

**SELEÇÃO DE LINHAGENS DE FEIJÃO TIPO
CARIOCA COM PIRÂMIDE DE ALELOS DE
RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE E OUTROS
FENÓTIPOS FAVORÁVEIS**

HELTON SANTOS PEREIRA

2003

HELTON SANTOS PEREIRA

**SELEÇÃO DE LINHAGENS DE FEIJÃO TIPO CARIOCA COM
PIRÂMIDE DE ALELOS DE RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE E
OUTROS FENÓTIPOS FAVORÁVEIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de 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
2003

Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da

Biblioteca Central da UFLA

Pereira, Helton Santos

Seleção de linhagens de feijão tipo Carioca com pirâmide de alelos de resistência à antracnose e outros fenótipos favoráveis / Helton Santos

Pereira. -- Lavras : UFLA, 2003.

78 p. : il.

Orientador: João Bosco Santos.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Feijão. 2. Melhoramento genético vegetal. 3. Retrocruzamento. 4. Antracnose. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

HELTON SANTOS PEREIRA

**SELEÇÃO DE LINHAGENS DE FEIJÃO TIPO CARIOCA COM
PIRÂMIDE DE ALELOS DE RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE E
OUTROS FENÓTIPOS FAVORÁVEIS**

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

Aprovada em 05 de fevereiro de 2003

Dra. Angela de F. B. Abreu

EMBRAPA

Prof. Elaine A. de Souza

UFLA

Prof. João Bosco dos Santos
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

*Aos meus pais Lair e Angela,
à minha namorada Gabriela.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de realizar o curso de Mestrado.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa.

Ao professor e orientador João Bosco dos Santos, pela paciência, confiança, disponibilidade e por todos os ensinamentos transmitidos durante o curso.

Aos professores Magno, Ângela, César, João Cândido e Elaine, pelos ensinamentos transmitidos e contribuições dadas.

Aos funcionários do Departamento de Biologia pela ajuda na realização do trabalho, especialmente à Elaine e Lamartine.

À todos os amigos do curso de Genética e Melhoramento de Plantas e dos demais cursos da Universidade, pela amizade e apoio.

Aos amigos Flávio, Marcelo, Lorenzo e Nara, em especial, pela grande amizade, ajuda e pela ótima convivência durante o curso.

Aos amigos Rudney, Daniel, Sérgio, Emerson, Chrystian e Antônio por todos esses anos de amizade sincera e incentivo.

À todos os familiares, em especial aos meus avós José Biléca e Nazaré e aos tios Luciano, Roselene, Ginho, Neuza, Aílton e Elaine pelo apoio e incentivo.

A todos que, embora não citados, contribuíram para o sucesso desse trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	01
2 REFERENCIAL TEÓRICO	04
2.1 Cultura do feijão no Brasil.....	04
2.2 Antracnose do feijoeiro	05
2.3 Variabilidade de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	07
2.4 Melhoramento de feijão visando resistência à antracnose	09
2.4.1 Marcadores de DNA	15
2.4.2 Melhoramento por retrocruzamentos	18
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21
CAPÍTULO 1: Constituição genética de linhagens de feijão quanto a resistência à antracnose	29
Resumo	30
Abstract.....	31
1 Introdução	32
2 Material e Métodos	34
2.1 Material	34
2.2 Identificação de linhagens com diferentes alelos de resistência à antracnose	35
2.3 Identificação de linhagens com pirâmide de alelos de resistência	36
2.3.1 Extração de DNA	37
2.3.2 Análise RAPD.....	38
3 Resultados e Discussão	39
4 Conclusões	50
Referências Bibliográficas	51
CAPÍTULO 2: Seleção de linhagens de feijão resistentes à antracnose, grãos tipo Carioca e outros fenótipos favoráveis	53
Resumo	54
Abstract.....	55
1 Introdução	56
2 Material e Métodos	58
2.1 Material	58
2.2 Avaliação das linhagens em campo	58
2.3 Análise das características morfo-agronômicas	60
3 Resultados e Discussão	63
4 Conclusão.....	76
Referências Bibliográficas	77

RESUMO

PEREIRA, Helton Santos. **Seleção de linhagens de feijão tipo Carioca com pirâmide de alelos de resistência à antracnose e outros fenótipos favoráveis.** Lavras: UFLA, 2003. 78 p. (Dissertação – Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).*

O uso de cultivares de feijão com resistência é um dos meios de controle mais efetivo da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*). Em função da pequena durabilidade das cultivares com apenas um alelo de resistência, pode-se construir uma pirâmide de alelos de resistência para aumentar a vida útil dos alelos verticais. Na obtenção de novas cultivares de feijão resistentes à antracnose, outros fenótipos de interesse agrônômico também devem ser considerados, entre eles a produção de grãos, o tipo de grãos, a reação à mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*) e o porte da planta. Sendo assim, os objetivos desse trabalho foram identificar linhagens com pirâmide de alelos de resistência à antracnose e que reúnam outros fenótipos agrônômicos desejáveis. Foram utilizadas 256 linhagens, obtidas do programa de retrocruzamentos entre o genitor doador G2333, portador de três alelos de resistência à antracnose (*Co-4²*, *Co-5* e *Co-7*), e os genitores recorrentes ESAL 696 e CI140, que possuem boas características agrônômicas. Essas linhagens foram inoculadas com três raças (2047, 1545 e 73) do patógeno e algumas foram submetidas à análise RAPD com marcadores moleculares ligados ao alelo *Co-5*. As linhagens também foram avaliadas quanto a produção de grãos, tipo de grãos, reação à mancha angular e porte em quatro experimentos de campo. Foi possível identificar a constituição genética das linhagens quanto a reação à antracnose e selecionar cinco que reúnem, além da resistência à antracnose, alta produtividade, grãos do tipo Carioca, maior resistência à mancha angular e porte mais ereto. Entre elas, duas são portadoras de pirâmide de alelos de resistência em pelo menos dois genes e de duas constituições diferentes (*Co-5* e *Co-7*) e (*Co-4²* e *Co-5*). Essas linhagens possuem grandes chances de se tornarem novas cultivares. Também foi possível identificar linhagens que possuem apenas o alelo *Co-7*, que podem ser empregadas para que esse possa ser melhor conhecido, marcado e utilizado.

*Orientador: João Bosco dos Santos - UFLA

ABSTRACT

PEREIRA, Helton Santos. **Selection of Carioca type common beans lines with a pyramid of resistant alleles to anthracnose and other favourable phenotypes.** Lavras: UFLA, 2003. 78p. (Dissertation - Master Program in Genetic and Plant Breeding)*

Resistant common bean cultivars is one of the best way to control the anthracnose, caused by *Colletotricum lindemuthianum*. Cultivars with a pyramid of two or more resistant alleles have priority for selection in breeding programs due to the short life of lines having only one resistant allele. Furthermore, in the selection of improved cultivars, superior agronomic phenotypes for other traits should also be considered. Among these traits resistance to angular leaf spot (*Phaeoisariopsis griseola*), plant architecture and grain type and yield are of most importance. The objectives of this research were to identify lines with a pyramid of resistant alleles to anthracnose and other desirable phenotypes for agronomical traits. Two hundred and fifty six lines from a backcross between the donor parent G2333, carrying three resistant alleles of independent genes (*Co-4²*, *Co-5* e *Co-7*) and the recurrent parents ESAL 696 and CI140, which have other superior agronomic phenotypes were evaluated. The lines were inoculated with three pathogen races (2047, 1545 and 73) and were analysed with two RAPD markers linked to the *Co-5* allele. The lines were also evaluated for grain type and yield, resistance to angular leaf spot and plant architecture in four field trials. The genotypes of most lines were identified for anthracnose resistance, and the best five lines for grain yield, Carioca grain type, resistance to angular leaf spot and upright plant architecture were selected. Among the lines two have a pyramid with at least two resistant alleles of genes *Co-5* and *Co-7* and *Co-4²* and *Co-5*. These lines have a chance to become new cultivars. Other lines carrying only the *Co-7* allele were identified, but they need to be studied further and the allele marked in order to be utilized.

*Major professor: João Bosco dos Santos - UFLA

1 INTRODUÇÃO

O feijão é um alimento de grande importância econômica e social para o Brasil, por ser uma das principais e mais acessíveis fontes de proteína e de energia para a população. Apesar de o Brasil ser o maior produtor e consumidor mundial de feijão (*Phaseolus vulgaris*), ainda apresenta produtividade média muito baixa, cerca de 700 kg por hectare (IBGE, 2002). Esta produção é afetada por diversos fatores negativos e o principal é a ocorrência de várias doenças, especialmente porque a maioria das cultivares é suscetível. Entre as cultivares utilizadas no Brasil e no estado de Minas Gerais, a maioria corresponde àquelas com tipo de grãos semelhante ao da cultivar Carioca, que é uma das preferidas (Ramalho & Abreu, 1998). A cultivar Carioca tradicional, que ainda é utilizada, é suscetível à maioria dos patógenos importantes.

Entre as doenças importantes da cultura, destacam-se a mancha angular, causada pelo fungo *Phaeoisariopsis griseola*, e a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum*, que ocorrem em todo Brasil e com grande intensidade na região Sul de Minas Gerais. A mancha angular pode causar perdas de até 70% na produção de grãos e a antracnose, de até 100%, se as condições ambientais forem favoráveis para o desenvolvimento da doença (Rava et al., 1994).

Um dos meios mais eficientes de controle dessas duas doenças é por meio da resistência, não apenas porque não onera o custo de produção, mas também por contribuir para evitar o controle químico, o qual, além de caro, causa os danos ambientais já conhecidos. Essa resistência já é muito bem compreendida para a antracnose, pois já se conhecem várias fontes com os respectivos alelos de resistência. No caso da mancha angular, também é viável o controle via resistência, embora sejam menos conhecidos o controle genético e as fontes de resistência.

O desenvolvimento de cultivares resistentes é viável porque existem vários genes independentes e em cada, um ou mais alelos que conferem resistência a várias raças (Pastor Corrales et al., 1994; Young & Kelly, 1996b). Um dos problemas para o uso da resistência contra os dois patógenos é a existência de um grande número de raças, reduzindo a vida útil de uma cultivar, com apenas um alelo de resistência. Esse fato já é conhecido no caso da antracnose, como ocorreu com a cultivar Carioca 80, portadora do alelo *Co-2*, que teve sua resistência vencida cerca de 4 anos após o início de seu uso como cultivar (Balardim & Pastor-Corrales, 1990). Um dos fatos que favorecem a redução da vida útil dos alelos de resistência vertical é o fato de eles conferirem resistência completa, exercendo uma grande pressão de seleção na população do patógeno e favorecendo a seleção de nova raça que o vença.

Uma alternativa para aumentar a vida útil dos alelos verticais de resistência de genes diferentes é a de construir uma pirâmide de alelos, ou seja, a combinação de vários alelos verticais de resistência de genes diferentes em uma única linhagem, estratégia considerada muito eficiente no controle de doenças (Michelmore, 1995; Kelly & Miklas, 1998).

Para a construção da pirâmide, uma dificuldade é a não disponibilidade de um conjunto de raças que permita identificar todos os alelos de resistência que venham a ser piramidados em uma única linhagem. Dependendo do número de alelos da pirâmide, algumas raças nem mesmo foram ainda identificadas, impossibilitando, assim, o conhecimento da constituição genética e a seleção da linhagem. Essa dificuldade pode ser contornada com o uso de marcadores moleculares de DNA, como o RAPD, SCAR, e microssatélites, os quais, quando intimamente ligados aos alelos de resistência, permitem selecionar as linhagens por meio dos marcadores, independentemente do número de alelos da pirâmide. Com esse procedimento elimina-se a necessidade de inoculação na avaliação e na seleção de plantas portadoras de alelos de resistência de um ou mais genes.

Vários alelos de resistência já foram identificados por marcadores, principalmente para antracnose (Castanheira et al., 1999; Alzate-Marin et al., 2001c). Um dos alelos mais importantes é o *Co-4²*, presente na cultivar G2333 (Young et al., 1998), por conferir resistência a todas as raças identificadas no Brasil (Rava et al., 1994; Thomazella et al., 2000; Sartorato, 2002). Além do *Co-4²*, a G2333 possui também os alelos *Co-5* e *Co-7* (Young et al., 1998). No entanto, um problema para o uso dessa fonte de resistência é o fato de ela não ser adaptada e possuir vários fenótipos desfavoráveis sob os pontos de vista agrônômico e comercial. Assim, é necessário o emprego do retrocruzamento para reduzir a frequência dos alelos desfavoráveis da linhagem doadora, mantendo os alelos de resistência.

Diante dessas considerações, os objetivos deste trabalho foram: identificar, entre linhagens oriundas de um programa de retrocruzamentos, linhagens com pirâmide de alelos de resistência à antracnose; identificar linhagens com diferentes alelos individuais de resistência; selecionar linhagens que reúnam, além da resistência à antracnose, alta produtividade, tipo de grão Carioca, resistência à mancha angular e porte ereto.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cultura do feijão no Brasil

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é um dos alimentos mais importantes para a maioria dos brasileiros por ser a principal fonte de proteína e de valor mais acessível. Devido a sua ampla adaptação, ele é cultivado e consumido em todo o país, sendo um dos componentes principais da dieta alimentar. Daí o seu destaque sob o ponto de vista econômico e principalmente social.

Apesar da cultura ter todos esses destaques, o consumo per capita de feijão no Brasil reduziu 22,4% nos últimos 25 anos. Uma das razões para essa redução é a instabilidade de oferta e preço, em consequência da baixa produtividade média nacional. Mesmo assim, o Brasil ainda é o maior produtor e consumidor mundial, considerando a espécie *Phaseolus vulgaris*. No entanto, a produção nacional nem sempre consegue atender a demanda do mercado interno a ponto de o país ser o segundo maior importador mundial. Países vizinhos, como a Argentina, têm incrementado a produção visando essencialmente a exportação para o Brasil (Santos & Braga, 1998).

Uma das causas da baixa produtividade da cultura e da instabilidade de oferta do produto é a ocorrência de várias doenças, principalmente porque a maioria das cultivares é suscetível. Entre as cultivares utilizadas no Brasil, a maioria corresponde àquelas com tipo de grão semelhante ao da cultivar Carioca, a qual é a mais preferida (Ramalho & Abreu, 1998). A cultivar Carioca tradicional, que foi uma das mais utilizadas, é suscetível à maioria dos patógenos importantes.

O Estado de Minas Gerais é responsável por cerca de 16% da produção nacional de feijão, sendo o segundo estado maior produtor do Brasil, com uma área plantada de aproximadamente 416.689 ha (IBGE, 2002). Entretanto, a

produtividade média da cultura neste estado está ao redor de 930 kg/ha.

2.2 Antracnose do feijoeiro

A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) Lams Scrib, é uma das doenças mais graves e economicamente importantes do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), afetando as cultivares suscetíveis em todo o mundo e estabelecendo-se preferencialmente em regiões de temperatura moderada a fria e com alta umidade ambiental, como as zonas temperadas e subtropicais (Chaves, 1980; Pastor-Corrales et al., 1995).

As perdas ocasionadas pela antracnose podem chegar a 100%, principalmente quando são empregadas sementes infectadas de cultivares suscetíveis. Além de diminuir o rendimento da cultura, a antracnose deprecia a qualidade do produto por ocasionar manchas no grão, tornando-o indesejável para o consumo (Chaves, 1980).

Essa doença possui distribuição ampla e já foi constatada em vários países da Europa, África, Austrália, Ásia e Américas. No Brasil, a antracnose é prevacente nos principais estados produtores (Rava et al., 1994), Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Goiás, Bahia e Pernambuco, sendo importante ainda nos estados do Espírito Santo, Alagoas, Sergipe e Paraíba.

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). O incremento da cultura irrigada em outras épocas do ano, como no período da “seca” e do “outono-inverno”, tem aumentado a quantidade de inóculo no campo, especialmente porque o feijão vem sendo plantado na mesma área de culturas anteriores e o patógeno sobrevive nos restos culturais. Além disso, o risco com a cultura é

agravado pelo fato de o patógeno ser transmitido pela semente e a maioria dos agricultores não adquirirem sementes sadias (Paula Jr. & Zambolim, 1998).

O fungo *C. lindemuthianum* (Sacc. e Magnus) Lams - Scrib., agente etiológico da antracnose, 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 *phaseoli* Kimati (Kimati & Galli, 1970), classificado dentro da divisão *Eumycota*, subdivisão *Ascomycotina*. Nessa fase, o aparecimento de novas raças, entre os diversos mecanismos, pode ser proporcionado pela recombinação sexual (Roca-Magallanes, 1997).

A infecção do feijoeiro comum pelo *C. lindemuthianun* pode provocar sintomas em toda a parte aérea da planta (Chaves, 1980). Surgem lesões de tamanhos variados em folhas, hastes, vagens e sementes. Quando a fonte da infecção é a semente, os primeiros sintomas são lesões necróticas nas folhas cotiledonares. As lesões foliares ocorrem principalmente nas nervuras principais, de cor vermelho-alaranjada à púrpura, tornando-se, posteriormente, de cor escura. A infecção pode também ocorrer na haste da folha, onde, em casos severos, enfraquece-a a tal ponto que a folha se dobra no sítio da lesão. 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 (Paula Jr. & Zambolim, 1998). Quando as condições ambientais são favoráveis, forma-se uma massa de esporos de coloração rosada no centro das lesões. Vagens novas chegam a murchar e secar se a infecção for severa. A partir das vagens, o fungo pode atingir os cotilédones e o tegumento da semente em desenvolvimento. As sementes infectadas apresentam-se frequentemente descoloridas e com lesões na forma de cancrios ligeiramente deprimidos (Mohan et al., 1989).

Diversas estratégias estão sendo estudadas no Brasil e em outros países,

procurando meios eficazes de combate à antracnose. O uso de sementes livres do patógeno é uma das práticas culturais mais importantes para o controle da doença. A rotação de culturas com plantas não hospedeiras por 2 a 3 anos com cereais, principalmente o milho, pode reduzir a quantidade de inóculo inicial de restos culturais infectados (Zaumeyer & Thomas, 1957). Pio-Ribeiro & Chaves (1975) sugeriram o uso de cultivares resistentes e o plantio de sementes saudáveis como métodos de controle mais eficientes da antracnose porque estes praticamente não oneram o custo de produção, além de contribuírem para evitar o controle químico, o que torna o feijão mais caro e causa os danos já conhecidos devido à poluição.

2.3 Variabilidade 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 (Rava et al., 1994; Sartorato, 2002).

A variabilidade patogênica do fungo na América Latina é maior do que a encontrada na África, Europa, Austrália, EUA e Canadá, sendo os isolados latino-americanos os mais virulentos (Pastor-Corrales, 1992a).

No Brasil, Kimati & Galli (1970) relataram a ocorrência das raças Alfa e Mexicano II e de uma nova raça, que poderia ser a raça Delta. Oliveira et al. (1973) relataram, pela primeira vez, as raças Gama, Mexicano 1 e Brasileiro 1, além de Alfa e Beta. Olari et al. (1973) detectaram, em Minas Gerais, as raças BA -1,2 (Alfa), BA -3 (Brasileiro II = Alfa), BA -4, 5 (Brasileiro 1) e BA -6, 7, 8 (Mexicano II). Menezes et al (1982) identificaram as raças Alfa, Delta, Epsilon, Lambda, Capa, Zeta, Eta, Teta e MU, utilizando materiais provenientes de 16 estados brasileiros.

Diante da utilização de diferentes conjuntos de cultivares diferenciadoras para a classificação das raças, decidiu-se, no *Primer Taller de Antracnose del Frijol en América Latina*, CIAT, Cali (1988), pela adoção universal de um conjunto de cultivares diferenciadores e uma nova metodologia para a nomenclatura de raças do patógeno da antracnose. Essa nova nomenclatura é baseada num “Sistema Binário”, usando 12 cultivares diferenciadoras de feijão (d_i), que são identificadas ordenadamente pelos números de 1 a 12. A designação de um dada raça é obtida pela soma dos valores numéricos (2^{di-1}) de cada cultivar diferenciadora que é suscetível a essa raça (Tabela 1).

TABELA 1. Cultivares diferenciadoras de *Phaseolus vulgaris*, utilizadas para a classificação de raças de *C. lindemuthianum* pelo sistema binário. (Pastor - Corrales, 1992b).

Cultivares Diferenciadoras	Valor Numérico (2^{di-1})
1. Michelite	1
2. Michigan Dark Red Kidney	2
3. Perry Marrow	4
4. Cornell 49242	8
5. Widusa	16
6. Kaboon	32
7. Mexico 222	64
8. PI 207262	128
9. TO	256
10. TU	512
11. AB 136	1024
12. G2333	2048

Utilizando esse procedimento de identificação, foram classificadas no Brasil, de 1994 a 2002 (Rava et al., 1994; Andrade et al., 1999; Thomazella et al., 2000; Sartorato, 2002), 48 raças diferentes (1, 7, 8, 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).

2.4 Melhoramento de feijão visando resistência à antracnose

O método de controle mais prático e econômico da antracnose é a utilização de cultivares resistentes e tem sido amplamente utilizado em diversos países. Há, no entanto, o problema da durabilidade de uma cultivar resistente, quando portadora de apenas um alelo de resistência. Um exemplo é o que ocorreu com uma das primeiras cultivares melhoradas resistentes, a Carioca 80, portadora do alelo *Are (Co-2)*, lançada em 1980 pelo Instituto Agrônomo de Campinas. Essa cultivar manteve-se resistente apenas por cerca de quatro anos, em várias regiões produtoras, quando nova raça patogênica foi selecionada pelo uso mais extensivo da mesma (Balardim & Pastor-Corrales, 1990). Provavelmente, cultivares com vários alelos de resistência de genes diferentes sejam mais duradouras (Kelly & Miklas, 1998). O entrave maior no uso dessa estratégia, se dá pela ampla variabilidade do patógeno. Propõe-se que seja realizado um monitoramento constante da variabilidade do patógeno *C. lindemuthianum*, tendo em vista que novas raças têm apresentado capacidade para vencer a resistência de cultivares do feijoeiro (Rava et al., 1994).

A maioria dos alelos de resistência à antracnose confere resistência a um grande número de raças e por isso dificulta a identificação de cultivares ou linhagens que são portadoras do mesmo. Para isso, seria necessário utilizar raças específicas para a identificação da presença desses alelos, em um dado genótipo

de feijão, as quais nem sempre são disponíveis.

Além disso, existe uma multiplicidade de símbolos para identificar os genes de resistência. Visando simplificar essa situação, Basset (1996) apresenta uma nova nomenclatura para designar os genes de resistência do feijoeiro usando o símbolo *Co* (de *Colletotrichum*). Foram denominados, até o momento, os seguintes alelos: *Co-1* (A), encontrado na cultivar andina Michigan Dark Red Kidney; *Co-2* (Are), encontrado nas diferentes cultivares mesoamericanas, como Cornell 49242; *Co-3* (Mex.I), encontrado na linhagem mesoamericana México 222; *Co-3*², um alelo alternativo para o loco *Co-3*, encontrado na linhagem mesoamericana México 227; *Co-4* (Mex.II), encontrado na cultivar diferenciadora TO; *Co-4*², um alelo alternativo para o loco *Co-4*, encontrado na cultivar G2333 e seleção 1308, identificado por Young et al. (1998); *Co-4*³, presente na linhagem PI 207.262, identificado por Alzate-Marin e colaboradores (2001a); *Co-5* (Mex.III), encontrado nas cultivares mesoamericanas TU, G2333 e seleção 1360; *Co-6*, identificado por Schwartz et al. (1982), encontrado na cultivar diferenciadora mesoamericana AB 136; *Co-7*, identificado por Pastor-Corrales et al. (1994), encontrado na cultivar diferenciadora G2333; *co-8*, alelo recessivo encontrado na cultivar AB 136, identificado por Alzate-Marin et al., 1996); *Co-9*, identificado por Geffroy et al. (1999), presente nas linhagens BAT-93 e PI 207.262 e o *Co-10*, presente na cultivar Ouro Negro (Honduras 35), identificado por Alzate-Marin et al. (2001b).

Como já mencionado, o controle da antracnose via resistência é amplamente viável, porque existem vários genes independentes no feijão e, em cada, um ou mais alelos que conferem resistência a várias raças (Rava et al., 1994; Geffroy et al., 2000; Alzate-Marin et al., 2002a; Alzate-Marin et al., 2002b), como pode ser observado na Tabela 2.

TABELA 2: Alelos de resistência à antracnose, número de raças a que cada alelo confere resistência e raças às quais cada alelo confere resistência.

Alelo de resistência	Número de raças ¹	Resistente às raças ¹
<i>Co-1</i>	29	1, 8, 64, 65, 69, 72, 73, 77, 81, 85, 89, 93, 96, 97, 101, 105, 109, 117, 121, 125, 137, 193, 217, 249, 320, 321, 337, 453, 585.
<i>Co-2</i>	27	1, 7, 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>	7	1, 7, 8, 23, 31, 55, 137.
<i>Co-3</i> ²	-	-
<i>Co-4</i>	42	1, 7, 8, 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-4</i> ²	48	1, 7, 8, 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-4</i> ³ e <i>Co-9</i> *	43*	1, 7, 8, 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, 320, 321, 337, 339, 343, 585.
<i>Co-5</i>	47	1, 7, 8, 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</i> e <i>co-8</i> **	48**	1, 7, 8, 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>	-	-
<i>Co-10</i>	17***	73, 79, 81, 89.

¹considerando as 48 raças identificadas no Brasil até 2002.

* e **Efeitos dos alelos *Co-4*³ e *Co-9*, presentes na cultivar PI 207.262 e *Co-6* e *co-8*, presentes na cultivar AB 136 considerados em conjunto, respectivamente.

***Segundo Alzate-Marin et al., 2001b.

Em função da pequena durabilidade das cultivares resistentes com apenas um alelo, uma alternativa para aumentar a vida útil dos alelos verticais de resistência de genes diferentes é a colocação dos mesmos em uma única cultivar, isto é, construir uma pirâmide de genes (Pedersen, 1988; Mundt, 1990; Mundt, 1991; Young & Kelly, 1996a.; Young & Kelly, 1996b; Young & Kelly, 1997).

Para a construção de uma pirâmide de alelos existem duas dificuldades principais: a primeira é conseguir vários alelos verticais de resistência e eficientes para o controle do patógeno, nas principais regiões produtoras. Para determinar quais alelos verticais 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. Especificamente, para o controle do *C. lindemuthianum*, em que os principais alelos conferem resistência a um grande número de raças, é então necessário um conjunto de raças diferenciadoras dos alelos em apreço para que eles possam ser identificados em um único genótipo. Como todas as raças não são disponíveis para serem usadas como diferenciadoras de genes e algumas nem foram identificadas, é impossível ter a certeza, de forma rápida, de que dois ou mais alelos ocorrem em um único genótipo, utilizando os procedimentos normais de genética por meio da inoculação (Young et al., 1998).

Uma possível alternativa para a solução desse problema é a marcação dos diferentes alelos com marcadores moleculares. Entre os marcadores moleculares viáveis de serem empregados no melhoramento de plantas, o RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) tem se mostrado um dos mais promissores, pela rapidez em se obterem os resultados, a simplicidade e o custo

relativamente acessível (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Uma vantagem adicional para o melhoramento do feijão, visando a construção de pirâmide de alelos para resistência a antracnose, é o fato de a maioria dos alelos de resistência mais importantes já estarem marcados e já haverem informações disponíveis dos *primers* que amplificam os marcadores (Tabela 3). Além disso, vários *primers* de RAPD já foram convertidos para PCR (Polymerase Chain Reaction), que é muito mais eficiente. Assim, tais marcadores, intimamente ligados aos alelos de resistência, podem ser utilizados para fazer a seleção indireta dos mesmos, para posteriormente serem piramidados numa só cultivar (Santos et al., 1996; Alzate-Marin et al., 2000; Awale & Kelly, 2001; Vallejo & Kelly, 2001; Miklas & Kelly, 2002; Vigo et al., 2002).

TABELA 3: Alelos de resistência à antracnose e alguns marcadores RAPD e SCAR ligados aos mesmos.

Alelo de resistência	Fonte	Origem	Marcador, tamanho e FR¹
<i>Co-1</i>	Michigan Dark Red Kidney	Andina	OF10 ₅₃₀ (1,9)
<i>Co-2</i>	Cornell 49242	Mesoamericana	OQ4 ₁₄₄₀ (2,0) B355 ₁₀₀₀ (5,4)
<i>Co-3</i>	Mexico 222	Mesoamericana	Sem relato
<i>Co-3²</i>	Mexico 227	Mesoamericana	Sem relato
<i>Co-4</i>	TO, P45	Mesoamericana	ANT-TO1 ₈₃₀ (0,0) OC08 ₁₀₅₉ (13,3)
<i>Co-4²</i>	G2333, Sel 1308	Mesoamericana	OAS13 ₉₅₀ (0,0)* SAS13* OL04 ₁₀₀₀ (0,0)
<i>Co-4³</i>	PI 207.262	Mesoamericana	OAS13 ₉₅₀ (3,5)
<i>Co-5</i>	G2333, TU, Sel 1360, Ouro, ESAL 696	Mesoamericana	OAB3 ₄₅₀ (5,9) OF10 ₉₁₂ (11,5)
<i>Co-6</i>	AB-136	Mesoamericana	OAH ₇₈₀ (5,9) OZ04 ₅₆₀ (2,8)
<i>Co-7</i>	G2333	Mesoamericana	Sem relato
<i>co-8</i>	AB-136	Mesoamericana	OAZ20 ₉₅₀ (2,2)
<i>Co-9</i>	BAT-93, PI 207.262	Mesoamericana	OB12 ₃₅₀ (2,9)* SB12* OAH18 ₁₁₀₀ (4,6)
<i>Co-10</i>	Ouro Negro	Mesoamericana	Sem relato

Marcador identificado pelo *primer* de RAPD ou SCAR*.

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

Cultivares melhoradas para a resistência à antracnose já representam uma das principais contribuições dos programas de melhoramento de feijoeiro (Pompeu, 1993).

O melhoramento assistido por marcadores, comparado aos métodos convencionais, oferece maior eficiência e rapidez, principalmente se forem utilizados marcadores genéticos estreitamente ligados e flanqueando o alelo de interesse, reduzindo o número dos exaustivos testes de patogenicidade e principalmente viabilizando a construção de pirâmides (Kelly & Miklas, 1998).

Na obtenção de novas cultivares resistentes à antracnose, outros fenótipos de interesse agrônômico também necessitam ser considerados. Entre eles estão o tipo de grãos aceitáveis pelo consumo, como aquele semelhante ao da cultivar Carioca, o hábito de crescimento preferencialmente arbustivo, a adaptação e a alta produtividade. Infelizmente, no entanto, as fontes de resistência em geral são linhagens ou cultivares mal adaptadas às condições ambientais da região e com vários fenótipos indesejáveis. Assim, as fontes de resistência devem ser cruzadas com a cultivar Carioca, ou outra linhagem semelhante de alto valor agrônômico, e também devem ser feitos alguns retrocruzamentos utilizando a Carioca ou outra linhagem superior como genitor recorrente.

2.4.1 Marcadores de DNA

Marcadores moleculares de DNA diferenciam dois ou mais indivíduos e são herdados geneticamente. Os distintos tipos de marcadores hoje disponíveis diferenciam-se pela tecnologia utilizada para revelar variabilidade no DNA. Os principais tipos de marcadores moleculares podem ser classificados em dois grupos, conforme a metodologia utilizada para identificá-los: hibridação ou amplificação de DNA.

Entre os identificados por hibridação estão os marcadores RFLP (“Restriction Fragment Length Polymorphism”) e minissatélites ou locos VNTR (“Variable Number of Tandem Repeats”). Já aqueles revelados por amplificação incluem os marcadores dos tipos (Milach, 1998) PCR (“Polymerase Chain Reaction”), RAPD (“Random Amplified Polymorphic DNA”), SCAR (“Sequence Characterized Amplified Regions”), Microssatélites ou SSR (“Single Sequence Repeat”) e AFLP (“Amplified Fragment Length Polymorphism”).

Os marcadores moleculares vêm sendo utilizados com diversas finalidades, como 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 mapa (“positional cloning” ou “map-based cloning”), e principalmente na identificação de alelos de efeitos principais e na seleção indireta dos indivíduos portadores dos mesmos (Painting, 1996).

Alguns dos marcadores rotineiramente utilizados nos programas de melhoramento são o PCR e sua variante RAPD.

A técnica PCR foi desenvolvida em 1984, por Kary Mullis (Mullis & Falloona, 1987), e consiste na amplificação *in vitro* de fragmentos de DNA, usando oligonucleotídeos iniciadores ou *primers* de seqüência conhecida e complementares às extremidades do segmento a ser amplificado, direcionando a síntese do DNA alvo, em ciclos repetidos (Mullis, 1990).

Cada ciclo de amplificação, na técnica de PCR, compreende três etapas: (1) desnaturação da molécula de DNA, com temperatura entre 91 e 94 °C, (2) pareamento (anelamento) dos *primers* às regiões complementares no DNA e (3) extensão dos *primers* pela DNA polimerase. Estas etapas são realizadas em um termociclador, que fornece as temperaturas e respectivos tempos adequados para desnaturação do DNA, o anelamento dos *primers* e a extensão do DNA em cada

ciclo de replicação, durante 25 a 40 ciclos (Passos-Bueno & Zatz, 1995).

A partir do PCR foram desenvolvidas outras classes de marcadores moleculares, como, por exemplo, a dos marcadores RAPD (Williams et al., 1990). Diferentemente do PCR, os marcadores moleculares do tipo RAPD utilizam um único *primer* de sequência arbitrária, usualmente de oito a dez nucleotídeos.

Os produtos de amplificação do RAPD são separados por eletroforese, sendo desconhecida a identidade das sequências amplificadas. Constituem-se de amostras de fragmentos de DNA da espécie utilizada, havendo a chance de reproduzir alguns milhares por espécie (Ramalho et al., 2001). Assim, existe a possibilidade de serem encontrados alguns próximos (ligados) ao alelo de interesse. Esses marcadores não requerem sondas ou preparação de filtro de hibridação para isolar bandas de DNA, requerem pequenas quantidades de DNA, menores custos e tempo na obtenção de resultados (Williams et al., 1990; Edwards et al., 1991; Afanador et al., 1993).

Vários autores contribuíram para desenvolver a teoria e as estratégias da seleção assistida por marcadores (MAS). O uso de marcadores moleculares em programas de introgressão via retrocruzamentos é talvez, hoje, a aplicação mais concreta da tecnologia dos marcadores moleculares no melhoramento de plantas (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Auxiliando os programas de melhoramento, os marcadores RAPD têm sido amplamente utilizados na identificação de polimorfismos e de alelos de resistência a doenças em feijoeiro (Kelly, 1995; Santos et al., 1996; Kelly & Miklas, 1998; Castanheira et al., 1999; Silva, 2000), alface (Paran & Michelmore, 1993) e tomate (Martin et al., 1991); na virulência e diversidade genética em *C. lindemuthianum* (Alzate-Marin et al., 1999); e na identificação de híbridos verdadeiros em feijoeiro (Alzate-Marin et al., 1996).

A eficiência da seleção assistida por marcadores moleculares do tipo

RAPD pode ser aumentada pelo uso simultâneo de marcadores em acoplamento e em repulsão, fortemente ligados e flanqueando o alelo de interesse. Se esse alelo for dominante, os marcadores RAPD em repulsão estarão presentes nos indivíduos homozigotos recessivos ou heterozigotos. (Alzate-Marin et al., 1997; Haley et al., 1994; Young & Kelly, 1997).

Os problemas iniciais de repetibilidade entre laboratórios, motivados pela sensibilidade do RAPD às condições da reação de amplificação, podem ser superados por meio da padronização da técnica e da utilização de bandas fortes, que são mais especificamente amplificadas pelo *primer* (Ferreira & Grattapaglia, 1998; Painting, 1996). Atualmente, é possível aumentar a repetibilidade de um marcador RAPD de interesse mais específico, transformando-o em um PCR, que é denominado SCAR (Melotto et al., 1996). Para isso, é necessário isolar o fragmento de RAPD de interesse, sequenciá-lo e construir um par de *primers* com cerca de 20-25 bases que amplificam o fragmento em apreço.

2.4.2 Melhoramento por retrocruzamentos

O método de retrocruzamento é usado para a transferência de um ou mais alelos de interesse de um genitor doador para um genitor recorrente, o qual normalmente é uma cultivar elite, bem adaptada e portadora de vários fenótipos agrônômicos e comerciais favoráveis, mas que não possui resistência (Fehr, 1987). O método permite manter as qualidades de uma boa cultivar, enquanto se adicionam fenótipos desejáveis, tais como a resistência a fatores de estresse ambiental ou qualidade nutricional de fontes de germoplasma domesticado ou não domesticado (Reyes-Valdés, 2000). O objetivo do retrocruzamento é recuperar os alelos do genitor recorrente, além daqueles que estão sendo transferidos do parental doador.

É oportuno mencionar uma crítica normalmente feita ao método de

retrocruzamento, que é considerado um método conservador (Fehr, 1987). Isso implica que uma linhagem selecionada com o emprego desse método será no máximo igual ao genitor recorrente já existente no início do programa, com exceção do alelo inserido. Portanto, argumenta-se que com o tempo gasto na realização dos retrocruzamentos, utilizando outros métodos, poderiam ser obtidas linhagens superiores ao genitor recorrente. Entretanto, é necessário lembrar que durante a realização dos retrocruzamentos há a possibilidade de substituição do genitor recorrente original por outra linhagem recém selecionada, reduzindo, assim, o caráter conservador do método. Além disso, o emprego de mais de um genitor recorrente contribui para aumentar a variabilidade das populações segregantes, possibilitando a seleção de recombinantes resistentes e também superiores aos recorrentes (Hagiwara, 2001).

No caso específico da fonte de resistência G2333, uma das cultivares usadas como diferenciadora na identificação das raças de *C. lindemuthianum*, ela já é uma pirâmide com três alelos dominantes de resistência de genes independentes, *Co-5*, *Co-4²* e *Co-7*, sendo que os dois primeiros já foram identificados por marcadores moleculares (Young & Kelly, 1997; Young et al., 1998; Castanheira, et al., 1999, Silva, 2000). Porém, esta é uma linhagem de hábito de crescimento IV, sensível ao fotoperíodo e com grãos vermelhos e brilhantes, portanto inaceitável para uso como cultivar no Brasil. Assim, um eficiente aproveitamento dessa fonte de resistência é por meio do seu cruzamento com genitores com bons fenótipos agronômicas, os quais devem ser empregados como genitores recorrentes, em um programa de retrocruzamento, a fim de transferir a pirâmide para plantas que sejam também superiores. Entre os genitores recorrentes, sempre que possível, devem ser utilizadas fontes de resistência a *P. griseola*, a fim de associar resistência aos dois patógenos mais importantes no Sul de Minas Gerais. Durante o programa de retrocruzamento,

devem ser selecionadas as plantas portadoras de dois e três alelos de resistência ao *C. lindemuthianum* e com resistência a *P. griseola*. A seleção deverá se basear na inoculação, no uso de marcadores e na seleção de plantas ou famílias resistentes na descendência dos retrocruzamentos, além da avaliação de fenótipos agronômicos e comerciais favoráveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFANADOR, L. K.; HALEY, S. D.; KELLY, J. D. Adoption of a “mini-prep” DNA extraction method for RAPD marker analysis in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Annual Reporter Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 36, p. 10-11, 1993.

ALZATE-MARIN, A. L.; ALMEIDA, K. S. de; BARROS, E. G. de; MOREIRA, M. A. Preliminary results of allelism studies for anthracnose resistance genes of common bean cultivar PI 207. 262. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 44, p. 113-114, 2001a.

ALZATE-MARIN, A. L.; ARRUDA, K. M.; BARROS, E. G. de.; MOREIRA, M. A. Allelism studies for anthracnose resistance genes of common bean cultivar Widusa. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 45, p. 110-111, 2002a.

ALZATE-MARIN, A. L.; BAIA, G. S.; PAULA JR., T. J.; CARVALHO, G. A. de; BARROS, E. G. de; MOREIRA, M. A. Inheritance of anthracnose resistance in common bean differential cultivar AB 136. **Plant Disease**, St. Paul, v. 81, n. 9, p. 996-998, Sept. 1997.

ALZATE-MARIN, A. L.; COSTA, M. R.; BARROS, E. G. de; MOREIRA, M. A. Characterization of the anthracnose resistance locus present in cultivar Ouro Negro (Honduras 35). **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 44, p. 115-116, 2001b.

ALZATE-MARIN, A. L.; MENARIM, H.; BAIA, G. S.; PAULA JR. , T. J.; SOUZA, K. A. de; COSTA, M. R.; BARROS, E. G. de; MOREIRA, M. A. Inheritance of anthracnose resistance in the common bean differential cultivar G2333 and identification of a new molecular marker linked to the *Co. 4²* gene. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 149, n. 5, p. 259-264, May 2001c.

ALZATE-MARIN, A. L.; MENARIM, H.; CARVALHO, G. A. de; BAÍA, G. S.; PAULA JR. , T. J.; BARROS, E. G. de; MOREIRA, M. A. Identificação de marcadores RAPD para resistência à antracnose do feijoeiro. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 5., 1996, Goiânia. **Resumos...** Goiânia: EMBRAPA/CNPAF, 1996. v. 1, p. 242-244.

ALZATE-MARIN, A. L.; MENARIM, H.; CARVALHO, G. A.; PAULA JR, T. J. de; BARROS, E. G. de; 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.

ALZATE-MARIN, A. L.; MENARIM, H.; CHAGAS, J. M.; BARROS, E. G. de; MOREIRA, M. A. Identification of a RAPD marker linked to the *Co-6* anthracnose resistance gene in common bean cultivar AB 136. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 23, n. 3, p. 633-637, Sept. 2000.

ALZATE-MARIN, A. L.; SILVA, M. G. de M.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. de. Validation of RAPD marker linked to *Co-4* anthracnose resistance alleles in common bean cultivar PI 207. 262. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 45, p. 114-115, 2002b.

ANDRADE, E. M.; COSTA, J. G. C.; RAVA, C. A. Variabilidade patogênica de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* de algumas regiões brasileiras. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 6., 1999, Salvador. **Anais...** Goiânia: EMBRAPA-CNPAP, 1999. p. 242-244.

AWALE, H.; KELLY, J. D. Development of SCAR markers linked to *Co. 4*² gene in common bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 44, p. 119-120, 2001.

BALARDIM, R. S.; PASTOR-CORRALES, M. A. Reação de germoplasma de *Phaseolus vulgaris* a nove raças de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 15, n. 3/4, p. 269-273, out./dez. 1990.

BASSET, M. J. List of genes - *Phaseolus vulgaris* L. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 39, p. 1-19, 1996.

CASTANHEIRA, A. L. M.; SANTOS, J. B. dos; FERREIRA, D. F.; MELO, L. C. Identification of common bean alleles resistant to anthracnose using RAPD. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 22, n. 4, p. 565-569, Dec. 1999.

CHAVES, G. La Antracnosis. In: SCHWARTZ, H. F.; GALVEZ, G. E. (Ed.). **Problemas de producción de frijol: enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticas de *Phaseolus vulgaris***. Cali: CIAT, 1980. p. 37-54.

EDWARDS, K. C.; JOHNSTONE, C.; THOMPSON, C. A. Simple and rapid method for preparation of plants genomic DNA for PCR analysis. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 19, n. 6, p. 1349, Mar. 1991.

FEHR, W. R. **Principles of cultivar development**. London: Macmillian, 1987. v. 1, 536 p.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. 3. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220 p.

GEFFROY, V.; SICARD, D.; OLIVEIRA, J.C.F. de; SÉVIGNAC, M.; COHEN, S.; GEPTS, P.; NEEMA, C.; LANGIN, T.; DRON, M. Identification of an ancestral resistance gene cluster involved in the coevolution process between *Phaseolus vulgaris* and its fungal pathogen *Colletotrichum lindemuthianum*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 12, n. 9, p. 774-784, 1999.

GEFFROY, V.; SÉVIGNAC, M.; OLIVEIRA, J. C. F. de; FOUILLOUX, G.; SKROCH, P.; THOQUET, P.; GEPTS, P.; LANGIN, T.; DRON, M. Inheritance of partial resistance against *Colletotrichum lindemuthianum* in *Phaseolus vulgaris* colocalization of quantitative trait loci with genes involved in specific resistance. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 13, n. 3, p. 287-296, Mar. 2000.

HAGIWARA, W. E. **Emprego de RAPD em programa de retrocruzamento em feijão**. 2001. 75 p. (Dissertação – Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

HALEY, S. D.; AFANADOR, L.; KELLY, J. D. Selection for monogenic pest resistance traits with coupling- and repulsion-phase RAPD markers. **Crop Science**, Madison, v. 34, n. 4, p. 1061-1066, July/Aug. 1994.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. 2002. Disponível em: <www.ibge.br>. Acesso em: 01/2003

KELLY, J. D. Use of random amplified polymorphic DNA markers in breeding for major gene resistance to plant pathogens. **HortScience**, Alexandria, v. 30, n. 3, p. 461-465, June 1995.

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.

KIMATI, H.; GALLI, F. *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. et 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.

MARTIN, G. B.; WILLIAMS, J. G. K.; TANKSLEY, S. D. Rapid identification of markers linked to a *Pseudomonas* resistance gene in tomato by using random primers and near-isogenic lines. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, v. 88, n. 6, p. 2336-2340, Mar. 1991.

MELOTTO, M.; AFANADOR, L.; KELLY, J. D. Development of a SCAR marker linked to the gene in common bean. **Genome**, Ottawa, v. 39, n. 6, p. 1216-1219, Dec. 1996.

MENEZES, J. R.; MOHAN, S. K.; BIANCHINI, A. Identificação de raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. e Magn.) Scrib. , no Estado do Paraná. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 1, 1982, Goiânia. **Anais...** Goiânia: EMBRAPA-CNPAP, 1982. p. 197-229. (EMBRAPA-CNPAP. Documentos, 1).

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

MIKLAS, P. N.; KELLY, J. D. The use of MAS to develop pinto bean germplasm possessing *Co-4²* gene for anthracnose resistance. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 45, p. 68-69, 2002.

MILACH, S. C. K. Principais tipos de marcadores moleculares e suas características. In: MILACH, S. C. K. **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: UFRGS, 1998. p. 17-28.

MOHAN, S. K.; BIANCHINI, A.; MENEZES, J. R. de. **Doenças do feijoeiro no Estado do Paraná: guia para identificação e controle**. 3. ed. Londrina: IAPAR, 1989. 56 p.

MULLIS, K. B. The unusual origin of the polymerase chain reaction. **Scientific American**, New York, v. 262, n. 4, p. 36-43, Apr. 1990.

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

MUNDT, C. C. Probability of mutation to multiple virulence and durability of

resistance gene pyramids. **Phytopathology**, St. Paul, v. 80, n. 3, p. 221-223, Mar. 1990.

MUNDT, C. C. Probability of mutation to multiple virulence and durability of resistance gene pyramids: further comments. **Phytopathology**, St. Paul, v. 81, n. 3, p. 240-242, Mar. 1991.

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

OLIVEIRA, E. A.; ANTUNES, I. F.; COSTA, J. G. C. **Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* identificadas no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina de 1968 a 1972**. Pelotas: IPEAS, 1973. 5 p.

PAINTING, K. **Measuring genetic variation using molecular markers**. International Plant genetic Resource. Roma: Brain Ford-Lloyd, 1996. 82 p.

PARAN, L.; 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, Sept. 1993.

PASSOS-BUENO, M. R.; ZATZ, M. A. A técnica de PCR e suas aplicações em doenças genéticas humanas. In: LARA, F. J. S. (Org.). **Hibridação de ácidos nucléicos**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1995. p. 72-98.

PASTOR-CORRALES, M. A. Recomendaciones y acuerdos del primer taller de la antracnosis en América Latina. In: PASTOR-CORRALES, M. A. (Ed.). **La antracnosis del frijol común, *Phaseolus vulgaris*, em América Latina**. Cali: CIAT, 1992b. p. 240-251. (Documento De Trabajo, 113).

PASTOR-CORRALES, M. A. Variación patogénica de *Colletotrichum lindemuthianum* el agente causal de la antracnosis del frijol y una propuesta para su estandarización. In: PASTOR-CORRALES, M. A. (Ed.). **La antracnosis del frijol común, *Phaseolus vulgaris*, em América Latina**. Cali: CIAT, 1992a. p. 212-239. (Documento De Trabajo, 113).

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.

PASTOR-CORRALES, M. P.; 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.

PAULA JR., T. J.; ZAMBORLIM, L. Doenças. 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.

PEDERSEN, W. L. Pyramiding major resistance genes for resistance to maintain residual effects. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 26, p 369-378, 1988.

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

POMPEU, A. S.; Feijao. In: FURLANI, A. M. C.; VIEGAS, G. P. (Ed). **O melhoramento de plantas no instituto agrônomo** Viçosa: UFV, 1993. 111-155p.

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. 167-173, jun. 1994.

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. dos.; PINTO, C. B. P. **Genética na agropecuária**. 6. ed. São Paulo: Globo, 2001. 550 p.

REYIES-VALDÉS, M. H. A model for marker-based selection in gene introgression breeding programs. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 1, p. 91-98, Jan./Feb. 2000.

ROCA-MAGALLANES, M. G. **Aspectos citológicos da variabilidade genética em *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld & Schrenck f. sp. *Phaseoli* (*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn) Scribner. 1997. 82 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.
- SANTOS, J. B. dos; CASTANHEIRA, A. L. M.; MELO, L. C. Emprego de marcadores RAPD na identificação de alelos de resistência a antracnose no feijão. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 6., 1996, Goiânia. **Resumos...** Goiânia: EMBRAPA/CNPAP, 1996. v. 1, p. 263-264.
- SANTOS, M. L. dos; BRAGA, M. J. Aspectos Econômicos. In: VIEIRA, C.; PAULA JR., T. J. de; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão - aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. Viçosa: Editora UFV, 1998. p. 19-53.
- SCHWARTZ, H. F.; PASTOR-CORRALES, M. A.; SINGH, S. P. New sources of resistance to anthracnose and angular leaf spot of beans (*Phaseolus vulgaris*). **Euphytica**, Wageningen, v. 31, n. 3, p. 741-754, Mar. 1982.
- SILVA, M. V. da. **Identificação de marcadores RAPD ligado ao alelo *Co-7* de resistência do feijão ao agente causal da antracnose**. 2000. 41 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- SMITH, G. M. **Botânica Criptogâmica**. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 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. 82-83, 2000.
- VALLEJO V.; KELLY, J. D. Development of a SCAR marker linked to *Co-9* locus in common bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 44, p. 121-122, 2001.
- VIEIRA, C. **Doenças e pragas do feijoeiro**. Viçosa: UFV, 1988. 231 p.

VIGO, B. M. de.; RODRIGUEZ, C.; PAÑEDA A.; GIRALDEZ, R.; FERREIRA, J. J. Development of a SCAR marker linked to Co-9 in common bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative** Fort Collins, v. 45, p. 116-117, 2002.

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 1996a.

YOUNG, R. A.; KELLY, J. D. Gene pyramiding using marker assisted selection for stable resistance to bean anthracnose. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 39, p. 57-58, 1996b.

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 and Applied genetics**, Berlin, v. 96, n. 1, p. 87-94, Jan. 1998.

ZAUMEYER, W. J.; THOMAS, H. R. **A monographic study of bean diseases and methods for their control**. Washington: USDA, 1957. 255p. (USDA. Technical Bulletin, 868).

WILLIAMS, J. G.; KUBELIK, A.; LIVAK, K. J.; RAFALSKI, A.; TINGEY, S. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are use useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 18, n. 22, p. 6531-6535, Nov. 1990.

CAPÍTULO 1

CONSTITUIÇÃO GENÉTICA DE LINHAGENS DE FEIJÃO QUANTO A RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE

CONSTITUIÇÃO GENÉTICA DE LINHAGENS DE FEIJÃO QUANTO A RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE

RESUMO

O uso de cultivares de feijão com resistência à antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) é um dos meios de controle mais efetivo dessa doença. Em função da pequena durabilidade das cultivares com apenas um alelo de resistência, uma alternativa para aumentar a vida útil dos alelos verticais de resistência de genes diferentes é a colocação dos mesmos em uma única cultivar, isto é, construir uma pirâmide de alelos de resistência. Sendo assim, os objetivos desse trabalho foram identificar a constituição genética de linhagens quanto aos alelos de resistência à antracnose para a seleção de linhagens com pirâmide de alelos de resistência e também portadoras apenas do alelo *Co-7*. Foram utilizadas 256 linhagens obtidas do programa de retrocruzamentos entre o genitor doador G2333, portador de três alelos de resistência à antracnose (*Co-4²*, *Co-5* e *Co-7*), e os genitores recorrentes ESAL 696 e CI140, que possuem boas características agronômicas. Essas linhagens foram inoculadas com três raças (2047, 1545 e 73) do patógeno. Para verificar a presença de pirâmide de alelos de resistência à antracnose em linhagens que possuem o *Co-4²*, foram utilizados dois marcadores RAPD ligados ao alelo *Co-5*, amplificados pelos *primers* OPF 10 e OPAB 03. A pirâmide envolvendo o *Co-5* e o *Co-7* foi identificada por meio das inoculações. Foram identificadas 29 linhagens resistentes à raça 2047, devido à presença do alelo *Co-4²*. Nessas linhagens não foi possível verificar a presença do alelo *Co-7*. Por meio da análise RAPD em 15 dessas linhagens, selecionadas com base em características agronômicas, foi verificado que todas são portadoras também do alelo *Co-5*, portanto possuindo uma pirâmide com pelo menos dois alelos de resistência à antracnose (*Co-4²* e *Co-5*). Com os resultados das inoculações com as raças 1545 e 73, nas linhagens que não possuem o *Co-4²*, foram identificadas linhagens sem nenhum alelo de resistência, com o alelo *Co-5* somente, com o alelo *Co-7* somente e também linhagens com a pirâmide *Co-5* e *Co-7*. As linhagens com pirâmide de alelos de resistência à antracnose podem ser utilizadas como novas cultivares de feijão caso tenham características agronômicas desejáveis, e as demais linhagens resistentes à antracnose podem ser utilizadas com outras finalidades no melhoramento de plantas, como na realização de novos cruzamentos e na identificação de marcadores moleculares ligados ao alelo *Co-7*.

*Orientador: João Bosco dos Santos - UFLA

GENETIC CONSTITUTIONS OF COMMOM BEAN LINES FOR THE RESISTANCE TO ANTHRACNOSE

ABSTRACT

Commom bean cultivars resistant to anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) is one of the most effective way to control this disease. Due to the shorter life of cultivars with only one resistant allele, an alternative for increasing the resistant life of the vertical alleles is to build a pyramid of different genes. The objectives of this research were to identify the genotypes of lines for anthracnose resistance, aiming to select a pyramid of genes and also to identify lines carrying only the *Co-7* allele. Two hundred and fifty six lines selected from a backcross between the donor parent G2333 line, carrying three resistant alleles (*Co-4²*, *Co-5* and *Co-7*) and the recurrent parents ESAL 696 and CI140, which have improved agronomic phenotypes were evaluated. The lines were inoculated with three pathogen races (2047, 1545 and 73). Among the lines carrying the *Co-4²* allele, those with a pyramid were identified through the RAPD markers of the *Co-5* allele, amplified by the *primers* OPF 10 and OPAB 03. Twenty nine lines were resistant to 2047 race, due to the *Co-4²* allele. In these lines the *Co-7* allele was not identified because it has not been marked yet. Fifteen out of these 29 lines were also carrying the *Co-5* allele, therefore they are a pyramid with at least two resistant alleles (*Co-4²* and *Co-5*). Lines without the *Co-4²* allele, when inoculated with the 1545 and 73 races, allowed to identify susceptibles lines, some with the *Co-5* allele, others with the *Co-7* allele and still others with a pyramid of *Co-5* and *Co-7* alleles. These pyramids were identified by inoculations. The pyramid lines with improved phenotypes for the other agronomic traits may become new cultivars. Lines with known genotypes for the anthracnose resistance can be used in breeding programs to identify molecular markers linked to the *Co-7* allele.

*Major Professor: João Bosco dos Santos - UFLA

1 INTRODUÇÃO

O uso de cultivares de feijão com resistência é um dos meios de controle mais eficientes contra a antracnose, principalmente por não onerar o custo de produção, além de contribuir para evitar o controle químico, que causa grandes danos ao meio ambiente.

Existem vários genes independentes e, em cada, um ou mais alelos que conferem resistência a várias raças (Pastor-Corrales et al., 1994; Young & Kelly, 1996), o que torna possível o desenvolvimento de cultivares resistentes com dois ou mais alelos de genes diferentes, isto é, uma pirâmide de alelos. Essa é considerada uma alternativa eficiente para aumentar a vida útil dos alelos de resistência, os quais protegem as cultivares por poucos anos quando utilizados isoladamente, como ocorreu com a cultivar Carioca 80, portadora do alelo *Co-2* (Balardim & Pastor-Corrales, 1990; Kelly & Miklas, 1998).

Para a construção da pirâmide, uma dificuldade é a não disponibilidade de um conjunto de raças que permita identificar todos os alelos de resistência que venham a ser piramidados em uma única linhagem. Dependendo do número de alelos da pirâmide, algumas raças nem mesmo foram ainda identificadas, impossibilitando, assim, o conhecimento da constituição genética e a seleção da linhagem. Essa dificuldade pode ser contornada com o uso de marcadores moleculares de DNA como o RAPD, os quais, quando intimamente ligados aos alelos de resistência, permitem selecionar as linhagens por meio dos marcadores, independentemente do número de alelos da pirâmide, eliminando a necessidade de inoculação. Vários alelos de resistência já foram identificados por marcadores (Castanheira et al., 1999; Silva, 2000). Um dos alelos mais importantes é o *Co-4²*, presente na cultivar G2333 (Young et al., 1998), por conferir resistência a todas as raças identificadas no Brasil (Rava et al., 1994). A cultivar G2333 possui, além do *Co-4²*, mais dois alelos de resistência, o *Co-7* e

o *Co-5* (Young et al., 1998).

Apesar da grande quantidade de informações na literatura sobre os diferentes alelos de resistência, estas são escassas com relação ao *Co-7*. Uma das causas dessa escassez de informações é o fato de esse alelo ter sido originalmente identificado na cultivar G2333, juntamente com o *Co-4*², o qual confere resistência a um número muito grande de raças e praticamente encobre o seu efeito (Pastor-Corrales et al., 1994).

Embora a cultivar G2333 não seja adaptada e seja portadora de vários fenótipos indesejáveis, um eficiente aproveitamento dos alelos de resistência nela presentes pode ser conseguido através do seu cruzamento com genitores agronomicamente superiores, os quais devem ser utilizados como recorrentes em um programa de retrocruzamento.

Diante dessas considerações, os objetivos desse trabalho foram:
1- Identificar linhagens portadoras de pirâmide de alelos de resistência à antracnose, presentes na cultivar G2333; 2- Identificar linhagens portadoras apenas do alelo *Co-7*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Departamento de Biologia da UFLA. A extração de DNA e a análise de RAPD foram realizadas no Laboratório de Genética Molecular (DBI - UFLA). O preparo do inóculo e as inoculações com *C. lindemuthianum* foram realizados no Laboratório de Resistência a Doenças (DBI - UFLA).

2.1 Material

Foram utilizadas 256 linhagens, oriundas de um programa de retrocruzamentos visando a transferência da pirâmide de alelos de resistência à antracnose presente na linhagem G2333 para linhagens adaptadas e com grãos do tipo Carioca, sendo 15 de uma família segregante F_5 do primeiro retrocruzamento [(G2333 X ESAL696) X ESAL696] e 241 de três famílias segregantes F_3 do segundo retrocruzamento {[(G2333 X ESAL696) X ESAL696] X CI140}.

O G2333 é uma linhagem mexicana com vários fenótipos desfavoráveis, como hábito de crescimento IV, grãos vermelhos e sensibilidade ao fotoperíodo, porém essa linhagem é portadora de uma pirâmide de alelos ($Co-4^2$, $Co-5$ e $Co-7$) que confere resistência a todas as raças de *C. lindemuthianum* que ocorrem no Brasil. A linhagem ESAL696 possui alguns fenótipos favoráveis como hábito de crescimento tipo II, grãos semelhantes ao da cultivar Carioca, resistência a *P. griseola* (agente causal da mancha angular) e é portadora do alelo $Co-5$ de resistência ao *C. lindemuthianum* (agente causal da antracnose). Já a linhagem CI140 é proveniente de um programa de seleção recorrente da UFLA e se destaca pelo excelente tipo de grão, semelhante ao da cultivar Carioca.

2.2 Identificação das linhagens com diferentes alelos de resistência à antracnose

As 256 linhagens podem possuir um, dois ou três alelos de resistência (*Co-5*, *Co-4²* e *Co-7*), presentes no genitor doador G2333. Para identificar a constituição genética das linhagens quanto à presença dos alelos de resistência, foram realizadas inoculações com três raças diferentes (2047, 1545 e 73) de *C. lindemuthianum* (Figura 1).

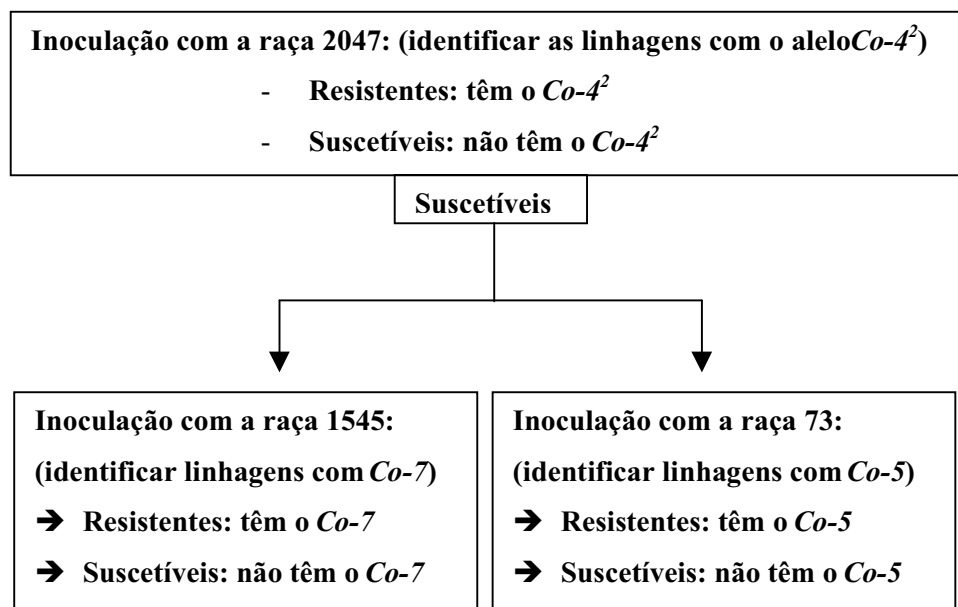


FIGURA 1: Esquema de inoculações para identificação da constituição genética das linhagens quanto aos alelos de resistência à antracnose.

As raças de *C. lindemuthianum* utilizadas para inoculações foram provenientes de culturas monospóricas. Elas foram repicadas 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 foram preparadas suspenções de esporos de cada raça, contendo cerca de $1,2 \times 10^6$ conídios por mililitro.

Para avaliar a reação de cada raça adotou-se o seguinte procedimento: As linhagens foram semeadas em bandejas de isopor contendo substrato plantimax, sendo utilizadas 10 sementes de cada uma; A inoculação foi realizada cerca de dez dias após a semeadura, quando as plantas apresentaram as folhas primárias abertas, pulverizando a suspensão de esporos sobre as duas faces das folhas e caule das plantas; Após a inoculação, as plantas foram mantidas sob condições de 100% de umidade relativa do ar e temperatura de 20°C por três dias, em câmaras com 12 horas de luz alternadas por 12 horas de escuro. A severidade da doença foi avaliada por meio de um diagrama de notas de 1 a 9 (Rava et al., 1994). As linhagens que receberam nota até 3,6 foram consideradas resistentes e as demais, suscetíveis.

Inicialmente as linhagens foram inoculadas com a raça 2047. Todas as linhagens consideradas suscetíveis a essa raça foram inoculadas e avaliadas outras duas vezes, uma com a raça 1545 e outra com a raça 73 (Figura 1).

2.3 Identificação de linhagens com pirâmide de alelos de resistência

Para verificar a presença de pirâmide de alelos de resistência à antracnose nas linhagens que possuem o alelo *Co-4*², descendentes do segundo retrocruzamento, foram utilizados dois marcadores RAPD, ligados ao alelo *Co-5* e amplificados pelos *primers* OPF10 (Castanheira et al., 1999) e OPAB 03 (Young & Kelly, 1997). No caso das linhagens descendentes da família do primeiro retrocruzamento, não foi necessário verificar a presença do alelo *Co-5* em razão de ele estar fixado, porque tanto o genitor doador quanto o recorrente ESAL 696 são portadores do mesmo.

A pirâmide envolvendo o *Co-5* e o *Co-7* foi identificada por meio de

inoculações com as raças 73, 1545 e 2047.

2.3.1 Extração de DNA

De cada linhagem foram coletadas cerca de 2g de folhas jovens para a extração de DNA, utilizando-se um procedimento modificado de Rogers & Bendich (1988). As folhas foram maceradas com areia esterilizada, juntamente com 10 ml de um tampão de extração pré-aquecido a 65 °C (0,2g de brometo de cetiltrimetil-amônio; 1ml de Tris 1M, 0,4ml de EDTA 0,5M, 0,82g de NaCl, 0,1g de polivinilpirrolidona 40.000, 8,6ml de água pura) e 20 µl de 2-β-mercaptoetanol. Em seguida, o macerado foi mantido em banho-maria a 65 °C por 30-40 minutos, agitando-se 3 a 4 vezes. Após, foram adicionados 10 ml da solução 24 clorofórmio: 1 álcool isoamil e o material foi centrifugado durante 10 minutos na velocidade de 5.000 rpm. O sobrenadante foi coletado, misturado com 30 ml da solução 6 álcool 95⁰ : 1 acetato de amônio 7,5M e mantido no freezer por cerca de uma noite. Em seguida, foi coletado o DNA e foram adicionados de 200 – 300 µl da solução Tris 1mM e EDTA 0,1mM, pH 8,0 (TE). Após o DNA ter se dissolvido, foi feita uma segunda extração com clorofórmio/álcool isoamil. O sobrenadante foi coletado, adicionado o triplo do seu volume com a solução 20 álcool 95⁰: 1 acetato de sódio 3M e mantido no freezer por pelo menos uma hora, ou até ocorrer a precipitação do DNA. A solução de álcool-acetato foi eliminada e o DNA, dissolvido em 200 - 300 µl de TE. A operação seguinte consistiu em quantificar a concentração do DNA em fluorímetro (Hofer Scientific). Para isso foram usados 2 µl da solução de DNA em 2 ml de tampão (Tris 10mM, EDTA 1,0mM, NaCl 0,1M, pH 7,4), juntamente com 0,1 µg/ml do corante H32258. Após, o DNA foi diluído com TE para a concentração de 10ng/µl, que foi usada nas análises RAPD.

2.3.2 Análise RAPD

Cada reação RAPD foi realizada misturando-se os seguintes ingredientes com as respectivas concentrações (Nienhuis et al., 1995): 200 μ M DNTP's, 0,6 unidades de Taq DNA polimerase, 0,4 μ M de *primer*, tampão de reação (50mM Tris, 2,00mM MgCl₂, 20mM KCl, 250 μ g/ml de albumina de soro bovino, 1% de ficoll 400, 1mM de tartrazine), 20ng do DNA genômico e água pura até o volume final de 10 μ l. O DNTP corresponde a uma mistura equitativa de ATP, GTP, CTP e TTP. Os *primers* de 10 nucleotídeos são o OPF 10 (Castanheira et al., 1999), que amplifica uma banda de cerca de 912 pares de bases, que se recombina a 11,5 % do alelo *Co-5* e o OPAB 03 (Young & Kelly, 1997), que amplifica uma banda de 450pb, recombina-se a 5,9% do alelo.

As reações de amplificação foram realizadas num termociclador refrigerado a ar (Idaho Technology) com o *primer* OPF 10 e em um termociclador Eppendorf com o *primer* OPAB 03. Em cada termociclador foram utilizados os programas de amplificação recomendados pelos fabricantes.

Os fragmentos de DNA amplificados foram separados em gel de agarose a 1,0% em tampão TBE (Tris, ácido Bórico e EDTA) e em uma corrente de 40-50V. Os fragmentos de DNA foram corados com brometo de etídio (0,5 μ g/ml) por 30-50 minutos e foi retirado o excesso de corante por 15-30 minutos com água destilada, sob agitação. O gel foi fotografado em luz ultravioleta com filme polaróide 667.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No melhoramento do feijoeiro visando a resistência vertical à antracnose, a estratégia mais recomendada é o uso de uma pirâmide de alelos de resistência (Kelly & Miklas, 1998; Alzate-Marin et al., 1999). No presente trabalho, um dos objetivos foi a transferência da pirâmide presente no genitor doador G2333, constituída pelos alelos *Co-4²*, *Co-5* e *Co-7*, aos quais procurou-se associar alelos para fenótipos agronômicos em vários caracteres por meio de um programa de retrocruzamento (Hagiwara, 2001). Assim, uma informação necessária é conhecer a constituição genética das linhagens em relação aos alelos de resistência, uma vez que eles se recombinaram durante os retrocruzamentos e a condução das populações segregantes.

Com os resultados das três inoculações e da análise RAPD, foi possível identificar linhagens com diferentes combinações dos alelos de resistência, como apresentadas na Tabela 1.

TABELA 1: Combinações alélicas identificadas nas linhagens por meio de inoculações e marcador RAPD do alelo *Co-5*.

Alelos de resistência	Reação às raças			RAPD (<i>Co-5</i>)
	2047	1545	73	
<i>Co-4²</i> , <i>Co-5</i> , <i>Co-7</i> *	R	-	-	Banda presente
<i>Co-4²</i> , <i>Co-7</i> *	R	-	-	Banda ausente
<i>Co-5</i> , <i>Co-7</i>	S	R	R	-
<i>Co-5</i>	S	S	R	-
<i>Co-7</i>	S	R	S	-
Nenhum	S	S	S	-

*Não foi possível identificar se essas linhagens possuem ou não o alelo *Co-7*.
R= Resistente; S= Suscetível; - não utilizada.

Em relação às três raças utilizadas para identificar a constituição genética das linhagens, é necessário mencionar o procedimento binário de identificação de raças de *C. lindemuthianum*, recomendado pelo CIAT (Pastor-Corrales, 1992). De acordo com esse procedimento, o nome (número) de cada raça é dado pela expressão $\sum_i(2^{d_i-1})$, em que d_i é o número de ordem da diferenciadora vencida pela raça em apreço. As diferenciadoras são usadas em uma ordem fixa e crescente de 1 a 12 (Pastor-Corrales, 1992). Portanto, a raça 2047 corresponde ao $\sum_i(2^{d_i-1})$, em que somente a última diferenciadora é resistente, ou seja: $2047 = 2^0 + 2^1 + 2^2 + 2^3 + 2^4 + 2^5 + 2^6 + 2^7 + 2^8 + 2^9 + 2^{10}$.

Considerando a teoria gene-a-gene de Flor (1971) que explica a base genética da interação patógeno x hospedeiro, quando a resistência é vertical (Vanderplank, 1968), para cada alelo de resistência no hospedeiro existe um correspondente de avirulência no patógeno (de Wit, 1997). Assim, a raça 2047 somente não vence o alelo de resistência $Co-4^2$ que pode ser identificado por $2^{11} = 2048$. No entanto, esse alelo deve ser vencido por uma raça igual ou superior a 2048 as quais felizmente ainda não foram identificadas no Brasil. Consequentemente, as linhagens resistentes à raça 2047 são portadoras do alelo $Co-4^2$ e não se pode, por meio de inoculações, verificar se elas também possuem os alelos $Co-5$ e $Co-7$, provenientes do genitor doador G2333.

Entre as 256 linhagens avaliadas, 29 são portadoras do alelo $Co-4^2$ (Tabela 2). Dessas, 15 foram selecionadas com base em outros atributos, principalmente o tipo de grãos semelhante ao Carioca, que é o preferido pelo consumidor. Entre essas 15 linhagens, uma é descendente do retrocruzamento 1 e, portanto, também possui o alelo $Co-5$, já que o genitor recorrente nesse retrocruzamento foi o ESAL 696, que também possui esse alelo. Já as outras 14 são descendentes do retrocruzamento 2, portanto podem ser ou não portadoras do alelo $Co-5$, o qual não está presente no segundo genitor recorrente, CI 140. O meio mais rápido de verificar a presença desse alelo nessas linhagens é por

TABELA 2: Número de linhagens identificadas com cada combinação de alelos.

Combinações alélicas	Nº de linhagens
<i>Co-4², Co-5, Co-7*</i>	15
<i>Co-4², Co-7*</i>	14 ^a
<i>Co-7, Co-5</i>	50
<i>Co-7, Co-5(?)</i>	27 ^b
<i>Co-7</i>	20
<i>Co-5</i>	55
<i>Co-5 (?)</i>	56 ^c
Nenhum	19

*Não foi possível verificar a presença do *Co-7*.

^aLinhagens não submetidas à reação de RAPD.

^bNão inoculadas com a raça 73 (27 linhagens podem possuir também o *Co-5*).

^cNão inoculadas com a raça 73 (56 linhagens podem ter *Co-5*).

meio dos marcadores RAPD amplificados pelos *primers* OPF 10 (Castanheira et al., 1999) e OPAB 03 (Young & Kelly, 1997).

Observa-se, na Figura 2A, que 16 linhagens apresentaram a banda de 912 pb que identifica a presença do alelo *Co-5*, entre elas estão as 15 selecionadas (2 a 16). Esse alelo marcado é proveniente do genitor ESAL 696, o primeiro recorrente, o qual é portador do marcador (Figura 2B). É interessante notar que o genitor doador, embora também seja portador do alelo *Co-5*, está desprovido do marcador (Figura 2A e 2B), o qual provavelmente se separou quando da obtenção do G2333, uma vez que esse marcador se recombina a uma frequência de 11,5%. Assim, esperavam-se linhagens sem o marcador e ainda portadoras do *Co-5* proveniente do G2333. Entretanto, o emprego da linhagem ESAL 696 no cruzamento com a doadora e também no primeiro retrocruzamento, e principalmente o fato de essas linhagens terem sido

selecionadas dentro de apenas três famílias, aumentaram a chance de ocorrer o presente resultado. Infere-se, portanto, que todas as 15 linhagens selecionadas são pirâmides de alelos de resistência com o *Co-4*² e *Co-5*. É necessário mencionar que o alelo *Co-7* também pode estar presente em algumas dessas linhagens, apenas não foi possível identificá-lo porque o mesmo ainda não foi marcado (Tabela 1). Vale lembrar ainda que dada a frequência de recombinação do marcador em relação ao *Co-5*, há a possibilidade de algumas linhagens com o marcador terem perdido esse alelo de resistência.

É importante mencionar que foram estimados 1.107 pb para o fragmento de DNA marcador do alelo *Co-5* (Figura 2A), utilizando-se o marcador de fragmentos de DNA de 1Kb da Promega. Esse tamanho do

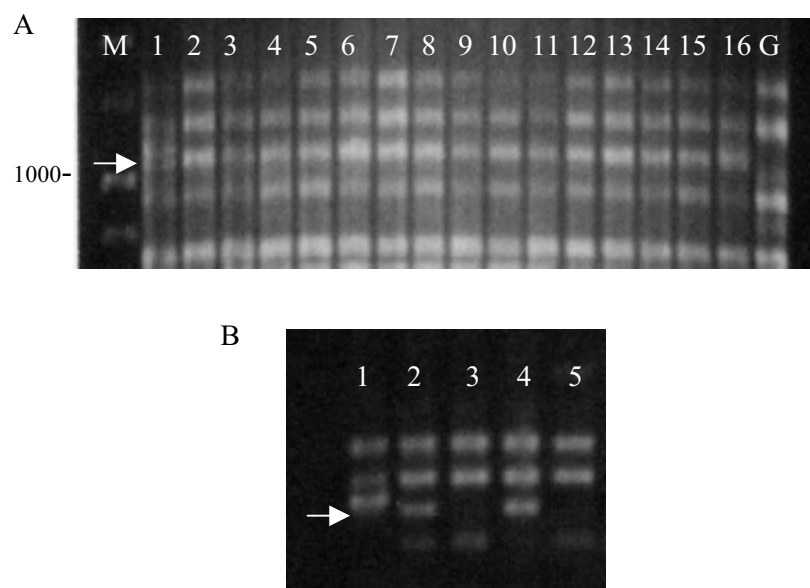


FIGURA 2: Padrão de bandas RAPD com o *primer* OPF-10, uma das quais é um segmento de DNA de 912pb situado a 11,5 cM do alelo *Co-5* (seta). **A:** M- marcador de 1000pb; 1- linhagem sem o alelo *Co-4*², 2 a 16- linhagens com *Co-4*², G- ‘G2333’; **B:** 1- ‘P24’, 2- ‘Ouro’, 3- ‘Carioca 300V’, 4- ‘ESAL 696’, 5- ‘G2333’; 2, 4 e 5 são portadoras do alelo *Co-5*.

marcador discorda do relatado por Castanheira et al. (1999), os quais utilizaram como referência de tamanho de fragmentos o DNA lambda cortado pela enzima *Eco RI*. Portanto, a diferença de 195 pb pode ser devida a erro na estimativa daqueles autores ou a diferenças dos dois padrões. É necessário frisar, contudo, que o marcador identificado no presente trabalho é o mesmo obtido por Castanheira et al. (1999), como mostra o padrão de fragmentos do genitor doador G2333 nas Figuras 2A e 2B.

Uma confirmação dos resultados obtidos com o *primer* OPF 10 foi a identificação do alelo *Co-5* também com o marcador RAPD OPAB 03, que amplifica um segmento de DNA de 450pb (Young & Kelly, 1997). Observe-se, na Figura 3, que esse marcador foi claramente amplificado nas 15 linhagens selecionadas (2 a 16). Foram estimados 447pb para esse fragmento, praticamente o mesmo valor obtido pelos pesquisadores. Note que ele também se expressou na G2333, como esperado, e na cultivar Ouro, que também é portadora do alelo *Co-5* (Castanheira et al., 1999).

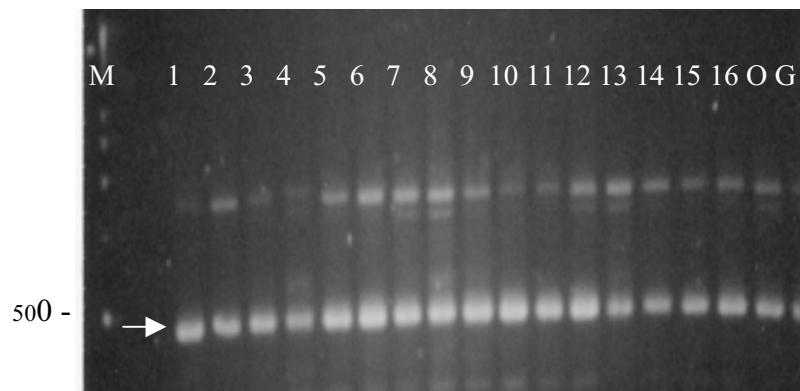


FIGURA 3: Padrão de bandas RAPD com o *primer* OPAB 03, uma das quais é um segmento de DNA com 450pb, situado a 5,9cM do alelo *Co-5* (seta); M- marcador de 500pb; 1- linhagem sem o alelo *Co-4*², 2 a 16- linhagens com *Co-4*², O- 'Ouro' e G- 'G2333'.

Segundo Young & colaboradores (1998), a resistência às raças 1545 e 521, em populações derivadas do cruzamento da G2333 com uma cultivar completamente suscetível à antracnose, é controlada por dois genes. Como essas raças vencem o alelo *Co-5*, fica claro que os alelos que conferem resistência a essas raças nesse cruzamento são o *Co-4²* e *Co-7*. A resistência conferida pelo alelo *Co-5* é vencida pelas raças que têm o valor $2^9 = 512$ na sua constituição, portadoras do alelo de virulência de mesmo número (Robinson, 1987). Portanto, com a raça 1545 ($2^{10} + 2^9 + 2^3 + 2^0$) utilizada na inoculação das linhagens suscetíveis à raça 2047, foi possível identificar as portadoras e não portadoras do alelo *Co-7* porque essa raça vence a resistência conferida pelo alelo *Co-5* e não vence a conferida pelo *Co-7*.

Alzate-Marin et al. (2001), trabalhando com progênies derivadas de um cruzamento de uma cultivar completamente suscetível à antracnose com a G2333, obtiveram resultados que indicam que a resistência às raças 73 e 89 é controlada por dois genes. Como já se conhece que os alelos *Co-4²* e *Co-5* conferem resistência a essas raças, infere-se que o alelo *Co-7* teve a resistência vencida pelas mesmas. Portanto, quando inocularam-se linhagens não portadoras do alelo *Co-4²*, com a raça 73, foram identificadas as linhagens resistentes devidas ao alelo *Co-5* e linhagens suscetíveis que não têm o *Co-5*.

Comparando os resultados das inoculações com as raças 73 e 1545 (Tabela 1), foram identificadas 50 linhagens com a pirâmide *Co-5* e *Co-7*, 55 somente com o *Co-5*, 47 com o *Co-7* e 75 sem alelos de resistência.

Porém, quando foi utilizada a raça 73 na inoculação das linhagens não portadoras do *Co-4²*, somente foi possível avaliar 144 linhagens (Tabela 3). Portanto, das 47 linhagens portadoras do *Co-7*, 27 podem também ser portadoras do *Co-5*, e das 75 aparentemente sem nenhum alelo de resistência, há a possibilidade de 56 apresentarem o *Co-5*. Então, foram identificadas apenas 20 linhagens com apenas o *Co-7* e 19 completamente suscetíveis (Tabela 2).

TABELA 3: Número de linhagens inoculadas com as raças 73, 1545 e 2047 e respectivas reações.

Raças	Nº de linhagens		
	Inoculadas	Resistentes	Suscetíveis
2047	256	29	227
1545	227	97	130
73	144	104	40

Segundo os resultados de Alzate-Marin et al. (2001), a resistência devida ao alelo *Co-7* é vencida por raças que possuem o alelo de virulência 64 (2^8) na sua constituição. Portanto, tal alelo pode ser o mesmo presente na cultivar diferenciadora México 222 (Pastor-Corrales, 1992). É necessário conhecer melhor esse alelo por meio de um teste de alélismo, cruzando-se uma das linhagens portadoras apenas desse alelo com a cultivar diferenciadora México 222. Utilizando-se também uma das linhagens que possuem apenas o *Co-7*, é importante identificá-lo por meio de um marcador, o qual permitirá verificar sua presença nas linhagens pirâmide com outros alelos.

Portanto, ficaram definidas as constituições genéticas de 173 linhagens, sendo 15 com uma pirâmide de dois ou três alelos de resistência, entre os quais está o *Co-4*². Essas linhagens são as mais promissoras para o controle da doença, principalmente pela presença do *Co-4*². Outras 50 linhagens possuem a pirâmide de dois alelos, *Co-5* e *Co-7* e também podem ser úteis caso possuam fenótipos favoráveis em caracteres agronômicos.

As constituições genéticas das linhagens quanto aos alelos de resistência dos três genes estão relacionadas na Tabela 4. A grande maioria dessas linhagens possui grãos semelhantes aos da cultivar Carioca, embora com ampla variação. Após a avaliação das mesmas para outros caracteres como produção de grãos, porte arbustivo, e principalmente grãos claros e semelhantes

ao Carioca padrão, há a possibilidade de identificar algumas com pirâmide de alelos de resistência à antracnose e com fenótipos agronômicos favoráveis, que possam vir a ser uma nova cultivar.

Algumas linhagens podem ser usadas com outras finalidades no melhoramento, entre elas as linhagens portadoras apenas do *Co-7*, como já mencionado. Aquelas linhagens portadoras somente do *Co-4*² podem também ser usadas em substituição à cultivar diferenciadora G2333, a qual não é ideal como diferenciadora pelo fato de ser portadora de outros alelos de resistência e por não ser adaptada à maioria das condições do Brasil. Além dessas linhagens, aquelas com as constituições genéticas conhecidas podem ser usadas em cruzamentos no melhoramento.

TABELA 4: Alelos de resistência identificados em cada linhagem

Linhagem	Alelo de resistência	Linhagem	Alelo de resistência	Linhagem	Alelo de resistência
1	<i>Co-7</i>	36	-	71	5
2	<i>Co-5</i>	37	<i>Co-5</i>	72	<i>Co-4²</i>
3	<i>Co-5</i>	38	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>	73	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>
4	<i>Co-7</i>	39	-	74	<i>Co-5</i>
5	<i>Co-5</i>	40	-	75	<i>Co-5</i>
6	<i>Co-5</i>	41	-	76	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>
7	<i>Co-5</i>	42	-	77	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>
8	<i>Co-7</i>	43	<i>Co-5</i>	78	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>
9	<i>Co-7</i>	44	-	79	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>
10	-	45	<i>Co-7</i>	80	<i>Co-5</i>
11	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>	46	<i>Co-7</i>	81	<i>Co-5</i>
12	-	47	<i>Co-5</i>	82	<i>Co-5</i>
13	-	48	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>	83	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>
14	<i>Co-5</i>	49	<i>Co-5</i>	84	<i>Co-5</i>
15	<i>Co-7</i>	50	<i>Co-5</i>	85	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>
16	<i>Co-5</i>	51	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>	86	<i>Co-5</i>
17	<i>Co-5</i>	52	<i>Co-4²</i>	87	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>
18	<i>Co-5</i>	53	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>	88	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>
19	<i>Co-5</i>	54	<i>Co-4²</i>	89	<i>Co-5</i>
20	<i>Co-7</i>	55	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>	90	<i>Co-4²</i>
21	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>	56	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>	91	<i>Co-4²</i> e <i>Co-5</i>
22	<i>Co-7</i>	57	<i>Co-5</i>	92	<i>Co-4²</i>
23	<i>Co-5</i>	58	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>	93	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>
24	<i>Co-7</i>	59	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>	94	<i>Co-4²</i> e <i>Co-5</i>
25	<i>Co-5</i>	60	<i>Co-4²</i>	95	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>
26	<i>Co-7</i>	61	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>	96	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>
27	<i>Co-7</i>	62	<i>Co-4²</i> e <i>Co-5</i>	97	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>
28	<i>Co-5</i>	63	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>	98	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>
29	-	64	<i>Co-4²</i>	99	<i>Co-4²</i>
30	<i>Co-5</i>	65	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>	100	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>
31	<i>Co-5</i>	66	<i>Co-4²</i>	101	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>
32	<i>Co-5</i>	67	<i>Co-7</i>	102	<i>Co-7</i>
33	<i>Co-5</i>	68	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>	103	<i>Co-4²</i> e <i>Co-5</i>
34	<i>Co-5</i>	69	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>	104	<i>Co-7</i> e <i>Co-5</i>
35	<i>Co-5</i>	70	<i>Co-5</i>	105	<i>Co-7</i>

...continua...

TABELA 4, Cont.

Linhagem	Alelo de resistência	Linhagem	Alelo de resistência	Linhagem	Alelo de resistência
106	<i>Co-7 e Co-5</i>	141	<i>Co-5</i>	176*	-
107	<i>Co-7 e Co-5</i>	142	<i>Co-5</i>	177*	-
108	<i>Co-4²</i>	143	<i>Co-4²</i>	178*	-
109	<i>Co-7 e Co-5</i>	144	<i>Co-7 e Co-5</i>	179*	<i>Co-7</i>
110	<i>Co-4² e Co-5</i>	145	<i>Co-5</i>	180*	<i>Co-7</i>
111	<i>Co-4² e Co-5</i>	146	<i>Co-4²</i>	181*	<i>Co-7</i>
112	<i>Co-7 e Co-5</i>	147	<i>Co-5</i>	182*	-
113	<i>Co-7</i>	148	<i>Co-4² e Co-5</i>	183*	-
114	<i>Co-7</i>	149	<i>Co-5</i>	184*	-
115	<i>Co-7 e Co-5</i>	150	<i>Co-5</i>	185*	-
116	<i>Co-4²</i>	151	<i>Co-5</i>	186*	<i>Co-7</i>
117	<i>Co-5</i>	152	<i>Co-7 e Co-5</i>	187*	-
118	<i>Co-4²</i>	153	<i>Co-5</i>	188*	<i>Co-7</i>
119	<i>Co-4² e Co-5</i>	154	<i>Co-5</i>	189*	-
120	<i>Co-7 e Co-5</i>	155	<i>Co-5</i>	190*	<i>Co-7</i>
121	<i>Co-7 e Co-5</i>	156	<i>Co-5</i>	191*	-
122	<i>Co-7</i>	157	<i>Co-7 e Co-5</i>	192*	-
123	<i>Co-4² e Co-5</i>	158	<i>Co-7</i>	193*	-
124	<i>Co-7 e Co-5</i>	159	<i>Co-5</i>	194*	-
125	<i>Co-7 e Co-5</i>	160	-	195*	<i>Co-7</i>
126	<i>Co-4² e Co-5</i>	161	<i>Co-5</i>	196*	-
127	<i>Co-4² e Co-5</i>	162	-	197*	-
128	<i>Co-4² e Co-5</i>	163	<i>Co-5</i>	198*	-
129	<i>Co-7 e Co-5</i>	164	-	199*	-
130	<i>Co-7 e Co-5</i>	165	-	200*	-
131	<i>Co-4² e Co-5</i>	166	<i>Co-7 e Co-5</i>	201*	<i>Co-7</i>
132	<i>Co-4² e Co-5</i>	167	<i>Co-5</i>	202*	<i>Co-7</i>
133	<i>Co-7 e Co-5</i>	168	-	203*	-
134	<i>Co-5</i>	169	-	204*	-
135	<i>Co-5</i>	170	-	205*	-
136	<i>Co-7 e Co-5</i>	171	-	206*	<i>Co-7</i>
137	<i>Co-5</i>	172	-	207*	<i>Co-7</i>
138	<i>Co-5</i>	173*	-	208*	-
139	<i>Co-5</i>	174*	-	209*	<i>Co-7</i>
140	<i>Co-7 e Co-5</i>	175*	<i>Co-7</i>	210*	-

...continua...

TABELA 4, Cont.

Linhagem	Alelo de resistência	Linhagem	Alelo de resistência	Linhagem	Alelo de resistência
211*	-	227*	<i>Co-7</i>	243*	<i>Co-7</i>
212*	-	228*	<i>Co-7</i>	244*	-
213*	<i>Co-7</i>	229*	<i>Co-7</i>	245*	<i>Co-7</i>
214*	-	230*	-	246*	-
215*	-	231*	-	247*	-
216*	-	232*	-	248*	-
217*	<i>Co-7</i>	233*	-	249*	-
218*	-	234*	<i>Co-7</i>	250*	-
219*	<i>Co-7</i>	235*	<i>Co-7</i>	251*	<i>Co-7</i>
220*	-	236*	-	252*	<i>Co-7</i>
221*	-	237*	-	253	<i>Co-4²</i> e <i>Co-5</i>
222*	-	238*	-	254*	-
223*	<i>Co-7</i>	239*	-	255*	-
224*	-	240*	-	256*	-
225*	<i>Co-7</i>	241*	-		
226*	-	242*	-		

* linhagem não inoculada com a raça 73 (pode ter o *Co-5*).

- nenhum alelo identificado.

4 CONCLUSÕES

Foi possível identificar linhagens com pirâmide de alelos de resistência à antracnose em pelo menos dois genes e de duas constituições diferentes: *Co-4²/Co-5* e *Co-5/Co-7*.

Foram identificadas linhagens apenas com o alelo *Co-7*, para que ele possa ser melhor conhecido e utilizado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALZATE-MARIN, A. L.; MENARIM, H.; BAIA, G. S.; PAULA JR. , T. J.; SOUZA, K. A. de; COSTA, M. R.; BARROS, E. G. de; MOREIRA, M. A. Inheritance of anthracnose resistance in the common bean differential cultivar G2333 and identification of a new molecular marker linked to the *Co. 4²* gene. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 149, n. 5, p. 259-264, May 2001.
- ALZATE-MARIN, A. L.; MENARIM, H.; CARVALHO, G. A.; PAULA JR, T. J. de; BARROS, E. G. de; 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.
- BALARDIM, R. S.; PASTOR-CORRALES, M. A. Reação de germoplasma de *Phaseolus vulgaris* a nove raças de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 15, n. 3/4, p. 269-273, out./dez. 1990.
- CASTANHEIRA, A. L. M.; SANTOS, J. B. dos; FERREIRA, D. F.; MELO, L. C. Identification of common bean alleles resistant to anthracnose using RAPD. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 22, n. 4, p. 565-569, Dec. 1999.
- DE WIT, P. J. G. M. Pathogen avirulence and plant resistance: a key role for recognition. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 2, n. 12, Dec. 1997.
- FLOR, H. H. Current status of gene-for-gene concept. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 9, p. 275-296, 1971.
- HAGIWARA, W. E. **Emprego de RAPD em programa de retrocruzamento em feijão**. 2001. 75 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- 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.
- NIENHUIS, J.; TIVANG, J.; SKROCH, P.; SANTOS, J. B. dos. Genetic relationships among cultivars and lines of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as measured by RAPD markers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 120, n. 2, p. 300-306, Mar. 1995.

PASTOR-CORRALES, M. A. Recomendaciones y acuerdos del primer taller de la antracnosis en América Latina. In: PASTOR-CORRALES, M. A. (Ed.). **La antracnosis del frijol común, *Phaseolus vulgaris*, em América Latina**. Cali: CIAT, 1992. p. 240-251. (Documento de Trabajo, 113).

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.

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. 167-173, jun. 1994.

ROBINSON, R. A. **Host management in crop pathosystems**. New York: Macmillan, 1987. 263 p.

ROGERS, S. O.; BENDICH, A. J. Extration of DNA from plant tissues. **Plant Molecular Biology Manual A6**, p. 1110, 1988.

SILVA, M. V. da. **Identificação de marcadores RAPD ligado ao alelo *Co-7* de resistência do feijão ao agente causal da antracnose**. 2000. 41 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

VANDERPLANK, **Disease resistance in plants**. New York: Academic Press, 1968.

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 and Applied genetics**, Berlin, v. 96, n. 1, p. 87-94, Jan. 1998.

CAPÍTULO 2

SELEÇÃO DE LINHAGENS DE FEIJÃO RESISTENTES À ANTRACNOSE, GRÃOS TIPO CARIOCA E OUTROS FENÓTIPOS FAVORÁVEIS

SELEÇÃO DE LINHAGENS DE FEIJÃO RESISTENTES À ANTRACNOSE, GRÃOS TIPO CARIOCA E OUTROS FENÓTIPOS FAVORÁVEIS

RESUMO

Na obtenção de novas cultivares de feijão resistentes à antracnose (*Colletotricum lindemuthianum*), outros fenótipos de interesse agrônomico também devem ser considerados, entre eles a produção de grãos, o tipo de grãos, a reação à mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*) e o porte da planta. Com base nesse fato, o objetivo desse trabalho foi identificar, entre linhagens resistentes à antracnose, as mais promissoras, com alta produtividade, tipo de grãos Carioca, resistência à mancha angular e porte ereto. Foram utilizadas 256 linhagens obtidas do programa de retrocruzamentos entre o genitor doador G2333, portador de três alelos de resistência à antracnose (*Co-4²*, *Co-5* e *Co-7*), e os genitores recorrentes ESAL 696 (resistente à mancha angular) e CI140, que possuem boas características agronômicas. Essas linhagens foram avaliadas em quatro experimentos, conduzidos em três locais no Estado de Minas Gerais, sendo 1 na safra do inverno/2001 com as 256 linhagens em Ijaci; 2 na safra da seca/2002 com 120 linhagens e uma testemunha, em Lavras e Patos de Minas; e 1 na safra do inverno/2002 com 48 linhagens e a testemunha, em Ijaci. A testemunha foi a cultivar Talismã, recém-recomendada para o estado. As avaliações foram realizadas por meio da produção e do tipo de grãos, da reação à mancha angular e do porte. Foram observadas acentuadas diferenças genéticas entre as linhagens, em todos os caracteres, tanto nas análises individuais quanto nas conjuntas. Conseqüentemente, as herdabilidades foram também elevadas e propiciaram acentuados ganhos com a seleção. A correlação fenotípica foi baixa e positiva apenas entre a reação à mancha angular e o porte; as demais correlações foram não significativas, indicando a possibilidade de seleção de linhagens superiores em todos os caracteres. Entre as 48 linhagens avaliadas na safra do inverno/2002, todas apresentaram porte mais ereto, 8% foram mais produtivas e 98% delas apresentaram tipo de grãos igual ou superior à testemunha. Pôde-se então selecionar, com base nos quatro caracteres, cinco linhagens com alta produção de grãos, tipo de grãos Carioca, maior nível de resistência à mancha angular e antracnose e porte mais ereto.

*Orientador: João Bosco dos Santos - UFLA

SELECTION OF COMMON BEAN LINES RESISTANT TO ANTHRACNOSE, CARIOCA GRAIN TYPE AND OTHER USEFUL AGRONOMIC PHENOTYPES

ABSTRACT

In a common bean breeding program for Minas Gerais State Brazil, desirable phenotypes such as anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) resistance, Carioca grain type and yield, angular leaf spot resistance (*Phaeoisariopsis griseola*), and upright plant architecture are always sought. The objectives of this research were to identify lines resistant to anthracnose and with other superior agronomic phenotypes. Two hundred and fifty six lines from a backcross between the donor parent G2333 which have three resistant alleles to anthracnose (*Co-4*², *Co-5* and *Co-7*) and the recurrent parents ESAL 696 and CI140, which have other superior agronomic traits were evaluated. Four field trials were set up in the Minas Gerais state, one with 256 lines in the winter/spring season 2001, in Ijaci, two trials during the dry season 2002, in Lavras and Patos de Minas with 120 lines and one in the winter/spring season 2002 in Ijaci, with 48 lines. In the last three trials cultivar Talismã was also included as a tester. Grain type and yield, reaction to angular leaf spot and anthracnose and plant architecture were measured. Great genetic differences were observed among the lines for all traits, considering both individual and joint analysis of variance. Therefore, the heritabilities estimates were also of great magnitude and assure considerable selection progress. Only plant architecture and reaction to angular leaf spot exhibited a small and positive phenotypic correlation, suggesting the possibility to select improved lines for all traits. Among the 48 lines tested, all showed upright plant architecture and resistance to anthracnose and angular leaf spot, 8% outyielded the tester and 98% had the same grain type or even better than the tester. Five superior lines for all traits were selected and could become new cultivars.

*Major Professor: João Bosco dos Santos - UFLA

1 INTRODUÇÃO

Entre as cultivares de feijão utilizadas no Brasil, cerca de 70% correspondem àquelas com tipo de grão semelhante ao da cultivar Carioca, a qual é a mais preferida. A cultivar Carioca tradicional, que ainda é muito utilizada, é suscetível à maioria dos patógenos importantes para a Região Sul de Minas, entre eles o *Colletotrichum lindemuthianum*, agente causal da antracnose, e o *Phaeoisariopsis griseola*, agente causal da mancha angular. Além disso, as plantas dessa cultivar são prostradas, favorecendo o contato das vagens com o solo, o que ocasiona danos às sementes.

Na obtenção de novas cultivares resistentes à antracnose, outros fenótipos de interesse agrônômico também necessitam ser considerados. Entre eles estão: a- Tipo de grãos aceitáveis pelo consumo, como aquele semelhante ao da cultivar Carioca; b- Porte ereto, o que evita perdas na colheita e favorece a colheita mecanizada; c- Resistência à mancha angular, que é outro patógeno importante e que causa grandes perdas na cultura; d- Adaptação e alta produtividade, que são essenciais na aceitação de uma nova cultivar.

Infelizmente, no entanto, as fontes de resistência em geral são linhagens ou cultivares mal adaptadas às condições ambientais da região e com vários fenótipos indesejáveis, sendo, portanto, inadequadas para o uso comercial. Assim, as fontes de resistência devem ser cruzadas com a cultivar Carioca, ou outra linhagem semelhante e de alto valor agrônômico, e devem ser feitos alguns retrocruzamentos utilizando a Carioca ou outra linhagem superior como genitor recorrente, para que possam ser selecionadas na descendência linhagens que possuam, além da resistência à antracnose, outros fenótipos desejáveis (Reyes-Valdés, 2000).

Entre os genitores recorrentes, sempre que possível devem ser utilizadas fontes de resistência a *P. griseola* a fim de associar resistência aos dois patógenos mais importantes no Sul de Minas Gerais.

Com base nesses fatos, o objetivo desse trabalho foi identificar, entre as linhagens resistentes à antracnose oriundas de um programa de retrocruzamentos, as mais promissoras, com alta produtividade, tipo de grãos Carioca, resistência à mancha angular e porte ereto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Foram utilizadas 256 linhagens, oriundas de um programa de retrocruzamentos visando a transferência da pirâmide de alelos de resistência à antracnose, presente na linhagem G2333, para linhagens adaptadas e com grãos do tipo Carioca. Do total de linhagens, 15 são oriundas de uma família segregante F_5 do primeiro retrocruzamento [(G2333 X ESAL696) X ESAL696] e 241, de três famílias segregantes F_3 do segundo retrocruzamento {(G2333 X ESAL696) X ESAL696] X CI140}.

O G2333 é uma linhagem mexicana, com vários fenótipos desfavoráveis, como hábito de crescimento IV, grãos vermelhos e sensibilidade ao fotoperíodo. Porém, essa linhagem é portadora de uma pirâmide de alelos ($Co-4^2$, $Co-5$ e $Co-7$) que conferem resistência a todas as raças de *C. lindemuthianum* que ocorrem no Brasil. A linhagem ESAL696 possui alguns fenótipos favoráveis, como hábito de crescimento tipo II, grãos do tipo Carioca, resistência a *P. griseola* e é portadora do alelo $Co-5$ de resistência ao *C. lindemuthianum*. Já a linhagem CI140 é oriunda de um programa de seleção recorrente da UFLA e possui grãos excelentes, do tipo Carioca.

2.2 Avaliação das linhagens em campo

Na safra do inverno de 2001 foram avaliadas as 256 linhagens extraídas de quatro famílias segregantes promissoras (Hagiwara, 2001), no município de Ijaci, MG. Foi utilizado o delineamento látice 16 x 16 com duas repetições e parcela de uma linha de um metro. Foram avaliadas e selecionadas as linhagens mais promissoras quanto ao tipo e produtividade de grãos.

Na safra da seca de 2002 foram avaliadas 120 linhagens selecionadas no inverno de 2001, em dois locais de Minas Gerais (Lavras e Patos de Minas), agora utilizando parcela com duas linhas de 2m lineares, em que foram avaliados a reação à mancha angular, o tipo de grãos (somente em Lavras) e a produtividade de grãos, para proceder a seleção das mais promissoras. Também foi utilizado o delineamento látice 11 x 11 com três repetições, avaliando-se as 120 linhagens e a cultivar Talismã como testemunha.

A partir dos resultados dessa avaliação foram selecionadas 48 linhagens, com base na produção e tipo de grãos e reação a *P. griseola*, que voltaram a ser avaliadas na safra do inverno de 2002, juntamente com a cultivar Talismã como testemunha, por meio de um delineamento látice 7 x 7 com três repetições, no município de Ijaci. Cada parcela foi novamente representada por duas linhas de 2m. Foram avaliadas as características produção de grãos, porte e tipo de grãos.

Os experimentos receberam adubação na semeadura com cerca de 300 kg/ha da fórmula 8-28-16 (N-P₂O₅-K₂O), mais 150 kg/ha de sulfato de amônio em cobertura. Os experimentos foram irrigados por aspersão quando necessário. Em todos os experimentos o espaçamento entre linhas foi de 50cm, exceto no inverno de 2002, em que foi usado o espaçamento de 45cm.

As avaliações da severidade da mancha angular foram realizadas utilizando-se um diagrama de notas de 1 (resistência completa) a 9 (suscetibilidade máxima) proposto por Bergamin Filho et al. (1995) e Sartorato (2001), por meio de dois avaliadores. Nas avaliações de tipo de grãos, tomando-se como padrão o tipo Carioca (grãos com coloração creme clara, estrias marrom-clara, sem halo, tamanho médio e não achatados), 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), por meio de dois avaliadores. A avaliação de porte foi realizada por meio de um diagrama de notas semelhante ao de Collicchio (1995), com notas variando de 1 (totalmente ereto) a 5

(totalmente prostrado), também por meio de dois avaliadores. Utilizaram-se as médias dos avaliadores na análise de variância de cada caráter. A produção de grãos foi medida em g/parcela e, posteriormente, foi realizada a transformação dos dados para kg/ha para padronização, devido aos diferentes tamanhos de parcelas utilizados.

2.3 Análise das características morfo-agronômicas

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

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

onde:

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

m : efeito fixo da média geral do ensaio;

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

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

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

e_{ijk} : efeito aleatório do erro experimental, da parcela que recebeu o tratamento i , no bloco k , dentro da repetição j , assumindo-se que os erros são independentes e normalmente distribuídos, com média zero e variância σ^2 .

Para as análises conjuntas, foi considerado o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = m + a_l + t_i + b_{k(j)} + r_{j(l)} + (ta)_{il} + e_{ijk(l)}$$

onde:

Y_{ijkl} : observação referente ao tratamento i no bloco k , dentro da repetição j , na safra l ;

m : efeito fixo da média geral do ensaio;

- a_l : efeito fixo da safra l , sendo ($l = 1, 2, \dots, L$)
- t_i : efeito fixo do tratamento i , sendo ($i = 1, 2, 3, \dots, I$);
- $b_{k(j)}$: efeito aleatório do bloco k , dentro da repetição j e da safra l , sendo ($k = 1, 2, \dots, K$);
- $r_{j(k)}$: 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 e a safra l ;
- $e_{ijk(l)}$: é o erro experimental médio.

Com o resultado das análises individuais e conjuntas (Tabela 1) foram estimadas as herdabilidades e seus intervalos de confiança segundo a expressão de Knapp et al. (1985) para cada caráter, em cada safra e nas análises conjuntas. Como os efeitos de tratamentos foram considerados fixos, essa herdabilidade corresponde, na verdade, ao coeficiente de determinação genotípico (R^2), que indica a quantidade da variação fenotípica observada que é devida a causas genéticas. Essa estimativa será referida como herdabilidade (h^2).

TABELA 1: Esquema das análises de variância individuais e conjuntas.

Análises individuais		
Fontes de Variação	QM	F
Repetições	Q1	
Linhagens	Q2	Q2/Q3
Erro efetivo	Q3	
Análises Conjuntas		
Safras (S)	Q4	
Linhagens (L)	Q5	Q5/Q7
SXL	Q6	Q6/Q7
Erro Médio	Q7	

As estimativas de herdabilidade foram obtidas por meio das expressões:

$$h^2 = R^2 = (Q2 - Q3)/Q2, \text{ para as análises individuais;}$$

$$h^2 = R^2 = (Q5 - Q7)/Q5, \text{ para as análises conjuntas.}$$

As expressões para o cálculo dos intervalos de confiança foram as seguintes:

$$LI = \{1 - [(QM \text{ Linhagens}/QM \text{ Erro}) F_{1-\alpha/2; GL \text{ Erro}; GL \text{ Linhagem}}]^{-1}\}$$

$$LS = \{1 - [(QM \text{ Linhagens}/QM \text{ Erro}) F_{\alpha/2; GL \text{ Erro}; GL \text{ Linhagem}}]^{-1}\}$$

Para as análises conjuntas (Tabela 1) foi estimado, além da herdabilidade e seu intervalo de confiança, o ganho com a seleção (GS) para os caracteres avaliados por meio da expressão:

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

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.

Também foram estimadas as correlações fenotípicas entre os caracteres avaliados, utilizando-se o programa MSTAT, e estas foram testadas pelo teste t.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises de variância individuais da produção de grãos nas safras de inverno/2001, inverno/2002, ambas em Ijaci e na seca/2002, em Lavras e Patos de Minas, estão apresentadas na Tabela 2. Fica evidenciada a existência de diferenças genéticas significativas entre as linhagens quanto à produção de grãos, ao nível de 5% de probabilidade para a safra de inverno/2002 e ao nível de 1% de probabilidade para as demais safras.

A precisão experimental, avaliada por meio do coeficiente de variação (CV) (Tabela 2), foi semelhante à encontrada em experimentos com a cultura do feijão (Marques Júnior, 1997) e pode ser considerada boa, principalmente porque permitiu detectar diferenças genéticas entre os tratamentos. Entretanto,

TABELA 2: Resumo das análises de variância individuais das produções de grãos (kg/ha), avaliadas nas safras do inverno/2001 e inverno/2002, ambas em Ijaci, seca/2002, em Lavras e Patos de Minas, e estimativas de herdabilidade com os respectivos intervalos de confiança.

Estimativas	Inv/01	Seca/02 Lavras	Seca/02 Patos	Inv/02
Nº linhagens	256	121	121	49
QM linhagens	**	**	**	*
Média (kg/há)	5.807,3	1.144,1	740,4	2.955,2
Média testemunha	-	-	-	3.360,0
CV (%)	20,42	29,16	24,30	18,10
$h^{2'}$ (%)	31,82	38,39	37,50	42,11
$h^{2'}_{LI}^1$	12,58	14,43	13,20	1,88
$h^{2'}_{LS}^1$	47,14	55,03	54,38	64,91

* e **Significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

¹LI e LS- Limites do intervalo de confiança para $h^{2'}$ com 5% de probabilidade.

os CV para a safra da seca em Lavras e Patos de Minas foram um pouco superiores aos das safras de inverno/2001 e inverno/2002. Essa superioridade pode ser explicada pela alta incidência de *P. griseola*, pela incidência desuniforme de ácaro rajado (*Tetranychus urticae*) e pela desuniformidade na distribuição de água pelo sistema de irrigação, o que ocasionou a redução da produção média de grãos. Já as avaliações de inverno em Ijaci foram realizadas sob pivô central, havendo maior uniformidade na distribuição de água. Vale ressaltar que em todas as safras houve eficiência do látice, o que mostra a existência de diferenças ambientais dentro de cada área experimental.

A média da safra de inverno/2001 foi mais elevada do que as demais devido às condições ambientais possivelmente mais favoráveis nessa safra, e também porque foram usadas parcela de apenas uma linha de 1m, separadas nas extremidades por corredores de 50cm. Esses provavelmente reduziram a competição entre as plantas quando comparados com as condições de cultura. Em consequência, certamente houve uma superestimativa da produção de grãos.

As estimativas de herdabilidade, com base nos dados de cada safra (Tabela 2), podem ser consideradas altas para o caráter em questão, já que ele é muito influenciado pelo ambiente, estando sempre dentro do intervalo de confiança de todas as safras, cujos limites foram sempre positivos (Ramalho et al., 1993).

Em três experimentos (seca/2002 em Lavras e Patos e inverno/2002) foi utilizada como testemunha a linhagem Talismã, recém-recomendada como cultivar. Essa linhagem é altamente produtiva, com excelente tipo de grãos. Porém, nos dois experimentos da safra da seca/2002, a testemunha apresentou desempenho muito inferior ao esperado, sendo desconsiderada. Comparando o desempenho das linhagens avaliadas com a testemunha na safra do inverno/2002, observou-se que 8% das linhagens apresentaram produção superior à da testemunha.

Considerando as análises de variância individuais para o caráter tipo de grãos (Tabela 3), observa-se a existência de diferenças significativas ($P < 0,01$) para linhagens em todas as safras, o que indica a existência de acentuadas diferenças genéticas entre elas. A precisão experimental, medida pelo CV, foi ligeiramente superior à obtida em avaliações semelhantes (Marques Júnior, 1997), embora não tenha interferido na detecção da heterogeneidade das linhagens.

Outro aspecto interessante é a redução das médias (Tabela 3), em consequência das seleções para tipos superiores de grão em uma safra e avaliação na seguinte. Um resultado, aliás, esperado, já que o tipo de grãos foi a principal característica considerada durante a seleção de linhagens de uma safra para outra, especialmente na primeira seleção. Esse resultado é semelhante a um ganho realizado com a seleção e mostra o progresso efetivo com esse

TABELA 3: Resumo das análises de variância individuais do tipo de grãos (notas), avaliado nas safras do inverno/2001 e inverno/2002, ambas em Ijaci, e seca/2002, em Lavras, e estimativas de herdabilidade com os respectivos intervalos de confiança.

Estimativas	Inv/01	Seca/02 Lavras	Inv/02
Nº linhagens	256	121	49
QM linhagens	**	**	**
Média	2,88	2,42	2,15
Média testemunha	-	-	2,50
CV (%)	13,26	18,19	14,63
$h^{2'}$ (%)	71,87	67,40	65,86
$h^{2'}_{LI}^1$	63,63	54,72	42,14
$h^{2'}_{LS}^1$	78,19	76,20	79,31

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

¹LI e LS- Limites do intervalo de confiança para $h^{2'}$ com 5% de probabilidade.

procedimento de avaliação e seleção, tendo-se como referência o tipo de grão ideal da testemunha Talismã, avaliado no inverno de 2002.

As estimativas de herdabilidade para as análises individuais (Tabela 3) foram altas, indicando que o caráter é pouco influenciado pelo ambiente, ocorrendo, assim, uma situação favorável para a seleção. O fato de as estimativas estarem sempre dentro do intervalo de confiança de todas as safras é um indicativo da confiabilidade dos valores obtidos e confirma a observação, refletida pelas médias nas sucessivas safras, do ganho com a seleção. Vale salientar a média das linhagens após a última seleção, no inverno de 2002, a qual é inferior à média da testemunha, a cultivar recém-lançada Talismã. Essa cultivar possui como um de seus grandes méritos o tipo de grãos. Noventa e oito por cento das linhagens tiveram o tipo de grãos igual ou melhor que o da testemunha. Infere-se, portanto, que o tipo de grãos das linhagens já é excelente. Além disso, as acentuadas diferenças genéticas ainda existentes entre elas e o elevado valor de herdabilidade sugerem a possibilidade de seleção de algumas linhas que venham a ter grande aceitação pelo consumidor.

O caráter reação à mancha angular foi avaliado na safra da seca/2002, a época ideal para o desenvolvimento da doença, em Lavras e Patos de Minas (Tabela 4). Nota-se novamente a existência de ampla variação genética entre as linhagens ($P > 99\%$) quanto à reação a esse patógeno e uma boa precisão experimental (Marques Júnior, 1997). As estimativas de herdabilidade foram altas, sugerindo a possibilidade de sucesso com a seleção das mais resistentes.

Para o caráter porte foi realizada uma avaliação na safra de inverno/2002 e a análise de variância (Tabela 5) mostrou a ocorrência de diferenças significativas entre as linhagens. A estimativa de herdabilidade foi de 58,2%, indicando a possibilidade de seleção de linhagens com porte mais ereto. A precisão experimental foi considerada boa (Santos & Vencovsky, 1986). Vale salientar que todas as linhagens exibiram porte mais ereto do que a testemunha.

TABELA 4: Resumo das análises de variância individuais da reação à mancha angular (notas), avaliada nas safras da seca/2002, em Lavras e Patos de Minas, e estimativas de herdabilidade com os respectivos intervalos de confiança.

Estimativas	Seca/02 Lavras	Seca/02 Patos
Nº linhagens	121	121
QM linhagens	**	**
Média	5,32	4,49
CV (%)	17,63	14,94
h ² (%)	58,91	57,73
h ² _{LI} ¹	42,93	41,29
h ² _{LS} ¹	70,00	69,15

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

¹LI e LS- Limites inferior e superior do intervalo de confiança para a herdabilidade ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 5: Resumo da análise de variância individual do porte (notas), avaliado na safra de inverno/2002, em Ijaci, e estimativas de herdabilidade com os respectivos intervalos de confiança.

Estimativas	Inverno/ 2002
Nº linhagens	49
QM linhagens	**
Média	2,26
Média da testemunha	2,98
CV (%)	14,11
h ² (%)	58,20
h ² _{LI} ¹	29,15
h ² _{LS} ¹	74,67

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

¹LI e LS- Limites inferior e superior do intervalo de confiança para a herdabilidade ao nível de 5% de probabilidade.

Visando conhecer melhor as 48 linhagens selecionadas, utilizaram-se as médias ajustadas das três safras para realizar a análise conjunta da produção e tipo de grãos (Tabela 6). A safra da seca/2002, em Patos de Minas, não foi incluída nessa análise por apresentar estimativa do erro efetivo muito discrepante das demais safras para produção de grãos (Ramalho et al., 2000) e por não ter sido realizada avaliação de tipo de grãos.

Para a produção de grãos, verificou-se que os efeitos de linhagens e a interação safras por linhagens foram significativos, confirmando a presença de diferenças genéticas entre as linhagens. Entretanto, o comportamento das linhagens não foi coincidente nas diferentes safras, certamente devido à alta

TABELA 6: Resumo das análises conjuntas de variância dos caracteres produção e tipo de grãos envolvendo as safras da seca/2002, em Lavras, inverno/2001 e inverno/2002, ambas em Ijaci e estimativas de herdabilidade e respectivos intervalos de confiança.

Fontes de Variação	GL	QM	
		Produção(kg/ha)	Tipo de Grãos (nota)
Safras	2	557.093.760,0**	4,41**
Linhagens	47	942.375,9*	0,45**
S X L	94	1.040.818,9**	0,18 ^{ns}
Erro Médio	235	601.369,2	0,15
Média	-	3.175,1	2,25
CV (%)	-	20,04	11,58
h ² (%)	-	36,20	67,00
h ² _{LI} ¹	-	0,00	46,80
h ² _{LS} ¹	-	57,80	78,20

*, ** e ^{ns} Significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente.

¹Intervalo de confiança para herdabilidade ao nível de 5% de probabilidade.

sensibilidade do caráter às variações ambientais.

A variação das linhagens, detectada na análise conjunta de variância, pode ser melhor observada na distribuição de frequência da produtividade de grãos (Figura 1). Pode-se observar, ainda, que cerca de 65% das linhagens tiveram desempenho superior à média.

Para o caráter tipo de grãos, a análise conjunta (Tabela 6) mostrou diferenças genéticas entre as linhagens ($P > 99\%$), sugerindo, como já salientado, a possibilidade de mais ganhos com a seleção. Outro resultado favorável foi a ausência de interação linhagens por safras, indicando o comportamento coincidente das linhagens nas diferentes safras, certamente porque o caráter tipo de grãos é pouco influenciado pelo ambiente. A existência de variabilidade entre as linhagens pode ser comprovada através da distribuição de frequência das notas para tipo de grãos (Figura 2). Pode-se ainda observar que mais de 80% das linhagens têm nota média inferior a 2,5, que foi a média da testemunha Talismã na safra de inverno de 2002, confirmando as boas chances de estas virem a ser comercialmente aceitas como cultivar com grãos tipo Carioca. A estimativa da herdabilidade na análise conjunta também foi alta, confirmando a possibilidade de sucesso com a seleção de linhagens com tipo de grãos ainda superiores.

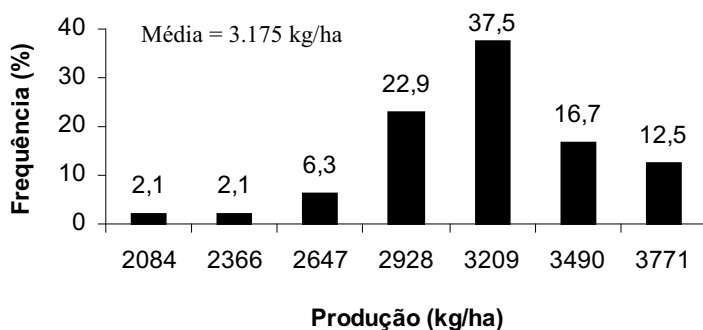


FIGURA 1: Distribuição de frequência das linhagens para a produção média de grãos em três safras.

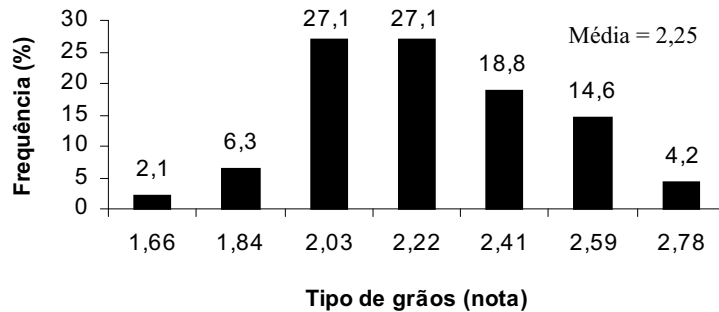


FIGURA 2: Distribuição de frequência das linhagens para as notas médias de tipo de grãos em três safras.

Para o caráter reação à mancha angular, também foi realizada a análise conjunta com as médias ajustadas das duas avaliações na seca de 2002. (Tabela 7). Pode-se observar novamente a existência de variabilidade entre as linhagens e também a significância da interação safras por linhagens. Essa interação pode significar a ocorrência de raças diferentes de *P. griseola* em Lavras e Patos de Minas porque existe grande variabilidade patogênica nesse fungo e a composição racial do patógeno varia com a região (Rava et al., 1994).

Aliando-se a existência de variabilidade entre as linhagens com o alto valor das estimativas obtidas para a herdabilidade (Tabela 7), pode-se inferir que há reais possibilidades de seleção de linhagens mais resistentes ao patógeno. É interessante mencionar que a resistência de algumas linhagens certamente foi herdada do genitor recorrente ESAL 696, que também contribuiu para o hábito de crescimento arbustivo das mesmas.

Considerando a seleção das 5 melhores linhagens (aproximadamente 10%) com base na análise conjunta para reação à mancha angular, produção e tipo de grãos e na análise individual realizada para porte, foi estimado o ganho com a seleção (Tabela 8).

TABELA 7: Resumo da análise conjunta de variância para o caráter reação à mancha angular (notas) e estimativa de herdabilidade com os respectivos intervalos de confiança.

Fontes de Variação	GL	QM
Safras	1	122,3**
Linhagens	120	2,1**
S X L	120	1,04**
Erro Médio	240	0,67
Média	-	4,91
CV (%)	-	12,01
h^2 (%)	-	68,30
h^2_{LI} ¹	-	56,60
h^2_{LS} ¹	-	76,50

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

¹Intervalo de confiança para a herdabilidade ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 8: Estimativas de ganho esperado com a seleção das 5 linhagens de maior expressão para produção (kg/ha), tipo de grãos (notas), reação à mancha angular (notas) e porte (notas).

Estimativa	Produção	Tipo de grãos	Reação à mancha angular	Porte
GS ¹	190,5 (6,0%)	-0,25 (11,1%)	-0,56 (11,6%)	-0,29 (13,1%)
GS ²	141,8 (4,46%)	-0,16 (7,0%)	-0,14 (2,8%)	-0,006 (0,003%)

¹Ganho com a seleção de 5 em 48 linhagens (10%), seleção para cada caráter.

²Ganho com a seleção de 5 em 48 linhagens (10%), considerando como critérios para seleção: produção > 3.300kg/ha; tipo de grão < 2,3; reação à mancha angular < 5,0 e porte < 2,5.

A seleção com base em apenas uma característica tem se mostrado inadequada por conduzir a um produto final superior em relação ao carácter selecionado, mas com desempenho não tão favorável em relação aos vários

outros caracteres não considerados. Assim, uma maneira de aumentar a chance de êxito de um programa de melhoramento é por meio da seleção simultânea de um conjunto de caracteres de importância econômica (Cruz & Regazzi, 2001).

É interessante lembrar que quando são considerados vários caracteres no processo de seleção, os ganhos para cada um isoladamente são menores, como pode ser observado na Tabela 8. Por exemplo, seria obtido um ganho de 6,0% com a seleção das linhagens mais produtivas, contra apenas 4,46% quando a seleção é baseada nos quatro caracteres em conjunto. Para o caráter tipo de grãos pode-se observar o mesmo comportamento, com a redução no ganho com a seleção de 11,1% para 7,0%. Reduções ainda mais drásticas são observadas em relação a reação à mancha angular e ao porte. Vale salientar, no entanto, que os ganhos na produção de grãos em apenas um ciclo de seleção foram muito elevados.

Uma das causas da redução do ganho com a seleção de um caráter individual, em comparação com a seleção em múltiplos caracteres, pode ser a correlação desfavorável entre os mesmos. Então, foram estimadas as correlações fenotípicas entre os caracteres avaliados (Tabela 9). Pode-se notar que houve correlação baixa e positiva apenas entre porte e mancha angular, indicando que as linhagens com melhor porte são também as mais resistentes. Embora essa correlação seja baixa, certamente ela foi uma das causas para que, infelizmente, esses dois caracteres tenham tido as maiores reduções de ganho com a seleção de múltiplos caracteres. É necessário frisar, no entanto, que a ausência das demais correlações indica a possibilidade de seleção de linhagens que sejam superiores em todos os caracteres avaliados.

Pode-se observar, na Tabela 10, as médias das linhagens para os caracteres avaliados, entre elas as cinco melhores selecionadas com base nos quatro caracteres em conjunto (23, 91, 142, 144 e 147). Destacam-se, entre elas, as linhagens 91 e 144, também por serem portadoras de pirâmide com pelo

menos dois alelos de resistência à antracnose, especialmente aquela portadora do *Co-4*². Considerando a presença de pirâmide, outras linhagens podem ser eleitas, com destaque para a 123 e 126, que são também ideais em relação a outros caracteres. Portanto, essas linhagens deverão participar dos ensaios de linhagens elites, em andamento no estado de Minas Gerais, e possuem grandes chances de se tornarem novas cultivares.

TABELA 9: Correlações fenotípicas entre os caracteres avaliados.

Caracteres	Correlação
Produção x Tipo de grão	0,027 ^{ns}
Produção x Reação à mancha angular	-0,058 ^{ns}
Produção x Porte	-0,006 ^{ns}
Tipo de grão x Reação à mancha angular	-0,123 ^{ns}
Tipo de grão x Porte	0,072 ^{ns}
Reação à mancha angular x Porte	0,309*

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t.

^{ns} Não significativo pelo teste t.

TABELA 10: Alelos de resistência à antracnose presentes e médias ajustadas de produção, tipo de grãos, reação à mancha angular e porte das 48 linhagens utilizadas nas análises conjuntas¹.

Linhagem	Produção (kg/ha)	Tipo de grão notas (1 - 5)	Mancha angular notas (1 - 9)	Porte notas (1 - 5)	Alelos de resistência (Co-?) ²
1	3771,6 a	1,9 a	5,1 b	2,4 b	Co-7
3	2851,3 b	2,2 a	4,8 a	2,2 b	Co-5
13	3234,7 a	2,1 a	5,8 b	1,9 a	Nenhum
14	3196,0 a	2,1 a	4,3 a	2,2 b	Co-5
15	3386,3 a	2,3 b	5,3 b	2,6 b	Co-7
16	2923,3 b	2,3 b	4,7 a	2,3 b	Co-5
17	2825,0 b	2,1 a	4,6 a	2,5 b	Co-5
18	3297,7 a	2,4 b	5,4 b	2,5 b	Co-5
23	3416,3 a	2 a	4,8 a	2,1 b	Co-7
26	3111,3 a	2 a	4,2 a	2,2 b	Co-7
27	3156,0 a	2,2 a	5,3 b	2,4 b	Co-7
29	3284,7 a	2,2 a	5,6 b	2,3 b	Nenhum
31	2840,3 b	2,1 a	6 b	2,4 b	Co-5
39	3204,3 a	1,9 a	4,4 a	2,1 b	Nenhum
40	3309,7 a	2,1 a	4,4 a	2,2 b	Nenhum
41	2664,3 b	2,3 b	4,8 a	2,3 b	Nenhum
42	3697,7 a	2,5 b	3,9 a	1,3 a	Nenhum
47	2862,3 b	2 a	5,6 b	2,1 b	Co-5
48	3271,0 a	2,1 a	4,3 a	2,8 b	Co-7 e Co-5
50	2680,0 b	1,7 a	5,7 b	2 a	Co-5
62	3164,3 a	2,5 b	4,5 a	2,3 b	Co-4 ² e Co-5
69	3222,7 a	2,5 b	4,3 a	2,3 b	Co-7 e Co-5
77	3215,0 a	2,4 b	4,3 a	2,3 b	Co-7 e Co-5
81	3439,7 a	2,3 b	4,4 a	2 a	Co-5
91	3675,0 a	2,1 a	4,7 a	2,5 b	Co-4 ² e Co-5
94	2521,3 b	2,7 b	5,6 b	2,5 b	Co-4 ² e Co-5
103	3064,7 a	2,3 b	5,8 b	2,5 b	Co-4 ² e Co-5
107	3431,7 a	2,2 a	5,2 b	2,4 b	Co-7 e Co-5
110	2942,0 b	2,6 b	4 a	2,1 b	Co-4 ² e Co-5
111	3488,3 a	2,6 b	4,2 a	2,3 b	Co-4 ² e Co-5
119	3334,0 a	2,5 b	6 b	2,4 b	Co-4 ² e Co-5
122	3664,7 a	2,4 b	4,9 a	1,8 a	Co-7

...continua...

TABELA 10, Cont.

Linhagem	Produção (kg/ha)	Tipo de grão notas (1-5)	Mancha angular notas (1 - 9)	Porte notas (1 - 5)	Alelos de resistência (Co-?) ²
123	3154,0 a	2,3 b	4,7 a	2,2 b	Co-4 ² e Co-5
126	3113,7 a	2,1 a	5,9 b	1,9 a	Co-4 ² e Co-5
127	2946,3 b	2,3 b	5,6 b	2,6 b	Co-4 ² e Co-5
131	3707,0 a	2,8 b	5 b	2,3 b	Co-4 ² e Co-5
132	3374,3 a	2,7 b	5 b	2,7 b	Co-4 ² e Co-5
134	3089,0 a	2,6 b	4,7 a	2,1 b	Co-5
141	3041,3 a	2,5 b	4,7 a	2,4 b	Co-5
142	3698,0 a	2,1 a	4,3 a	2,1 b	Co-5
144	3462,0 a	1,9 a	4,8 a	2,2 b	Co-7 e Co-5
147	3582,0 a	2 a	4,4 a	2,2 b	Co-5
149	3328,0 a	2,2 a	5 b	2,5 b	Co-5
201	3066,0 a	2,3 b	4,1 a	1,8 a	Co-7*
208	3063,3 a	2,4 b	4,2 a	2,2 b	Nenhum*
222	3096,7 a	2,4 b	4 a	1,9 a	Nenhum*
252	2084,7 b	2,3 b	4,2 a	1,8 a	Co-7
253	2449,0 b	2,1 a	4 a	2,3 b	Co-4 ² e Co-5

¹ Médias seguidas da mesma letra são semelhantes pelo teste de Scott-knot ao nível de 5% de probabilidade para tipo de grãos e reação à mancha angular e 10% para produção de grãos e porte.

² Alelos identificados no Capítulo 1.

*Linhagem que pode ter o Co-5.

4 CONCLUSÃO

Foi possível selecionar cinco linhagens que possuem, além de resistência à antracnose, alta produção de grãos, tipo de grãos semelhante ao da cultivar Carioca, maior nível de resistência à mancha angular e porte mais ereto. Entre elas, duas merecem destaque por possuírem uma pirâmide com pelo menos dois alelos de resistência à antracnose. Outras linhagens com constituição genética conhecida quanto a reação à antracnose também podem ser úteis para o melhoramento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERGAMIM FILHO, A.; LOPES, D. B.; AMORIM, L.; GODOY, C. V.; BERGER, R. D. Avaliação de danos causados pôr Doenças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 3, p. 133-184, 1995.

COLLICHIO, E. **Associação entre o porte da planta do feijoeiro e o tamanho dos grãos**. Lavras: UFLA, 1995. 98 p. (Dissertação – Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2001. 390 p.

HAGIWARA, W. E. **Emprego de RAPD em programa de retrocruzamento em feijão**. 2001. 75 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

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, Jan./Feb. 1985.

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

RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F.; OLIVEIRA, A. C. de. **Experimentação em Genética e Melhoramento de Plantas**.Lavras: UFLA, 2000. 326 p.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; ZIMMERMANN, M. J. de O. **Genética quantitativa em plantas autógamas – aplicações ao melhoramento do feijoeiro**. Goiânia: 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. 167-173, jun. 1994.

REYIES-VALDÉS, M. H. A model for marker-based selection in gene introgression breeding programs. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 1, p. 91-98, Jan./Feb. 2000.

SANTOS, L. B. dos.; VENCOVSKY, R. Controle genético de alguns componentes do porte da planta em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 9, p. 957-963, set. 1986.

SARTORATO, A. Variabilidade de *Phaeoisariopsis griseola* no feijoeiro comum. In. CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 1., 2001, Goiânia. **Resumos...** Goiânia, 2001. CD-ROM.