMANN, M.; BRIONES, I. Determinacion de razas fisiologicas de *Colletotrichum lindemuthianum* en Nicaragua. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, n.3, p.388-391, Set. 1993.

RAVA, C.A.; PURCHIO, A.F.; SARTORATO, A. Caracterização de patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum* que ocorrem em algumas regiões produtoras de feijoeiro comum. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.19, n.2, p.167-172, Jun. 1994.

RAVA, C.A.; SARTORATO, A. Antracnose. In: SARTORATO, A.; RAVA, C.A. (Eds.) **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília: EMBRAPA, 1994. p.17-39.

RESENDE, M.A.V. de. **Seleção de progênies de feijoeiro resistentes à *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et. Magn.) Scrib. na população ESAL 501 x TO**. Lavras: ESAL, 1989. 70p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

SCHREIBER, F. Resistenzzuchtung bei *Phaseolus vulgaris*. **Phytopathology**, St. Paul, v.4, p.415-454, 1932.

SILVA, L.O.; MORAES, E.A. EMGOPA 201-Ouro: nova variedade de feijão para Goiás. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 2, Goiânia, 1987. **Resumos**... Goiânia: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão - CNPAF, 1987. (Resumo n.124).

SINGH, S. P.; GEPTS, P.; DEBOUCK, D. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). **Economic Botany**, New York, v.45, n.3, p.379-396, July/Sept. 1991.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS User's Guide Statistics Version 6**, 4.ed., Caru NC: SAS Institute Inc., 1990, 1686p.

STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. **Principles and procedures of statistics**. 2.ed. New York:McGraw-Hill, 1980, 633p.

TEMPLE, S.R.; MORALES, F.J. Linkage of dominant hypersensitive resistance to bean common mosaic virus to seed color in *Phaseolus vulgaris* L. **Euphytica**, Wageningen, v.35, n.1, p.331-333, Mar. 1986.

VIEIRA, C. **O feijoeiro-comum**: cultura , doenças e melhoramento. Viçosa: UFV. 1967. 220p.

VIEIRA, C. **Doenças e Pragas do Feijoeiro**. Viçosa: UFV, 1983. 231p.

VIEIRA, R.F.; VIEIRA, C.; RAMOS, J.A. de O. **Produção de sementes de feijão**. Viçosa: EPAMIG, 1993. 131p.

VIDIGAL, M.C.G. **Herança da resistência às raças alfa, delta e capa de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. no feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)** Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1994. 52p. (Tese - Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).

VILHORDO, B.W.; BURIN, M.E.; GANDOLFI, V.H. Morfologia. In: ZIMMERMANN, M.J. de O.; ROCHA, M.; YAMADA, T. (Eds.). **Cultura do feijoeiro**: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: POTAFOS - Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1988. p.87-123.

WALKER, J.C. **Plant Pathology**. New York: Mcgraw-Hill, 1969. 819p.

YARNELL, S.H. Cytogenetics of the vegetable crops, IV: legumes. **Botanic Review**, New York, v.31, n.3, p.247-330, July/Sept. 1965.

YERKES Jr., W.D. Additional new races of *Colletotrichum lindemuthianum* in Mexico. **Plant Disease Report**, Beltsville, v.42, n.3, p.329, Mar. 1958.

YERKES Jr., W.D.; ORTIZ, M.T. New races of *Colletotrichum lindemuthianum* in Mexico. **Phytopathology**, St. Paul, v.46, n.10, p.564-567, Oct. 1956.

APÊNDICE

Estimativa da frequência de recombinação entre os alelos *D* e *Mex.2* do cruzamento P-45 x Carioca 300V

Representação dos genótipos com os respectivos fenótipos das cultivares genitoras e geração F_1 , em relação à cor do halo e resistência à *Colletotrichum lindemuthianum*.

Genitor:	P-45	x	Carioca 300V
Genótipo	*BB*$\frac{\textit{DMex.2}}{\textit{DMex.2}}$*CorCorggqq*		*bb*$\frac{\textit{dmex.2}}{\textit{d2mex.2}}$*CorCorggqq*
Fenótipo	halo marrom escuro e resistente		halo sem cor e suscetível
F_1			
Genótipo	*Bb*$\frac{\textit{DMex.2}}{\textit{dmex.2}}$*CorCorggqq*		
Fenótipo	halo marrom escuro e resistente		

Gametas esperados na geração F_1	Frequência
Mex.2DCorBgq	(1 - *r*)/2 . 1/2
Mex.2DCorbgq	(1 - *r*)/2 . 1/2
mex.2DCorBgq	*r*/2 . 1/2
mex.2DCorbgq	*r*/2 . 1/2
Mex.2dCorBgq	*r*/2 . 1/2
Mex.2dCorbgq	*r*/2 . 1/2
mex.2dCorBgq	(1 - *r*)/2 . 1/2
mex.2dCorbgq	(1 - *r*)/2 . 1/2

Geração F_2 esperada

	(1-*r*)/2.1/2 *Mex.2D CorBgq*	(1-*r*)/2.1/2 *Mex.2D Corbgq*	*r*/2.1/2 *mex.2D CorBgq*	*r*/2.1/2 *mex.2D Corbgq*	*r*/2.1/2 *Mex.2d CorBgq*	*r*/2.1/2 *Mex.2d Corbgq*	(1-*r*)/2.1/2 *mex.2d CorBgq*	(1-*r*)/2.1/2 *mex.2d Corbgq*
(1-*r*)/2.1/2 *Mex.2D CorBgq*	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.
(1-*r*)/2.1/2 *Mex.2D Corbgq*	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.
r/2.1/2 *mex.2D CorBgq*	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro suscet.	marrom escuro suscet.	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro suscet.	marrom escuro suscet.
r/2.1/2 *mex.2D Corbgq*	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro suscet.	marrom escuro suscet.	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro suscet.	marrom escuro suscet.
r/2.1/2 *Mex.2d CorBgq*	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	amarelo resist.	amarelo resist.	amarelo resist.	amarelo resist.
r/2.1/2 *Mex.2d Corbgq*	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	amarelo resist.	sem cor resist.	amarelo resist.	sem cor resist.
(1-*r*)/2.1/2 *mex.2d CorBgq*	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro suscet.	marrom escuro suscet.	amarelo resist.	amarelo resist.	amarelo suscet.	amarelo suscet.
(1-*r*)/2.1/2 *mex.2d Corbgq*	marrom escuro resist.	marrom escuro resist.	marrom escuro suscet.	marrom escuro suscet.	amarelo resist.	sem cor resist.	amarelo suscet.	sem cor suscet.

Frequência esperada para resistência e cor de halo na geração F_2

Classes fenotípicas	frequência esperada (f_i)
Preto resistente	$(4r^2 - 8r + 12)/16$
Preto suscetível	$(-4r^2 + 8r)/16$
Amarelo resistente	$(-3r^2 + 6r)/16$
Amarelo suscetível	$(3r^2 - 6r + 3)/16$
Sem cor resistente	$(-r^2 + 2r)/16$
Sem cor suscetível	$(r^2 - 2r + 1)/16$

Estimativa da frequência de recombinação (*r*)entre os alelos *Mex.2* e *D* durante a formação dos gametas pelas plantas F_1, para originar a geração F_2, utilizando um processo interativo, através dos mínimos quadrados não lineares:

Modelo Genético:

$$Y = \sum_{i=1}^{6} x_i f_i$$

em que, x_i , para $i = 1, 2, \ldots, 6$, representa uma variável indicadora (dummy),assumindo valores *0* ou *1*. Se um determinado indivíduo pertence a classe fenotípica *i*, o valor de x_i corresponde a *1*, se não, o valor de x_i será *0* ;

f_i , para $i = 1, 2, \ldots, 6$, representa a frequência esperada na geração utilizada.

Para o cruzamento P-45 x Carioca 300V , utilizou-se a geração F_2 e o modelo genético foi:

$$Y = \frac{1}{16}[x_1(4r^2 - 8r + 12) + x_2(-4r^2 + 8r) + x_3(-3r^2 + 6r) + x_4(3r^2 - 6r + 3) + x_5(-r^2 + 2r) + x_6(r^2 - 2r + 1)]$$

A solução do modelo genético não linear foi realizada pelo método Gauss-Newton modificado (Gallant, 1987) e para implementá-lo, foi necessário a obtenção da primeira derivada parcial em relação ao parâmetro *r*, resultando na seguinte equação:

$$\frac{dy}{dr} = \frac{1}{16}[x_1(8r - 8) + x_2(-8r + 8) + x_3(-6r + 6) + x_4(6r - 6) + x_5(-2r + 2) + x_6(2r - 2)]$$

Utilizando o procedimento PROC NLIN (SAS®, 1990), foi obtido a estimativa da frequência de recombinação entre os alelos *Mex.2* e *D*.

$$r = 6,04 \pm 2,32$$

Tabela. Resumo da Análise de Variância dos Mínimos Quadrados Não Lineares

Fonte de Variação	GL	SQ	QM
Regressão	1	0,517389	0,517389
Resíduo	5	0,001928	0,000386
Total não Corrigido	6	0,519317	
Total Corrigido	5	0,352650	

O ajuste do modelo foi avaliado pelo coeficiente de determinação (R^2), que é fornecido pela seguinte expressão:

$$R^2 = 1 - \frac{SQresíduo}{SQtotal\ corrigido}$$

em que, SQresíduo e SQtotal corrigido, foram obtidos na ANAVA de regressão para modelos não lineares (SAS®, 1990).

$$R^2 = (1 - \frac{0,0019}{0,3527})x100 = 99,46\%$$

Na utilização do programa SAS®(1990), segue-se os seguintes passos (utilizando as segregações da geração F_2 do cruzamento P-45 x Carioca 300V):

```
data dados;
input x1 x2 x3 x4 x5 x6 y;
cards;
1 0 0 0 0 0 0.690217391
0 1 0 0 0 0 0.02173913
0 0 1 0 0 0 0.02173913
0 0 0 1 0 0 0.195652173
0 0 0 0 1 0 0.010869565
0 0 0 0 0 1 0.059782608
;
Proc nlin method=gauss;
  parms r=0.30
  model y=x1*(4*r**2-8*r+12)/16+x2*(-4*r**2+8*r)/16+x3*(-3*r**2+6*r)/16+
          x4*(3*r**2-6*r+3)/16+x5*(-r**2+2*r)/16+x6*(r**2-2*r+1)/16;
  der.r=x1*(8*r-8)/16+x2*(-8*r+8)/16+x3*(-6*r+6)/16+x4*(6*r-6)/16+
        x5*(-2*r+2)/16+x6*(2*r-2)/16;
  Run;
```

em que: f_1, ... f_6, são as frequências observadas na geração F_2.

Obs: O valor do parâmetro r (r=0,30) é estipulado ao acaso, caso não seja um valor adequado, não ocorre convergência dos dados, sendo necessário testar outros valores, até os que dados sejam convertidos e a frequência de recombinação seja estimada.

Estes comandos são submetidos ao programa SAS® (1990) para serem executados.

[redacted]