



**SELEÇÃO DE PROGÊNIES DE FEIJOEIRO
TIPO CARIOCA EM POPULAÇÕES DE
RETROCRUZAMENTO PARA RESISTÊNCIA
AO MOFO BRANCO, ANTRACNOSE E
MANCHA ANGULAR**

IGOR ALMEIDA LIMA

2010

IGOR ALMEIDA LIMA

**SELEÇÃO DE PROGÊNIES DE FEIJOEIRO TIPO CARIOCA EM
POPULAÇÕES DE RETROCRUZAMENTO PARA
RESISTÊNCIA AO MOFO BRANCO, ANTRACNOSE E
MANCHA ANGULAR**

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

Orientador

Prof. Dr. João Bosco dos Santos

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

2010

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

Lima, Igor Almeida.

Seleção de progênies de feijoeiro tipo carioca em populações de retrocruzamento para resistência ao mofo branco, antracnose e mancha angular / Igor Almeida Lima. – Lavras : UFLA, 2010.
56 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.
Orientador: João Bosco dos Santos.
Bibliografia.

1. Melhoramento de plantas. 2. *Phaseolus vulgaris*. 3. Scar *Phs*.
4. *Sclerotinia sclerotiorum*. 5. Caracteres agronômicos. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 631.523

IGOR ALMEIDA LIMA

**SELEÇÃO DE PROGÊNIES DE FEIJOEIRO TIPO CARIOCA EM
POPULAÇÕES DE RETROCRUZAMENTO PARA
RESISTÊNCIA AO MOFO BRANCO, ANTRACNOSE E
MANCHA ANGULAR**

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

APROVADA em 22 de Fevereiro de 2010

Dr^a. Ângela de Fátima Barbosa Abreu EMBRAPA

Dr^a. Vanda Maria de Oliveira Cornélio EPAMIG

Prof. Dr. João Bosco dos Santos

UFLA

(Orientador)

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

A Deus,
por sempre iluminar o meu caminho,
OFEREÇO

Aos meus pais, Luiz e Mara, aos meus irmãos, André e Raíssa, à minha
namorada Simone e aos meus amigos.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por mais um passo em minha caminhada.

Aos meus pais, Luiz e Mara, e aos meus irmãos, André e Raíssa pelo amor, exemplo, motivação e amizade em todos os momentos de minha vida.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao programa pós graduação em Genética e Melhoramento de Plantas pela oportunidade de realizar o mestrado, e ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

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

À Dr^a. Vanda Maria de Oliveira Cornélio que, prontamente, aceitou meu convite para compor a banca de minha dissertação, e à pesquisadora, Ângela de Fátima Barbosa Abreu, pelos ensinamentos e boa convivência nas tarefas de campo. A ambas pela participação na banca e pelas valiosas sugestões.

Aos amigos do Laboratório de Genética Molecular da UFLA, Rafaela, Thaís, Monik, Karla, Flávia, Melina, Letícia, Fernanda, Juliana, Gheysa, Paulo, Filipe, Renato, Marinei, Márcia, por toda a ajuda e amizade.

Ao amigo Lamartine, pela disposição, competência, amizade e sempre pronto a me auxiliar.

A todos os amigos do GEN, pelo companheirismo nas tarefas de campo e nas festas.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas por todos os ensinamentos.

A minha namorada Simone pelo carinho, apoio e compreensão desprendidos nessa etapa de minha vida.

Aos funcionários do Departamento de Biologia, pelo carinho e ajuda na realização deste trabalho, especialmente, ao Léo, Lindolfo, Dona Irondina e Heloísa.

A todos aqueles que, embora não citados, contribuíram para a concretização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 A Cultura do feijão no Brasil.....	3
2.2 Mofo branco.....	4
2.3 Mecanismos de infecção e sintomas de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	6
2.4 Métodos de avaliação da reação do feijoeiro ao mofo branco	7
2.5 Controle genético do feijoeiro para resistência ao mofo branco.....	11
2.6 Seleção assistida por marcadores moleculares (SAM).....	13
2.7. SAM na recuperação do genoma recorrente em retrocruzamentos.....	14
2.8 Antracnose.....	16
2.9 Mancha angular.....	17
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1 Locais.....	19
3.2 Obtenção das progênies avaliadas.....	19
3.3 Avaliações das progênies em campo.....	20
3.4 Procedimentos experimentais.....	21
3.5 Avaliações das características.....	21
3.6 Avaliação das progênies por meio do SCAR <i>Phs</i>	23
3.7 Avaliação das progênies por meio da inoculação com micélio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	23
3.8 Preparo do inoculo de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> e avaliação da reação de resistência das progênies.....	23
3.9 Análise dos dados de características agrônômicas.....	24

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
4.1 Tipo de grãos.....	30
4.2 Produção de grãos.....	32
4.3 Reação à Mancha-angular.....	34
4.4 Porte.....	35
4.5 Resistência fisiológica ao mofo branco.....	37
4.6 Reação de resistência à antracnose.....	39
4.7 Análise conjunta para tipo de grãos, porte e produção.....	41
4.8 Ganhos com a seleção e correlação entre os caracteres.....	42
5 CONCLUSÕES.....	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

Resumo

LIMA, Igor Almeida. **Seleção de progênies de feijoeiro tipo carioca em populações de retrocruzamento para resistência ao mofo branco, antracnose e mancha angular.** 2010. 56 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

A obtenção de cultivares resistentes é uma alternativa para auxiliar no controle do mofo branco. Assim, objetivou-se, neste trabalho, selecionar progênies mais resistentes a essa doença e com boas características agronômicas, tais como tipo de grãos carioca, porte arbustivo, boa produtividade de grãos, resistência à mancha angular e à antracnose. As plantas e progênies foram derivadas de três populações de retrocruzamentos (RC) diferentes, VC3(VC3 x Ex Rico 23), VC3(VC3 x G122); M20[M20(M20 x G122)], com e sem a marca do SCAR *Phs* para resistência parcial ao mofo branco e mais similar, geneticamente, aos genitores recorrentes. Para a reação ao mofo branco foi realizada inoculação artificial com o micélio do patógeno em campo (*straw test*) em 48 progênies (27 F_{2:5} do RC₁ e 21F_{1:4} do RC₂) e na linhagem M20. Apenas duas progênies apresentaram o SCAR *Phs*. Isso já era esperado uma vez que o segmento de DNA, marcado por este SCAR, encontra-se na proteína faseolina T e, assim, não deve estar presente para tipo de grão carioca cuja faseolina é do tipo S. As progênies apresentaram ampla variação para produtividade e tipo de grãos, reação à mancha angular, porte e à raça 2047 de *C. lindemuthianum*. As cinco progênies selecionadas apresentaram alta produtividade de grãos, tipo de grãos, similares ao genitor recorrente M20, porte arbustivo e resistência à mancha angular. Três progênies das cinco selecionadas têm o alelo de resistência *Co-4²* ao *C.lindemuthianum*.

*Orientador: João Bosco dos Santos - UFLA

ABSTRACT

LIMA, Igor Almeida. **Selection of bean progenies with carioca type in backcrosses populations for resistance to white mold, anthracnose and angular leaf spot.** 2010. 56 p. Dissertation (Master in Plant Genetics and Breeding Program) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

The acquisition of resistant cultivars is an alternative to aid in the control of white mold. So, the objective was to select more resistant progenies to that disease and with good agronomic traits, such as carioca grain type, upright plants, good grain yield, anthracnose and angular leaf spot resistant. Plants and progenies were derived from three backcrosses (BC) populations, VC3 x (VC3 x Ex Rico 23), VC3 (VC3 x G122) and M20 [M20 (M20 x G122)], with and without the fragment of *Phs* SCAR for partial resistance to white mold and genetically more similar to the recurrent parent. For the reaction to white mold it was performed artificial inoculation with mycelium of the pathogen in the field using the straw test in 48 progenies (27 F_{2:5} BC₁ and 21 F_{1:4} BC₂) and in the M20 line. Only two progenies showed the *Phs* SCAR. It was already expected, since the DNA segment marked by this SCAR is in the phaseolin T type gene, and thus should not be present at carioca grain type, which phaseolin is S type. The progenies showed wide variation for grain yield, grain type, reaction to angular leaf spot, upright plant and for reaction to the race 2047 of *C. lindemuthianum*. The five selected progenies had high grain yield), grain type similar to the recurrent parent M20, upright plants and resistance to angular leaf spot. Three progenies out of those five selected have the *Co-4²* allele for resistance to *C.lindemuthianum*.

* Major professor: João Bosco dos Santos - UFLA

1 INTRODUÇÃO

A ocorrência de doenças, como mofo branco, antracnose e mancha angular, contribuem para a baixa produtividade e risco de prejuízo na implantação da cultura do feijão. Entre as doenças do feijoeiro, o mofo branco é uma das que mais crescem em importância, principalmente, por causa da adoção de cultivos mais intensivos e sucessivos sob irrigação. Além de alta umidade, temperaturas amenas favorecem sobremaneira o desenvolvimento da doença. Assim o centro sul do Brasil é a região na qual o patógeno vem causando os maiores danos.

Em áreas ainda não infectadas, o controle preventivo da doença deve ser realizado pela adoção de sementes de boa qualidade sanitária, pela limpeza de equipamentos provenientes de áreas infectadas e pela inspeção rigorosa da lavoura na fase reprodutiva, para a erradicação imediata de qualquer foco da doença. Em solos infestados, são recomendadas medidas integradas de controle, pois, em função da rapidez de desenvolvimento da doença, em condições de ambientes favoráveis, medidas isoladas têm se mostrado ineficientes. Recomenda-se o controle químico, preferencialmente, feito de forma preventiva, à época do florescimento, quando do fechamento da cultura e a utilização de práticas culturais, tais como rotação de culturas, diminuição da densidade de semeadura, eliminação de restos culturais, redução da irrigação e uso de antagonistas no solo.

A medida de controle ao mofo branco mais eficiente é a resistência genética de linhagens ao fitopatógeno. Está restrita a alguns genótipos, fontes de resistência (Kolkman & Kelly, 2002), com potencial de uso nos programas de melhoramento, os quais embora não sejam adaptados, agronomicamente, às nossas condições, não apresentam possibilidades de utilização direta pelos produtores. Desse modo torna-se necessária a transferência de alelos de

resistência dessas fontes não adaptadas, para cultivares elites, valendo-se de retrocruzamentos, selecionando aquelas resistentes e mais similares aos genitores recorrentes. Entretanto, em consequência da dificuldade de avaliação, da natureza parcial da resistência e da grande influência ambiental, não se tem obtido sucesso nos programas de melhoramento.

O mecanismo de resistência ao mofo branco está associado à resistência fisiológica (parcial) e a mecanismos de escape como condições climáticas, precocidade de floração e a caracteres morfológicos; em especial, ao porte, à arquitetura das plantas e à porosidade do dossel (Kolkman & Kelly, 2002), que afetam as condições microclimáticas e limitam o desenvolvimento do patógeno. Alguns estudos indicam que no hábito de crescimento há uma contribuição até mesmo maior para resistência de campo do que a resistência fisiológica (Huang et al., 2003). Assim, neste trabalho objetivou-se obter progênies mais resistentes ao mofo branco e com boas características agronômicas, tais como tipo de grãos carioca, porte arbustivo, boa produtividade, resistência à mancha angular e à antracnose.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A Cultura do feijão no Brasil

A cultura do feijão vem sofrendo grandes transformações no seu sistema de cultivo. Na década de 1980, com o advento da irrigação, essa cultura destacou-se como uma nova opção para a safra de inverno (Aidar, 2003). Hoje, o feijoeiro comum é cultivado em três safras por ano, em todos os estados da federação, em um expressivo número de propriedades, sob diferentes ambientes e variados sistemas de produção (Costa & Costa, 2006).

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) é uma cultura de grande importância econômica e social para o Brasil e apesar das transformações no sistema de cultivo, a maioria, ainda, é realizada por pequenos produtores constituindo, assim, fonte de renda para eles. Seus grãos constituem uma das principais e mais acessíveis fontes de minerais, aminoácidos e fibras para os brasileiros, estando presente, diariamente, na dieta da população. A cultura do feijoeiro tem recebido destaque por organizações de combate à desnutrição por micronutrientes essenciais, tais como o programa Harvestplus, devido aos altos teores de Fe e Zn, apesar da alta variabilidade genética e ambiental presente nestes teores. Por essas razões, o país é o maior produtor e consumidor mundial dessa leguminosa.

A produtividade de grãos de feijão no país, embora crescente, ainda é pequena. Há vários fatores que contribuem para a redução na produtividade. Miklas (2006) apresenta uma revisão dos principais estresses bióticos que afetam a cultura, dentre eles destacam-se a ocorrência de vírus, bactérias, fungos e de determinadas pragas.

Os programas brasileiros, para o melhoramento genético do feijoeiro, têm dado maior ênfase à obtenção de cultivares do grupo comercial Carioca pela grande demanda do mercado (Zimmerman & Teixeira, 1996). Além do tipo de

grão, grande atenção é dispensada aos níveis de produtividade e resistência genética a doenças.

2.2 Mofo Branco

Entre as doenças do feijoeiro, o mofo branco é uma das que mais crescem em importância, principalmente, graças à adoção de cultivos mais intensivos sob irrigação. O mofo branco é causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, sendo um patógeno de importância mundial, com mais de 408 espécies de plantas hospedeiras (Boland & Hall, 1994). É uma ameaça maior às dicotiledôneas entre elas girassol, soja, feijão e, também, para algumas monocotiledôneas como cebola e tulipas (Boland & Hall, 1994) e plantas daninhas. Perdas anuais em razão aos danos causados por esta doença chegaram aos 280 milhões de dólares apenas nos E.U.A (National Sclerotinia Initiative - NSI, 2010).

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary pertence à subdivisão Ascomycotina, classe Discomycetes, ordem Helotiales, família Sclerotiniaceae e gênero *Sclerotinia* (Bolton, 2006).

As condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento do fungo são: temperatura amena e alta umidade. Sua ocorrência mais comum é na safra de inverno em áreas irrigadas no centro sul do Brasil. Pode ocorrer, também, na safra das secas e das águas, mesmo em áreas não irrigadas, dependendo de temperaturas amenas e precipitações moderadas, principalmente, no estágio da floração e na safra das águas. O grande crescimento vegetativo desta época dificulta o arejamento e a penetração de luz e favorecendo a doença.

Um agravante desse patógeno é formar estruturas de resistência conhecidas como escleródios, que sobrevivem por vários anos no solo mesmo em ambientes desfavoráveis (Oliveira, 2005). A forma e tamanho dos escleródios dependem do hospedeiro e da localização em que são formados,

interna ou externamente à planta. No feijoeiro são globosos com cerca de 2-10 mm de diâmetro. Podem germinar de forma carpogênica, formando apotécios ou miceliogênica originando micélios.

A geminação carpogênica (sexual) é considerada, por vários autores, como a principal responsável pelas epidemias em campo (Karl et al., 1997). Cada escleródio pode produzir em média cinco, seis ou mais apotécios e cada apotécio pode produzir milhões de ascósporos. Os esporos (ascósporos) são dispersos pelo vento e/ou pela água. A disseminação pode ser por meio das sementes, aderidas aos implementos agrícolas, em restos de cultura ou em forma de micélio dormente e iniciar o processo da doença. Na geminação miceliogênica há a produção de micélio hialino e septado.

São vários os fatores que influenciam na geminação dos escleródios desse fungo, tais como: os nutrientes do substrato no qual o escleródio é formado, a idade dos escleródios, os fatores ambientais como umidade, temperatura, luz, pH do solo, aeração, profundidade na qual o escleródio se encontra no solo e o tipo de solo (Phillips, 1987). O solo não cultivado apresenta indícios de características supressivas evidenciadas por retardamento do aparecimento de estipes e formação mais lenta dos apotécios, em relação ao solo cultivado (Costa & Costa, 2006; Brandão et al., 2008). Com relação ao sistema de cultivo em plantio direto, a incidência da doença foi menor. É possível que a palha de milho e/ou braquiária atue como uma barreira física à emergência de apotécios, uma vez que os estipes têm fototropismo positivo. A palhada, também, contribui para que a parte aérea não entre em contato com o solo contaminado. A palha pode, ainda, favorecer microrganismos antagônicos ao patógeno, seja pelo ataque direto ou indireto pela produção de substâncias inibidoras (Coley-Smith & Cooke, 1971).

Em geral, as formas de prevenção do mofo branco são: utilizar sementes sadias, racionalizar e uniformizar a lâmina d'água na lavoura, evitar o período

mais frio, promover ou incrementar microrganismos antagônicos no solo, como o *Trichoderma*, controlar plantas daninhas suscetíveis e lavar máquinas e implementos agrícolas utilizados em áreas contaminadas com mofo branco. O florescimento, quando do fechamento da cultura, fase mais propícia ao início do controle químico deve ser, preferencialmente, de forma preventiva, à época do desenvolvimento da doença (Moraes et al., 2008; Rava, 2007). O controle na densidade de semeadura, espaçamento entre plantas e arquitetura das plantas são considerados mecanismos de escape das plantas ao fungo que, também, influenciam no sucesso do controle (Huang et al., 2003). No Brasil, não há disponibilidade para os produtores de feijão, de uma cultivar resistente ao mofo branco, medida que seria a mais indicada e econômica para o manejo da doença. É importante frisar que a resistência ao mofo branco é, em parte, fisiológica e, em parte, porque há mecanismos de escape, com destaque para o porte arbustivo que permite maior arejamento e luminosidade.

2.3 Mecanismos de infecção e sintomas de *S.sclerotiorum*

A infecção ocorre, geralmente, na junção do pecíolo com a haste, cerca de 10 a 15 cm do solo, em que as flores folhas e demais tecidos senescentes, geralmente, ficam retidos sob temperatura amena e alta umidade (Oliveira, 2005). Quando a lesão circunda a haste, a parte aérea da planta sofre murcha e morre. O fungo ataca toda a parte aérea da planta, principalmente, no início da floração ou após a polinização das flores, as quais servem como fonte básica de nutrientes para iniciar as infecções por ascósporos que, além de tecido senescente, necessitam de um filme d'água para iniciar a infecção (Hunteer et al., 1978). Nos órgãos infectados são encontradas lesões encharcadas, de coloração parda e consistência mole, com micélio branco de aspecto cotonoso, cobrindo os tecidos da planta. Com o progresso da doença, as folhas e os caules infectados tomam-se marrons e permanecem eretos, mesmo com a morte da planta.

A invasão dos tecidos pelas hifas fúngicas se dá pelas secreções de ácido oxálico e outras enzimas como a poligalacturonase. O ácido oxálico é supressor da explosão oxidativa em plantas hospedeiras, desativando, portanto, um dos mecanismos mais importantes de resistência das plantas (Cessna et al., 2000). A explosão oxidativa é a liberação controlada de O_2 e H_2O_2 no local de invasão do patógeno. Especula-se que essa reação seja necessária para várias respostas defensivas subsequentes.

O ácido oxálico por seu baixo pH (~4), também, favorece a degradação da parede celular vegetal dos tecidos infectados e a máxima atividade das enzimas degradantes da parede celular. Além disso, remove íons de Cálcio, vinculados a pectinas, expondo, assim, as células hospedeiras às enzimas catabólicas fúngicas (Bateman, 1965).

Segundo Guimarães & Stotz (2004), o ácido oxálico causa sintomas de ressecamento foliar por perturbação das funções das células guardas que alteram a osmoregulação dessas células, além de interferirem no hormônio ABA, induzindo a abertura estomática.

2.4 Métodos de avaliação da reação do feijoeiro ao mofo branco

A resistência do feijoeiro ao mofo branco é complexa e pode ser dividida em resistência, em virtude de mecanismos de escape da planta como porte mais arbustivo, possibilitando, logo, um maior arejamento, entrada de luz e a resistência fisiológica propriamente dita (Huang et al., 2003).

Há várias metodologias propostas para avaliar a reação de resistência do feijoeiro ao mofo branco. Uma delas é a avaliação da doença por intermédio de um método indireto, em que as cultivares/progênes são avaliadas considerando-se a reação ao ácido oxálico, (Kolkman & Kelly, 2003; Antonio et al., 2008). Metodologias diretas artificiais, por meio da inoculação artificial do micélio do

fungo multiplicado em laboratório em meio de cultura BDA (Batata dextrose Agar), consistem de inoculação nas folhas primárias, nas axilas das folhas primárias ou na haste principal cortada, em casa de vegetação ou no campo (Tolêdo-Souza & Costa, 2003). Há ainda métodos que utilizam campos com histórico da doença ou utilizando-se de escleródios cultivados em laboratório que contaminam a área experimental (Huang et al., 2003).

Alguns melhoristas optam pela avaliação da doença no campo. Há, porém, algumas dificuldades como disponibilidade de áreas uniformemente infectadas, ou de infecção homogênea e efetiva de uma área extensa com escleródios e dependência de condições ambientais favoráveis para o desenvolvimento da doença (Lehner et al., 2008). Há, também, que se considerar a presença de isolados diferentes em termos de agressividade numa mesma área. Cultivares ou progênies com porte mais arbustivo, também, comportam-se de modo diferente daquelas com porte mais prostrado, mascarando a resistência fisiológica. (Huang et al., 2003).

Quanto ao método indireto da reação do feijoeiro ao ácido oxálico, diversos estudos mostram o relacionamento entre este ácido produzido por *S. sclerotiorum* e sua patogenicidade (Tolêdo-Souza & Costa, 2003). Entre esses a observação de mutantes de *S. sclerotiorum* não patogênicos, deficientes em sintetizar oxalato.

Nesse método indireto, plântulas com cerca de 20 dias de idade (emergência da segunda folha trifoliolar) são cortadas na base do caule que é envolto por uma espuma e colocado sobre um suporte de isopor perfurado, flutuante sobre uma solução de ácido oxálico 20 mM, pH 4,0. Após cerca de 12 a 15 horas, as plântulas são avaliadas para sintomas de murcha em uma escala de 1 (ausência de folhas murchas) a 6 (planta completamente murcha) conforme Kolkman & Kelly (2000). Embora esse método possa rapidamente discriminar genótipos (Gonçalves & Santos, 2008), quanto a este importante mecanismo de

resistência fisiológica, é importante considerar que outros mecanismos devam constituir a resistência fisiológica (Huang et al., 2003).

O *straw test* ou teste do canudo é o método mais simples de avaliação da resistência fisiológica e considerado um dos mais eficientes, para auxiliar na identificação, na caracterização e na seleção de genótipos resistentes ao mofo branco, sendo o mais utilizado nos programas de melhoramento (Terán & Singh, 2008). Apresenta a vantagem de não ser destrutivo, que permite o avanço do programa de melhoramento para a obtenção de progênes resistentes.

O *straw test* foi descrito por Petzoldt & Dickson (1996). Neste teste, as plantas são inoculadas de três a cinco semanas após a sementeira. Para se obter o micélio para a inoculação os escleródios são submetidos à assepsia e são depositados em placas de petri com meio BDA com antibiótico Clorafenicol e Panvit. As placas são colocadas em câmara incubadora por sete dias, a 22°C e fotoperíodo de 12 horas. É necessária a repicagem, por meio de discos com um furador de 0,7 mm de diâmetro, para placas contendo meio BDA, para seguir um crescimento mais uniforme do micélio. Após três dias a esta repicagem, a placa geralmente fica coberta com micélio. Ponteiras eppendorf são usadas para cortar o disco de BDA, de modo que o micélio fique em contato com o ápice cortado da planta. Seis a oito dias após a inoculação são realizadas as avaliações, segundo a seguinte escala descritiva da reação ao mofo branco: 1 - plantas sem sintomas; 2 - invasão do fungo além do sítio de inoculação; 3 - invasão do fungo próximo ao primeiro nó; 4 - quando o fungo atinge o primeiro nó; 5 - invasão do fungo além do primeiro nó; 6 - invasão do fungo próximo ao segundo nó; 7 - quando o fungo atinge o segundo nó; 8 - invasão do fungo além do segundo nó e 9 - morte da planta.

Em avaliações da reação de feijoeiro ao patógeno no campo, podem-se utilizar campos com histórico de infestação, ou infestar campos com escleródios de meios de cultura BDA.

Na avaliação de campo, fatores ambientais são limitantes, como anos que são mais quentes e secos ou mais frios e úmidos, principalmente, durante e após a floração. Kim et al. (2000) encontraram efeito significativo para ambiente e interação genótipos x ambientes, demonstrando, assim, grande efeito do ambiente nessas avaliações. Huang et al. (2003), considerando a resistência a mecanismos de escape e fisiológicos, avaliaram 16 cultivares de feijão de diferentes hábitos de crescimento e níveis de resistência fisiológica, de 1998 a 2000, em dois locais, em blocos casualizados com seis repetições e parcelas de quatro linhas de 3,5m. Em uma área de 2,5 m de comprimento por 0,12 m de largura entre as linhas, um e dois e três e quatro de cada parcela, 100 escleródios foram enterrados a 2,5 cm de profundidade. Os escleródios foram produzidos em placas, contendo meio de cultura BDA, com oito semanas a 10°C. Cada cultivar foi avaliada para incidência da doença e a diminuição da produtividade, sob baixa (controle com fungicida) e alta pressão de doença (sem aplicação de fungicida). Avaliou-se, também, porte e a resistência fisiológica. Os resultados indicaram que o hábito de crescimento teve uma contribuição até mesmo maior para resistência de campo do que a resistência fisiológica.

Apesar de considerar que o *straw test* não quantifique toda resistência fisiológica (Miklas et al., 2001), foi observada forte correlação entre os resultados do *straw test*, aplicado em casa de vegetação e entre áreas naturais com infecção de mofo branco (Hall & Phillips, 1997, 1998).

O *straw test*, também, foi utilizado, para detectar vários QTL's (Quantitative Trait loci), em blocos gênicos para resistência a vários patógenos. Entre eles um QTL da linhagem G122, localizado no grupo de ligação B7, que exhibe grande efeito, explicando de 42% a 64% da variação, na reação ao mofo branco, em duas populações de feijão em casa de vegetação e de 12% a 17% no campo (Miklas, 2006). A grande diferença entre a variação explicada pelo QTL,

em casa de vegetação e no campo, deve-se a mecanismos de escape das plantas e condições climáticas adversas no campo.

Miklas et al. (2001) concluíram que a resistência fisiológica detectada pelo método *straw test* é um componente da resistência no campo, ou seja, tanto a resistência fisiológica quanto os mecanismos de escapes das plantas contribuem para resistência a campo, que pode superestimá-la. Huang et al. (2003) sugerem que a combinação da resistência fisiológica com mecanismos de escape da planta seja uma estratégia atual de melhoramento, visando minimizar a perda da produção por causa dos danos causados por esse fitopatógeno.

2.5 Controle genético do feijoeiro para resistência ao mofo branco

O conhecimento do tipo de ação gênica que predomina, no controle genético de um caráter, é um ingrediente importante para uma condução eficiente de um programa de melhoramento. Quando o controle genético é complexo, envolvendo muitos locos, ou então, quando a influência de fatores ambientais sobre a expressão do caráter for pronunciada, entende-se ser difícil conhecer com detalhe a natureza da ação gênica presente (Vencovsky & Barriga, 1992).

O mecanismo de resistência ao mofo branco está associado à resistência fisiológica (parcial) e a mecanismos de escape, como condições climáticas e caracteres morfológicos, em especial ao porte, à arquitetura das plantas e à porosidade do dossel (Kolkman & Kelly, 2002). Este caráter afeta as condições microclimáticas como umidade, luminosidade, aeração, bem como a deposição de água, influenciando no estabelecimento e desenvolvimento do fungo (Kolkman & Kelly, 2003). O clima, nos anos mais chuvosos e com temperaturas mais amenas, determinam maior intensidade da doença (Kim et al., 2000).

As conclusões que se obtêm em pesquisas sobre o tipo de ação dos genes são dependentes dos materiais genéticos estudados, numa dada espécie. É, pois,

temeroso se, com base em estudos feitos em certos cruzamentos, inferir-se a respeito do controle genético de um dado caráter para a espécie como um todo.

A resistência fisiológica de cultivares deveria ser a maneira mais eficiente de controle do mofo branco. Entretanto, a resistência completa é inexistente no feijoeiro, embora progênies com certos níveis de resistência fisiológica tenham sido identificadas por meio do método indireto do ácido oxálico (Gonçalves & Santos, 2008). A dificuldade em desenvolver progênies resistentes a esse fitopatógeno deve-se ao fato de a resistência fisiológica ser quantitativa, com moderada a baixa herdabilidade, considerando-se ser imprecisa a avaliação (Miklas et al., 2004).

Foram identificados, de forma independente, mais de 10 locos de caracteres quantitativos (QTL) que condicionam resistência ao mofo branco. A identificação de QTL's tem se limitado a bases genéticas limitadas e à resolução biparental, além de ter, geralmente, seu efeito medido em poucos ambientes, tornando questionável a sua relevância, quando introduzidos por meio de cruzamento com germoplasmas do exterior, por causa da interação QTL por ambiente (Harjes et al., 2008).

Miklas et al. (2001) observaram a extrema importância dos mecanismos de escape da planta para reduzir a severidade da doença em campo. Esses autores constataram que a linhagem A55, de porte ereto e hábito de crescimento determinado, foi suscetível em casa de vegetação, porém, resistente no campo. Estes mesmos autores, também, afirmaram que, além do QTL que confere resistência ao mofo branco, outros quatro que conferem resistência a outros tipos de doença estão localizados no mesmo grupo de ligação B7. Em feijão, bem como em outras espécies, os genes de reação aos patógenos ocorrem, frequentemente, em grupos (Ashfield et al., 1998).

Poucos trabalhos foram realizados para identificar o controle genético da resistência ao mofo branco, especialmente, em feijão. Miklas et al. (2001)

observaram que a herdabilidade da resistência do feijoeiro ao mofo branco, quando estimada em casa de vegetação, pelo método do *straw test*, foi mais baixa (0,65) do que quando estimada no campo (0,78). Este fato se deve à resistência fisiológica, detectada pelo *straw test*, ser um dos componentes da resistência no campo, ou seja, tanto a resistência fisiológica quanto os mecanismos de escape contribuem para a resistência em campo.

Segundo Antonio et al. (2008), que avaliaram pelo método do ácido oxálico a reação de progênies $F_{2:3}$ do RC_1 , G122 (G122 x VC3) e Carneiro (2009) que avaliaram progênies $F_{2:3}$ do RC_1 M20 (G122 x M20), por meio do *straw test*, há predominância da variância aditiva no controle da expressão da reação de resistência parcial (fisiológica) do feijoeiro ao mofo branco. Ambas as autoras concluíram que as estimativas das herdabilidades, no sentido amplo, obtidas (0,47 e 0,53), indicam que a seleção é mais eficiente com base na média de progênies e com inoculações múltiplas.

2.6 Seleção assistida por marcadores moleculares (SAM)

No melhoramento genético de plantas busca-se, cada vez mais, a manipulação assistida por marcadores moleculares. Ao visar obter maior eficiência na transferência de alelos de características econômicas, sejam eles para características monogênicas, oligogênicas (qualitativas) e até mesmo poligênicas (quantitativas), por intermédio da utilização de vários tipos de marcadores, com destaque para os SNP's (Single Nucleotide Polimorphism). Marcadores têm permitido a seleção indireta de características desejáveis e a recuperação do genoma recorrente em gerações segregantes precoces (Borém & Caixeta, 2006). Esta estratégia reduz o tempo e a energia necessária, não só para trabalhar, experimentalmente, com grandes populações segregantes por várias gerações, mas também para estimar parâmetros genéticos na seleção assistida.

A seleção indireta, com base em marcadores, deve ser avaliada, considerando-se, simultaneamente, intensidade de seleção, herdabilidade, correlação genética, duração de uma geração de melhoramento (seleção e recombinação) e custo de cada alternativa, caso a caso (Ferreira & Grattapaglia, 1998). A herdabilidade da característica-alvo, talvez, seja a mais importante, devendo, assim, nortear as decisões quanto ao uso da seleção assistida frente aos métodos tradicionais de condução da população segregante. A SAM será mais efetiva, quando os QTL's (Quantitative Trait Loci) forem mapeados, seus efeitos estimados em situações em que a herdabilidade é alta e a seleção for realizada quando a herdabilidade é baixa (Bernardo, 2002). Um exemplo deste caso é a utilização de marcadores moleculares para seleção da reação de resistência a nematoides em soja. Lande & Thompson (1990) sugerem que, quando a proporção da variância aditiva, explicada pelos marcadores, excede a herdabilidade da característica, as vantagens da SAM podem superar aquelas do melhoramento tradicional.

Desde que ligações entre caracteres são comuns, tanto atração como repulsão foram relatadas entre marcadores e caracteres de resistência às doenças no feijão (Haley et al., 1994). Localizado no grupo de ligação B7, numa região que inclui os locos *Phs* e *Asp*, codificadores da proteína faseolina, o gene que condiciona brilho nas sementes é um QTL para resistência ao crestamento bacteriano. O grupo de ligação B7, também, foi identificado como local para resistência ao mofo branco em duas populações puras, recombinantes e, geneticamente, distintas (Park et al., 2001; Kolkman & Kelly, 2003).

2.7 SAM na recuperação do genoma recorrente em retrocruzamentos

O uso da seleção assistida, também, pode ser muito útil no processo de retrocruzamentos na recuperação do genoma do genitor recorrente. Os retrocruzamentos são utilizados no melhoramento de plantas, quando se deseja

introduzir, transferir um ou poucos alelos de características de herança simples, monogênica e/ou, ultimamente, até mesmo de herança poligênica, (Miklas, 2006) provenientes, na maioria, de genótipos não adaptados.

Este método de condução de população segregante consiste em cruzar um genitor doador que possui o alelo ou região genômica (QTL) favorável a ser incorporado com um genitor recorrente (GR) deficiente do alelo favorável, porém, adaptado. A F_1 deste cruzamento é novamente cruzada (retrocruzada) com o GR e as progênies são selecionadas quanto à presença do(s) alelo(s) ou (QTL's) de interesse e para maior similaridade genética ao genitor recorrente via marcadores moleculares. A população segregante é cruzada novamente com o GR, selecionando-se, mais uma vez, aquelas progênies com o alelo ou QTL favorável introduzido e mais similares ao genitor recorrente (Borém & Caixeta, 2006). Em média, a cada geração de retrocruzamento, recupera-se metade da constituição genética do genitor recorrente em relação à geração anterior. Por exemplo, na F_1 têm-se 50% do (GR) e no RC_1F_1 têm-se em média 75% do GR.

Esses valores médios de recuperação do genoma, recorrente a cada geração de retrocruzamento, podem sofrer desvios significativos, em razão do pequeno número de plantas selecionadas, da quantidade e distribuição dos marcadores pelos grupos de ligação da espécie. Devem ser escolhidos os marcadores espaçados a pelo menos 20 cM (Openshaw et al., 1994) e pela falta de controle, sobre o tamanho da região genômica do parental doador, próxima ao gene alvo, que é introgridida por arraste genético (Borém & Caixeta, 2006). Esses desvios tendem a ser contra a recuperação do genoma recorrente, uma vez que a seleção fenotípica é feita para o fenótipo do genitor doador. Em um estudo com 16 plantas RC_1F_2 , selecionadas para elevado teor de proteínas no grão, a média do genoma recorrente na população foi de 53,5%, enquanto o esperado era de 75%. A diferença ocorreu em virtude do fato de que os alelos de interesse

do caráter (do genitor doador) fossem de herança quantitativa, envolvendo vários genes distribuídos no genoma (Borém & Caixeta, 2006).

Mesquita et al. (2005) obtiveram, em dois ciclos de retrocruzamento assistido, utilizando 68 marcadores SSR (Single Sequence Repeat), plantas de milho selecionadas para baixa inserção da espiga (genitor doador) com 98,2% do genoma recorrente (porcentagem média esperada para o quinto ciclo retrocruzamento).

Carneiro (2009), utilizando 23 primers SSR polimórficos numa população de 113 plantas F_1RC_2 , obteve em média $83\pm 7,3\%$ (dos alelos marcados pelos primers polimórficos) na recuperação do genoma recorrente, resultado coerente com a média esperada na geração F_1RC_2 de 87,5%. Com a seleção das 20 plantas mais similares ao GR, elas apresentaram 92% de similaridade, semelhante à proporção média de alelos do GR em RC_3 .

2.8 Antracnose

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

Como principais sintomas, podem ser observados a presença de lesões marrom-escuras ou negras nos cotilédones, quando a transmissão da doença é realizada por meio das sementes, podendo surgir, também, lesões no caule e no pecíolo. Nas folhas, o sintoma mais característico é o surgimento de lesões escuras ao longo das nervuras na face inferior da folha. Nas vagens, as lesões apresentam-se como cancos deprimidos de forma arredondada, com

margens ligeiramente proeminentes, delimitadas por um anel preto, com borda laranja-avermelhada.

O fungo *C. lindemuthianum* possui ampla variabilidade patogênica, pelo elevado número de raças fisiológicas existentes, aumentando a dificuldade no emprego da resistência genética. O desenvolvimento de cultivares resistentes via melhoramento genético é viável, pois, existem vários genes independentes, símbolo *Co*, referente à *Colletotrichum* (Bassett, 1996) que conferem resistência a várias raças do patógeno (Pastor-Corrales et al., 1994; Rava et al., 1994; Young & Kelly, 1996).

Destaque deve ser dado ao alelo *Co-4²*, que confere resistência a todas as raças do patógeno até hoje encontradas no Brasil. Este alelo já se encontra presente na linhagem M20, desenvolvida pelo programa de melhoramento genético do feijoeiro da UFLA. Somente raças, que causem sintoma na diferenciadora (G2333), são capazes de ‘quebrar’ a resistência determinada por este alelo *Co-4²*.

2.9 Mancha angular

Até o final da década de 1980, a mancha angular, causada pelo fungo *Pseudocercospora griseola*, era conhecida como doença de pouca importância econômica, por ocorrer no final do ciclo da cultura, quando a produção já estava, praticamente, garantida (Vieira, 1994). Entretanto, algumas mudanças fizeram com que esta doença passasse a ser apontada como uma das mais importantes da parte aérea, causando perdas de até 70%, especialmente, nas safras da seca (outono/inverno), quando as temperaturas são mais amenas. Dentre essas mudanças, cita-se o plantio de cultivares suscetíveis, associado a ambientes favoráveis e em, praticamente, todo o ano (três safras). Com isso, criaram-se condições ideais para o desenvolvimento e permanência do patógeno no campo (Paula Júnior & Zambolim, 1998; Sartorato, 2005).

Os sintomas podem ser visualizados nas folhas, vagens, caules e ramos, embora sejam mais comuns e, facilmente, identificados nas folhas (Sartorato, 2005). Nas folhas primárias, as lesões não possuem um formato característico, tendendo para circulares e diferindo do sintoma típico. Este pode ser observado nas folhas trifolioladas, na forma de lesões angulares, em razão da limitação do desenvolvimento do patógeno pelas nervuras das folhas (Paula Júnior & Zambolim, 1998). Quando as lesões atingem grande número, é comum sua união em uma mesma folha, que causa necrose parcial, amarelecimento das folhas e, por fim, um desfolhamento prematuro. Nos caules e ramos, as lesões são alongadas. Nas vagens, as lesões são, a princípio, superficiais, quase circulares e com bordos escuros.

Os principais agentes de disseminação do patógeno são respingos de chuva, sementes contaminadas, restos de cultura deixados no campo e, principalmente, o vento. Quase todas as cultivares recomendadas no país são, em maior ou menor grau, suscetíveis à mancha angular (Vieira, 1994; Caixeta, 2002; Melo et al., 2004). Conhecem-se vários genes envolvidos no controle da resistência vertical, e alguns alelos já foram, igualmente, identificados por meio de marcadores. Adicionalmente, já foi identificada ocorrência de resistência horizontal que, seguramente, é mais importante do que a vertical para esse patógeno, dada a sua elevada variabilidade patogênica (Caixeta, 2002).

É importante mencionar que a linhagem M20, utilizada no programa de retrocruzamento, visando à resistência ao mofo branco, possui resistência parcial à mancha angular. Essa resistência, provavelmente, é derivada da cultivar Jalo (Silva, 2005), a qual tem se perdurado no sul de Minas Gerais por mais de duas décadas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Locais

OS experimentos foram conduzidos, na área experimental do Departamento de Biologia (DBI) da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e na fazenda experimental da FAEPE (Fundação de Apoio ao Ensino Pesquisa e Extensão) situada a 2 km do DBI. O município de Lavras situa-se na região sul do estado de Minas Gerais, a 918 metros de altitude, 21°14' de latitude Sul e 45° de longitude oeste.

3.2 Obtenção das progênies

Foram utilizadas progênies derivadas de três retrocruzamentos: VC3 (VC3 x G122), VC3 (VC3 x Ex Rico 23) e M20[M20(M20xG122)]. A linhagem VC3 está em fase final de avaliação para lançamento como cultivar. Ela é proveniente do programa de melhoramento de feijão da UFV, é do tipo Carioca, com tipo de grãos superiores às cultivares, atualmente, em uso, hábito de crescimento tipo III, resistência a algumas raças de *C. lindemuthianum* e alta produtividade de grãos. A linhagem M20, proveniente do programa de Melhoramento do Feijoeiro da UFLA, possui grãos tipo Carioca, hábito de crescimento tipo II, resistência às raças de *C. lindemuthianum* que ocorrem no Brasil, pois, é portadora da pirâmide *Co-4²*, *Co-5* e *Co-7*, além de possuir resistência à mancha angular proveniente da fonte Andina Jalo EEP 558. As linhagens G122 e Ex Rico 23, respectivamente, de origem andina e mesoamericana, são as fontes de resistência fisiológica ao mofo branco (Miklas et al., 2001; Kolkman & Kelly, 2003).

Do retrocruzamento um (RC₁), VC3 (VC3 x G122) foram, inicialmente selecionadas, duas progênies F_{1:2}RC₁ com base na presença do SCAR *Phs* e na maior similaridade genética ao recorrente VC3. Dentro dessas progênies foram

selecionadas algumas $F_{2,3}$. Adicionalmente foram, também, selecionadas algumas progênies F_2RC_1 , VC3 (VC3 x Ex Rico 23), mais semelhantes ao recorrente VC3, totalizando 120 progênies $F_{2,3}$. Essas progênies foram semeadas na safra das secas/2008, juntamente com duas testemunhas no delineamento do tipo blocos aumentados no inverno de 2008. Além dessas, foram utilizadas 80 progênies $F_{1,2}$ do RC_2 , M20[M20(M20xG122)], obtidas por Carneiro (2009).

3.3 Avaliações das progênies em campo

Na safra das secas de 2008, essas 120 progênies $F_{2,3}$, derivadas do RC_1 VC3 (VC3 x G122) e VC3 (VC3 x Ex Rico 23), foram avaliadas na Fazenda Experimental da FAEPE, no delineamento de blocos aumentados com parcelas de uma linha de 2m, com duas testemunhas comuns (BRS Majestoso e Talismã) repetidas a cada 10 progênies. As progênies foram avaliadas e selecionadas, quanto ao tipo de grãos, numa escala de notas de 1 a 5 (Marques Júnior, 1997).

Na safra das águas de 2009, foram avaliadas 80 progênies $F_{1,2}$ do RC_2 M20[M20(M20xG122)] e mais a testemunha M20, na área experimental do DBI na UFLA. Foi utilizado o delineamento látice 9 x 9, com 2 repetições e parcelas de uma linha de 2m.

Sessenta e seis progênies $F_{2,4}RC_1$, VC3 (VC3 x G122) e VC3 (VC3 x Ex Rico 23) e trinta e duas $F_{1,3}RC_2$, foram selecionadas quanto a tipo de grãos carioca e porte arbustivo. Estas 98 progênies e mais as testemunhas M20 e VC3 foram reavaliadas na safra das secas de 2009, na área experimental do DBI, na UFLA. Foi utilizado o delineamento látice 10 x 10, com três repetições e parcelas de uma linha de 2 m. Foram avaliadas as características porte, tipo de grão, mancha angular e produção de grãos.

Com base no resultado dessas avaliações, foram selecionadas 48 progênies, 27 do RC_1 e 21 do RC_2 , que foram reavaliadas com a testemunha M20, na safra de inverno de 2009, na Fazenda Experimental da FAEPE e no

DBI na UFLA. Na Fazenda Experimental da FAEPE, foi utilizado o delineamento látice 7x7, com três repetições e parcelas de duas linhas de 2m. Foram avaliadas as características porte, tipo e produção de grãos. No DBI a diferença foi que as parcelas foram de uma linha de 1 m (três repetições), e a única característica avaliada foi a resistência fisiológica ao mofo branco pelo *straw test*.

3.4 Procedimentos experimentais

Em relação ao manejo dos experimentos, todos eles receberam adubação na semeadura de 300 kg/ha da fórmula 8-28-16 (N-P₂O₅-K₂O), mais 150 kg/ha de sulfato de amônio em cobertura, aproximadamente, vinte dias após a emergência. A irrigação por aspersão foi utilizada quando necessário. Em todos os experimentos, o espaçamento entre linhas foi de 50 cm e a densidade de semeadura foi de 15 sementes por metro linear.

3.5 Avaliações das características

Nas avaliações para tipo de grão, foi tomado como padrão o tipo "Carioca", grãos com coloração creme-clara, rajas marrom-claro, sem halo, tamanho médio e não achatados. Foi utilizada uma escala descritiva, proposta por Marques Júnior (1997), com notas variando de 1 (grãos tipo "carioca") a 5 (grãos fora do padrão "carioca"). A avaliação de porte foi realizada por meio de um diagrama de notas, semelhante ao de Collicchio et al. (1995), com notas variando de 1 a 9, em que: 1 - hábito I ou II, planta ereta, com uma haste e com inserção alta das primeiras vagens; 2- hábito I ou II, planta ereta, com guia curta; 3- hábito I ou II, planta ereta, com algumas ramificações; 4 - hábito I ou II, planta ereta, com algumas guias longas; 5 - hábito II ou III, planta ereta, com muitas ramificações e tendência à prostrada; 6 - hábito II ou III, planta semi-ereta, pouco prostrada; 7- hábito III, planta semi-ereta, mediamente prostrada; 8

- hábito III, planta prostrada; 9 - hábito III, planta com entrenós longos, muito prostrada. As notas foram dadas em consenso por dois avaliadores.

A produção de grãos foi mensurada em g/parcela e, posteriormente, foi feita a transformação para kg/ha. A avaliação da severidade à mancha angular, baseando-se na ocorrência natural do patógeno, em campo, foi realizada em comum acordo por dois avaliadores, utilizando-se um diagrama de notas variando de 1 (ausência de sintomas visíveis) a 9 (susceptibilidade) proposto por Bergamim Filho et al. (1995) e Sartorato et al. (1996).

3.6 Avaliação das progênies por meio do SCAR *Phs*

De cada uma das 48 progênies ($F_{2:5}RC_1$ e $F_{1:4}RC_2$) obtidas e, também, dos genitores (G122, Ex Rico 23, M20 e VC3), foi extraído o DNA, de acordo com o procedimento usado por Carneiro (2009). Com relação às progênies, foram utilizadas amostras de cerca de dois gramas de folhas jovens das 10 plantas representativas de cada progênie. As progênies resultantes dos retrocruzamentos foram avaliadas quanto à resistência ao mofo branco, por meio do SCAR *Phs* desenvolvido, especificamente, para esse tipo de resistência (Miklas et al., 2001). O procedimento de amplificação e eletroforese foram semelhantes aos usados por Carneiro et al. (2008).

3.7 Avaliação das progênies por meio da inoculação com micélio de *Sclerotinia sclerotiorum* (Straw test)

Para se obter o micélio para a inoculação os escleródios, foram coletados do campo da Fazenda experimental da FAEPE, submetidos à assepsia e depositados em placas de petri com meio BDA com antibiótico Clorafenicol e Panvit. As placas foram colocadas em câmara incubadora por sete dias, a 22°C e fotoperíodo de 12 horas. Foi necessária a repicagem, por meio de discos com um

furador de 0,7 mm de diâmetro, para placas contendo meio BDA, para seguir um crescimento mais uniforme do micélio. Após três dias a esta repicagem, a placa ficou coberta com micélio.

Para a inoculação, fez-se um corte no caule principal da planta e colocou-se a ponteira plástica de micropipeta com o disco de ágar em que o micélio foi crescido. Oito dias após a inoculação, procedeu-se à avaliação da reação do feijão ao mofo branco, por meio de uma escala diagramática de 1 a 9, (Petzoldt & Dickson (1996). Em que: 1 - plantas sem sintomas; 2 - invasão do fungo além do sítio de inoculação, porém, menor do que uma polegada; 3 - invasão do fungo além de uma polegada até antes do primeiro nó; 4 - quando o fungo atinge o primeiro nó; 5 - invasão do fungo além do primeiro nó, porém, menor do que uma polegada; 6 - invasão do fungo além de uma polegada até antes do segundo nó; 7 - quando o fungo atinge o segundo nó; 8 - invasão do fungo além do segundo nó e 9 - morte da planta.

3.8 Preparo do inóculo de *C. lindemuthianum* e avaliação da reação de resistência das progênies

Foi utilizada a raça 2047 de *C. lindemuthianum*, proveniente da micoteca do Laboratório de Resistência a Doenças de Plantas do DBI/UFLA. Esta raça foi proveniente de cultura monospórica e testada, anteriormente, nas 12 diferenciadoras para confirmação de sua classificação. Considerando esta raça, foi repicada para tubos de ensaio, contendo o meio ágar e vagens de feijão em condições assépticas e incubadas em câmara de crescimento, à temperatura de 20°C +/- 2°C, por um período de 15 dias. Mediante essa cultura, foi preparada uma suspensão de esporos contendo cerca de $1,2 \times 10^6$ conídios mL⁻¹ a qual foi aplicada nas 21 progênies F_{1:4}RC₂, 10 dias após a semeadura. Somente as progênies do RC₂ foram inoculadas, pois, o alelo de resistência à antracnose, *Co-4²*, esta presente só no genitor recorrente M20. As progênies foram, previamente,

semeadas em bandejas de isopor, contendo 16 plantas de cada progênie em substrato Plantimax. A severidade da doença foi avaliada, por meio de um diagrama de notas, variando de 1 a 9, sendo nota 1 para a plântula sem sintomas e 9 para a plântula completamente morta (Rava et al., 1994). Na avaliação das progênies foram consideradas resistentes aquelas com nota média inferior a três, e suscetíveis aquelas com nota média superior a três.

3.9 Análise dos dados de características agronômicas

As análises estatísticas dos dados foram de acordo com Ramalho et al. (2005). A característica tipo de grão foi avaliada no experimento da safra das secas de 2008, em blocos aumentados e submetida à análise de variância segundo o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ik} = m + t_i + b_k + e_{ik}$$

Em que:

Y_{ik} : observação referente ao tratamento i no bloco k ;

m : média geral;

t_i : efeito fixo do tratamento i , sendo $i = 1, 2, 3, \dots, I$, que foi decomposto

em:

$g_{i(k)}$: efeito do tratamento regular i no bloco k ;

c_i : efeito da testemunha i ;

b_k : efeito aleatório do bloco k , sendo ($k = 1, 2, \dots, K$);

e_{ik} : efeito aleatório do erro experimental, associado à parcela que recebeu o tratamento i , no bloco K . Assumiu-se que os erros são independentes e, normalmente, distribuídos com média zero e variância σ^2 .

Para realizar as análises de variâncias, foi utilizado o programa SAS 9.0. (Statistical Analysis System Institute – SAS, 1985).

As características avaliadas nos experimentos de campo das safras das secas e inverno de 2009, no delineamento em látice, foram submetidas à análise individual de variância, segundo o seguinte modelo estatístico:

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

Em que:

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

m : média geral;

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

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

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

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

Para a análise conjunta, foram consideradas as médias ajustadas dos 48 tratamentos comuns (progênies) e da testemunha M20, na safra das secas e de inverno de 2009. Para certificar se os quadrados médios do erro entre as análises individuais são semelhantes, foi aplicado o teste de Hartley de homogeneidade de variância e o modelo considerado para a análise conjunta foi o seguinte:

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

Em que:

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

m : média geral;

- a_l : efeito fixo da safra l , sendo ($l = 1, 2, \dots, L$)
- t_i : efeito fixo do tratamento i , sendo ($i = 1, 2, 3, \dots, I$);
- $r_{j(l)}$: efeito aleatório da repetição j , dentro do local k , sendo ($j = 1, 2, \dots, J$);
- $b_{k(j)}$: efeito aleatório do bloco k , dentro da repetição j e da safra l , sendo ($k = 1, 2, \dots, K$);
- $(ta)_{il}$: efeito fixo da interação entre 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, que indica a quantidade da variação fenotípica observada que é provocada por causas genéticas, no grupo particular de progênies avaliadas. Essa estimativa será referida como herdabilidade (h^2).

TABELA 1 Esquema das análises de variância individuais e conjuntas.

Análise individual		
Fontes de variação	QM	F
Repetições	Q1	
Progênies (P)	Q2	Q2/Q3
Erro efetivo	Q3	
Análise conjunta		
Safra (S)	Q4	
Progênies (P)	Q5	Q5/Q7
S x P	Q6	Q6/Q7
Erro médio	Q7	

As estimativas de herdabilidade foram obtidas por meio das expressões:

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

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

As expressões para a estimativa dos intervalos de confiança foram as seguintes:

$$LI = \left\{ 1 - \left[\left(\frac{Q2}{Q3} \right) \times F_{1-\alpha/2; v1; v2} \right]^{-1} \right\}$$

$$LS = \left\{ 1 - \left[\left(\frac{Q2}{Q3} \right) \times F_{\alpha/2; v1; v2} \right]^{-1} \right\}$$

Em que:

$F_{\alpha/2}$ e $F_{1-\alpha/2}$: quantis superiores tabelados da distribuição F, com $v1$ e $v2$ graus de liberdade, sendo $\alpha = 0,05$.;

$v1$ e $v2$: graus de liberdade associados a QMhíbridos e QMErro, respectivamente.

Para as análises conjuntas herdabilidade e seu intervalo de confiança, o ganho com a seleção (GS) para os caracteres avaliados individual (GS¹) e simultaneamente (GS²). Foi aplicada uma intensidade de seleção de 10% para o cálculo GS¹ e de GS². Para o cálculo do GS² foi considerado como ordem de importância, a resistência fisiológica ao mofo branco, o porte arbustivo, o tipo de grão carioca, maior produtividade de grãos, resistência à mancha angular e à

antracnose. A estimativa do ganho com a seleção individual e simultâneo foi obtido por meio da expressão:

$$GS = (dsxh^2) \times 100$$

Em que:

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

h^2 : herdabilidade do caráter.

Como foram utilizados, simultaneamente, vários caracteres na seleção de progênes foi estimada a correlação fenotípica, entre as médias das características, para verificar se há alguma correlação favorável ou desfavorável entre os caracteres, por meio da seguinte expressão (Ramalho et al., 2005).

$$r_{Fxy} = \frac{COV_{Fxy}}{\sqrt{\sigma_{F_x}^2 \sigma_{F_y}^2}}$$

Em que:

r_{Fxy} : correlação fenotípica entre as médias das características x e y.

COV_{Fxy} : covariância fenotípica entre as médias das características x e y.

$\sigma_{F_x}^2$: variância fenotípica da característica x.

$\sigma_{F_y}^2$: variância fenotípica da característica y.

Foi verificada a significância ou não da correlação fenotípica por meio do teste de t e da seguinte expressão (Gomes, 1987):

$$t = \frac{r_{E_{xy}}}{\sqrt{1 - r_{E_{xy}}^2}} \sqrt{N - 2}$$

Em que:

$r_{E_{xy}}$: correlação fenotípica entre as médias das características x e y.

N : número de médias utilizadas no cálculo da correlação fenotípica média.

As médias das 48 progênes e da testemunha M20 foram agrupadas, por meio do teste de média, utilizando-se o programa GENES (Cruz, 2006).

Em cada experimento foi estimada a acurácia seletiva \hat{r}_{gg} pela expressão seguinte (Resende, 2007):

$$(\hat{r}_{gg}) = \sqrt{1 - 1/F}$$

Em que:

F : é o valor do teste F de Snedecor para o efeito de tratamentos da análise de variância.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Tipo de grãos

Considerando as análises de variância individuais, para o caráter tipo de grãos (Tabela 2), observa-se a existência de diferenças significativas para progênies em todas as safras, que indica a existência de acentuadas diferenças genéticas entre elas.

Na safra das águas 08/09 foram semeadas 80 progênies $F_{1:2}$ do RC_2 [M20 x (M20 x (M20 x G122))], mais uma testemunha, em delineamento látice 9 x 9. Uma possível incompatibilidade, porém, entre o G122 (origem andina) e o M20 (origem mesoamericana), manifestada somente nessa geração, houve progênies que germinaram tardiamente ou que não germinaram. Desse modo, não foi possível a realização da análise estatística. Foram selecionadas, portanto, 32 progênies $F_{1:3}$ do RC_2 , somente para tipo de grãos, as quais foram reunidas com 66 progênies do RC_1 , totalizando as 98 progênies, mais duas testemunhas, avaliadas na safra das secas/2009.

É importante frisar que todas as progênies selecionadas são de grão tipo carioca, entre elas, algumas possuem halo amarelo de diferentes tonalidades. Esse fenótipo, segundo Baldoni et al. (2002), é em razão da ocorrência de pelo menos um alelo dominante, simultaneamente em dois locos. Já a ausência de halo inclui os genótipos com alelo dominante em apenas um dos locos ou com alelos recessivos em ambos os locos. Entre os genitores utilizados, a fonte de resistência a mofo branco G122 e a linhagem M20 possuem halo amarelo. Em condições ambientais mais úmidas há, também, possibilidade do caráter apresentar penetrância incompleta e expressividade variável, que causa maior dificuldade na avaliação e contribui para um maior erro experimental.

Mesmo considerando esses aspectos de precisão experimental, nota-se a redução das médias (Tabela 2), em consequência das seleções para tipos superiores de grão em uma safra e avaliação na seguinte. Um resultado esperado, já que o tipo de grãos e o porte foram as principais características, consideradas durante a seleção de progênies de uma safra para outra, especialmente na primeira seleção. Esse resultado mostra o progresso efetivo com esse procedimento de avaliação e seleção, tendo-se como referência o tipo de grão carioca.

TABELA 2 Resumo das análises de variância individuais para tipo de grãos (1-5), avaliadas nas safras do inverno/2008 e inverno/2009 na Fazenda Experimental da FAEPE e secas/2009 no DBI em Lavras, estimativas da acurácia seletiva (\hat{r}_{gg}) e da herdabilidade com os respectivos intervalos de confiança.

Estimativas	Inv/08 Fazenda Exp. da FAEPE	Secas/2009 Lavras DBI	Inv/09 Fazenda Exp. da FAEPE
N ^o progênies	120	98	48
QM progênies	1, 0092**	0, 425**	0, 2941**
Média (1-5)	3,35	2,68	2,44
CV _e %	9,24	11,87	13,5
F calc	10,53	4,19	2,38
\hat{r}_{gg}	0,95	0,87	0,76
h ² (%)	90,5	76,24	57,92
h ² _{LI}	78,92	66,18	27,71
h ² _{LS}	97,2	82,96	74,41

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

h²_{LI} e h²_{LS} Limites do intervalo de confiança para h², com 5% de probabilidade.

As estimativas de herdabilidade para as análises individuais (Tabela 2) foram altas, confirmando alta variabilidade genética para o caráter e que é pouco influenciado pelo ambiente, ocorrendo, assim, uma situação favorável para a seleção. O fato das 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. Além disso, as diferenças genéticas, ainda, existentes entre elas e o médio valor de herdabilidade sugerem a possibilidade de seleção de algumas progênies que venham a ter grande aceitação pelo consumidor.

4.2 Produção de grãos

As análises de variância individuais da produção de grãos nas safras das secas/2009 em Lavras e inverno/2009 na Fazenda Experimental da FAEPE estão apresentadas na Tabela 3. Fica evidenciada a existência de diferenças genéticas significativas entre as progênies para as duas safras. Obteve-se, também, alta acurácia seletiva (\hat{r}_{gg}), principalmente, na safra de inverno. Segundo Henderson (1984), no contexto de avaliação genotípica, o parâmetro estatístico mais importante é a acurácia seletiva (\hat{r}_{gg}) o qual refere-se à correlação entre o valor genotípico verdadeiro do tratamento genético e aquele estimado pelas informações dos experimentos.

TABELA 3 Resumo das análises de variância individuais para produção de grãos (kg/ha), avaliadas nas safras das secas/2009, em Lavras, e inverno/2009, na Fazenda Experimental da FAEPE, estimativas da acurácia seletiva (\hat{r}_{gg}) e da herdabilidade com os respectivos intervalos de confiança.

Estimativas	Secas/2009	Inv./09
	Lavras DBI	Fazenda Exp. da FAEPE
N ⁰ progênes	98	48
QM progênes	938579**	1587901**
Média(Kg/há)	2317	2249
CV _e %	25,92	26,28
F calc	2,6	5,1
\hat{r}_{gg}	0,78	0,89
h ² (%)	62,13	80,41
h ² _{LI}	45,72	66,29
h ² _{LS}	73,14	88,35
Efic. látice	106,37	105,17

** Significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste F
h²_{LI} e h²_{LS} Limites do intervalo de confiança para h², com 5% de probabilidade.

As estimativas de herdabilidade, com base nos dados de cada safra (Tabela 3), podem ser consideradas altas para o caráter em questão, já que ele é muito influenciado pelo ambiente. Esse resultado é o reflexo da ampla variação genética das progênes.

Quanto à produtividade média das progênes, este valor pode ser considerado médio. É importante ressaltar que a alta produtividade não foi característica fundamental na seleção das progênes, mesmo porque foram

utilizados genitores não adaptados às nossas condições ambientais, visando obter progênies com maior resistência ao mofo branco. Foram selecionadas, no entanto, progênies mais similares geneticamente ao genitor recorrente VC3. No caso do RC₁, foram selecionadas as duas progênies F₂ com o SCAR *Phs* e mais similares geneticamente ao VC3 (76% e 71%), por meio de marcadores SSR. Comparando o desempenho das progênies avaliadas com a testemunha M20 (avaliada nas duas safras), observou-se que sete das 48 progênies apresentaram produção superior à testemunha M20, na safra de inverno.

Com relação à precisão experimental, nota-se que o CV_e não foi uma boa alternativa para medir a precisão experimental, pois, embora ambos os experimentos apresentaram um CV_e alto, obteve-se maior acurácia seletiva (\hat{r}_{gg}) para a característica produção de grãos no experimento da safra de inverno.

4.3 Reação à mancha angular

O caráter reação à mancha angular só foi avaliado na safra das secas/2009, por ser a época na qual a doença ocorre naturalmente, utilizando inóculo já presente na área, em Lavras (Tabela 4). Embora a nota média tenha sido um pouco baixa, em virtude da alta incidência de chuvas, nota-se ampla variação genética entre as progênies quanto à reação a esse patógeno. A precisão experimental medida pela (\hat{r}_{gg}) foi ótima. As estimativas de herdabilidade foram altas, sugerindo a possibilidade de sucesso com a seleção das progênies mais resistentes ao patógeno. É esperado que as progênies, derivadas do genitor recorrente M20, sejam portadoras de sua resistência, proveniente da cultivar Jalo que tem se mantido resistente na região há algumas décadas.

TABELA 4 Resumo da análise de variância individual para reação à mancha angular (1-9) avaliada na safra das secas/2009, em Lavras, estimativas da acurácia seletiva (\hat{r}_{gg}) e da herdabilidade com os respectivos intervalos de confiança.

Estimativas	Secas/2009
	Lavras DBI
N ⁰ progênies	98
QM progênies	4,622**
Média 1-9	3,55
CV _e %	26,43
F calc	5,4
\hat{r}_{gg}	0,9
h ² (%)	81,48
h ² _{LI}	73,4
h ² _{LS}	86,86

** Significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste F
h²_{LI} e h²_{LS} Limites do intervalo de confiança para h², com 5% de probabilidade.

4.4 Porte

Para o caráter porte, foram realizadas avaliações na safra das secas/2009 e inverno/2009, e as análises de variância (Tabela 5) mostraram a ocorrência de diferenças significativas entre as progênies. Nota-se que a seleção, para este caráter é, relativamente, fácil e eficiente que é promissor para a obtenção de progênies de porte arbustivo para auxiliar no controle do mofo branco.

A herdabilidade foi alta nas secas e um pouco inferior na safra de inverno. Esse menor valor, certamente, foi em decorrência da seleção para porte tipo arbustivo, quando se comparam as médias das duas safras. Esse ganho com a seleção de progênies de porte mais ereto é fundamental para auxiliar no controle do mofo branco (Huang et al., 2003). Apesar do menor valor da

acurácia seletiva (\hat{r}_{gg}) na safra de inverno, ainda, nota-se variação genética do porte entre as progênes, havendo chance de seleção das superiores.

TABELA 5 Resumo das análises de variância individual para porte (1-9) avaliado nas safras das secas/2009, em Lavras, e inverno/2009, na Fazenda Experimental da FAEPE, estimativas da acurácia seletiva (\hat{r}_{gg}) e da herdabilidade com os respectivos intervalos de confiança.

Estimativas	Secas/2009 Lavras	Inv/09 Fazenda Exp. da FAEPE
N ⁰ progênes	98	48
QM progênes	2,0289**	0,7824**
Média 1-9	4,24	2,79
CV _e %	13,5	19,96
F calc	2,43	2,52
\hat{r}_{gg}	0,92	0,78
h ² (%)	83,85	60,36
h ² _{LI}	77,85	31,44
h ² _{LS}	88,54	76,65

** Significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste F
h²_{LI} e h²_{LS} Limites do intervalo de confiança para h², com 5% de probabilidade.

4.5 Resistência fisiológica ao mofo branco

Para o caráter resistência fisiológica ao mofo branco, medido pela inoculação de micélio (Straw test), foram notadas diferenças significativas entre as progênies (tabela 6). A precisão experimental, segundo a \hat{r}_{gg} foi ótima, uma vez que a sua magnitude foi semelhante à de caracteres menos influenciados pelo ambiente como tipo de grãos. A média geral das progênies (5,6) é próxima à considerada como progênies parcialmente resistentes (5). Foram identificadas cerca de 10 progênies com notas médias abaixo de 5. Para a testemunha (M20) suscetível obteve-se nota 6,45.

É importante este resultado visto a inexistência de cultivares resistentes ao mofo branco e adaptadas, agronomicamente, às condições brasileiras. As estimativas de herdabilidade foram altas, sugerindo a possibilidade de sucesso com a seleção das mais resistentes. Constata-se, entretanto, que o nível de resistência fisiológica, ainda, é baixo para o controle da doença. É importante comentar a respeito da irrigação, que foi realizada durante a manhã e à tarde por cerca de trinta a sessenta minutos. Isso pode ter favorecido em demasia o desenvolvimento da doença, em nível superior ao que ocorre normalmente em cultura. Não se esperava, entretanto, progênies com nível de resistência fisiológica muito elevada (nota menor que três), porque as fontes de resistência (G122 e Ex Rico 23) têm níveis intermediários de resistência (Gonçalves & Santos, 2008).

TABELA 6 Resumo da análise de variância individual para reação ao mofo branco pelo *straw test* (1-9) avaliada na safra de inverno/2009, em Lavras, estimativas da acurácia seletiva (\hat{r}_{gg}) e da herdabilidade com os respectivos intervalos de confiança.

Estimativas	Inv./2009 Lavras
N ⁰ progênie	48
QM progênie	2,0933**
Média 1-9	5,64
CV _e %	7,78
F calc	10,9
\hat{r}_{gg}	0,95
h ² (%)	90,82
h ² _{LI}	84,41
h ² _{LS}	94,42

** Significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste F
h²_{LI} e h²_{LS} Limites do intervalo de confiança para h², com 5% de probabilidade.

Procurou-se identificar as progênie que apresentavam o SCAR *Phs* que marca um QTL para resistência ao mofo branco derivado da linhagem G122 (Miklas, 2006). Conforme pode ser visualizado na Figura 1, somente duas progênie apresentaram o SCAR *Phs*. Isso já era esperado, uma vez que o fragmento de DNA, correspondente a esse SCAR, é parte do alelo da proteína do grão da faseolina T, que é típica de feijões andinos. Como as progênie selecionadas são de grãos tipo carioca, típicos de origem mesoamericana, derivado dos genitores recorrente M20 e VC3, já era esperada a eliminação desse SCAR *phs* e do QTL para resistência. Essa ocorrência,

certamente, deve-se porque os feijões mesoamericanos possuem faseolina S. Além disso, as progênies com o SCAR *Phs* não exibiram maior resistência ao mofo branco e pode-se inferir que o QTL não se expressou. Além disso, as progênies mais resistentes não o apresentaram. Deduz-se que esse SCAR não é útil para a seleção assistida quando o objetivo é a seleção de linhagens resistentes e semelhantes ao carioca. Esse resultado sugere a existência de outros QTL's para resistência tanto da linhagem G122 como da Ex Rico 23, ambas as fontes de resistência parcial ao mofo branco. O fato de vários QTL's, para resistência já terem sido identificados, mostra o controle genético poligênico do caráter (Miklas, 2010).



FIGURA 1: Perfil de bandas amplificado pelo SCAR *Phs* em 20 das 48 progênies, analisadas. 1 e 2 corresponde à linhagem M20; 3 e 4 à fonte de resistência fisiológica G122. 11 e 12, correspondem às progênies 9 e 30. A seta indica a banda do SCAR *Phs*.

4.6 Reação de resistência à antracnose

Para avaliar às progênies, quanto à resistência à antracnose, foram realizadas inoculações com a raça 2047. Pode-se verificar pela tabela 7, que 13 progênies foram resistentes à inoculação.

TABELA 7 Resultado da reação de inoculação das 21 progênies F_{1:4} do RC₂ com a raça 2047 de *C.lindemuthianum*.

Progênies	Notas por plantas	Média	Classificação
43	1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	1,0	R
54	3 9 7 5 5 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	2,5	R
88	8 6 7 7 9 8 8 7 6 1 1 1 1 1 1 1	4,6	S
92	9 9 3 9 4 9 7 3 1 1 1 1 1 1 1 1	3,8	S
17	4 4 4 7 6 6 4 1 1 1 1 1 1 1 1 1	2,8	R
19	6 6 5 8 8 6 5 5 1 1 1 1 1 1 1 1	3,6	S
105	4 7 6 6 6 5 6 7 1 1 1 1 1 1 1 1	3,4	S
67	1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	1,0	R
24	8 6 9 6 6 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	2,9	R
109	5 8 6 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	2,0	R
57	7 9 2 6 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	2,3	R
51	6 6 6 5 6 6 6 1 1 1 1 1 1 1 1 1	3,1	S
112	6 6 9 6 9 9 6 9 9 1 1 1 1 1 1 1	4,8	S
58	6 7 7 3 3 4 5 6 8 8 7 7 1 1 1 1	4,7	S
6	4 5 7 9 5 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	2,6	R
59	4 7 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	1,6	R
89	3 5 5 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	1,6	R
75	3 9 9 8 8 7 6 1 1 1 1 1 1 1 1 1	3,7	S
102	7 6 6 9 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	2,5	R
84	6 6 6 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	1,9	R
83	3 8 7 9 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	2,4	R

Por se tratar de progênies F_{1:4} do RC₂, eram esperadas cerca de 75% das progênies homocigotas resistentes, para o alelo de resistência *Co-4²* e 25% das progênies heterocigotas segregantes quanto ao alelo *Co-4²*. Considerando o critério utilizado para avaliação das progênies, o resultado encontrado é próximo ao previsto. Entretanto, como se trata de uma inoculação artificial, as condições são favorecidas para o desenvolvimento do patógeno. Nesse caso, como apenas as progênies 43 e 67 são, certamente, puras para o alelo *Co-4²* o resultado difere do esperado. Tal discrepância ocorreu em consequência da

seleção para tipo de grãos semelhantes ao carioca. É importante salientar que as progênies derivadas de G233, a fonte do alelo *Co-4²*, infelizmente, têm gerado progênies com tipos de grãos carioca inferiores, Pereira et al. (2004). As progênies segregantes, especialmente as com notas médias inferiores, permitem, também, a seleção de plantas resistentes.

4.7 Análise conjunta para tipo de grãos, porte e produção

Visando conhecer melhor as 48 progênies selecionadas, utilizaram-se as médias ajustadas das progênies comuns às duas safras, para realizar a análise conjunta para tipo de grãos, porte e produção (Tabela 8).

Para tipo de grão, verificou-se que os efeitos de progênies e a interação safras por progênies foram significativos. A princípio não era esperada significância para essa interação, pois, essa característica apresenta alta herdabilidade, sendo de modo geral pouco influenciada pelo ambiente. No entanto, nota-se que a interação foi de magnitude considerável. Uma explicação para a sua alta magnitude pode ser a ocorrência em algumas progênies de halo amarelo, cuja presença e a intensidade da cor é influenciada pelo ambiente e pode ter contribuído para a interação (Baldoni et al., 2002).

Na análise conjunta para porte, verificou-se que os efeitos de safra (gerações), progênies e interação safras por progênies foram significativos, confirmando a presença de diferenças genéticas entre as progênies. Quanto ao comportamento das progênies não coincidente nas diferentes safras (gerações) e a significância para (safra), vale lembrar a sensibilidade do caráter a alguns ambientes, principalmente, aos diferentes níveis de umidade.

Para a produção de grãos, também, houve significância para os efeitos de safras, progênies e da interação (progênies por safras). A significância dessas fontes de variância é advinda da sensibilidade do caráter às variações ambientais.

TABELA 8 Resumo da análise conjunta de variância para tipo de grão, porte e produção envolvendo as safras da seca/2009, em Lavras e inverno/2009 na Fazenda Experimental da FAEPE, e estimativas da acurácia seletiva (\hat{r}_{gg}) e da herdabilidade com os respectivos intervalos de confiança.

FV	Tipo de grãos (1-5)		Porte (1-9)			Produção (kg/ha)
	GL	QM	GL	QM	GL	QM
Safras(gerações)	1	0,0001 ^{ns}	1	90,1250**	1	4669608,12**
Progênes	48	0,2149**	48	1,5504**	48	1535283**
S x P	48	0,1972**	48	0,9040**	48	1280218,38**
Erro médio	267	0,1124	260	0,3189	237	335908,6475
média		2,43		3,36		2249
CV _e		10,53		16,41		29,04
F _{progenies}		1,91		4,86		4,57
Acurácia (\hat{r}_{gg})		0,69		0,89		0,88
h ²		47,7		79,43		78,12
h ² _{LI}		27,97		71,93		70,03
h ² _{LS}		65,3		86,29		85,04

^{ns} e ** não significativo e significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste F
h²_{LI} e h²_{LS} Limites do intervalo de confiança para h², com 5% de probabilidade.

4.8 Ganhos com a seleção e correlação entre os caracteres

Para estimar os ganhos com a seleção e a correlação entre os caracteres, foram utilizados os dados obtidos da análise conjunta para os caracteres tipo de grãos, produção e porte das safras das secas e de inverno de 2009. O caráter reação à mancha angular só foi avaliado na safra das secas/2009, época de maior incidência natural do patógeno. O caráter resistência fisiológica ao mofo branco foi avaliado somente na safra de inverno de 2009.

Considerando a seleção das cinco melhores progênes, individualmente, para tipo de grãos, produção, porte e reação à mancha angular (Tabela 9)

observaram-se ganhos semelhantes aos obtidos por Pereira et al. (2004) e Silva (2005).

Quanto ao mofo branco, embora o ganho percentual tenha sido elevado, é importante frisar que o nível de resistência fisiológica, ainda, é insuficiente em função das fontes de resistência apresentarem resistência fisiológica parcial.

Considerando todos os caracteres em conjunto, foi adotado como critério selecionar as progênies 17, 24, 89, 92, e 666, que apresentaram, principalmente, menor nota no Straw test, menor nota de porte, menor nota para tipo de grão, ou seja, mais semelhante ao tipo carioca; maior produtividade de grãos em kg/ha, menor nota de mancha angular e resistência à antracnose. Este critério foi adotado, pois, embora a resistência ao mofo branco seja poligênica, de média a baixa herdabilidade e muito influenciada pelo ambiente (Kolkman & Kelly, 2003) a resistência fisiológica medida pelo straw test apresentou herdabilidade alta (90,82%). Quanto ao porte, além de apresentar alta herdabilidade, é importante frisar a sua importância para os mecanismos de escape, por propiciar maior arejamento e luminosidade (Huang et al., 2003).

TABELA 9 Estimativas de ganho esperado com a seleção das cinco progênies de maior expressão para tipo de grãos (notas), produção (kg/há), porte (notas), reação à mancha angular (notas) e ao mofo branco (notas).

Estimativa	Tipo de grão	Produção	Porte	Reação à m.	
				angular	Mofo branco
GS ¹	-0,132(-5,4%)	582(25,9%)	-0,57(-17,1%)	-1,7(-48,9%)	-1,5(-27%)
GS ²	0,07(2,9%)	171(7,6%)	-0,22(-6,6%)	-0,2(-5,6%)	-1,13(-20%)

¹Ganho esperado com a seleção das 5 em 48 progênies (~10%), seleção para cada caráter. ²Ganho esperado com a seleção das 5 em 48 progênies (~10%), seleção considerando todas as características em conjunto.

Assim a seleção simultânea, como realizada no segundo caso, mostra-se mais eficiente, por aumentar a chance de êxito em um programa de melhoramento (Cruz & Carneiro, 2003). Nota-se, porém, uma redução nos ganhos com a seleção, principalmente, para resistência à mancha angular, produtividade de grãos e porte (Tabela 9). Essa redução do ganho com a seleção simultânea para vários caracteres pode ser em virtude da correlação entre eles (Tabela 8). Para a maioria dos caracteres não se observa correlação fenotípica significativa. Um destaque foi a correlação fenotípica negativa (Tabela 10) entre tipo de grão e resistência fisiológica ao mofo branco. Este fato é justificado pela fonte de resistência G122 (origem andina) apresentar tipo de grão inferior. Embora a correlação tenha sido negativa, encontraram-se algumas progênies (28, 54, 138) com tipo de grão superior e notas para resistência fisiológica ao mofo branco, inferiores à média, assim, indicando a possibilidade de se selecionar progênies com tipo de grãos carioca e resistente ao mofo branco.

A correlação negativa entre produção de grãos e mancha angular, considerando o modo como esses caracteres foram avaliados é, na realidade, favorável e auxilia na seleção de plantas mais resistentes e com maior produtividade. Esse resultado é oposto ao que tem sido normalmente observado (Pereira et al., 2004).

A correlação negativa entre produção de grãos e resistência fisiológica, em princípio, também, é favorável para a seleção, pois, o objetivo é a obtenção de progênies com maior produtividade e resistência fisiológica ao mofo branco (menores notas no straw test). Embora essa correlação seja equivalente à correlação genética, porque os dois caracteres foram avaliados em locais diferentes, esta é de baixa magnitude e, por isso, não contribui para a seleção simultânea dos dois caracteres.

Na tabela 11 estão relacionadas as 48 progênies com os respectivos

desempenhos médios. Vale, novamente, destacar as cinco progênies selecionadas e, entre elas, três (17, 24 e 89) são resistentes (apresentam o alelo *Co-4²*) à raça 2047 de *C. lindemuthianum*. As duas progênies (43 e 67), aparentemente homocigóticas para o alelo *Co-4²*, infelizmente, tendem a ser mais suscetíveis ao mofo branco e apresentarem porte menos arbustivo.

Tabela 10 Correlações fenotípicas entre os caracteres avaliados.

Caracteres	Correlação
Tipo de grão x produção	0,111 ns
Tipo de grão x Porte	0,068 ns
Tipo de grão x mancha angular	0,008 ns
Tipo de grão x Straw test	-0,515**
Produção x Porte	0,060 ns
Produção x Mancha angular	-0,651**
Produção x Straw test	-0,336*
Porte x Mancha angular	-0,102 ns
Porte x Straw test	-0,266 ns
Mancha angular x Straw test	0,232 ns

**,* e ns significativo a 1%, 5% de probabilidade e não significativo, respectivamente, pelo teste t.

TABELA 11 Médias ajustadas de produção, tipo de grãos, e porte (análise conjunta), reação à mancha angular e ao straw test (análises individuais) das 48 progênies, utilizadas nas análises conjuntas.

Progênies	<i>Straw Test</i> ¹	Porte ¹	Tipo de grãos ^{ns}	Produção ¹	Mancha Angular ¹	Raça 2047 antracnose
3	4,4 a	3a	2,8 a	1028 b	5,5 c	
6	5,6 b	2,9 a	2,4 a	3215 a	2,3 a	R
9*	4,7 b	3,6 b	2,7 a	2903 a	4b	
10	5,8 c	4,2 b	2,2 a	2362 a	3,5 a	
14	5,5 b	3,7 b	2,6 a	2597 a	4,4 b	
16	5,8 c	3,1 a	2,3 a	2841 a	2,1 a	
17*	5,5 b	2,9 a	2,3 a	2970 a	1,7 a	R
19	5,6 c	3,5 b	2,3 a	2192 a	2,8 a	
24	4,8 b	3,1 a	2,7 a	2286 a	2,9 a	R
28	5,1 b	3,4 a	2,2 a	2705 a	3a	
30	5,7 c	3,3 a	2,6 a	2816 a	3,5 a	
33	6,4 d	3,4 a	2,6 a	1521 b	4,6 b	
39	6,5 d	3a	2,2 a	2038 b	5,3 c	
40	6,5 d	2,8 a	2,4 a	2155 a	4,7 b	
43	6,3 d	2,9 a	2,2 a	2660 a	1a	R
51	6,1 c	3,7 b	2,8 a	2241 a	3,8 b	R
53	4,1 a	3,9 b	2,5 a	3043 a	2,1 a	
54	4,7 b	3,8 b	2,3 a	2350 a	3,3 a	R
56	6,7 d	3,8 b	2,2 a	1966 b	4,3 b	
57	6,1 c	3,4 a	2,4 a	2673 a	1,7 a	R
58	5,1 b	4,4 b	2,4 a	2445 a	3,3 a	R
59	5,9 c	3,7 b	2,4 a	2396 a	2,4 a	R
67	5,2 b	3a	2,8 a	2279 a	2,5 a	R
68	4,9 b	4,2 b	2,7 a	1351	4,3 b	
75	6,3 d	2,8 a	2,7 a	2275 a	3,8 b	S
78	6,4 d	3a	2,4 a	1468 b	6,7 c	
83	5,4 b	3,8 b	2,5 a	2649 a	1,8 a	R

...continua...

Tabela 11 Cont.

Progênes	Straw Test ¹	Porte ¹	Tipo de grãos ^{ns}	Produção ¹	Mancha Angular ¹	Raça 2047 antracnose
89	3,8 a	2,9 a	2,6 a	1606 b	4b	R
92	4a	3,2 a	2,5 a	2829 a	3,8 b	S
102	6,1 c	3,2 a	2,6 a	2728 a	2,3 a	R
105	5,3 b	2,8 a	2,4 a	2424 a	1,9 a	S
107	6,5 d	2,9 a	2,3 a	1702 b	5,7 c	
109	6 c	3,1 a	2,5 a	2377 a	1,1 a	R
112	5,4 b	3,2 a	2,1 a	2231 a	2,7 a	S
118	6,9 d	3,5 b	2,3 a	2131 a	4,3 b	
125	5,7 c	5 b	2,4 a	1499 b	3,7 b	
135	5,5 b	3,6 b	2,3 a	1986 b	5,2 c	
138	5,1 b	3,6 b	2,3 a	1920 b	2,8 a	
231	6,3 d	3a	2,2 a	1618 b	4,3 b	
242	7,1 d	3,1 a	2,2 a	1586 b	5,1 c	
258	5,5 b	3,4 a	2,3 a	2101 b	5 c	
666	3,9 a	3,2 a	2,8 a	2651 a	4b	
667	3,9 a	3,8 b	2,7 a	2863 a	4,1 b	
1040	6,9d	3,3 a	2,3 a	1809 b	5,7 c	
1106	6,8 d	2,4 a	2,2 a	1701 b	4,3 b	
1115	7,1 d	2,4 a	2,3 a	1579 b	4,9 c	
M20	6,5 d	2,5 a	2,4 a	2510 a	1,7 a	

Médias seguidas das mesmas letras pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knot (1 = 5% e ns = não significativo) * indica a presença do SCAR *Phs* de resistência fisiológica ao mofo branco. R significa resistência e S suscetibilidade à raça 2047 de *C. lindemuthianum* agente causal da antracnose.

5 CONCLUSÕES

Foi possível selecionar progênies que, além de possuírem resistência fisiológica parcial ao mofo branco, apresentam tipo de grãos semelhante ao carioca, porte arbustivo que auxilia no controle dessa doença, boa produtividade de grãos, resistência à mancha angular e o alelo *Co-4²* que confere resistência a todas as raças de antracnose até hoje encontradas no Brasil.

O SCAR *Phs* não é útil para a seleção assistida, quando o objetivo é a seleção de progênies resistentes ao mofo branco e com tipo de grãos semelhante ao carioca.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIDAR, H. Cultivo do feijoeiro comum. **Sistemas de Produção**, Santo Antônio de Goiás, n. 2, jan. 2003. Disponível em:

<<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/index.htm>>. Acesso em: 15 out. 2008.

ANTONIO, R. P.; SANTOS, J. B. dos; SOUZA, T. P.; CARNEIRO, F. F. Genetic control of the resistance of common beans to white mold using the reaction to oxalic acid. *Genetics and Molecular Research*, Ribeirão Preto, v. 7, n. 3, p. 733-740, 2008.

ASHFIELD, T.; DANZER, J.; HELD, D.; CLAYTON, D.; KEIM, P.; MAROOF, M.; WEBB, D.; INNES, R. Rpg1, a soybean gene effective against races of bacterial blight, maps to a cluster of previously identified disease resistance genes. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 96, n. 8, p. 1013-1021, June 1998.

BALDONI, A. B.; TEIXEIRA, F. F.; SANTOS, J. B. Controle genético de alguns caracteres relacionados à cor da semente de feijão no cruzamento Rosinha x Esal 693. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1427-1431, dez. 2002.

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

BATEMAN, D. F.; BEER, S. V. Simultaneous production and synergistic action of oxalic acid and polygalacturonase using pathogenesis by *Sclerotinia rolfii*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 55, n. 2, p. 204-211, Feb. 1965.

BENCHIMOL, L. L.; SOUZA, C. L. de.; SOUZA, A. P. de. Microsatellite-assisted backcross selection in maize. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 28, n. 4, p. 789-797, dez. 2005.

BERGAMIN FILHO, A.; LOPES, D. B.; AMORIM, L.; GODOY, C. D. Avaliação de danos causados por doenças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 3, p. 133-184, jun. 1995.

BERNARDO, R. **Breeding for quantitative traits in plants**. Minnessota: Stema, 2002. 369 p.

BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v. 16, n. 2, p. 93-108, June 1994.

BOLTON, M. D.; THOMMA, B. P. H. J.; NELSON, B. D. *Sclerotinia sclerotiorum* (lib) de Bary: biology and molecular traits of cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 7, n. 1, p. 1-16, Jan. 2006.

BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. Viçosa, MG: UFV, 2006. 374 p.

BRANDÃO, R. S.; PRADO, T. S.; LOBO, M. J. Inibição da germinação carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum* em solos sob integração lavoura-pecuária com *Brachiaria ruziziensis*. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO – CONAFE, 85., 2008, Campinas. **Anais...** Campinas: IAC, 2008. p. 918-921.

CAIXETA, E. T. **Caracterização da resistência genética à mancha-angular e desenvolvimento de marcadores microssatélites para regiões específicas do genoma do feijoeiro**. 2002. 90 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

CARNEIRO, F. F. **Genética da resistência do feijoeiro ao mofo branco e uso do retrocruzamento assistido por marcadores microssatélites**. 2009. 84 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CARNEIRO, F. F.; SANTOS, J. B. dos; ANTONIO, R. P.; SOUZA, T. P. de. Seleção de plantas de feijão em retrocruzamento, mais semelhantes ao recorrente e resistentes ao mofo branco via marcadores de DNA. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO – CONAFE, 85., 2008, Campinas. **Anais...** Lavras: UFLA, 2008. p. 190-193.

CESSNA, S. G.; SEARS, V. E.; DICKMAN, M. B.; LOW, P. S. Oxalic acid, a pathogenicity factor for *Sclerotinia sclerotiorum*, suppresses the oxidative burst of the host plant. **The Plant Cell**, Rockville, v. 12, n. 11, p. 2191-2199, Nov. 2000.

COLEY-SMITH, J. R.; COOKE, R. C. Survival and germination of fungal sclerotia. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 9, p. 65-92, Sept. 1971.

COLLICCHIO, E.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Associação entre o porte da planta do feijoeiro e o tamanho dos grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 3, p. 297-304, mar. 1995.

COSTA, G. R.; COSTA, J. L. S. Influência do solo e de substratos para produção de escleródios na germinação carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 36, n. 2, p. 83-87, ago. 2006.

CRUZ, C. D. **Programa GENES**: análise e processamento de dados baseado em modelos biométricos e em estatística experimental. Viçosa, MG: UFV, 2006.

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

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: Embrapa/Cenargem, 1998. 220 p.

GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 12. ed. São Paulo: Nobel, 1987. 467 p.

GONÇALVES, P. R. C.; SANTOS, J. B. dos. Uso do ácido oxálico na identificação da resistência fisiológica de cultivares/linhagens de feijão ao mofo branco. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO – CONAFE, 85., 2008, Campinas. **Anais...** Campinas: IAC, 2008. p. 95-98.

GUIMARÃES, R. L.; STOTZ, H. U. Oxalate production by *Sclerotinia sclerotiorum* deregulates guard cells during infection. **Plant Pathology**, Oxford, v. 136, n. 3, p. 3703-3711, May, 2004.

HALEY, S. D.; AFANADOR, L.; KELLY, J. D. Identification and application of random amplified polymorphic DNA marker for the I gene (potyvirus resistance) in common bean. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 84, n. 2 p. 157-160, Feb. 1994.

HALL, R.; PHILLIPS, L. G. Field evaluation of the *straw test* for assessing resistance of dry bean to white mold. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 41, n. 2, p. 171-172, 1998.

HALL, R.; PHILLIPS, L. G. Resistance of white bean to white mold: field evaluation of *straw test*. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 40, n. 2, p. 138-139, 1997.

HARJES, C. E.; ROCHEFORD, T. R.; BAI, L. Natural genetic variation in lycopene epsilon cyclase tapped for maize biofortification. **Science**, Washington, v. 319, n. 5861, p. 330-333, 2008.

HENDERSON, C. R. **Applications of linear models in animal breeding**. Guelph: University of Guelph, 1984. 462 p.

HUANG, H. C.; MUNDEL, H. H.; ERICKSON, R. S. Effect of physiological resistance and plant architecture on yield of dry bean under disease pressure of white mold (*Sclerotinia sclerotiorum*). **Plant Protection Bulletin**, Taiwan, v. 45, p. 169-176, July 2003.

HUINTER, J. E.; ABAWI, G. S.; CROISER, D. C. Effects of timing, coverage, and spray oil control of white mold of snap bean with benomyl. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 62, n. 7, p. 633-637, July 1978.

KARL, A. C.; NASSER, L. C. B.; CAFÉ FILHO, A. C. Mofu branco do feijoeiro, *Sclerotinia sclerotiorum* (lib.) de Bary, em áreas irrigadas nos cerrados. In: ENCONTRO DE FITOPATOLOGIA, 2., 1997, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: UFV/DFP, 1997. p. 18-23.

KIM, H. S.; SNELLER, C. H.; DIERS, B. W. Inheritance of partial resistance to *Sclerotinia stem rot* in soybean. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 1, p. 55-61, Feb. 2000.

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

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

KOLKMAN, J. M.; KELLY, J. D. Agronomic traits affecting resistance to white mold in common bean. **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 3, p. 693-699, May 2002.

KOLKMAN, J. M.; KELLY, J. D. An indirect test using oxalate to determine physiological resistance to white mold in common bean. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 1, p. 281-285, Jan. 2000.

KOLKMAN, J. M.; KELLY, J. D. QTL conferring resistance and avoidance to white mold in common bean. **Crop Science**, Madison, v. 43, n. 2, p. 539-548, Mar. 2003.

LANDE, R.; THOMPSON, R. Efficiency of marker- assisted selection in the improvement of quantitative traits. **Genetics**, Baltimore, v. 124, n. 3, p. 743-756, Mar. 1990.

LEHNER, M. S.; LIMA, R. C.; PRADO, A. L.; TEIXEIRA, H.; PAULA JÚNIOR, T. J.; VIEIRA, R. F. Controle do mofo-branco do feijoeiro com aplicação de gesso via água de irrigação. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO – CONAFE, 85., 2008, Campinas. **Anais...** Campinas: IAC, 2008. p. 936-938.

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

MELO, C. L. P.; CARNEIRO, J. E. S.; REGAGNIN, V. A.; CRUZ, L. C.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Evaluation of common bean elite lines developed in Brazil for angular leaf spot resistance. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 47, p. 231-232, 2004.

MESQUITA, A. G. G.; GUIMARAES, C. T.; PARENTONI, S. N.; PAIVA, E. Recuperação do genitor recorrente em milho utilizando retrocruzamento assistido por marcadores microssatélites. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 3, p. 275-285, out. 2005.

MIKLAS, P. N. Potential marker-assisted selection for resistance to white mold in pinto and great northern bean. In: NATIONAL SCLEROTINIA INITIATIVE ANNUAL MEETING, 2006, Minneapolis. **Proceedings...** Minneapolis: Agricultural Research Service, 2006. p. 5. Abstract.

MIKLAS, P. N.; DELORME, R.; JONHSON, W.C.; GEPTS, P. QTL conditioning physiological resistance and avoidance to white mold dry bean. **Crop Science**, Madison, v. 41, n. 2, p. 309-315, Mar./Apr. 2001.

MIKLAS, P. N. SCAR markers linked with disease resistance traits in common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, East Lansing, USA, 2010. Disponível em: <<http://www.css.msu.edu/bic/PDF/SCAR%20Markers%202010.pdf>>. Acesso em: 30 jan. 2010.

MIKLAS, P. N.; GRAFTON, K. F.; HAUF, D. C.; KELLY, J. D. Registration of partial white mold resistant pinto bean germplasm line USPT-WM-1. **Crop Science**, Madison, v. 46, n. 5, p. 2339, Sept. 2006.

MIKLAS, P. N.; HAUF, D.; HENSON, R.; GRAFTON, K. F. Inheritance of ICA Bunsu-derived resistance in a navy × pinto bean cross. **Crop Science**, Madison, v. 44, n. 5, p. 1584-1588, Sept. 2004.

MORAES, E. R. de; TEIXEIRA, I. R.; SOUZA, D. L. M. de. Associação fungicidas-agente biológico (*Trichoderma* sp.) no controle do mofo-branco do feijoeiro. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO – CONAFE, 85., 2008, Campinas. **Anais...** Campinas: IAC, 2008. p. 910-913.

NATIONAL SCLEROTINIA INICIATIVE. Disponível em: <<http://www.whitemoldresearch.com/files/SIbrochure.pdf>>. Acesso em: 15 jan. 2010.

OLIVEIRA, S. H. F. Manejo do mofo branco. **DBO Agrotecnologia**, São Paulo, v. 2, n. 4, p. 8-13, maio/jun. 2005.

OPENSHAW, S. J.; JARBOE, S. G.; BEAVIS, W. D. Marker-assisted selection in backcross breeding. In: LOWER, R. (Ed.). **Joint plant breeding symposium on analysis of molecular data**. Corvallis: Oregon State University, 1994. p. 41-43.

PARK, S. O.; COYNE, D. P.; STEDMAN, J. R.; SKROCH, P. W. Mapping of QTL for resistance to white mold disease in common bean. **Crop Science**, Madison, v. 41, n. 4, p. 1253-1262, July/Aug. 2001.

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

PAULA JÚNIOR, T. J.; ZAMBOLIM, L. Doenças. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão: aspectos gerais e cultura no estado de Minas Gerais**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 1998. p. 375-433.

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

PETZOLDT, R.; DICKSON, M. H. *Straw test* for resistance to white mold in beans. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 39, p. 142-143, 1996.

PHILIPS, A. J. L. Carpogenic germination of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytophylactica**, Pretoria, v. 19, n. 3, p. 279-283, 1987.

RAMALHO, M. A. P.; PEREIRA, D. F.; OLIVEIRA, A. C. **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 326 p.

RAMALHO, M. A. P.; PINTO, C. A. B. P.; SANTOS, J. B. dos. **Genética na agropecuária**. 2. ed. Lavras: Ed. UFLA, 2001. 312 p.

RAVA, C. A. **Doenças causadas por fungos do solo**. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/>>. Acesso em: 10 out. 2009.

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

RESENDE, M. D. V. **Matemática e estatística na análise de experimentos de campo**. Colombo: Embrapa Florestas, 2007. 435 p.

SARTORATO, A. Resistance of andean and mesoamericana common bean genotypes to *Phaeoisariopsis griseola*. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 48, p. 88-89, 2005.

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

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

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

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS user's guide:** statistics. Cary: SAS Institute, 1985. 956 p.

TERÁN, H.; SINGH, S. P. Response of dry bean genotypes with different levels of resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* to three inoculation methods. **Annual Report of Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 51, p. 218-219, 2008.

TOLÊDO-SOUZA, E. D. de; COSTA, J. L. da S. Métodos de inoculação de plântulas de feijoeiro para avaliação de germoplasma quanto à resistência a *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 33, n. 2, p. 57-63, jul./dez. 2003.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Riberão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496 p.

VIEIRA, C. Principais doenças do feijoeiro no inverno. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, n. 178, p. 46-53, fev. 1994.

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

ZIMMERMAN, M. J. O.; TEIXEIRA, M. G. Bancos de germoplasma. In: ARAÚJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Potafos, 1996. p. 65-66.