

**SELEÇÃO DE LINHAGENS DE FEJJOEIRO
COM TIPO DE GRÃO CARIOCA E COM OS
ALELOS *Co-4* E *Co-5* DE RESISTÊNCIA À
ANTRACNOSE**

EDUARDO HENRIQUE KELLER MARCONDES

2007

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Marcondes, Eduardo Henrique Keller

Seleção de linhagens de feijoeiro com tipo de grão Carioca e com os alelos *Co-4* e *Co-5* de resistência à antracnose / Eduardo Henrique Keller Marcondes. -- Lavras : UFLA, 2007.

48 p. : il.

Orientador: João Bosco dos Santos

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. *Phaseolus vulgaris*. 2. *Colletotrichum lindemuthianum*. 3. Antracnose. 4. Resistência. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-635.65294

EDUARDO HENRIQUE KELLER MARCONDES

**SELEÇÃO DE LINHAGENS DE FEIJOEIRO COM TIPO DE
GRÃO CARIOCA E COM OS ALELOS *Co-4* E *Co-5* DE
RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE**

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

Orientador

Prof. Dr. João Bosco dos Santos

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

2007

EDUARDO HENRIQUE KELLER MARCONDES

**SELEÇÃO DE LINHAGENS DE FEIJOEIRO COM TIPO DE
GRÃO CARIOCA E COM OS ALELOS *Co-4* E *Co-5* DE
RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE**

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

APROVADA em 28 de fevereiro de 2007.

Dra. Ângela de Fátima Barbosa Abreu

EMBRAPA

Prof. Dr. Samuel Pereira de Carvalho

UFLA

Prof. Dr. João Bosco dos Santos

UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

A Deus,

por sempre iluminar o meu caminho,

OFEREÇO

Aos meus pais, Alcione e Sônia.

A minha esposa, Shaiane, pelo apoio e amor sempre pleno.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me concedido essa vitória e estar sempre presente em minha vida.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Biologia, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor João Bosco dos Santos, pela orientação, paciência e disponibilidade na condução deste trabalho.

Aos professores César, Magno, Samuel, João Bosco e Wagner, pelos ensinamentos transmitidos.

A minha esposa, Shaiane, pelo amor, carinho e compreensão dedicados e por sempre me apoiar em todos os momentos.

Aos meus pais, Alcione e Sônia, pelo apoio e incentivo.

A todos os amigos da Pós-Graduação em Genética e Melhoramento.

Aos colegas do feijão e do milho, pela ajuda na condução dos experimentos em campo e pela amizade.

Aos amigos do Laboratório de Genética Molecular, em especial a Lamartine e Admilson, pela ajuda.

Ao colega Helton, pelo auxílio e apoio prestados.

Aos funcionários do Departamento de Biologia, pela ajuda e atenção que sempre precisei.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a conclusão deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Cultura do feijão no Brasil	3
2.2 Antracnose do feijoeiro	4
2.3 Variabilidade patogênica de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	6
2.4 Melhoramento visando resistência à antracnose	8
2.5 Marcadores baseados em PCR <i>primers</i> específicos	11
2.6 Melhoramento para caracteres agronômicos	15
2.6.1 Tipo de grão	15
2.6.2 Produtividade de grãos	16
2.6.3 Mancha-angular	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 Material e locais de avaliação	20
3.2 Avaliação das linhagens em campo e inoculação com a raça 321 de <i>C. lindemuthianum</i>	20
3.3 Identificação do alelo <i>Co-4</i> de resistência à antracnose por meio de marcador SCAR	22
3.4 Extração de DNA total	22
3.5 Análise PCR	23
3.6 Análise dos dados das características morfo-agronômicas	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1 Reação das famílias ao <i>C. lindemuthianum</i>	27
4.2 Produção de grãos	28
4.3 Tipo de grãos	31

4.4 Mancha-angular	32
4.5 Ganhos com a seleção e correlação entre os caracteres	34
4.6 Análise conjunta para produção e tipo de grão	37
5 CONCLUSÕES	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

RESUMO

MARCONDES, Eduardo Henrique Keller. **Seleção de linhagens de feijoeiro com tipo de grão Carioca e com os alelos *Co-4* e *Co-5* de resistência à antracnose.** 2007. 48p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

A antracnose do feijoeiro causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) Scrib. é uma das doenças mais importantes desta cultura por ocorrer em todo o país e causar grandes perdas. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi identificar linhagens de feijão que reunissem, além da resistência à antracnose, alta produtividade de grãos, grãos tipo carioca e resistência à mancha-angular. Foram utilizadas 194 linhagens F_{5;6} extraídas de sete famílias, selecionadas do cruzamento entre os genitores H147 e B1. A linhagem H147 possui grãos tipo carioca, sendo portadora do alelo *Co-5*, que confere resistência a várias raças de *C. lindemuthianum*. A linhagem B1 também possui grãos tipo carioca e é portadora do alelo *Co-4*, que também confere resistência a várias raças do mesmo patógeno. As linhagens foram avaliadas na safra das águas 2005/2006 no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras – UFLA, sendo utilizada a cultivar Talismã e H147, como testemunha, sendo avaliadas com base na produtividade e tipo de grãos. Foram selecionadas 99 linhagens, as quais foram avaliadas na safra da seca/2006, juntamente com a testemunha Talismã, sendo avaliadas com base na produtividade, tipo de grão e resistência à mancha-angular. Destas 99 linhagens, foram selecionadas 24, as quais foram avaliadas na safra de inverno/2006 em Lavras e em Lambari, na Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig), com base no tipo de grão e produtividade. Estas 24 linhagens foram inoculadas com raça 321 de *Colletotrichum lindemuthianum*, a qual vence o alelo de resistência *Co-4*, mas não o *Co-5*. Para verificar a presença do alelo *Co-4* foi utilizado um marcador SCAR o qual amplifica um fragmento de 950 pb por meio do *primer* SAS 13. Com isso foi possível identificar 14 linhagens que possuem a pirâmide de alelos *Co-4/Co-5*.

* Orientador: João Bosco dos Santos.

ABSTRACT

MARCONDES, Eduardo Henrique Keller. **Selection of common bean lines with Carioca grain type, and with the alleles *Co-4* and *Co-5* for anthracnose resistance.** 2007. 48p. Dissertation (Master's Degree in Genetics and Plant Improvement) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil*

The common bean anthracnose due to the fungus *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) Scrib. is one of the most important diseases all over the country for causing high lost. So the objective was to identify lines that have anthracnose resistance, high grain yield, Carioca grain type and resistance to angular leaf spot. 194 lines F_{5,6} were taken from seven families derived from the cross H147 x B1. The parent H147 has Carioca grain type and *Co-5* resistance allele to several races of *C. lindemuthianum*. The parent B1 also has the Carioca grain type, and the *Co-4* resistance allele against many races of the same pathogen. The lines were evaluated in the spring/summer (2005/2006) at department of Biology/UFLA in south of Mg-State, plus the Talismã and H147 cultivars as check, based mainly on grain type and grain yield. 99 lines selected in last experiment were evaluated based on grain yield, grain type and angular leaf spot resistance, plus the check Talismã, in the summer (2006) in the same place. 24 lines were selected and evaluated in the winter/spring (2006) in two places, Lavras and Lambari, based on the same traits, and using the same check. Those 24 lines were also inoculated with the 321 race of *C. lindemuthianum* that match the resistance of the *Co-4* allele, but not of the *Co-5*. The SCAR marker using the SAS13 primer detected the presence of the *Co-4* allele in the lines. Fourteen lines have the pyramid *Co-4/Co-5*, and four showed up based on all traits.

* Major Professor: João Bosco dos Santos.

1 INTRODUÇÃO

Apesar de o Brasil ser o maior produtor e consumidor de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), a produtividade nacional ainda é considerada baixa, ficando em torno de 836 kg/ha/ano (Conab, 2007). A produtividade de grãos de feijão é afetada por várias doenças, entre elas, a antracnose causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) Scrib. Esse patógeno possui alta variabilidade patogênica nas regiões produtoras, tendo as raças 65, 81 e 73 sido observadas com maior frequência nos levantamentos realizados nos últimos dez anos (Silva, 2004).

Uma medida recomendada para o controle deste patógeno é a obtenção de cultivares resistentes. No entanto, cultivares com um único alelo de resistência, em geral, são protegidas da doença por pouco tempo, devido à grande variabilidade do patógeno. A inserção de vários alelos de resistência em um único genótipo é uma estratégia que pode aumentar a vida útil das cultivares resistentes sendo esse procedimento conhecido como pirâmide de genes (Young & Kelly 1997). No entanto, um problema associado com a construção de uma pirâmide de genes é descrito por Fehr (1987) e Michelmore (1995) e diz respeito às dificuldades em avaliar a presença dos alelos de resistência em um único genótipo. Uma alternativa viável é a utilização de marcadores moleculares associados a inoculações (Alzate-Marin, 1999).

Dentre os alelos de resistência, o *Co-4* e *Co-5* estão entre os mais importantes, pois conferem proteção contra a maioria das raças presentes nas principais regiões produtoras (Ishikawa et al., 2005). Dessa forma, uma pirâmide de alelos *Co-4/Co-5* é altamente desejável, pois a cultivar possuirá resistência a praticamente todas as raças do patógeno, nas principais regiões produtoras.

Na obtenção de cultivares de feijão com resistência à antracnose, outros

atributos agronômicos também devem ser considerados para atender à preferência do consumidor e produtor. Entre eles, o tipo de grão semelhante ao da cultivar Carioca, alta produtividade de grãos e também a resistência à mancha -angular, que é uma doença importante na maioria das regiões produtoras, principalmente na safra da seca.

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo identificar famílias de feijão que reunissem, além da pirâmide de alelos de resistência à antracnose, alta produtividade, grãos tipo carioca e com resistência à mancha-angular.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cultura do feijão no Brasil

O consumo de um alimento por uma população está relacionado com os aspectos culturais e históricos. No Brasil, o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) se mantém desde os primórdios da história do país, sendo um dos alimentos mais importantes para a maioria da população juntamente com o arroz, constituindo-se em uma excelente fonte de proteína, carboidratos e ferro.

O Brasil é o maior produtor mundial de feijão, sendo o estado de Minas Gerais o segundo maior produtor nacional, atrás apenas do estado do Paraná. A produção nacional de feijão, no período de 1990 a 2003, foi, em média, de 3,3 milhões de toneladas/ano, dos quais 22% (743 mil toneladas) são de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walph) e 78% (2,6 milhões de toneladas) de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L). O consumo médio per capita foi de 16,2 kg/habitante/ano, ou seja, 44 g/dia, no ano de 2003 (Ferreira et al., 2006). Comparado com anos anteriores evidencia-se que o consumo per capita de feijão baixou. Uma das razões para essa redução é a alteração dos padrões de consumo da população, que vem priorizando alimentos de preparo rápido.

A produtividade do feijoeiro é afetada por vários fatores, entre eles podem se destacar a ocorrência de várias pragas, doenças e problemas ambientais como a escassez de chuvas. Devido a isso a produtividade média nacional está em torno de 836 kg/ha, sendo considerada baixa (Conab, 2007). Mesmo assim, o Brasil ainda é o maior produtor e consumidor mundial, considerando a espécie *Phaseolus vulgaris*, pois a área cultivada por ano é de 4,33 milhões de hectares (Conab, 2007).

Outro fator responsável pela baixa produtividade é a ocorrência de várias doenças. As mais importantes são a antracnose e mancha-angular, que ocorrem em praticamente todas as regiões produtoras.

Além da sua importância na dieta do brasileiro o feijão exerce também importante papel social, pois emprega-se grande quantidade de mão-de-obra na fase de colheita. Estima-se que no cultivo do feijão sejam utilizados sete milhões de homens/dia-ciclo de produção, só no estado de Minas Gerais (Borém & Carneiro, 2006).

Tradicionalmente, a produção mineira de feijão é feita em duas épocas de plantio que são a das “águas” e a da “seca”, podendo também ter o plantio de terceira época ou de inverno. A semeadura, no estado de Minas Gerais, ocorre nos meses de outubro e novembro, que é o cultivo das águas. O cultivo da seca ocorre entre os meses de fevereiro e março e o de inverno entre abril e meados de agosto.

Entre as cultivares utilizadas no Brasil, a preferência varia de região para região; em alguns estados prevalece o consumo de feijão preto, porém, na maioria, há preferência é pelo feijão com tipo de grãos carioca.

2.2 Antracnose do feijoeiro

A antracnose do feijoeiro comum é causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum*, (Sacc. & Magnus) Scrib., pertence à divisão *Eumycota*, subdivisão *Deuteromycotina*, sendo essa fase assexual (Smith, 1979). Em sua fase sexual, esse fungo é denominado *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. et V. Schrenk f. sp *phaseolí* Kimati (Kimati & Galli, 1970), classificado dentro da divisão *Eumycota*, subdivisão *Ascomycotina*.

A antracnose é uma das doenças de maior importância da cultura do feijoeiro em todo o mundo, ocasionando perdas de até 100% (Sartorato & Rava, 1994). O patógeno sobrevive de uma safra para outra como micélio dormente no interior das sementes ou na forma de esporos em restos culturais. Os fatores que contribuem para a disseminação do patógeno a longa distância são o uso de sementes contaminadas e as chuvas moderadas, acompanhadas de ventos. Na disseminação a curta distância, destaca-se o salpico de chuvas sobre os resíduos de colheita, insetos, animais, homem e implementos agrícolas (Pastor-Corrales, 1985; Sartorato et al., 1996).

Como principal sintoma, podem ser observadas lesões marrom-escuras ou negras nos cotilédones quando a transmissão da doença é realizada por meio das sementes, podendo surgir também lesões no caule e no pecíolo. Nas folhas, o sintoma mais característico é o surgimento de lesões escuras ao longo das nervuras na face inferior da folha. Nas vagens, as lesões apresentam-se como cancrios deprimidos de forma arredondada, com margens ligeiramente proeminentes, delimitadas por um anel preto, com borda laranja-avermelhada. Em condições favoráveis, surge, no centro das lesões uma coloração rósea, ocasionada pela produção de uma massa de esporos do fungo. Sementes infectadas apresentam lesões escuras e deprimidas, de tamanhos variáveis (Paula-Jr. & Zambolin, 2006). Como consequência, a antracnose causa diminuição da produção, deprecia a qualidade do produto por ocasionar manchas no grão, tornando-o impróprio para o consumo, além do inconveniente de o patógeno ser transmitido pela semente. O desenvolvimento da doença é favorecido por temperaturas entre 13° e 27°C, com um ótimo de 17°C e alta umidade relativa (Sartorato et al., 1996).

Essa doença possui distribuição ampla e já foi constatada em vários países da Europa, África, Austrália, Ásia e Américas. No Brasil, o patógeno está amplamente disseminado nos principais estados produtores, tais como Rio

Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Bahia e Pernambuco. Em Minas Gerais, a antracnose causa perdas consideráveis, particularmente nas regiões Sul e Zona da Mata, onde as condições climáticas favorecem o desenvolvimento do fungo (Vieira, 1988).

2.3 Variabilidade patogênica de *Colletotrichum lindemuthianum*

O fungo *C. lindemuthianum* possui ampla variabilidade patogênica, o que justifica o elevado número de raças fisiológicas existentes, aumentando a dificuldade no emprego da resistência genética. Tal variabilidade pode ser devida a mutação, recombinação sexual, heterocariose, parassexualidade, transposons, fatores citoplasmáticos e polimorfismo cromossômico (Rava et al., 1994; Sartorato, 2002).

Desde a descoberta da primeira raça, por Barrus (1911, 1918), diversos trabalhos realizados por vários autores confirmam que o *Colletotrichum lindemuthianum* possui ampla variabilidade patogênica. Por não haver um sistema oficial de nomenclatura para as raças, começou a existir grande confusão, pois não havia uma forma de comparar resultados de avaliação de cultivares de diferentes regiões, sem a possibilidade de verificar a real dinâmica populacional do patógeno.

Diante desse fato, foi proposto por Habggod (1970) um novo sistema de nomenclatura, para padronizar as informações e minimizar este problema. Esse novo meio de nomenclatura baseia-se em um sistema binário, no qual são utilizadas 12 cultivares diferenciadoras (d_i), as quais são identificadas com os números de 1 a 12 (Tabela 1). A obtenção do nome de uma nova raça se faz pela soma dos valores numéricos (2^{d_i-1}) de cada cultivar diferenciadora que é

suscetível a esta raça. Por exemplo, a raça 321 (1 + 64 + 256) quebra a resistência das cultivares Michelite (2⁰), México 222 (2⁶) e TO (2⁸). A adoção universal deste sistema de nomenclatura ocorreu em 1988, na reunião realizada no Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

Com esse procedimento de identificação, foram classificadas, no Brasil, de 1994 a 2002, 50 raças diferentes (1, 5, 7, 8, 17, 23, 31, 55, 64, 65, 67, 69, 71, 72, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 86, 87, 89, 93, 95, 96, 97, 101, 102, 105, 109, 111, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 137, 193, 217, 249, 320, 321, 337, 339, 343, 453, 585) (Rava et. al., 1994; Andrade et. al., 1999; Thomazella et. al., 2000; Sartorato, 2002).

As raças 65, 73, 81 e 89 são observadas com maior frequência em Minas Gerais (Paula-Jr & Zambolin, 2006 e Silva, 2004).

TABELA 1 Cultivares diferenciadoras, utilizadas para a classificação de raças de *C. lindemuthianum* pelo sistema binário.

Cultivares diferenciadoras	Alelos de resistência	Valor binário ¹	Valor numérico (2 ^{di-1})
1. Michelite	<i>Co-1¹</i> , <i>Co-11</i>	2 ⁰	1
2. Michigan Dark Red Kidney	<i>Co-1</i>	2 ¹	2
3. Perry Marrow	-	2 ²	4
4. Cornell 49242	<i>Co-2</i>	2 ³	8
5. Widusa	<i>Co-1⁴</i> , <i>Co-1⁵</i>	2 ⁴	16
6. Kaboon	<i>Co-1²</i>	2 ⁵	32
7. México 222	<i>Co-3</i>	2 ⁶	64
8. PI 207.262	<i>Co-9</i> , <i>Co-4³</i>	2 ⁷	128
9. TO	<i>Co-4</i>	2 ⁸	256
10. TU	<i>Co-5</i>	2 ⁹	512
11. AB 136	<i>Co-6</i> , <i>co-8</i>	2 ¹⁰	1024
12. G2333	<i>Co-4²</i> , <i>Co-5</i> , <i>Co-7</i>	2 ¹¹	2048

¹ Nas cultivares com mais de um alelo os valores binários são relativos a: Michelite = *Co-1¹*, Widusa = *Co-1⁵*, PI 207.262 = *Co-9*, AB 136 = *Co-6* e G2333 = *Co-4²*.

2.4 Melhoramento visando resistência à antracnose

Diversas estratégias são utilizadas para o controle da doença. Pio-Ribeiro & Chaves (1975) sugeriram o uso de cultivares resistentes e o plantio de sementes saudáveis como métodos de controle mais eficientes da antracnose, pois estes praticamente não oneram o custo de produção, além de contribuírem para evitar o controle químico.

O desenvolvimento de cultivares resistentes é viável, pois existem vários genes independentes que conferem resistência a várias raças do patógeno (Pastor-Corrales et al., 1994; Rava et al., 1994; Young & Kelly, 1996). Em 1996, Basset, no intuito de simplificar a identificação de genes de resistência, apresentou uma nova nomenclatura, usando o símbolo *Co* (*Colletotrichum*). Diversos genes de resistência foram encontrados até o momento, os quais conferem resistência a várias raças (Tabela 2). Mais recentemente, Vidigal et al. (2005) identificaram um novo alelo, designado *Co-11*, presente na cultivar diferenciadora Michelite.

Os alelos de resistência *Co-1*, *Co-4*, *Co-4²*, *Co-4³*, *Co-5*, *Co-6/co-8* e *Co-10* são muito importantes no melhoramento visando resistência à antracnose, pois conferem resistência às quatro raças mais encontradas no estado de Minas Gerais, as quais são 65, 73, 81 e 89.

A resistência à antracnose, segundo revisão feita por Kelly e Vallejo (2004), é condicionada por nove genes independentes. Destes, oito já foram mapeados e integram o mapa de ligação do feijão. Os locos mapeados são: loco *Co-1*, localizado no grupo de ligação B1; loco *Co-2*, no B11; locos *Co-3*, *Co-9* e *Co-10*, no B4; loco *Co-4*, no B8 e os locos *Co-5* e *Co-6* no B7 (Campa et al., 2005; Kelly & Vallejo, 2004).

Há, no entanto, o problema da durabilidade de uma cultivar resistente, quando portadora de apenas um alelo de resistência, pelo fato de a maioria dos alelos conferir resistência completa, ou seja, resistência vertical.

TABELA 2 Alelos de resistência à antracnose e número de raças por eles controladas.

Alelos de resistência	Número de raças ¹	Resistente às raças ¹
<i>Co-1</i>	31	1, 8, 9, 17, 64, 65, 69, 72, 73, 77, 81, 85, 89, 93, 96, 97, 101, 105, 109, 117, 121, 125, 135, 193, 217, 249, 320, 321, 337, 453, 585.
<i>Co1²</i>	4	5, 7, 73, 89.
<i>Co-1³</i>	2	73, 89.
<i>Co-1⁴</i>	1	64.
<i>Co-1⁵</i>	3	7, 65, 73.
<i>Co-2</i>	28	1, 7, 17, 23, 55, 64, 65, 67, 69, 71, 81, 83, 85, 86, 87, 96, 97, 101, 102, 117, 119, 193, 320, 321, 337, 339, 343, 453.
<i>Co-3</i>	8	1, 7, 8, 17, 23, 31, 55, 137.
<i>Co-3³</i>	-	-
<i>Co-4</i>	43	1, 7, 8, 17, 23, 31, 55, 64, 65, 67, 69, 71, 72, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 86, 87, 89, 93, 95, 96, 97, 101, 102, 105, 109, 111, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 137, 193, 217, 249, 585.
<i>Co-4²</i>	50	1, 5, 7, 8, 17, 23, 31, 55, 64, 65, 67, 69, 71, 72, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 86, 87, 89, 93, 95, 96, 97, 101, 102, 105, 109, 111, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 137, 193, 217, 249, 320, 321, 337, 339, 343, 453, 585.
<i>Co-4³</i>	15	1, 7, 17, 23, 31, 55, 64, 65, 69, 73, 81, 87, 89, 95, 193.
<i>Co-5</i>	48	1, 7, 8, 17, 23, 31, 55, 64, 65, 67, 69, 71, 72, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 86, 87, 89, 93, 95, 96, 97, 101, 102, 105, 109, 111, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 137, 193, 217, 249, 320, 321, 337, 339, 343, 453.
<i>Co-6 e co-8*</i>	49	1, 7, 8, 17, 23, 31, 55, 64, 65, 67, 69, 71, 72, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 86, 87, 89, 93, 95, 96, 97, 101, 102, 105, 109, 111, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 137, 193, 217, 249, 320, 321, 337, 339, 343, 453, 585.
<i>Co-7</i>	4	1, 7, 17, 55.
<i>Co-9</i>	6	7, 23, 38, 65, 79, 89.
<i>Co-10</i>	15	23, 64, 67, 73, 79, 81, 83, 87, 89, 95, 102, 117, 119, 343, 453.
<i>Co-11</i>	1	64.

¹Considerando as 50 raças identificadas no Brasil.

* Efeitos dos alelos Co-6 e co-8 considerados em conjunto.

Uma alternativa para aumentar a vida útil dos alelos de resistência é a construção de pirâmide de genes e a utilização de multilinhas (Fehr, 1987; Kelly & Miklas, 1998; Michelmore, 1995). Alguns problemas associados com a construção de uma pirâmide de genes são descritos por Fehr (1987) e Michelmore (1995). Duas são as dificuldades principais: a primeira é conseguir vários alelos de resistência vertical eficientes para o controle do patógeno, nas principais regiões produtoras. Para determinar quais alelos são eficientes para o controle da doença em uma dada região, é necessário fazer um levantamento da população do patógeno e identificar quais raças são predominantes, como realizado por Rava et al. (1994), Sartorato (2002) e Talamini et al. (2002), nas principais regiões brasileiras produtoras de feijão. A segunda dificuldade para a construção de uma pirâmide de genes é identificar a presença de dois ou mais alelos de resistência em um único genótipo, o que requer grande quantidade de testes. Para contornar este problema podem ser utilizados marcadores moleculares que estejam intimamente ligados a alelos de resistência. Uma vantagem em construir uma pirâmide de alelos utilizando a seleção assistida por marcadores é o fato de a maioria dos alelos importantes de resistência já estar marcada, como pode ser visto na Tabela 3.

TABELA 3 Alelos de resistência à antracnose marcados por marcadores RAPD e SCAR.

Alelos de resistência	Fonte	Marcador, tamanho e FR ¹
<i>Co-1</i>	Michigan Dark Red Kidney	OF10 ₅₃₀ (1,9)
<i>Co-2</i>	Cornell 49242	OQ4 ₁₄₄₀ (2,0) B355 ₁₀₀₀ (5,4)
<i>Co-3</i>	México 222	-
<i>Co-3</i> ²	México 227	-
<i>Co-4</i>	TO, P45	ANT-TO1 ₈₃₀ (0,0) OC08 ₁₀₅₉ (13,3) OAS13 ₉₅₀ (0,0)
<i>Co-4</i> ²	G2333, Sel 1308	SAS13 OL04 ₁₀₀₀ (0,0)
<i>Co-4</i> ³	PI 207.262	OAS13 ₉₅₀ (3,5)
<i>Co-5</i>	G2333, TU, Sel 1360, Ouro, Esal 696	OAB3 ₄₅₀ (5,9) OF10 ₉₁₂ (11,5)
<i>Co-6</i>	AB-136	OAH ₇₈₀ (5,9) OZ04 ₅₆₀ (2,8)
<i>Co-7</i>	G2333	-
<i>co-8</i>	AB-136	OAZ20 ₉₅₀ (2,2) OB12 ₃₅₀ (2,9)
<i>Co-9</i>	BAT-93, PI 207.262	SB12 OAH18 ₁₁₀₀ (4,6)
<i>Co-10</i>	Ouro Negro	-
<i>Co-11</i>	Michelite	-

¹Tamanho em pares de base. FR = Frequência de recombinação (cM), entre parênteses.

2.5 Marcadores baseados em PCR *primers* específicos

Em meados da década de 1980, um pesquisador britânico chamado Kery Mullis descobriu um processo simples e eficiente de multiplicar, *in vitro*, em escala exponencial, a quantidade de DNA de certas amostras (Mullis & Falona, 1987). Esta técnica, que foi descrita como reação em cadeia da polimerase, ou do inglês, *polymerase chain reaction* (PCR), é atualmente, uma das técnicas mais utilizadas no estudo do DNA. A técnica é automatizada pelo uso de

termocicladores e de uma enzima DNA polimerase termoestável, a Taq DNA polimerase.

Na técnica PCR, o fragmento de DNA a ser amplificado deve possuir dois sítios reconhecidos por dois *primers* presentes em fitas complementares a uma distância compatível com a capacidade de extensão, para que possa ser formada uma cópia completa. Para que possa haver a amplificação do DNA pela técnica de PCR, há a ocorrência de três etapas fundamentais, que são a desnaturação, o anelamento e a extensão. Na primeira etapa, é elevada a temperatura para 92°C-95°C, quando ocorre a desnaturação da fita dupla de DNA. Após desnaturado o DNA, passa-se para a segunda etapa, a qual consiste em uma redução da temperatura para 35°C-60°C, para que os *primers* anelem-se ao DNA. Por fim, a temperatura é elevada para 72°C, a qual é a temperatura considerada ótima para a atividade da enzima Taq DNA polimerase, ocorrendo nesta etapa a extensão, a partir de cada extremidade 3'-OH livre dos *primers*.

A partir daí, a facilidade, a rapidez e a sensibilidade da PCR, possibilitaram o surgimento de uma nova geração de marcadores moleculares, o que provocou grande impulso na geração de dados moleculares em várias espécies. O marcador baseado na utilização de um único *primer* de seqüência arbitrária, ou RAPD, do inglês *random amplified polymorphic DNA*, foi um dos primeiros, sendo, na época, desenvolvido por dois pesquisadores, de modo independente. Como o próprio nome diz, este marcador se baseia na técnica de PCR e utiliza um único *primer* mais curto, normalmente de dez nucleotídeos e de seqüência arbitrária.

Existem alguns problemas na utilização de marcadores RAPD, pois algumas bandas são facilmente interpretadas enquanto outras são ambíguas. Esta ambigüidade pode resultar em baixo poder de um *primer* específico para discriminar entre distintos sítios de amplificação: competição entre diferentes sítios de amplificação por substrato e enzima, e problemas relacionados à

reprodutibilidade de resultados (Ferreira & Grattapaglia, 1998), sendo este último um dos mais problemáticos. No caso do feijão, já foram constatados os problemas de reprodutibilidade de resultados com marcadores RAPD. De acordo com Faleiro et al. (2003), marcadores RAPD previamente identificados como ligados a genes de resistência do feijoeiro comum a doenças são restritos, pois apenas 5 marcadores, dos 38 descritos na literatura, foram validados em seu trabalho.

Os *sequence tagged sites* (STS), ou sítios marcados por seqüência, é outro tipo de marcador molecular proposto por Olson et al. (1989), com o propósito de unificar a linguagem utilizada entre laboratórios envolvidos no mapeamento do genoma humano. Em plantas, eles foram utilizados, inicialmente, por Paran & Michelmore (1993). Este marcador foi desenvolvido a partir da conversão do RFLP em marcador baseado em PCR. Esta técnica utiliza *primers* que se baseiam em algum grau de conhecimento das seqüências, ao contrário do RAPD. Esses *primers* de seqüência específica detectam variação alélica no DNA.

Outra classe de marcador que foi obtida por conversão é o marcador *sequence characterized amplified regions* (SCAR), ou regiões amplificadas caracterizadas por seqüências. Estes marcadores foram obtidos por meio da conversão de marcadores RAPD de seqüência arbitrária para marcadores de seqüência específica SCAR. SCAR são seqüências de DNA genômico localizadas em um loco definido geneticamente, que são identificadas por amplificação via PCR, utilizando-se um par de *primers* específicos. Um exemplo de utilização com sucesso deste marcador foi descrito por Vallejo & Kelly (2001), os quais converteram o marcador RAPD OAB3₄₅₀, identificado por Young & Kelly (1997), com o objetivo de marcar o alelo *Co-5* de resistência à antracnose, em um marcador SCAR chamado SAB3. Segundo os próprios autores, alguns resultados inesperados foram observados na conversão para o

SCAR. O principal foi o fato de esta marca estar a uma distância de 12,98 cM, ou seja, muito acima da marca de RAPD, que está a $5,9 \pm 1,9$ cM. Uma explicação sugerida pelos autores para esta diferença reside no fato de que as populações utilizadas para o mapeamento feito nos dois trabalhos são diferentes. Entre cerca de 50 linhagens portadoras do alelo *Co-5*, apenas uma apresentou a marca do alelo, evidenciando sua ineficiência, principalmente em programas de retrocruzamento (Pereira & Santos, 2004).

Há também os marcadores que se baseiam nas regiões microssatélites, *simple sequence repeats* (SSR) ou *short tandem repeats* (STR). Essas regiões consistem em seqüências de DNA de um a seis nucleotídeos repetidos em tandem. As seqüências de DNA que flanqueiam os microssatélites são geralmente, conservadas entre indivíduos da mesma espécie, permitindo a seleção de *primers* específicos que flanqueiam a região microssatélite e que amplificam, via PCR, fragmentos contendo o DNA repetitivo em todos os genótipos. Esta classe de marcadores é a mais utilizada atualmente, devido ao seu alto grau de confiabilidade.

Há várias outras classes de marcadores baseados em PCR como o *microsatellite primed PCR* (MP-PCR), *inter-SSR amplifications* (ISSR), *random amplified microsatellite polymorphisms* (RAMPs), *random amplified hybridization microsatellites* (RAHM), *amplified fragment length polymorphisms* (AFLP), *single nucleotide polymorphisms* (SNPs), *single-strand conformational polymorphisms-SNP* (SSCP-SNP) e *selective, amplification of microsatellite polymorphic loci* (SAMPL), os quais se baseiam nas técnicas descritas acima com algumas modificações.

Os marcadores moleculares vêm sendo utilizados com êxito na construção de mapas genéticos; na seleção de germoplasma em programas de melhoramento, permitindo a caracterização de diferentes genótipos (*fingerprinting*); no estabelecimento de filogenias; na clonagem de genes

baseada em mapas (“*positional cloning*” ou “*map-based cloning*”) e na identificação de alelos de efeitos principais (Paiting, 1996).

2.6 Melhoramento para caracteres agronômicos

Na obtenção de cultivares com resistência à antracnose, outros fenótipos de interesse agronômicos, tanto para o produtor quanto para o consumidor, são desejáveis. Entre esses fenótipos, destaca-se o tipo de grão aceitável pelo consumidor, alta produtividade e resistência à mancha-angular.

2.6.1 Tipo de grão

O feijão apresenta ampla variabilidade genética para tamanho, forma, cor e brilho das sementes. Estima-se que haja, pelo menos, 18 genes controlando a cor do grão, além de haver alelismo múltiplo e epistasia, dificultando, assim, o entendimento do seu modo de ação (Baldone et al., 2002; Basset, 1996 e Leakey, 1988).

Este caráter é muito importante para os melhoristas, pois a preferência do consumidor varia de região para região, influenciando, assim, na recomendação de cultivares.

No Brasil, são cultivados feijões tipos, preto, carioca, roxo, mulatinho, rosinha, vermelho e manteigão. Em Minas Gerais, principalmente no Sul e na maioria das outras regiões, a preferência do consumidor recai sobre o feijão com grãos tipo carioca, o qual possui tegumento de cor bege com rajas marrons.

Porém, esta não é a única preocupação dos melhoristas. Em 1980, o Instituto Agronômico de Campinas (IAC) lançou a cultivar Carioca 80, a qual possui o alelo *Co-2* de resistência à antracnose, boa produtividade, porém, apresentava halo de cor amarela e também problemas de cozimento. Com isso, os consumidores associaram a cor do halo amarelo, o brilho do grão, e o fundo escuro, ao problema de cozimento. Dessa forma, grãos com esse fenótipo dificilmente terão boa aceitação no mercado. Existem algumas explicações para a não aceitação desses grãos. Segundo Leakey (1988), o gene J, responsável simultaneamente pela cor do halo e pelo brilho das sementes, afeta também a qualidade culinária e acelera o processo de escurecimento dos grãos, aumentando assim o tempo de cozimento e reduzindo a digestibilidade.

Outro fator que recebe a atenção dos melhoristas é o tamanho dos grãos. A preferência é para grãos de tamanho médio, isto é, cem grãos pesando em torno de 23 a 25 gramas (Ramalho & Abreu, 1998).

Diante desses fatos e da grande demanda por feijões com grão tipo carioca, o grande desafio dos melhoristas é o desenvolvimento de cultivares com esse perfil de grão, porém, associando outras características de interesse, como resistência à antracnose, à mancha-angular e boa produtividade.

2.6.2 Produtividade de grãos

O objetivo do agricultor de qualquer empreendimento agrícola é obter lucratividade máxima. No caso do cultivo do feijoeiro isso é conseguido por meio de redução nos custos de produção, aliada à maior produtividade possível.

O aumento de produtividade depende de fatores ambientais e genéticos. Vale ressaltar que a produção de grãos é um caráter de manuseio mais difícil, e

que, no processo seletivo, maiores cuidados devem ser tomados, especialmente no que se refere à geração em que se dará esse processo assim como ao tamanho da população e aos cuidados experimentais. Isto é, deve-se escolher criteriosamente o delineamento, atentando para o tamanho da parcela e os demais cuidados necessários à condução do experimento (Ramalho et al., 1993). Santos (2001) observou que a seleção precoce em (F_2) para tipo de grão não reduziu o potencial da população para a extração de linhagens superiores, pois a média e as variabilidades genéticas para a produção de grãos não foram reduzidas.

Na maioria dos estudos predominam as estimativas de parâmetros genéticos para produção de grãos e seus componentes primários, representados pelo número de vagens por planta, número de sementes por vagem e peso de cem sementes (Ramalho et al., 1993).

Santos et al. (1985) demonstraram que o controle genético da produção e seus componentes primários sofrem ação gênica predominantemente aditiva em relação à dominância.

Quando se avalia a correlação entre a produção de grãos e seus componentes primários, o número de vagens por planta, ao que tudo indica, é o componente com maior participação na produção de grãos, visto que as correlações genéticas e fenotípicas entre estes caracteres foram sempre altas e positivas (Ramalho et al., 1979 e Santos et al., 1986).

Contudo, não deve ser esquecido que a competição entre os componentes primários de produção (número de vagens por planta, número de sementes por vagem e peso de sementes) pode limitar o progresso a ser obtido na seleção direcionada apenas pelo número de vagens.

No caso do melhoramento visando resistência à antracnose Abreu et al. (2003) constataram que, sob alta severidade deste patógeno, a produtividade de grãos foi um ótimo critério seletivo para a identificação de famílias resistentes,

sendo possível selecionar famílias resistentes e produtivas. Esse resultado evidencia que é possível realizar a seleção indireta, mas, se o objetivo do programa for selecionar linhagens totalmente resistentes, somente a produtividade de grãos pode não ser um bom indicativo.

Considerando as dificuldades de ganho para produtividade de grãos, a seleção para ela, geralmente, é mais compensadora em gerações mais avançadas. Assim, nas primeiras gerações segregantes, deve-se dar maior atenção aos caracteres de maior herdabilidade.

2.6.3 Mancha-angular

A mancha-angular, assim como à antracnose, é uma doença muito importante do feijoeiro em Minas Gerais, causada pelo fungo *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.).

Até o final de 1980, a mancha-angular era tida como uma doença de pequena importância econômica. Com a adoção do cultivo de inverno, em que restos culturais infectados permanecem no campo o ano todo, a utilização de irrigação por aspersão, que propicia o desenvolvimento da doença, a utilização de sementes contaminadas e o plantio de cultivares com base genética estreita, fez com que a mancha-angular se tornasse uma doença séria e de importância econômica. Em Viçosa, Minas Gerais perdas de até 70% já foram estimadas (Brenes et al., 1983).

Os sintomas podem ser visualizados em toda a parte aérea da planta. O sintoma típico pode ser observado nas folhas trifolioladas, na forma de lesões angulares, em razão da limitação do desenvolvimento do patógeno pelas nervuras das folhas. Nas vagens, as lesões são circulares ou ovais, não sendo deprimidas, como as da antracnose. A produção de sinêmios e de conídios do

fungo é favorecida pela alta umidade, sendo o desenvolvimento da doença favorecido a temperaturas entre 16°C a 28°C, sendo 24°C ótima (Correa-Victoria et al., 1994).

No controle da mancha-angular é recomendada a utilização de sementes saudáveis tratadas com fungicidas, nutrição equilibrada, principalmente com potássio e nitrogênio e rotação de culturas. A eliminação de restos culturais contaminados e o controle químico também auxiliam no controle da doença (Paula-Jr. & Zambolin, 2006).

Outras estratégias são o uso de cultivares de ciclo curto, as quais permanecem menos tempo no campo, não sendo assim tão prejudicadas e o uso de cultivares resistentes, sendo esta última a melhor estratégia, pois não onera o custo de produção.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material e locais de avaliação

Foram utilizadas 194 linhagens $F_{5,6}$, extraídas de sete famílias, selecionadas do cruzamento entre os genitores H147 e B1, obtido por Parrella (2006). A linhagem H147 possui grãos tipo carioca, sendo portadora do alelo *Co-5*, que confere resistência a várias raças de *C. lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) Scrib (Tabela 2). A linhagem B1 também possui grãos tipo carioca e é portadora do alelo *Co-4*, que também confere resistência a várias raças do mesmo patógeno (Tabela 2). As linhagens foram avaliadas na área experimental do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras – UFLA e na estação experimental de Nova Baden da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig) em Lambari Mg.

3.2 Avaliação das linhagens em campo e inoculação com a raça 321 de *C. lindemuthianum*

Na safra das águas de 2005/2006, as 194 linhagens foram avaliadas juntamente com duas testemunhas (H147 e Talismã), no município de Lavras, MG. Foi utilizado o delineamento em látice 14 x 14, com duas repetições, sendo a parcela de uma linha de um metro. Foram avaliadas e selecionadas as linhagens mais promissoras quanto ao tipo e à produtividade de grãos.

Na safra da seca de 2006, foram avaliadas 99 linhagens selecionadas da safra anterior. O experimento foi conduzido no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras sendo utilizado o delineamento em látice 10 x 10, com três repetições, com parcela constituída de duas linhas de dois metros.

Foi utilizada como testemunha, a cultivar Talismã. As características avaliadas foram produtividade, tipo de grão e reação à mancha-angular.

A partir desses resultados, foram selecionadas 24 linhagens as quais foram avaliadas no Departamento de Biologia da UFLA e na fazenda experimental da Epamig em Lambari, MG, na safra do inverno de 2006. Foi utilizado o delineamento látice 5 x 5, com três repetições, sendo a parcela constituída de duas linhas de 3 metros, com a cultivar Talismã como testemunha.

Para a avaliação de tipo de grãos, tomando-se como padrão o tipo carioca (grãos com coloração creme-clara, estrias marrom-claras, sem halo, tamanho médio dos grãos e não achatado), foi utilizada a escala descritiva proposta por Marques Júnior (1997), com notas variando de 1 (grãos tipo carioca) a 5 (grãos fora do padrão carioca).

A produção de grãos foi medida em g/parcela e, posteriormente, foi realizada a transformação dos dados em kg/ha para padronização, devido aos diferentes tamanhos de parcelas utilizadas.

A avaliação de severidade de mancha-angular foi realizada utilizando-se um diagrama de notas proposto por Bergamin Filho et al. (1995) e Sartorato (1996), que variam de 1 (resistência completa) a 9 (suscetível).

Para verificar a presença do alelo *Co-5* de resistência à antracnose nas 24 linhagens, foi realizada a inoculação com a raça 321, proveniente de cultura monospórica. Esta foi repicada para tubos de ensaio contendo meio ágar-água e vagens de feijão em condições assépticas e encubadas em câmara de crescimento, à temperatura de 20°C, por um período de 15 dias. A partir dessa cultura, foi preparada uma suspensão de esporos, contendo $1,2 \times 10^6$ conídios ml^{-1} , à qual foi aplicada nas linhagens, 10 dias após a semeadura. As linhagens foram previamente semeadas em bandejas de isopor contendo substrato Plantimax. A severidade da doença foi avaliada por meio de um diagrama de notas, variando de 1 a 9 (Rava et al., 1994).

3.3 Identificação do alelo *Co-4* de resistência à antracnose por meio de marcador SCAR

Para verificar a presença do alelo *Co-4* de resistência à antracnose nas linhagens, foi utilizado o marcador SCAR, ligado a esse alelo e amplificado pelo *primer* SAS 13 (Young et al., 1998).

3.4 Extração de DNA total

Foi extraído o DNA das 24 linhagens selecionadas, utilizando o procedimento modificado de Rogers & Bendich (1988). Foram utilizados cerca de 2,0g de folhas jovens, amostradas em 10-12 plantas de cada linhagem. As folhas foram maceradas em almofariz com nitrogênio líquido, sendo adicionados após esta etapa, 10 ml de tampão de extração composto de 0,2 g de brometo de cetiltrimetil-amônia (CTAB), 1ml de Tris 1 M; 0,4ml de EDTA 0,5 M; 0,82ml de NaCl; 0,1 g de polivinilpirrolidona 40.000(PVP); 8,6ml de água pura e 20 µL de 2-β-mercaptoetanol.

O macerado, juntamente com o tampão de extração, foi incubado em banho-maria por 30 minutos, a 65°C. A próxima etapa da extração consistiu na adição de 10ml de uma solução composta de 24:1 de clorofórmio e álcool isoamílico, seguido de homogeneização e centrifugação a 5.000 rpm, por 5 minutos. O sobrenadante foi coletado e repassado para um novo tubo, sendo, em seguida, adicionado três vezes o volume de acetato de amônio-álcool (1 acetato de amônio 7,5M:6 álcool 95°) com o objetivo de precipitar os ácidos nucleicos presente na amostra. As amostras foram incubadas por 30 minutos, a -20°C. Após este período, o DNA foi coletado por meio de centrifugação e a este foi

adicionada uma solução de 200-400 μ L de TE (Tris 1mM e EDTA 0,1 mM, pH 7,7).

O DNA coletado passou por uma segunda fase de extração com clorofórmio-álcool isoamílico, sendo este centrifugado e precipitado com três vezes o volume de álcool-acetato de sódio (1 acetato de sódio 3M:20 álcool 95°), ficando a -20°C , por uma hora. Após esta etapa foi eliminado o álcool-acetato, sendo o DNA dissolvido em 200-400 μ L de TE. Para quantificação do DNA foi utilizado o fluorímetro (Hoffer Scientific, San Francisco, CA USA), seguido de diluição para 10ng/ μ L.

3.5 Análise PCR

O *primer* utilizado para análise PCR foi o SCAR, identificado por Young et al. (1998), com 20-25 pares de base, que se encontra a 0,39 cM do alelo *Co-4²* e que também amplifica em genótipo portador do alelo *Co-4* (Awale & Kelly, 2001). As reações foram realizadas em um termociclador Eppendorf MasterCycler Gradient 5331. As reações foram constituídas de 20ng de DNA, 200 μ L de dNTP (mistura equitativa de ATP, GTP, CTP, TTP), 0,6 unidades de Taq DNA polimerase, 0,5 μ M de cada *primer* (Forward e Reverse); tampão de reação (50mM Tris; 2,0 mM MgCl₂; 20mM KCl; 250 μ g/ml de albumina de soro bovino; 1% de ficoll 400; 1mM de tartrazine) e água pura até o volume de 10,0 μ L (Parrella, 2006).

Os fragmentos gerados pelas reações foram separados em gel de agarose 1% sendo preparados com TBE 1X (0,045M Tris-borato e 2,0mM de EDTA). A visualização e a análise dos géis foram efetuadas sob luz ultravioleta em um transluminador. As imagens foram capturadas em uma câmera digital Kodak EDAS 290 e arquivadas por meio do software KODAK 1D Image®.

3.6 Análise dos dados das características morfo-agronômicas

As características avaliadas nos experimentos de campo foram submetidas à análise individual de variância, segundo o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = m + b_{k(j)} + r_j + t_i + e_{ijk}$$

em que:

Y_{ijk} : observação referente ao i étimo tratamento no bloco k , dentro da repetição j ;

m : é o efeito da média geral;

$b_{k(j)}$: efeito aleatório do bloco k , na repetição j , sendo ($k = 1, 2, \dots, K$);

r_j : efeito aleatório da repetição j , sendo ($j = 1, 2, 3, \dots, J$);

t_i : efeito do tratamento i , sendo ($i = 1, 2, 3, \dots, I$);

e_{ijk} : erro experimental associado à observação Y_{ijk} , assumindo que os erros são independentes e normalmente distribuídos, com média zero e variância σ^2 .

O efeito de tratamento foi considerado como aleatório nos látices 14 x 14 e 10 x 10 e como fixo no 5 x 5.

Para as análises conjuntas por ambientes, foram utilizadas as médias ajustadas dos tratamentos comuns. Isto foi possível, pois a relação entre o maior quadrado médio e o menor deles é de 3 vezes. Segundo Pimentel Gomes (1976), essa relação não causa prejuízos na avaliação.

O modelo estatístico utilizado para a análise conjunta, para produção e tipo de grãos das linhagens comuns, é o seguinte:

$$Y_{ijkl} = m + a_l + t_i + b_{k(jl)} + r_{j(l)} + (ta)_{il} + \bar{e}_{ijkl(l)}$$

em que:

Y_{ijkl} : é a observação do i étimo tratamento no bloco k , dentro da repetição j , na safra l ;

m : é o efeito da média geral;

a_l : é o efeito fixo da safra, sendo ($l = 1, 2, 3, \dots, L$);
 t_i : efeito fixo do tratamento i , sendo ($i = 1, 2, 3, \dots, I$);
 $b_{k(jl)}$: efeito aleatório do bloco k , dentro da repetição j e da safra l , sendo ($k = 1, 2, \dots, K$);
 $r_{j(l)}$: efeito aleatório da repetição j , dentro do local k , sendo ($j = 1, 2, \dots, J$);
 $(ta)_{il}$: efeito fixo da interação entre o tratamento i com a safra l ;
 $\bar{e}_{ijk(l)}$: é o erro experimental efetivo médio.

Com o resultado das análises individuais para produção, tipo de grãos e mancha-angular nos látices 14 x 14 e 10 x 10 foi estimada a herdabilidade e seu respectivo intervalo de confiança, de acordo com Knapp et al. (1985).

As estimativas de herdabilidade foram obtidas por meio das expressões:

$$h^2 = (QM_{\text{linhagens}} - QM_{\text{erro efetivo}}) / QM_{\text{linhagens}}$$

Os estimadores para o cálculo dos intervalos de confiança foram os seguintes:

$$LI = \{1 - [(QM_{\text{linhagens}} / QM_{\text{erro efetivo}}) F_{0,975; GL \text{ Erro}; GL \text{ Linhagens}}]^{-1}\}$$

$$LS = \{1 - [(QM_{\text{linhagens}} / QM_{\text{erro efetivo}}) F_{0,025; GL \text{ Erro}; GL \text{ Linhagens}}]^{-1}\}$$

em que:

$F_{0,975}$ = quantil superior; $1 - \alpha/2$ ($\alpha = 5\%$ probabilidade);

$F_{0,025}$ = quantil inferior; $\alpha/2$ ($\alpha = 5\%$ probabilidade).

O ganho com a seleção foi estimado por meio da seguinte expressão:

$$GS = (ds \times h^2) \times 100$$

em que:

ds : diferencial de seleção, ou seja, a diferença entre a média das linhagens selecionadas e a média geral do experimento;

h^2 : herdabilidade do caráter.

Todas as estimativas foram obtidas pelos programas computacionais MSTAT (1983) e Genes (2001).

As médias das 24 linhagens selecionadas foram agrupadas, por meio do teste de Scott-Knot (1974).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Reação das famílias ao *C. lindemuthianum*

Uma estratégia utilizada para permitir que as cultivares tenham uma resistência mais durável à antracnose é a piramidação de alelos, como sugerido por Young & Kelly (1996). Com este objetivo, as 24 linhagens superiores foram avaliadas para verificar a existência da pirâmide de alelos *Co-4/Co-5*.

Para a identificação do alelo *Co-5*, as 24 linhagens foram inoculadas com a raça 321, que é compatível com genótipos de feijoeiro apenas com o alelo *Co-4*. O resultado obtido desta inoculação foi 14 resistentes:3 segregantes:7 suscetíveis, ou seja, 14 linhagens possuem o alelo *Co-5* de resistência à antracnose (Tabela 4).

Para a identificação do alelo *Co-4*, foi utilizado o marcador SCAR, amplificado pelo *primer* SAS13, identificado por Young et al. (1998). Conforme pode ser visualizado na Figura 1, o marcador foi amplificado nas 24 linhagens. Vale salientar que as famílias de onde foram selecionadas as linhagens já haviam sido previamente selecionadas como portadoras do alelo *Co-4*, por meio do marcador SCAR (Parrella, 2006). Pelo fato de esse marcador estar localizado a 0,39 cM do loco *Co-4*, o resultado obtido é confiável. Segundo Young et al. (1998), o SCAR SAS 13 amplifica um fragmento de 950 pb dentro dos alelos de resistência *Co-4* e *Co-4*². Assim, a possibilidade de recombinação intragênica é baixa. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Parrella (2006).

Com isso, foi possível identificar 14 linhagens que possuem a pirâmide de alelos *Co-4/Co-5* (Tabela 4).

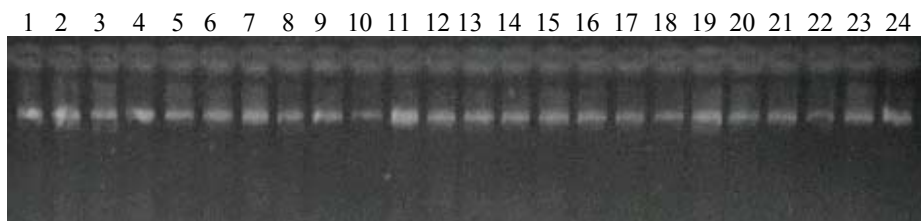


FIGURA 1 Perfil de bandas, amplificado pelo primer SAS13, nas 24 linhagens selecionadas.

Das quatro melhores linhagens selecionadas na safra da seca/2006 (70, 71, 126 e 171), apenas a linhagem 70 não possui a pirâmide de alelos. As quatro melhores linhagens selecionadas na média das avaliações (1, 71, 126 e 169), possuem a pirâmide de alelos.

4.2 Produção de grãos

As análises individuais para a produção de grãos nas safras das águas 2005/2006, seca/2006, inverno/2006 em Lavras e inverno/2006, em Lambari estão apresentadas na Tabela 5. Pode ser observada a existência de diferença significativa entre as linhagens para o caráter, a 1% de probabilidade, para as safras das águas e seca, ambas em Lavras e na safra de inverno em Lambari. Na safra de inverno em Lavras, houve diferença significativa a 5%.

Para a produção de grãos, o látice foi eficiente, na safra das águas 2005/2006, em 20,04%, quando comparado com o delineamento em blocos completos e 4,49%, na safra da seca/2006. Resultados similares foram obtidos por Marques Júnior (1997). Este autor comenta que as análises devem sempre ser processadas em látice, pois como o melhorista não tem como prever se a área experimental é homogênea ou não, a condução de experimentos no

delineamento látice funciona como um seguro para um problema que pode ocorrer ou não.

A média na safra de inverno/2006, em Lavras, apresentou-se superior às demais devido às melhores condições ambientais. Em contrapartida, no experimento conduzido em Lambari, à média obtida foi a menor dentre as quatro safras. Isso ocorreu, provavelmente, devido a problemas de manejo do experimento.

Isso também pode ser evidenciado na precisão experimental, medida pelo coeficiente de variação. Na safra de inverno/2006, em Lambari, o CV foi 24,98%. Na safra das águas 2005/2006, o CV também teve um valor elevado, evidenciando, assim, uma baixa precisão experimental. Isso se deve ao tamanho de parcela utilizado no experimento (0,5 m²). Bertoluci et al. (1991) demonstraram que é viável o uso de pequenas parcelas na avaliação de linhagens, mesmo tendo uma estimativa de CV maior.

TABELA 5 Resumo das análises de variância individuais das produções de grãos (kg/ha), avaliadas nas safras das águas 2005/2006 (Água 05/06), seca/2006, inverno de 2006, em Lavras e inverno/2006, em Lambari, juntamente com suas estimativas herdabilidade e respectivos intervalos de confiança.

Estimativas	Água05/06 Lavras	Seca/06 Lavras	Inv./06 Lavras	Inv./06 Lambari
Nº de linhagens	196	100	25	25
QM linhagens	747551,36**	251047,85**	367740,33*	220875,61**
Média (kg/ha)	1496,43	2088,16	3006,99	1239,34
Média testemunha	1900,00	2116,65	3651,90	1242,10
Eficiência do látice (%)	120,04	104,49	-	-
CV (%)	37,42	18,20	14,11	24,98
h ² (%)	58,00	42,44	-	-
h ² _{LI} ¹	43,63	18,98	-	-
h ² _{LS} ¹	68,58	59,90	-	-

* e ** Significativo, a 5% e 1% de probabilidade, pelo teste F.

¹LI e LS. Limites do intervalo de confiança para h², com 5% de probabilidade.

Outro fato a ser destacado com relação à precisão experimental medida por meio do CV é que experimentos com menor média como no caso das safras das águas 2005/2006, em Lavras e inverno/2006, em Lambari e não necessariamente com maior erro experimental, pode levar a maiores estimativas de CV, pois a média faz parte do denominador do estimador do coeficiente de variação (Marques Júnior, 1997). Apesar de algumas estimativas de CV serem altas, observou-se diferença genética entre as linhagens em todos os experimentos.

As estimativas de herdabilidade da produção na avaliação das águas 2005/2006 e seca/2006 podem ser visualizadas na Tabela 5. Essas estimativas indicam que pode haver sucesso com a seleção, pois todas elas estão dentro do intervalo de confiança e que foi sempre positivo (Ramalho et al., 1993).

Em todos os experimentos foi utilizada a cultivar Talismã como testemunha, tendo a sua produtividade média sido superior em todos os experimentos, quando comparada com a média geral. Comparando-se o desempenho das linhagens e da testemunha na safra de inverno, observou-se que 16,67% das linhagens apresentaram produção superior.

TABELA 4 Reação das linhagens à inoculação com a raça 321 de *C. lindemuthianum* e constituição genética quanto aos locos de resistência.

Linhagens	Raça 321 de <i>C. lindemuthianum</i>	Constituição genética		Marcador SCAR
		<i>Co-4</i>	<i>Co-5</i>	
1	R	<i>Co-4</i>	<i>Co-5</i>	Presente
7	R	<i>Co-4</i>	<i>Co-5</i>	Presente
28	R	<i>Co-4</i>	<i>Co-5</i>	Presente
41	R	<i>Co-4</i>	<i>Co-5</i>	Presente
49	S	<i>Co-4</i>	-	Presente
70	S	<i>Co-4</i>	-	Presente
71	R	<i>Co-4</i>	<i>Co-5</i>	Presente
79	S	<i>Co-4</i>	-	Presente
83	S	<i>Co-4</i>	-	Presente
96	S	<i>Co-4</i>	-	Presente
159	R	<i>Co-4</i>	<i>Co-5</i>	Presente
104	S	<i>Co-4</i>	-	Presente
107	S	<i>Co-4</i>	-	Presente
115	R	<i>Co-4</i>	<i>Co-5</i>	Presente
123	R	<i>Co-4</i>	<i>Co-5</i>	Presente
125	R/S	<i>Co-4</i>	<i>Co-5?</i>	Presente
126	R	<i>Co-4</i>	<i>Co-5</i>	Presente
141	R	<i>Co-4</i>	<i>Co-5</i>	Presente
160	R/S	<i>Co-4</i>	<i>Co-5?</i>	Presente
167	R	<i>Co-4</i>	<i>Co-5</i>	Presente
168	R/S	<i>Co-4</i>	<i>Co-5?</i>	Presente
169	R	<i>Co-4</i>	<i>Co-5</i>	Presente
171	R	<i>Co-4</i>	<i>Co-5</i>	Presente
180	R	<i>Co-4</i>	<i>Co-5</i>	Presente
Talismã	-	-	-	-

R, S E R/S: linhagens resistentes, suscetíveis e segregantes, respectivamente; ? indica a possibilidade de as linhagens terem ou não os alelos de resistência.

4.3 Tipo de grãos

Para as análises individuais de tipo de grão (nota) nas safras das águas 2005/2006, seca/2006, inverno/2006, todas, em Lavras (Tabela 6), houve diferença significativa entre as linhagens a 1% de probabilidade. A eficiência do látice foi de 4,85% na safra das águas e 9,91% na safra da seca, não sendo eficiente nas safras de inverno.

A precisão experimental medida pelo coeficiente de variação foi semelhante à obtida por Parrella (2006), Pereira et al., (2004) e Silva (2005), sendo eficiente na detecção de heterogeneidade das linhagens. Pode-se observar também que houve uma redução nas médias das linhagens, como consequência da seleção realizada. Vale ressaltar que este caráter foi a principal característica avaliada em todas as gerações. Outro fato interessante é que a média da testemunha em relação às linhagens foi superior à das linhagens nas safras da seca e inverno em Lavras, indicando, assim, que os grãos estão em conformidade com o padrão carioca. Esses resultados são semelhantes aos obtidos por Parrella (2006) e Pereira et al. (2004).

As estimativas de herdabilidade foram médias e dentro dos intervalos de confiança, dos quais nenhum foi negativo, indicando que pode haver ganho com a seleção e demonstrando a confiabilidade dos resultados.

TABELA 6 Resumo das análises de variância individuais para tipo de grãos, avaliadas nas safras das águas 2005/2006 (Água 05/06), seca/2006 e inverno/2006, em Lavras.

Estimativas	Água 05/06 Lavras	Seca/06 Lavras	Inv./06 Lavras
Nº linhagens	196	100	25
QM linhagens	0,137**	0,159**	0,209**
Média	2,53	2,56	2,16
Média testemunha	2,25	3,00	2,66
Eficiência do látice (%)	104,85	109,91	-
CV (%)	10,43	11,00	14,02
h^2 (%)	48,90	50,31	-
$h^2_{LI}^1$	31,55	29,86	-
$h^2_{LS}^1$	61,84	65,29	-

** Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

¹LI e LS, Limites do intervalo de confiança para h^2 , com 5% de probabilidade.

4.4 Mancha-angular

O caráter reação à mancha-angular foi avaliado apenas na safra da seca/2006. Esta época foi escolhida por ser a ideal para se avaliar essa doença em campo, pois, nessa condição, o fungo encontra condições favoráveis para seu desenvolvimento devido às temperaturas moderadas, períodos suficientemente longos de alta umidade e ação de ventos (Sartorato & Rava, 1994).

Os dados obtidos nesta avaliação podem ser visualizados na Tabela 7. Pode-se observar que houve diferença genética significativa 1% de probabilidade entre as linhagens. A eficiência do látice foi 3,66% superior ao bloco completo. A baixa eficiência do látice é um bom indicativo, pois, mostra que a distribuição do inoculo no campo foi uniforme.

TABELA 7 Resumo da análise de variância individual para mancha-angular, avaliado na safra da seca/2006 em Lavras.

Estimativas	Seca/2006
Nº de linhagens	100
QM linhagens	2,92**
Média	4,34
Média testemunha	5,66
Eficiência do látice (%)	103,66
CV (%)	22,43
h^2 (%)	67,55
$h^2_{LI}^1$	54,23
$h^2_{LS}^1$	77,35

** Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

¹LI e LS, Limites do intervalo de confiança para h^2 , com 5% de probabilidade.

O coeficiente de variação, o qual mede a precisão experimental, foi ligeiramente superior ao obtido por Pereira (2003), porém, viabilizando a detecção de heterogeneidade entre as linhagens.

A estimativa de herdabilidade foi alta para o caráter, estando de acordo com os resultados obtidos por Couto et al. (2005), Pereira et al. (2004) e Silva et al. (2006), sugerindo a possibilidade de sucesso com a seleção das famílias mais resistentes.

Quando foi comparada a média das linhagens e a da testemunha, observou-se que as linhagens tiveram uma média ligeiramente inferior, demonstrando existirem linhagens com maior nível de resistência. Este resultado foi semelhante ao obtido por Silva (2005), ficando demonstrada a suscetibilidade da cultivar Talismã a mancha-angular. Uma possível causa dessa resistência é a presença nas linhagens de um alelo dominante de resistência, proveniente do genitor H147, derivado da linhagem ESAL 696 (Vieira, 2004).

4.5 Ganhos com a seleção e correlação entre os caracteres

Para estimar o ganho com a seleção e a correlação entre os caracteres, foram utilizados os dados obtidos na safra da seca/2006, na qual utilizaram-se 100 linhagens. Não foram utilizados os dados da análise conjunta devido à seleção realizada.

Considerando a seleção das quatro melhores linhagens para tipo de grão, produtividade e mancha-angular, separadamente (seleção direta), observaram-se ganhos elevados para todos os caracteres (Tabela 8), semelhante aos obtidos por Couto et al. (2005), Parrella (2006), Pereira et al. (2004) e Silva et al. (2006).

Quando foram considerados todos os caracteres em conjunto, foi adotado como critério as quatro linhagens (70, 71, 126 e 171) que apresentaram melhores valores primeiramente para tipo de grãos, seguido de reação à mancha-angular e, por último, produtividade. Este critério foi adotado, pois, nas fases iniciais de avaliação, maior atenção deve ser dada a caracteres com maior herdabilidade (Ramalho et al., 1993).

Podem-se observar ganhos com o tipo de grão e resistência a mancha-angular, porém, houve uma redução no ganho com a produtividade. Ganhos com a produtividade podem ser mais bem estimados quando se utilizam experimentos em vários locais e em gerações mais avançadas, devido ao fato de esse caráter ser muito influenciado pelo ambiente. Dessa forma, a interação genótipos x ambientes pode ser mais bem estimada, dando maior confiabilidade aos resultados (Ramalho et al., 1993). Porém, pode-se notar que há ampla variabilidade para produtividade de grãos, como constatado na análise de variância, a qual pode ser mais bem observada na distribuição de frequência de produtividade de grãos (Figura 2). A seleção baseada em um único caráter (seleção direta), como a utilizada para estimar o ganho com a seleção no primeiro caso, tem se mostrado inadequada, pois conduz a um produto final superior apenas quanto ao caráter considerado, não tendo um desempenho favorável para os outros caracteres.

TABELA 8 Estimativas de ganho esperado com a seleção das quatro linhagens de maior expressão para produção (kg/ha), tipo de grãos (notas) e reação à mancha-angular (notas).

Estimativa	Produção	Tipo de grãos	Reação à mancha-angular
GS ¹	221,70 (10,62%)	-0,22 (8,60%)	-1,23 (28,34%)
GS ²	-75,89 (-3,63%)	-0,20 (7,81%)	-0,47 (10,83%)

¹ Ganho com a seleção de 4 em 100 linhagens (4%), seleção para cada caráter.

² Ganho com a seleção de 4 em 100 linhagens (4%), seleção considerando todas as características em conjunto.

Assim, a seleção simultânea, como a realizada no segundo caso, mostra-se mais eficiente, por aumentar a chance de êxito em um programa de melhoramento (Cruz e Carneiro, 2003). Porém, nota-se que há uma redução nos ganhos com a seleção, fato também constatado por Couto (2005), Parrella (2006), Pereira (2003), Silva (2005). Isso pode ser devido a uma correlação desfavorável entre os caracteres avaliados. Para verificar a presença dessa correlação, foram estimadas as correlações fenotípicas entre os caracteres (Tabela 9). Verificou-se que não há correlação entre os caracteres, indicando assim a possibilidade de seleção de linhagens que sejam superiores em todos os caracteres avaliados.

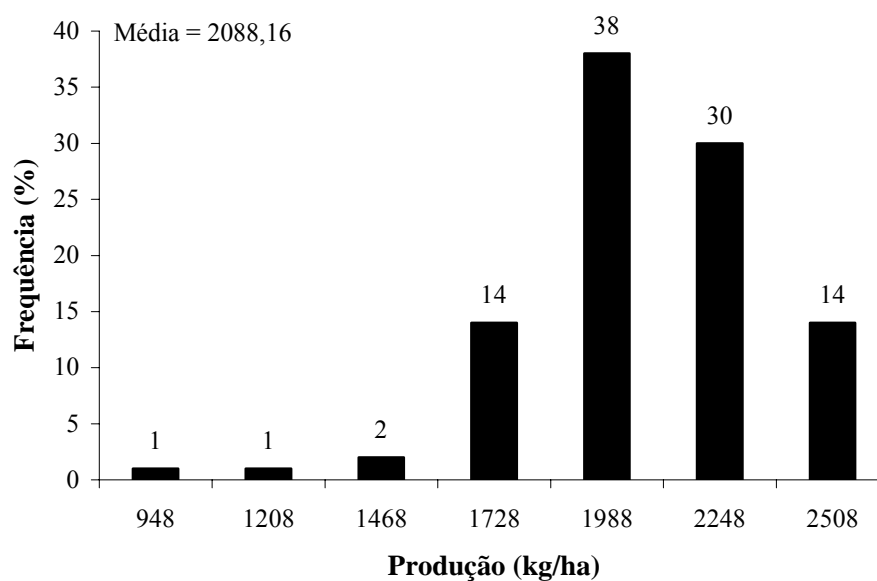


FIGURA 2 Distribuição de freqüência das linhagens para a produção na safra da seca /2006.

TABELA 9 Correlações fenotípicas entre os caracteres avaliados.

Caracteres	Correlação	Probabilidade
Produtividade x tipo de grão	0,124 ^{ns}	0,219
Produtividade x mancha-angular	0,161 ^{ns}	0,110
Tipo de grão x mancha-angular	0,007 ^{ns}	0,945

^{ns} Não significativo pelo teste t.

4.6 Análise conjunta para produção e tipo de grão

Na Tabela 10, estão representadas as análises conjuntas para produção e tipo de grão das 24 linhagens superiores. Para a produção de grãos, as fontes de variação safras e interação safras x linhagens foram significativas a 1% e a fonte linhagens a 5%. Isso confirma a presença de diferenças genéticas entre as linhagens. Nota-se que a média das linhagens é inferior à média da testemunha (Talismã). Isso ocorreu, provavelmente, porque o genitor B1 possui baixo potencial produtivo, embora tenha um tipo de grão semelhante ao Carioca, sendo portadora do alelo de resistência a antracnose *Co-4*. Entretanto, a diferença entre as linhagens indica a possibilidade de seleção de algumas superiores, em produtividade de grãos (Tabela 11). Por exemplo, considerando a produtividade, tipo de grãos e a presença da pirâmide de alelos *Co-4/Co-5*, destacaram-se as linhagens 1, 71, 126 e 169.

Outro fato importante é que, se forem comparados os desempenhos das quatro melhores linhagens (1, 71, 126 e 169) com base na média das avaliações (Tabela 11), com as quatro selecionadas (70, 71, 126 e 171) na safra anterior (seca/2006), três continuam com desempenho superior, mostrando, assim, a eficiência em se realizar uma seleção com as características avaliadas em

conjunto. Apenas a linhagem 70 exibiu menor produtividade, porém, não deve se esquecer que este caráter é muito influenciado pelo ambiente e que a seleção foi baseada apenas em uma única avaliação.

Com relação à mancha-angular, nota-se que, as duas seleções realizadas tanto na média das avaliações quanto na safra da seca/2006, tiveram nota médias inferior à da testemunha, ficando em 4,55 e 3,65 respectivamente, demonstrando, assim, a eficiência na seleção. O valor mais elevado de 4,55, obtido na seleção realizada na média das avaliações, foi devido à linhagem 1, que se mostrou suscetível à mancha-angular, porém, ela apresenta boa produtividade e a segunda melhor nota para tipo de grão além da pirâmide de alelos *Co-4/Co-5*.

Para o caráter tipo de grão, houve diferenças significativas, a 1% de probabilidade, para as fontes de variação safra e linhagem, confirmando que há possibilidade de ganho com a seleção. Na fonte de variação safras x linhagens, a interação foi não significativa, indicando que este caráter é pouco influenciado pelo ambiente. Esse é um resultado favorável, pois indica que o comportamento das linhagens é coincidente nas diferentes safras. Resultado semelhante foi obtido por Pereira (2003), demonstrando que este caráter é pouco influenciado pelo ambiente. Pode-se observar a tendência da média das linhagens ser inferior à da testemunha para tipo de grão, tendo 100% das linhagens nota inferior a da testemunha. Quanto à média para produção, a testemunha teve melhor desempenho, porém, há 16,67% das linhagens com produtividade equivalente à da testemunha.

Quando realizado o teste de médias (Skott-Knot), as melhores linhagens não diferiram da testemunha para produção a 5% e tipo de grão, a 10% de probabilidade (Tabela 11).

TABELA 10 Resumo das análises de variância conjunta para produção e tipo de grão.

Fontes de Variação	Produção (kg/ha)		Tipo de grão (nota)	
	GL	QM	GL	QM
Safras (S)	3	37849584,3**	2	0,6192**
Linhagens (L)	24	346294,556*	24	0,1677**
S X L	72	352506,4**	48	0,0744 ^{ns}
Erro médio	436	208746,9	388	0,077
Média	-	1980,71	-	2,27
Média da testemunha	-	2256,25	-	2,64
CV (%)	-	18,34	-	7,7

* e ** Significativo, a 5% e 1% de probabilidade, pelo teste F.

^{ns} – não significativo, pelo teste F.

TABELA 11 Médias ajustadas de produção, tipo de grão e alelos de resistência presentes nas linhagens.

Linhagens	Produção (kg/ha)¹		Tipo de grãos (nota)²		Reação à mancha-angular		Alelos de resistência
1	2165,50	a	2,00	b	5,70	a	<i>Co-4, Co-5</i>
7	2142,50	a	2,30	a	4,10	b	<i>Co-4, Co-5</i>
28	2224,00	a	2,22	b	6,80	a	<i>Co-4, Co-5</i>
41	1990,00	a	2,19	b	6,31	a	<i>Co-4, Co-5</i>
49	1116,25	c	2,39	a	3,30	b	<i>Co-4</i>
70	1632,00	b	2,23	b	2,38	b	<i>Co-4</i>
71	2058,50	a	1,93	b	3,69	b	<i>Co-4, Co-5</i>
79	1797,50	b	2,35	a	4,44	b	<i>Co-4</i>
83	1696,50	b	2,19	b	4,00	b	<i>Co-4</i>
96	1756,50	b	2,30	a	3,65	b	<i>Co-4</i>
159	2070,50	a	2,34	a	4,12	b	<i>Co-4, Co-5</i>
104	1884,75	b	2,27	a	3,45	b	<i>Co-4</i>
107	2275,00	a	2,16	b	3,73	b	<i>Co-4</i>
115	2321,00	a	2,39	a	5,12	a	<i>Co-4, Co-5</i>
123	1902,50	b	2,46	a	4,52	b	<i>Co-4, Co-5</i>
125	1574,50	b	2,35	a	3,46	b	<i>Co-4, Co-5?</i>
126	2038,50	a	2,07	b	4,15	b	<i>Co-4, Co-5</i>
141	2017,25	a	2,32	a	5,29	a	<i>Co-4, Co-5</i>
160	1825,25	b	2,40	a	5,63	a	<i>Co-4, Co-5?</i>
167	2020,00	a	2,24	b	4,23	b	<i>Co-4, Co-5</i>
168	1767,25	b	2,18	b	3,58	b	<i>Co-4, Co-5?</i>
169	2332,00	a	2,19	b	4,69	b	<i>Co-4, Co-5</i>
171	2408,00	a	2,29	a	4,38	b	<i>Co-4, Co-5</i>
180	2247,00	a	2,29	a	4,51	b	<i>Co-4, Co-5</i>
Talismã	2256,00	a	2,64	a	5,63	a	-

Médias seguidas da mesma letra são do mesmo grupo, pelo teste de Scott Knot (¹ = 5% e ² = 10%); ? indica a possibilidade de as linhagens terem ou não o alelo de resistência *Co-5*.

5 CONCLUSÕES

Foi possível identificar 14 linhagens que possuem a pirâmide de alelos. Dentre estas, quatro linhagens se destacaram, pois, além de possuírem a pirâmide de alelos, apresentaram também características aceitáveis pelo consumidor e produtor, ou seja, grãos tipo carioca, com boa produtividade e três delas com maior nível de resistência à mancha-angular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, A. F. B.; RAMALHO, M. A. P.; GONÇALVES, F. M. A.; MENDONÇA, H. A. Utilização da produtividade de grãos na seleção para resistência ao *Colletotrichum lindemuthianum* no feijoeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 356-362, mar./abr. 2003.
- ALZATE-MARIN, A. L.; MENARIM, H.; CARVALHO, G. A.; JÚNIOR, T. J. P.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Improved Selection with Newly Identified RAPD Markers Linked to Resistance Gene to Four Pathotypes of *Colletotrichum lindemuthianum* in Common Bean. **Phytopathology**, St. Paul, v. 89, n. 4, p. 281-285, Apr. 1999.
- ANDRADE, M. J. B. de; RAMALHO, M. A. P. **A cultura do feijoeiro-comum no curso de agronomia**. Lavras: UFLA, 1999. 99 p.
- AWALE, H. E.; KELLY, J. D. Development of SCAR markers linked to Co-4² gene in common bean. **Annual Report of Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 44, p. 119-120, 2001.
- BALDONE, A. B.; TEIXEIRA, F. F.; SANTOS, J. B. Controle genético de alguns caracteres relacionados à cor da semente de feijão no cruzamento Rosinha x ESAL 693. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1427-1431, set./out. 2002.
- BARRUS, M. F. Variation of varieties of bean in their susceptibility to anthracnose. **Phytopathology**, St. Paul, v. 1, p. 190-195, 1911.
- BARRUS, M. F. Varietal susceptibility of beans to strains of *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. And Magn.) B. and C. **Phytopathology**, St. Paul, v. 8, p. 589-614, 1918.
- BASSET, M. J. List of genes – *Phaseolus vulgaris* L. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 39, p. 1-19, 1996.
- BERGAMIN FILHO, A.; LOPES, D. B.; AMORIM, L.; GODOY, C. D. Avaliação de danos causados por doenças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, RS, v. 3, p. 133-184, 1995.
- BERTOLUCCI, F. L. G.; RAMALHO, M. A. P.; DUARTE, G. S. Alternativas de tamanho e forma da parcela para avaliação de progênies de feijoeiro

(*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Prática**, Lavras, v. 15, n. 3, p. 295-305, jul./set. 1991.

BORÉM, A.; CARNEIRO, J. E. S. A cultura. In: VIEIRA, C.; PAULA-JR, T. J.; BORÉM, A. **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2006. p. 13-18.

BRENES, B. M.; CHAVES, G. M.; ZAMBOLIN, L. Estimativas de perdas no rendimento de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) causadas pela mancha angular (*Isariopsis griseola* Sacc.). **Fitopatologia Brasileira**, Brasileira, v. 8, p. 599, out. 1983.

CAMPA, A.; RODRÍGUEZ-SUAREZ, C.; PÁNEDA, A.; GIRADLES, R.; FERREIRA, J. J. The bean anthracnose resistance gene *Co-5*, is located in linkage group B7. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, New York, v. 48, p. 68-69, 2005.

CONAB. Disponível em 2007: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 2007.

CORREA-VICTORIA, F. J.; PASTOR-CORRALES, M. A.; SAETTLER, A. W. Mancha-angular de la hoja. In: PASTOR-CORRALES, M. A.; SCHWARTZ, H. F. (Ed.). **Problemas de producción del frijol en los trópicos**. 2. ed. Cali, Colombia, CIAT, 1994. p. 67-86.

COUTO, M. A. **Seleção de linhagens de feijão tipo Carioca com resistência à antracnose e à mancha angular**. 2005. 74 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

COUTO, M. A.; SANTOS, J. B.; ABREU, A. F. B. Selection of carioca type common bean lines resistant to anthracnose and to angular leaf spot. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 5, n. 3, p. 324-331, 2005.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2003. v. 2, 585 p.

FALEIRO, F. G.; RAGAGNIN, V. A.; SCHUSTER, I.; CORRÊA, R. X.; GOOD-GOD, P. I.; BROMMONSHENKEL, S. H.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Mapeamento de Genes de Resistência do Feijoeiro a Ferrugem, Antracnose e Mancha-Angular Usando Marcadores RAPD. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, n. 1, p. 59-66, jan./fev. 2003.

FEHR, W. R. **Principles of cultivar development**. New York: MacMillan Publishing Company, 1987. 536 p.

FERREIRA, C. M.; SANTOS, M. L.; BRAGA, M. J.; PELOSO, M. J. D. Aspectos Econômicos. In: VIEIRA, C.; PAULA-JR, T. J.; BORÉM, A. **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2006. p. 19-40.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introducción al uso de marcadores moleculares em el análisis genético**. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1998. 220 p.

HABGOOD, H. Designation of physiological races of plant pathogens. **Nature**, London, v. 227, n. 5264, p. 1268-1269, Sept. 1970.

ISHIKAWA, F. H.; SILVA, K. J. D.; SOUZA, E. A.; DAVIDE, L. M. C.; FREIRE, C. N. S. Levantamento de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* de regiões produtoras de feijão. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 7., 2005, Goiânia, GO. **Anais...** Goiânia, 2005.

KELLY, J. D.; MIKLAS, P. N. The role of RAPD markers in breeding for disease resistance in common bean. **Molecular Breeding**, Amsterdam, v. 4, n. 1, p. 1-11, Jan. 1998.

KELLY, J. D.; VALLEJO, V. A. A comprehensive review of the major genes conditioning resistance to anthracnose in common bean. **Hort Science**, Alexandria, v. 39, n. 6, p. 1196-1207, Oct. 2004.

KIMATI, H.; GALLI, F. *Glomerella cingulata* (Stonem) Spauld. At V. Scherenk f. sp. Fase ascógena do agente causal da antracnose do feijoeiro. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, Piracicaba, v. 27, p. 411-437, 1970.

KNAPP, S. J.; STOUP, W. W.; ROSS, W. M. Exact intervals for heritability on a progeny mean basis. **Crop Science**, Madison, v.25, n.1, p. 192-194, Jn./Feb. 1985.

LEAKEY, C. L. A. Genotypic and phenotypic markers in common bean. In: GEPTS, P. (Ed.). **Genetics resources of Phaseolus beans**. Dordrecht: Kluwer Academics, 1988. p. 245-327.

MARQUES JÚNIOR, O. G. **Eficiência com experimentos com a cultura do feijão**. 1997. 80 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MICHELMORE, R. Molecular approaches to manipulation of disease resistance genes. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 33, p. 393-427, 1995.

MSTAT. **Microcomputer statistical program**. Michigan: Michigan State University, 1983.

MULLIS, K. B.; FALOONA, F. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalysed chain reaction. **Methods Enzymology**, San Diego, v. 55, p. 335-350, 1987.

OLSON, M.; HOOD, L.; CANTOR, L.; DOTSTEIN, D. A common language for physical mapping of the human genome. **Science**, Washington, v. 245, n. 4925, p. 1434-1435, Feb. 1989.

PAITING, K. **Measuring genetic variation using molecular markers**: international plant genetic resource. Roma: Brain Ford-Lloyd, 1996. 82 p.

PARAN, I.; MICHELMORE, R. W. Development of reliable PCR based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 85, n. 8, p. 985-993, Feb. 1993.

PARRELLA, N. N. L. D. **Seleção de famílias de feijão com resistência à antracnose, produtividade e tipo de grão carioca**. 2006. 50 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PASTOR-CORRALES, M. A. Enfermedades del frijol causadas por hongos. In: LÓPEZ, M.; FERNÁNDEZ, F.; SCHOONHOVEN, A (Ed.). **Frijol**: investigación y producción. Cali: PNUD CIAT, 1985. p. 172-180.

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

PAULA JÚNIOR, T. J.; ZAMBOLIN, L. Doenças. In: VIEIRA, C.; PAULA JR.; BORÉM, A. **Feijão**: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas. 2. ed. Viçosa: UFV, 2006. p. 415-436.

PEREIRA, H. S. **Seleção de linhagens de feijão tipo carioca com pirâmides de alelos de resistência à antracnose e outros fenótipos favoráveis.** 2003. 78p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PEREIRA, H. S.; SANTOS, J. B. Genetic constitution of anthracnose-resistance in common bean lines. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 4, p. 422-426, 2004.

PEREIRA, H. S.; SANTOS, J. B.; ABREU, A. F. B. Linhagens de feijoeiro com resistência à antracnose selecionadas quanto a características agronômicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 3, p. 209-215, Mar. 2004.

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental.** 6.ed. Piracicaba: Editora Nobel, 1976. 427 p.

PIO-RIBEIRO, G.; CHAVES, G. M.; Estudos sobre a variabilidade de isolados e culturas monospóricas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib. **Experimentiae**, Viçosa, v. 19, n. 4, p. 59-71, fev. 1975.

PROGRAMA GENES. **Aplicativo computacional em genética e estatística.** 2001. 648 p.

RAMALHO, M. A. P.; ANDRADE, L. A. B.; TEIXEIRA, N. C. S. Correlações genéticas e fenotípicas entre caracteres do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Prática**, Lavras, v. 3, n. 1, p. 63-70, jan./jun. 1979.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Cultivares. In: VIEIRA, C.; PAULA JR, T. J.; BORÉM, A. (Ed). **Feijão: Aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**, Viçosa: UFV, 1998. p.435-449.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; ZIMMERMANN, M. J. O. **Genética Quantitativa em plantas autógamas:** aplicação ao melhoramento do feijoeiro. Goiânia: Editora da UFG, 1993. 271 p.

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. 162-173, jun. 1994.

ROGERS, S. O.; BENDICH, A. J. **Extraction of DNA from plant tissues.** Plant Molecular Biology Manual A6, 8 [s. 1], v. 6, p. 1-10, 1988.

SANTOS, J. B. dos; VENCOVSKY, R. Correlação fenotípica e genética entre alguns caracteres agronômicos do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) **Ciência e Prática**, Lavras, v. 10, n. 3, p. 265-272, set./dez. 1986.

SANTOS, J. B.; VENCOVSKY, R.; RAMALHO, M. A. P. Controle genético da produção de grãos e de seus componentes primários em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 10, p. 1203-1211, out. 1985.

SANTOS, V. S. **Implicações da seleção precoce para tipo de grão no melhoramento genético do feijoeiro comum**. 2001. 57 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SARTORATO, A. Determinação da variabilidade patogênica do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc.) Scrib. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 7, 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 2002. p. 114-116.

SARTORATO, A.; RAVA, C. A. **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília: Embrapa, 1994. 300 p.

SARTORATO, A.; RAVA, C. A.; RIOS, G. P. Doenças fúngicas e bacterianas da parte aérea. In: ARAÚJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. (Ed.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Potafos, 1996. p. 669-700.

SILVA, K. J. D. **Distribuição e caracterização de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* no Brasil**. 2004. 86 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SILVA, M. G. M. **Seleção de famílias superiores de feijoeiro com resistência a antracnose e mancha angular**. 2005. 80p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SILVA, M. G. M.; SANTOS, J. B.; ABREU, A. F. B. Seleção de famílias de feijoeiro com resistência a antracnose e mancha angular. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 10, p. 1499-1506, 2006.

SMITH, G. M. **Botânica criptogâmica**. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbentian, 1979. v.2.

TALAMINI, V.; SOUZA, E. A.; POZZA, E. A.; FERNANDES, F. R.; ISHIKAWA, F. H. Identificação de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* de diferentes regiões produtoras de feijão comum em Minas Gerais. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 7., 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 2002. p. 187-189.

THOMAZELLA, C.; GONÇALVES-VIDIGAL, M. C.; VIDA, J. B.; VIDIGAL FILHO, P. S.; RIMOLDI, F. Identification of *Colletotrichum lindemuthianum* races in *Phaseolus vulgaris* L. **Annual Report of the bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 43, p. 83-83, 2000.

VALLEJO, V.; KELLY, J. D. Development of a SCAR marker linked to *Co-5* locus in common bean. **Annual Reporter Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 44, p. 121-122, 2001.

VIDIGAL, M. C. G.; SILVA, C. R.; VIDIGAL FILHO, P. S.; POLETINE, J. P. Characterization of the anthracnose resistance gene in common bean cultivar Michelite. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, New York, v. 48, p. 78-79, 2005.

VIEIRA, C. **Doenças e pragas do feijoeiro**. Viçosa: UFV, 1988. 231 p.

VIEIRA, C. Métodos Culturais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 25, n. 223, p. 27-59, 2004.

YOUNG, R. A.; KELLY, J. D. Characterization of genetic resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean differential cultivars. **Plant Disease**, St. Paul, v. 80, n. 6, p. 650-654, June 1996.

YOUNG, R. A.; KELLY, J. D. RAPD markers linked to three major anthracnose resistance genes in common bean. **Crop Science**, Madison, v. 37, n. 3, p. 940-946, may/June 1997.

YOUNG, R. A.; MELOTTO, M.; NODARI, R. O.; KELLY, J. D. Marker-assisted dissection of the oligogenic anthracnose resistance in the common bean cultivar "G2333". **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 96, n. 1, p. 94-97, Jan. 1998.