



**PAULO HENRIQUE DA SILVA**

**REAÇÃO DE LINHAGENS DE FEIJÃO COMUM  
E AGRESSIVIDADE DE ISOLADOS DE  
*Sclerotinia sclerotiorum***

**LAVRAS - MG**

**2013**

**PAULO HENRIQUE DA SILVA**

**REAÇÃO DE LINHAGENS DE FEIJÃO COMUM E AGRESSIVIDADE  
DE ISOLADOS DE *Sclerotinia sclerotiorum***

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

Orientador

PhD. João Bosco dos Santos

**LAVRAS - MG**

**2013**

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

Silva, Paulo Henrique da.

Reação de linhagens de feijão comum e agressividade de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* / Paulo Henrique da Silva. – Lavras : UFLA, 2013.

60 p. : il.

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

Orientador: João Bosco dos Santos.

Bibliografia.

1. *Phaseolus vulgaris*. 2. Resistência. 3. Interação linhagens por isolados. 4. Mofo branco. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 631.523

**PAULO HENRIQUE DA SILVA**

**REAÇÃO DE LINHAGENS DE FEIJÃO COMUM E AGRESSIVIDADE  
DE ISOLADOS DE *Sclerotinia sclerotiorum***

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

APROVADA em 22 de fevereiro de 2013.

Dra. Elaine Aparecida de Souza                      UFLA

Dr. Samuel Pereira Carvalho                              UFLA

PhD. João Bosco dos Santos  
Orientador

**LAVRAS - MG**

**2013**

A Deus, por me dar forças, e ao meu grande Orientador João Bosco.

## **OFEREÇO**

A minha Mãe Maria Alice, que sempre me deu carinho e atenção, e fez de tudo para que esse sonho se tornasse realidade, muito obrigado minha Mãe. Ao meu Pai pelo grande esforço e dedicação durante a minha formação, e que além de um grande Pai é um grande Amigo. A minha irmã Andréa que sempre me apoiou nas minhas decisões, pelo seu carinho e dedicação.

A minha namorada Jaqueline, que sempre foi muito amiga, companheira e sempre esteve comigo nos momentos mais difíceis, sempre me incentivando em tudo, muito obrigado meu Amor.

## **DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de estudo e estrutura para o desenvolvimento do projeto.

À FAPEMIG pela concessão da bolsa de estudo.

Ao program de pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas pela oportunidade de estudo e de realização.

Aos mestres, João Bosco, João Cândido, José Airton, Magno Ramalho, Elaine Aparecida, Flávia, Ângela, Samuel Pereira, Adriano Bruzi, por todos ensinamentos e dedicação, muito obrigado.

Aos pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cláudia Fortes, Alberto Vilarinhos, Edson Perito, Hermes Peixoto e Paulo Maissner pela confiança, dedicação e ensinamentos durante o período de iniciação científica.

Aos funcionários do departamento de Biologia da UFLA, em especial Irondina, Heloisa e Sebastiana (Dú), pela amizade e disposição.

Aos professores da graduação, Simone Alves, José Fernandes, Edigar, Evani, Rute e Washington, por todos os ensinamentos.

A toda minha família, em especial aos meus tios Raimundo, Vanda, João e Pedro a todos os primos e primas em especial Vera e Vanessa, ao padrinho Ótávio, a Paulo Sérgio e Sandro, por todo o apoio e incentivo para minha formação.

A minha cunhadona Jamile, por todo o apoio e incentivo desde o período da graduação.

A dona Jane e Sr. Jair pelo incentivo, dedicação e apoio durante todo a minha formação.

Aos amigos da Embrapa, Raimundo (Raimundão), Epaminondas, Bizunga e Beto, pelo companheirismo e ensinamentos.

Aos meus grandes amigos de turma, Rafael (Pombo sujo), Fernanda (Japa), Camila (Pare), Luiz Paulo (Fi), Kaio (Deon), Renato Camargo (Renatão), Carlos (Carlinha), Samira (Mirão), Laiane, Amanda, por todos os momentos inesquecíveis e por toda a dedicação durante o mestrado.

A equipe do Laboratório de Genética Molecular da UFLA, em especial Igor, Lamartine, Flávia (Lorão), Filipe, Monik, Danuza, Juliana (Carioca), Juliana (Agro), Wilker, Camila, Luiz Fernando, Lucas e Paulinho por todos os momentos de trabalho e diversão, e por fazerem parte desta vitória.

A todos os amigos do GEN, em especial Regis (Grande Amigo), Fernando Guedes, Jeronimo, Lidiane, Guilherme (Batateiro), Gustavo, Samuel (Prosa), Breno Atirador, Chico Moita, Braulio, Matheus, Breno (Camilinha), Mari Junqueira (Rainha da *Sclerotinia*), Quelen e Suellen, pelo companheirismo e amizade.

Ao amigo Edivaldo (Juninho Play), pelo apoio desde a minha chegada em Lavras, pelos momentos de descontração na república, e pela sua sincera amizade durante todo esse tempo de convivência.

Ao amigo Rafael Teixeira (Pombo Tex), por ter me apoiado desde o começo do curso e pela sua grande amizade desde os tempos de UFRB, muito obrigado “meu veio”.

Ao amigo Josiel, pela amizade e paciência pelas brincadeiras durante o período de república.

Ao grande amigo Igor (Igão), por toda sua dedicação e ensinamentos, sempre considerei como o meu segundo orientador, jamais me esquecerei de nossa amizade, e tenha certeza que grande parte do que eu sei hoje eu agradeço a você.

Ao grande amigo Rafael (Pombo sujo), pela amizade, companheirismo e dedicação, e por todo o apoio durante o mestrado, jamais esquecerei a nossa amizade.

A minha amiga-irmã Fernanda (Japa), pela sua amizade, carinho e paciência, sempre disposta a ajudar e ser ajudada; jamais esquecerei a nossa amizade “Japolha”, sucesso sempre.

Ao meu amigo Rogério (Zoi), pela sua amizade desde os tempos de criança, pela sua honestidade e apoio nessa etapa da minha Vida.

Aos meus amigos do ensino médio, em especial, Jackson (Duxo), Paulo Sergio (Serginho), Ademir, Samuel, Thiago, Marcelo e Wanderson pela amizade e companheirismo.

## RESUMO

Os objetivos do presente trabalho foram avaliar a reação de linhagens de feijão comum ao mofo branco, a agressividade de diferentes isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*, oriundos de vários locais de produção de feijão das regiões Centro-Oeste e Sudeste do país e a comparação dos procedimentos de análise dialélica e GGE (Genótipo mais interação Genótipo por Ambientes) *biplot*, no estudo da interação linhagens por isolados. Foram utilizadas 11 linhagens de feijão derivadas de três populações de retrocruzamento, Madrepérola (Madrepérola x G122), Madrepérola (Madrepérola x Ex Rico 23) e M20 (M20 x G122) e a linhagem Corujinha, suscetível ao mofo branco, como testemunha. Os experimentos foram realizados no campo experimental do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras DBI-UFLA, nas safras da seca de 2011, inverno de 2011 e seca de 2012, em delineamento de blocos casualizados com três repetições, sendo cada parcela constituída de uma linha de um metro de comprimento com 15 plantas. Para avaliação foi utilizado o método do *Straw test*, que consiste da inoculação artificial do micélio do patógeno em dez plantas por parcela. As análises foram realizadas por meio do método dialélico parcial de acordo com o modelo IV de *Griffing* e pela metodologia GGE. A estimativa da capacidade geral de reação das linhagens e da capacidade geral de agressividade dos isolados, obtida pela análise dialélica, indicaram diferentes níveis de resistência e agressividade das linhagens e dos isolados, respectivamente. Constatou-se que, os níveis de agressividade dos isolados variaram de acordo com o seu local de origem e a safra de avaliação. Tanto a análise dialélica quanto o GGE foram eficientes em identificar o valor genotípico de linhagens e isolados.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*. Resistência.  
Interação linhagens por isolados.

## ABSTRACT

The objectives of this work were to evaluate the common bean lines reaction to white mold pathogen, the aggressiveness of different *Sclerotinia sclerotiorum* isolates from some common bean polo producer fields of the Southeast and Midwest regions of Brazil and to compare the diallel analysis and the GGE (Genotype Genotype by Environment interaction more) biplot considering the interaction lines per isolates. Eleven common bean lines were used, derived from three backcrosses populations, *Madrepérola* (*Madrepérola* x G122), *Madrepérola* (*Madrepérola* x Ex Rico 23) and M20 (M20 (M20 x G122) and the *Corujinha* line, susceptible to white mold, as control. The experiment were conducted at the Biology Department experimental area in the Federal University of Lavras (DBI-UFLA) Minas Gerais state, Brazil, in the dry and winter seasons of 2011 and the dry season of 2012. The experiment was set up in randomized complete blocks design with three replicates, and each plot of 1 meter long with 15 plants. The Straw test was the evaluation method, which consists in the artificial inoculation of the pathogen's mycelium in ten plants per plot. Analyses were performed by the method partial diallel according with model IV from Griffing and GGE methodology. The general capacity reaction from the lines and the isolates aggressiveness, obtained by diallel analysis, indicates different resistance levels and aggressiveness of the lines and the isolates, respectively. It was found that the isolates aggressiveness levels varied according with their origin place and crop assessment. Both diallel and GGE analysis were efficient to identify the genotypic value of lines and isolates.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*. Resistance. Lines interaction by isolated.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO .....	13
2.1	Importância econômica da cultura do feijoeiro .....	13
2.2	Mofa branco na cultura do feijão .....	15
2.3	Controle genético da resistência ao mofo branco .....	17
2.4	Mecanismos de infecção de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....	23
2.5	Métodos de avaliação da reação do feijoeiro ao mofo branco .....	24
3	MATERIAL E MÉTODOS .....	27
3.1	Local .....	27
3.2	Linhagens utilizadas .....	27
3.3	Obtenção e preparo dos isolados de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> para avaliação da resistência das linhagens .....	28
3.4	Inoculação das linhagens em campo com os isolados de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ( <i>Straw test</i> ) .....	29
3.5	Análise dos dados .....	30
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	35
4.1	Análises individuais e análise agrupada .....	35
4.2	Análise Dialética .....	38
4.3	Análise GGE <i>biplot</i> .....	43
5	CONCLUSÕES .....	48
	REFERÊNCIAS .....	49
	ANEXOS .....	58

## 1 INTRODUÇÃO

O feijão é de grande importância para alimentação humana. É o constituinte principal das refeições diárias de milhões de pessoas em todo o mundo, principalmente nos países em desenvolvimento que detêm a maior parte do consumo e da produção mundial.

Um dos fatores limitantes para produção de feijão é a incidência de doenças que acometem as lavouras e uma das doenças que vêm tendo grande importância econômica é o mofo branco, causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*. A doença provoca vários danos à cultura, principalmente em cultivo irrigado associado a regiões com temperatura amenas, que favorecem o seu desenvolvimento.

Para o controle da doença na cultura do feijoeiro recomenda-se usar sementes saudáveis, racionalizar o volume de água na lavoura, realizar a rotação de cultura e aplicar agroquímicos. Mas, o método de controle ideal seria a utilização de genótipos resistentes, pois contribui para a redução de aplicação de agroquímicos diminuindo os impactos causados ao ambiente, e redução nos danos. Porém, as cultivares disponíveis não têm níveis adequados de resistência para viabilizar o controle da doença.

O controle genético ao mofo branco é atribuído a vários genes, caracterizando o tipo de resistência horizontal que implica em genótipos com diferentes níveis de resistência. Várias cultivares e progênies adaptadas possuem alguma resistência, ficando evidente a necessidade de se identificar genótipos mais resistentes à doença. A identificação desses genótipos pode ser realizada inoculando-os com isolados de diferentes origens. Simultaneamente, tem-se também a oportunidade de identificar os isolados mais eficientes em discriminar os hospedeiros. Tanto a identificação das linhagens de feijão mais resistentes quanto dos isolados mais eficientes em avaliá-las pode ser realizada por meio de

uma análise do tipo fatorial ou dialélico parcial (MELO; SANTOS, 1999). Nesse esquema é possível quantificar o nível de resistência horizontal relativa de cada linhagem e a patogenicidade relativa dos isolados de mofo branco. Para facilitar a interpretação dos resultados, pode-se utilizar também o modelo de análise GGE *biplot* proposto por Yan et al. (2000), em que são considerados o efeito principal do genótipo (G) mais a interação do genótipo e ambiente (Isolados) (GxE), que são os efeitos principais de variação quando se inocula diferentes hospedeiros com diferentes isolados. Ambos os métodos também permitem identificar os isolados mais agressivos, que são os mais eficientes para a seleção das linhagens com resistência.

A identificação de genótipos com maiores níveis de resistência viabiliza a utilização dos mesmos, como fonte de alelos de resistência em programas de melhoramento do feijoeiro visando à resistência. Com isso, é possível obter maiores ganhos com os cruzamentos e maior eficiência na seleção para resistência ao mofo branco. Sendo assim, os objetivos do presente trabalho foram avaliar a reação de linhagens de feijão comum ao mofo branco, a agressividade de diferentes isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*, oriundos de vários locais de produção de feijão, das regiões Centro-Oeste e Sudeste do país, e a comparação dos procedimentos de análise dialélica e GGE *biplot* no estudo da interação linhagens por isolados.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Importância econômica da cultura do feijoeiro

O feijão é cultivado em diversos países em todo o mundo. Tem grande importância econômica principalmente em países em desenvolvimento, pois o seu cultivo é fonte de renda para muitas famílias, principalmente famílias de pequenos agricultores que dependem da produção da cultura. Seus grãos constituem uma das principais e mais acessíveis fontes de minerais, aminoácidos, calorias 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 nesses teores. Algumas características como cor, tamanho e brilho do grão, podem determinar o seu consumo, enquanto a cor do halo pode também influenciar na comercialização. Os grãos menores e opacos são mais aceitos que os maiores e que apresentam brilho, com isso a preferência exigida pelo consumidor é que orienta a obtenção de cultivares, que apresentem boas características agrônômicas e valor comercial de varejo (AIDAR, 2003).

O Brasil é o maior produtor mundial de feijão comum, sendo que a maior parte da produção é destinada para o consumo interno. Somente para a primeira safra de 2012/2013 a área estimada para produção deverá ser entre 1,14 e 1,17 milhão de hectares, o que mostra um decréscimo de 7,9 a 5,5% em relação à safra passada e a produção deverá atingir 1,29 milhão de toneladas, o que representa um acréscimo de 4,0% em relação ao ano anterior. Para o feijão da segunda e terceira safras, em função do calendário de plantio e da metodologia aplicada nas estimativas, foram repetidas as áreas da safra anterior,

com isso, obtendo o rendimento semelhante aos últimos três anos. Estima-se que a área total na safra 2012/13 fique em torno de 3,16 e 3,19 milhões de hectares, com um decréscimo variando entre 3,0% e 2,1% em relação à safra passada. A produção nacional deverá situar-se entre 3,26 e 3,31 milhões de toneladas, representando um acréscimo entre 11,9 e 13,6%, em comparação à última safra. A região sul destaca-se na produção total de feijão, com destaque para o Estado do Paraná, com produção estimada entre 678,2 e 697,4 milhões de toneladas, um aumento de 2,9% em relação à safra 2011/12 (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2012).

Toda a estimativa de aumento da produção para 2012 deve-se aos bons preços de comercialização nas safras passadas para alguns dos principais Estados produtores, e principalmente pelo uso de cultivares mais produtivas. Mesmo com todo o crescimento da produção nacional é importante atentar-se para os aspectos fitossanitários da cultura, pois está cada vez mais notável o desenvolvimento de doenças que antes não eram tidas como de importância econômica e agora são consideradas responsáveis por perdas significativas. Dentre as principais doenças que acometem o feijoeiro destacam-se, a antracnose causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum*, (Sacc. & Magnus) Scrib., a mancha angular causada pelo fungo *Pseudocercospora griseola* e o mofo branco causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*. Este último é considerado atualmente um patógeno de grande importância econômica para a cultura. O mofo branco pode ocasionar perdas de 30% a 100% da produção em períodos chuvosos, temperatura amena e quando medidas preventivas não são (OLIVEIRA, 2005; RAVA, 2012).

A produtividade de grãos de feijão no país, embora crescente, ainda é pequena. Inúmeros fatores contribuem para a redução na produtividade. Miklas (2006) apresenta uma relação dos principais estresses bióticos que afetam a

cultura, dentre eles, a ocorrência de vírus, bactérias, fungos e de determinados tipos de pragas.

Uma das principais formas de controle das doenças em feijoeiro é a utilização de cultivares resistentes, mas as cultivares utilizadas atualmente apresentam baixos níveis de resistência. Sendo assim, é de suma importância o desenvolvimento de cultivares mais resistentes às principais doenças e que apresentem boa adaptabilidade às regiões produtoras. Com isso, a utilização de técnicas que permitam identificar e avaliar genótipos com altos níveis de resistência às doenças torna-se indispensável para o melhoramento genético de plantas.

## **2.2 Mofo branco na cultura do feijão**

O mofo branco causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, é uma doença que pode causar grandes prejuízos à cultura, e atualmente é considerada uma das doenças mais importantes do feijoeiro. Trata-se de um fungo polífago, tendo como hospedeiras plantas de 75 famílias, 278 gêneros e 408 espécies (LEITE, 2005), destacando-se soja, girassol, canola, ervilha, feijão, alfafa, fumo, tomate e batata. O fungo produz estruturas de resistência denominadas escleródios, dentro e na superfície dos tecidos colonizados, que retornam ao solo com os resíduos da cultura e são responsáveis pela sobrevivência do fungo. Os escleródios podem permanecer no solo por até 11 anos, conservando intacto seu poder patogênico (LEITE, 2005). O fungo é capaz de infectar qualquer parte da planta, porém, as infecções iniciam-se com mais frequência a partir das flores e das axilas das folhas e ramos laterais (KIMATI et al., 2005). Os escleródios que são produzidos internamente no hospedeiro geralmente são maiores, podendo até atingir alguns centímetros de comprimento (CARDOSO, 1994).

Até o feijoeiro florescer, dificilmente a doença torna-se importante, mas depois que as flores caem, a doença é disseminada rapidamente porque a flor é a fonte primária de energia, servindo de alimento para o fungo iniciar a infecção. É importante frisar que atualmente não há disponibilidade aos produtores de feijão, de cultivares resistentes ao mofo branco, medida que seria a mais indicada e econômica para o manejo da doença (OLIVEIRA, 2005).

Para que o fungo possa se desenvolver e provocar uma epidemia, é necessário que a umidade adequada do solo seja mantida por certo período de tempo, variando em função do local e do tipo de solo (NAPOLEÃO et al., 2005). Para que ocorra a infecção da planta, os escleródios devem germinar produzindo os ascósporos (esporos), que são facilmente transportados pelo vento e podem infectar plantas em um raio de 50 a 100 m da fonte produtora (NAPOLEÃO et al., 2005). Outros meios de disseminação dos esporos podem ser por sementes contaminadas, pela água e por restos culturais que contenham os escleródios que podem vir a germinar e causar a doença novamente na área.

No sistema de cultivo de plantio direto a palhada contribui para uma baixa incidência da doença, atuando como barreira física, além de 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 o uso de sementes saudias, racionalização do volume de água na lavoura, manter o pivô bem regulado com lâmina d'água uniforme, fugir do período mais frio e promover ou incrementar microrganismos antagônicos no solo, como o *Trichoderma* (OLIVEIRA, 2005).

Com a combinação da resistência fisiológica e os mecanismos de prevenção agronomicamente desejáveis, é possível uma melhoria na estabilidade da resistência em longo prazo para a doença (KOLKMAN; KELLY, 2002).

Contudo, é muito importante que se realize a prevenção correta ao mofo branco e que se desenvolva cultivares que apresentem altos níveis de resistência

e bom desenvolvimento produtivo, ambos associados a boas características de adaptabilidade aos diferentes climas das regiões produtoras da cultura.

### **2.3 Controle genético da resistência ao mofo branco**

Atualmente, existem poucas pesquisas relacionadas ao controle genético da resistência ao mofo branco em feijoeiro. Alguns trabalhos têm mostrado que a herança é complexa e está associada à resistência fisiológica, parcial, e mecanismos de escape, como condições climáticas e caracteres morfológicos (KOLKMAN; KELLY, 2002; MIKLAS et al., 2001). A maioria dos mecanismos de escape ao mofo branco, como hábito de crescimento arbustivo, apresenta alta herdabilidade e é facilmente avaliada em campo (CARNEIRO et al., 2011).

Para o melhoramento do feijão, evidentemente, não basta transferir alelos de resistência, pois é também necessário que a cultivar seja superior em vários caracteres agrônômicos. As principais fontes de resistência genética ao patógeno estão restritas a algumas cultivares exóticas e não adaptadas ao Brasil, as quais, embora com potencial de uso nos programas de melhoramento, não apresentam possibilidades de utilização direta pelos produtores. Quando as fontes de resistência não são adaptadas, é necessário esclarecer o controle da resistência genética de feijão ao mofo branco através de cruzamentos com as linhagens elites (CARNEIRO et al., 2011).

Na condução de um programa de melhoramento genético é necessário o conhecimento do tipo de ação gênica que predomina no controle genético de um dado caráter. 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 detalhes a natureza da ação gênica presente (VENCOVSKY; BARRIGA, 1992). Por exemplo, o clima nos

anos mais chuvosos e com temperaturas mais amenas determinam maior intensidade da doença (KIM; SNELLER; DIERS, 2000).

Em alguns estudos sobre o controle genético da resistência do feijoeiro ao mofo branco foram identificados vários locos de caracteres quantitativos (*QTL*), condicionando resistência e confirmando a natureza quantitativa da reação do feijão comum ao patógeno. Miklas et al. (2001) observaram que o *QTL* situado no grupo de ligação B7 e localizado próximo ao loco da proteína de semente *Phs*, presente em uma linhagem de feijão andina G122, explicou 38% da variação fenotípica da reação ao mofo branco, quando avaliada pelo método do *Straw test* em casa de vegetação e 26% quando avaliada no campo. A resistência parcial causada por esse *QTL* pode ser condicionada pelos mecanismos de resistência fisiológica e os mecanismos de escape da planta, porque foi mais expressivo quando avaliado em casa de vegetação pelo método do *Straw test*. Soule et al. (2011) relataram 21 *QTL*'s de diferentes fontes de resistência, que explicaram entre 5% e 52% da variação fenotípica quando se utilizou teste em casa de vegetação e teste de campo.

Antonio et al. (2008), estudando o controle genético da resistência do feijoeiro ao mofo branco pela reação ao ácido oxálico, constataram que houve predomínio do efeito aditivo e o controle genético foi caracterizado por dominância parcial ( $d/a=0,47$ ). A herdabilidade no sentido amplo, no âmbito de médias de progênies (0,47), foi superior à obtida em plantas individuais (0,33), indicando que a seleção deve ser mais eficiente com base na avaliação de média de progênies.

Carneiro (2009) observou por meio de avaliação da resistência do feijão comum ao mofo branco pelo método da inoculação com micélio, que também ocorre predomínio do efeito aditivo na expressão do caráter. Considerando as estimativas da herdabilidade no sentido amplo os autores

concluíram que a seleção é mais eficiente com base na média de progênies e inoculações múltiplas.

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 ao mofo branco deve-se ao fato de a resistência fisiológica ser quantitativa, com moderada a baixa herdabilidade, que é inerente a maior imprecisão de avaliação (MIKLAS et al., 2004), com expressiva influência ambiental nos caracteres morfológicos que confundem a expressão e detecção desse mecanismo.

O controle da doença pela resistência genética de plantas é o método mais desejável, principalmente porque não aumenta os custos de produção e também ajuda a diminuir a poluição ambiental. No entanto, a identificação de genótipos resistentes é muitas vezes difícil, devido à falta de conhecimento do patógeno e do tipo de controle genético da reação.

Compreender as formas pelas quais alelos de resistência do hospedeiro interagem com os alelos de virulência dos patógenos torna-se de fundamental importância para a definição de estratégias de melhoramento de plantas para resistência a fitopatógenos (MELO; SANTOS, 1999).

Com o objetivo principal de testar uma metodologia que de maneira simples pudesse informar sobre o tipo de resistência do hospedeiro, assim como a agressividade do patógeno, Melo e Santos (1999) realizaram um estudo de simulação do controle genético. Para análise dos dados, foi utilizado um esquema de dialelo parcial avaliado pelo modelo IV de *Griffing*. Foi encontrada uma alta correlação entre a capacidade geral de reação e a resistência horizontal dos hospedeiros, assim como a capacidade geral de agressividade e a

patogenicidade do isolado. Em relação à capacidade específica de interação, a mesma mostrou-se como um indicador da resistência vertical do hospedeiro e da virulência do patógeno.

Alguns trabalhos têm empregado essa metodologia, como Cornélio (2001) ao realizar um estudo no patossistema *Pyricularia grisea*-arroz, verificaram a predominância de resistência vertical nas cultivares diferenciadoras e resistência horizontal nas cultivares comerciais, Buiate et al. (2010) no patossistema sorgo-*Colletotrichum sublineolum*, onde a metodologia mostrou-se promissora na identificação de resistência horizontal e na predição do desempenho de híbridos de sorgo, Carneiro (2012) no patossistema feijão-*Sclerotinia sclerotiorum* foi possível identificar linhagens/cultivares com elevado nível de resistência, bem como o nível de agressividade de diferentes isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*, Pereira (2013) no patossistema feijão-*Pseudocercospora griseola* que foi utilizada pela primeira vez nesse patossistema, mostrou-se promissora na identificação de resistência horizontal e vertical com predominância da resistência horizontal, contatou-se também diferença na virulência dos isolados de *P. griseola* avaliados.

Uma metodologia que também pode ser utilizada para informar sobre os níveis de resistência dos hospedeiros e agressividade dos isolados é a análise GGE *biplot*. Além disso, o método detecta também interações específicas de genótipos de hospedeiros por isolados (YAN; KANG, 2002). O modelo GGE *biplot* proposto por Yan et al. (2000), considera o efeito principal do genótipo (G) mais a interação do genótipo e ambiente (Isolados) (GxE), que são os efeitos principais de variação quando se inocula diferentes hospedeiros com diferentes isolados. A variabilidade desses efeitos é analisada por meio dos componentes principais (PC). O modelo representa graficamente os componentes principais, facilitando o entendimento dos efeitos de reação, de agressividade e da interação hospedeiro por patógeno (YAN; KANG, 2003). Para se obter um *biplot*, apenas

os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) são utilizados, enquanto os demais são considerados como resíduos.

No GGE *biplot*, as linhas que ligam a origem às coordenadas das linhagens referem-se aos vetores das respectivas linhagens. Os vetores de maior comprimento indicam que as linhagens apresentam maior magnitude de resistência ou suscetibilidade a um ou mais isolados, enquanto que vetores de menor comprimento, próximo à origem, podem ou não indicar que as linhagens apresentam baixa magnitude de resistência, dependendo de quanto o *biplot* explica da variação contida na matriz original (YAN; TINKER, 2005). Como exemplo a Figura 1 ilustra a reação de linhagens de cevada inoculadas com isolados de *Pyrenophora teres* (YAN; FALK, 2002).

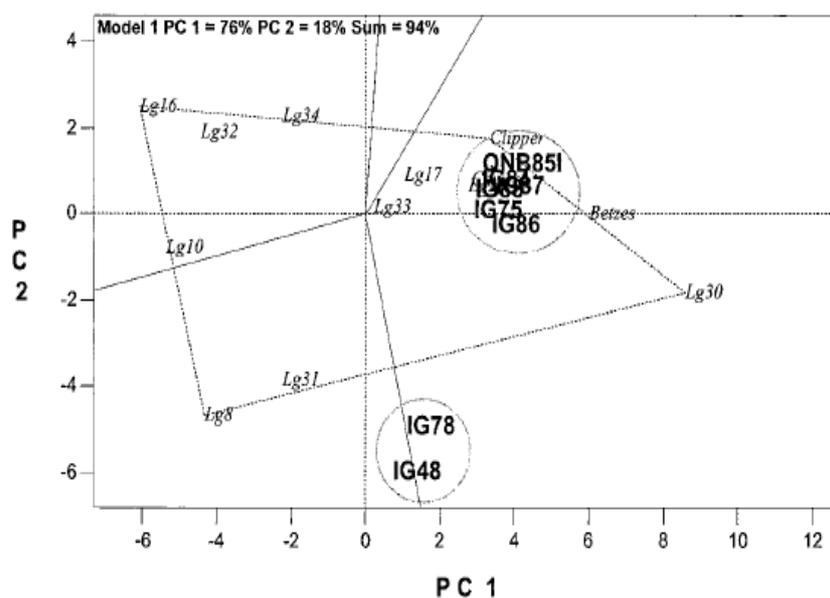


Figura 1 Polígonos formados no *biplot* de 13 linhagens de cevada inoculadas com oito isolados de *Pyrenophora teres*. As letras em *itálico* correspondem às linhagens e as letras em **negrito** correspondem aos isolados como testadores

Fonte: Yan e Falk (2002)

Pela metodologia GGE *biplot* a análise gráfica torna mais fácil observar os resultados. No gráfico é formado inicialmente um polígono, unindo os genótipos mais extremos com segmentos de linha (Figura 1). Posteriormente, segmentos de reta perpendiculares a cada lado do polígono original até a origem, geram novos polígonos, dentro dos quais são formados os grupos de genótipos mais similares.

Nesse *biplot* os dois componentes principais explicaram 94% da variação total, e quanto menor for a variação explicada pelo *biplot* implica que algumas previsões com base no *biplot* serão menos precisas (YAN; KANG, 2003). Como exemplo, na figura 1 está os resultados a partir de dados de uma tabela de dupla entrada, onde as entradas seriam os genótipos e os testadores os isolados. Os dados originais foram obtidos a partir de uma escala diagramática com notas variando de 1 (plantas sem sintomas) a 9 (planta mais susceptível), portanto os genótipos com o maior nível de resistência são aqueles que possuem o menor valor de PC1. Desse modo, pode-se inferir, a partir da figura 1, que os genótipos *Lg16*, *Lg10* e *Lg8* são os mais resistentes e o *Lg30* o mais suscetível. As linhagens pertencentes ao mesmo grupo *Lg10*, *Lg16*, *Lg32* e *Lg34* devem possuir alelos similares de resistência, porém, devem ter alelos diferentes das linhagens de outro grupo, como as linhagens *Lg8* e *Lg31*. A interpretação para os isolados é análogo ao de genótipos, porém, na análise os isolados são usados como entradas e as linhagens como testadores. Outras inferências também podem ser realizadas por meio da análise GGE *biplot*, como adaptabilidade e estabilidade de cultivares (YAN; KANG, 2003).

Carneiro (2012), no patossistema feijão-*Sclerotinia sclerotiorum* com dados de análise dialélica identificaram linhagens/cultivares com elevados níveis de resistência e diferentes níveis de agressividade de isolados de *S. sclerotiorum* por meio da análise gráfica GGE *biplot*.

## 2.4 Mecanismos de infecção de *Sclerotinia sclerotiorum*

Para que ocorra a infecção na planta, os escleródios devem germinar por meio de dois processos, a germinação micelogênica e carpogênica. Na forma micelogênica há formação de hifas que penetram através da cutícula da planta hospedeira utilizando enzimas, mecanismos apressórios ou através dos estômatos (LUMSDEN, 1979; LUMSDEN; WERGIN, 1980; OLIVEIRA; LOBO JÚNIOR; PETROFEZA, 2011; SOUZA et al., 2007). Na forma carpogênica (sexual), são produzidos os apotécios, que liberam grande quantidade de ascósporos (KARL; NASSER; CAFÉ FILHO, 1997; NAPOLEÃO et al., 2005). Os ascósporos podem germinar na superfície de um tecido saudável, podendo infectar a planta. Entretanto, os tecidos necrosados ou flores geralmente servem como fonte externa de nutrientes para iniciar sua germinação, dando início à infecção micelial da planta hospedeira (ABAWI; GROGAN, 1979; LUMSDEN, 1979; MCLEAN, 1958).

A infecção ocorre, geralmente, na junção do pecíolo com a haste, aproximadamente 10 a 15 cm acima da linha do solo, onde flores, pétalas e folhas desprendidas geralmente ficam retidas (OLIVEIRA, 2011). Os tecidos infectados apresentam inicialmente lesões encharcadas que se espalham rapidamente para as hastes e ramos. Rapidamente, as lesões são cobertas por micélio branco de aspecto cotonoso, bem característico da doença.

Os micélios variam de branco até preto à medida que atingem a maturação. Segundo Mert-Türk et al. (2007), a coloração está relacionada a diferenças genéticas dentro da população, relatando a grande variabilidade genética do patógeno.

Quando a lesão circunda a haste, a parte aérea da planta sofre murcha e morte de folhas. Em folhas e pecíolos, os sintomas ocorrem sob alta umidade relativa e são caracterizados por apodrecimento total das folhas, com presença

de micélio branco e escleródios. Segundo Kolkman e Kelly (2000), o ácido oxálico também provoca sintomas de murcha em plantas infectadas por *S. sclerotiorum*. A invasão de tecidos de plantas saudáveis requer secreções fúngicas de ácido oxálico, que são a causa provável da lesão formada antes da invasão de hifas fúngicas (LUMSDEN; DOW, 1973).

## 2.5 Métodos de avaliação da reação do feijoeiro ao mofo branco

Há vários métodos propostos para avaliar a reação de resistência do feijoeiro ao mofo branco. Um dos métodos mais simples, e considerado um dos mais eficientes para avaliação da resistência fisiológica é o *Straw test* ou teste do canudo, que auxilia na identificação, na caracterização e na seleção de genótipos resistentes ao mofo branco, sendo também o mais utilizado nos programas de melhoramento (TERÁN; SINGH, 2008). Descrito por Petzoldt e Dickson (1996), o *Straw test* apresenta grande vantagem em relação aos demais testes, pois é um método não destrutivo, em que as plantas são inoculadas com auxílio de ponteiras plásticas contendo o micélio do fungo, três a cinco semanas após a semeadura. O método pode ser realizado tanto em campo quanto em casa de vegetação, e a avaliação é feita conforme uma escala diagramática proposta por (TERÁN; SINGH, 2009), que varia de 1 (plantas sem sintomas) a 9 (plantas mortas).

Petzoldt e Dickson (1996), relatam que linhagens com notas inferiores a cinco em *Straw test* são identificadas como possíveis fontes de resistência, pois não permitem o desenvolvimento da doença. Miklas et al. (1998), utilizando a metodologia do *Straw test* para avaliação de linhagens com determinada resistência a mofo branco, observaram notas inferiores a cinco.

Miklas et al. (1999) obtiveram notas altas de doença em cultivares suscetíveis de feijão comum, como as cultivares Labrador e *Tenderlake*,

indicando que o *Straw test* pode ser utilizado para detectar resistência fisiológica em coleções núcleo. Alta correlação foi obtida entre os resultados do *Straw test* aplicado em casa de vegetação e entre áreas naturais com infecção de mofo branco (HALL; PHILLIPS, 1997; HALL; PHILLIPS, 1998).

Existem métodos que utilizam campos com histórico da doença ou utilizando-se de escleródios cultivados em laboratório que contaminam a área experimental (HUANG; MUNDEL; ERICKSON, 2003), outros métodos têm sido propostos para avaliação da resistência ao mofo branco, como o método de inoculação dos micélios nos cotilédones, caule cortado, folhas destacadas (KULL et al., 2003), reação ao ácido oxálico (ANTONIO et al., 2008; KOLKMAN; KELLY, 2003), inoculação em flores utilizando suspensão de ascósporos e inoculação na haste utilizando palito colonizado pelo fungo (TOLÊDO-SOUZA; COSTA, 2003).

Quando se procede a avaliação em campo, fatores ambientais são limitantes, como épocas que são mais quentes e secas ou mais frias e úmidas, principalmente durante e após a floração. Kim, Sneller e Diers (2000) encontraram efeito significativo para ambiente e interação genótipos x ambientes, demonstrando, assim, grande efeito do ambiente nessas avaliações. Huang, Mundel e Erickson (2003), consideram a resistência atribuída a dois fatores, os mecanismos de escape e a fatores fisiológicos. Contudo, Carneiro et al. (2011) concluíram que para se aumentar a chance de detecção de populações resistentes deve-se realizar inoculações repetidas.

É comum entre a maioria dos pesquisadores a preferência pela realização da avaliação da doença em campo, mas existem 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), e deve-se considerar a presença de isolados diferentes em termos de

agressividade numa mesma área. Cultivares ou progênies com porte mais arbustivo, comportam-se de modo diferente daquelas com porte mais prostrado, mascarando a resistência fisiológica (HUANG; MUNDEL; ERICKSON, 2003).

A maioria dos testes de avaliação depende do micélio fúngico nas avaliações, que são influenciados pela variabilidade dos isolados e sensibilidade do patógeno a altas temperaturas. Os problemas relacionados com a avaliação e seleção para resistência ao mofo branco podem ser devidos, em parte, pela falta de conhecimento da estrutura populacional do patógeno (KULL et al., 2004), e a variabilidade patogênica (KULL et al., 2004). Abreu, Mendonça e Souza (2011), com a finalidade de avaliar a variabilidade existente em alguns isolados de *S. sclerotiorum*, realizaram um estudo de características da morfologia da colônia, taxa de crescimento micelial e características dos escleródios formados, sendo essas consideradas como marcadores da variabilidade existente em estudos de populações (BAG, 1999; BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006; MERT-TÜRK et al., 2007), revelaram ampla variabilidade genética para as características avaliadas, mesmo entre isolados de uma mesma área.

Para explorar a maior variabilidade dos patógenos, uma estratégia é que as coletas devem ser realizadas em locais diferentes.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Local

Os experimentos foram conduzidos, na área experimental do Departamento de Biologia (DBI) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), na cidade de Lavras - MG. 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 Linhagens utilizadas

Foram utilizadas 11 linhagens de feijão, linhagens 10, 14, 19, 28, 88, 89, 92, 112, 125, 138 e 667 provenientes de populações de retrocruzamento. Sendo, as linhagens 10, 14, 28, 125, 138 e 667 oriundas do retrocruzamento de Madrepérola (Madrepérola x G122) e do retrocruzamento de Madrepérola (Madrepérola x Ex Rico 23), e as linhagens 19, 88, 89, 92 e 112 oriundas do retrocruzamento de [M20 x (M20 x (M20 x G122)) (LIMA, 2010) e a linhagem Corujinha, suscetível ao mofo branco, como testemunha. A linhagem Madrepérola proveniente do programa de melhoramento de feijão da UFV é do tipo Carioca, com tipo de grãos superiores às cultivares atualmente em uso, e apresenta alta produtividade de grãos. As linhagens G122 e Ex Rico 23 são as fontes de resistência fisiológica ao mofo branco (KOLKMAN; KELLY, 2003; MIKLAS et al., 2001), porém, não adaptadas às condições de cultivo do Sul de Minas Gerais. A G122 tem grãos grandes tipo pintado, a Ex Rico 23 tem grãos pequenos, brancos e ambas têm hábito de crescimento tipo II e resistência fisiológica parcial ao mofo branco. A M20 é portadora dos alelos de resistência à antracnose *Co-5* e *Co-4<sup>2</sup>*, resistência parcial à mancha angular, hábito de crescimento tipo II e grãos tipo carioca (SILVA; SANTOS; ABREU, 2006).

### 3.3 Obtenção e preparo dos isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* para avaliação da resistência das linhagens

Foram utilizados 22 isolados de *S. sclerotiorum* oriundos de diferentes locais dos Estados de Minas Gerais e Goiás, provenientes da Micoteca do Laboratório de Resistência a Doenças de Plantas do DBI/UFLA (Tabela 1).

Tabela 1 Isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* e suas respectivas origens geográfica e climática. Lavras, 2013

Isolado	Origem	Mesorregião	Clima
1- Isolado 5	Ijaci – MG	Campo das Vertentes	Tropical de Altitude
2- UFLA 29	Lambari – MG	Sul de Minas	Tropical de Altitude
3- UFLA 37	Viçosa – MG	Zona da Mata	Tropical de Altitude
4- UFLA 38	Presidente Bernardes - MG	Zona da Mata	Tropical de Altitude
5- UFLA 39	Cabeceira Grande – MG	Noroeste de Minas	Tropical
6- UFLA 44	Coimbra – MG	Zona da Mata	Tropical de Altitude
7- UFLA 47	Paracatu – MG	Noroeste de Minas	Tropical
8- Isolado 4	Goiânia - GO	Goiânia	Tropical
9- UFLA 36	Guarda Mor – MG	Noroeste de Minas	Tropical
10- UFLA 30	Lambari – MG	Sul de Minas	Tropical de Altitude
11- UFLA 03	Ijaci – MG	Campo das Vertentes	Tropical de Altitude
12- UFLA 27	Lambari – MG	Sul de Minas	Tropical de Altitude
13- UFLA 28	Lambari – MG	Sul de Minas	Tropical de Altitude
14- UFLA 49	Porto Firme-MG	Zona da Mata	Tropical de Altitude
15- UFLA 48	Oratórios-MG	Zona da Mata	Tropical de Altitude
16- UFLA 66	Unai-MG	Noroeste de Minas	Tropical
17- UFLA 91	Patos de Minas-MG	Alto Paranaíba	Tropical
18- UFLA 10	Ijaci-MG	Campo das Vertentes	Tropical de Altitude
19- UFLA 22	Lambari-MG	Sul de Minas	Tropical de Altitude
20- UFLA 34	Paracatu-MG	Noroeste de Minas	Tropical
21- UFLA 46	Oratórios-MG	Zona da Mata	Tropical de Altitude
22- UFLA 51	Viçosa-MG	Zona da Mata	Tropical de Altitude

Os escleródios foram submetidos à assepsia e depositados em placas de Petri com meio BDA com antibiótico Cloranfenicol, e mantidos em câmara incubadora por quatro dias, a 22°C e fotoperíodo de 12 horas, para crescimento do fungo. Após a obtenção do micélio foi realizada uma repicagem com auxílio de um furador de 0,7 mm de diâmetro para novas placas contendo meio BDA, com o intuito de multiplicar e obter um crescimento mais uniforme do micélio. As placas foram então mantidas em câmara incubadora por 72 horas. As placas totalmente cobertas com micélio foram utilizadas para o preparo das ponteiras, de modo que o micélio ficasse retido na ponteira para posterior inoculação em campo, permitindo o seu contato direto com o ápice cortado da planta.

#### **3.4 Inoculação das linhagens em campo com os isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* (Straw test)**

As 12 linhagens foram avaliadas em campo por meio da inoculação com os 22 isolados de *S. sclerotiorum* utilizando o método do *straw test* proposto por Petzoldt e Dickson (1996). Em cada experimento foi utilizado um isolado, em delineamento de blocos completos casualizados (DBC) com três repetições, sendo que cada parcela foi constituída de uma linha de um metro de comprimento com espaçamento de 0,5 metros entre parcelas. Foram inoculadas dez plantas por parcela.

Foram realizadas avaliações em três safras, sendo a primeira na safra da seca de 2011, a segunda na safra de inverno de 2011 e a terceira avaliação na safra da seca de 2012. Na safra da seca de 2011 foram utilizados 10 isolados de *S. sclerotiorum*, destes, dois foram escolhidos de acordo com o maior grau de agressividade para serem utilizados como testemunhas nas demais safras. Na safra de inverno de 2011 foi realizada a segunda avaliação utilizando nove isolados de *S. sclerotiorum*, sendo dois comuns a primeira safra e mais sete

isolados diferentes. Na terceira avaliação, foram utilizados sete isolados de *S. sclerotiorum*, cinco isolados diferentes e dois isolados comuns à primeira e à segunda avaliação.

Com relação ao manejo experimental foi realizada adubação na semeadura de 300 kg/ha da fórmula 8-28-16 (N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O), mais 150 kg/ha de sulfato de amônio em cobertura, aproximadamente, vinte dias após a emergência. Quando necessário foi utilizada irrigação por aspersão.

Para a inoculação, foi realizado um corte no ápice da haste principal, a cerca de 2,5 cm do nó, das 10 plantas mais vigorosas de cada parcela e introduzida a ponteira contendo micélio. Oito dias após a inoculação, procedeu-se à avaliação da reação de cada planta de feijão ao mofo branco, por meio de uma escala diagramática de 1 a 9 (TERÁN; SINGH, 2009), em que: 1 - plantas sem sintomas; 2 - invasão do fungo além do sítio de inoculação, porém, menor do que 2,5cm; 3 - invasão do fungo além de 2,5 cm 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 2,5 cm; 6 - invasão do fungo além de 2,5 cm 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.

### 3.5 Análise dos dados

Com as notas médias das parcelas obtidas pela avaliação da resistência das linhagens de feijão ao mofo branco foram realizadas análises de variância individuais para cada isolado em todas as safras de acordo com o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ij} = m + b_j + t_i + e_{ij}$$

Em que:

$Y_{ij}$  : observação referente à linhagem  $i$ , no bloco  $j$ ;

$m$  : média geral;

$b_j$  : efeito aleatório do bloco  $j$ ;

$t_i$  : efeito fixo da linhagem  $i$ , sendo ( $i = 1,2,3...12$ );

$e_{ij}$  : erro experimental.

Visando identificar a precisão experimental foi realizada a estimativa da acurácia seletiva. Essa estimativa tem a função de informar sobre a eficácia da inferência acerca do valor genotípico. A acurácia depende da proporção entre as variações de natureza genética e residual associadas ao caráter em avaliação, além do número de repetições (RESENDE, 2002). De acordo com Resende e Duarte (2007) a avaliação da precisão experimental por meio da acurácia seletiva, varia de 0 a 1, sendo que, apresentando estimativa de 0,9 a 1,0 a classificação da precisão é dita muito alta; de 0,7 a 0,89 precisão alta; de 0,5 a 0,69 precisão moderada e valores de acurácia de 0,1 a 0,49 é dita como de precisão baixa. Para cada experimento foi estimada a acurácia de acordo com a seguinte expressão:

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

Em que  $F$  é o valor do teste  $F$  de *Snedecor* para o efeito de tratamentos (linhagens) da análise de variância.

Para realização da análise agrupada, envolvendo as três safras, as variâncias do erro das épocas de avaliação foram submetidas ao teste de Hartley (NETER; WASSERMAN, 1974) e, mediante homogeneidade das mesmas, foi

realizada a análise de variância agrupada, com auxílio do *software* SAS® de acordo com o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijkz} = m + b_{j(kz)} + t_i + l_k + s_z + tl_{ik} + ts_{iz} + sl_{zk} + tsl_{izk} + \bar{e}_{ijkz}$$

Em que:

$Y_{ijk}$  : observação referente à linhagem  $i$ , no bloco  $j$ , na safra  $k$ ;

$m$  : média geral;

$b_j$  : efeito aleatório do bloco  $j$ , dentro do isolado  $k$ , dentro da safra  $z$ ;

$s_z$  : efeito fixo da safra  $z$ , sendo ( $z = 1, 2$  e  $3$ );

$t_i$  : efeito fixo da linhagem  $i$ , sendo ( $i = 1, 2, 3 \dots 12$ );

$l_k$  : efeito fixo do isolado  $k$ , sendo ( $k = 1, 2, 3 \dots 22$ );

$tl_{(ik)}$  : efeito fixo da interação da linhagem  $i$  e isolado  $k$ ;

$ts_{iz}$  : efeito fixo da interação da linhagem  $i$  e safra  $z$ ;

$sl_{(zk)}$  : efeito fixo da interação da safra  $z$  e isolado  $k$ ;

$tsl_{izk}$  : efeito fixo da interação da linhagem  $i$ , safra  $z$  e isolado  $k$ ;

$\bar{e}_{(ijkz)}$  : erro experimental.

A partir das reações médias de cada linhagem a cada isolado, também foram estimados os efeitos genéticos de reação das linhagens e da agressividade dos isolados, de acordo com a metodologia proposta por Melo e Santos (1999) a qual permite obter informações a respeito da resistência vertical e horizontal dos hospedeiros e também sobre a agressividade e virulência dos patógenos.

Para isso foram utilizadas as médias, o grau de liberdade e o quadrado médio do erro fornecido pelo resultado obtido da análise agrupada, os quais permitiram a análise do dialelo parcial e, conseqüentemente, das estimativas da capacidade geral de resistência (CGR), da capacidade geral de agressividade (CGA) e da capacidade específica de interação (CEI), por meio do modelo IV de

Griffing (1956) com auxílio do *software* SAS® (SAS INSTITUTE, 2000). Cada tratamento é uma combinação dos diferentes isolados e linhagens, de acordo ao modelo da Tabela 2.

As estimativas da CGR, CGA e CEI foram testadas pelo teste t, segundo as expressões apresentadas por Ramalho, Santos e Zimmermann (1993).

Tabela 2 Modelo dialélico parcial proposto por Melo e Santos (1999)

Isolados	Linhagens				Média
	Genótipo 1	Genótipo 2	...	Genótipo i	
Isolado 1	Y <sub>11</sub>	Y <sub>12</sub>	...	Y <sub>1i</sub>	Y <sub>1.</sub>
Isolado 2	Y <sub>21</sub>	Y <sub>22</sub>	...	Y <sub>2i</sub>	Y <sub>2.</sub>
.	.	.	...	.	.
.	.	.	...	.	.
.	.	.	...	.	.
Isolado j	Y <sub>j1</sub>	Y <sub>j2</sub>	...	Y <sub>ji</sub>	Y <sub>j.</sub>
Média	Y <sub>.1</sub>	Y <sub>.2</sub>	...	Y <sub>.i</sub>	Y <sub>..</sub>

As análises dialélicas foram realizadas de acordo com o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + r_i + a_j + s_{ij} + e_{ij}$$

Em que:

$Y_{ij}$  : severidade da doença exibida pelo hospedeiro i quando inoculado com o isolado j;

$r_i$  : efeito fixo da resistência horizontal da linhagem i;

$a_j$  : efeito fixo da agressividade do isolado j;

$s_{ij}$  : efeito fixo da resistência vertical da linhagem i inoculado com o isolado j;

$e_{ij}$  : erro experimental médio associado à observação  $Y_{ij}$ .

Utilizando os mesmos dados médios empregados na análise dialélica foram realizadas análises gráficas por meio do aplicativo GGE *biplot* também com intuito de estimar a resistência das cultivares/linhagens avaliadas, bem como a agressividade de cada um dos isolados de *S. sclerotiorum* oriundos de diferentes locais e a interação linhagens x isolados (YAN; KANG, 2002). Esse procedimento utiliza análise de componentes principais para decompor os efeitos de genótipos mais o da interação genótipos por isolados e pode complementar a análise dialélica.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análises individuais e análise agrupada

Na Tabela 3 são apresentados os resumos das análises individuais de todos os Isolados nas respectivas safras.

Tabela 3 Resumo das análises individuais de variância por Isolado para os dados de severidade do mofo branco nas linhagens de feijão inoculadas com 22 isolados de *S. sclerotiorum* nas três safras. Lavras, 2013

Isolado*	Médias	CV(%)	$r_{gg}(\%)$	QM	Pr>F	Safra
1	3,92	12,33	91,79	1,48	0,0001	1
2	4,76	15,01	84,42	1,77	0,0062	1
3	3,43	18,78	71,73	0,85	0,0808	1
4	4,03	18,71	80,67	1,62	0,0171	1
5	4,60	16,22	69,51	1,07	0,0931	1
6	4,63	13,90	88,85	1,96	0,0009	1
7	4,41	9,97	93,74	1,59	0,0000	1
8	4,43	16,07	81,51	1,18	0,0163	1
9	4,27	14,07	78,26	0,93	0,0280	1
10	4,53	18,22	42,47	0,83	0,3348	1
11	5,19	12,96	90,07	2,39	0,0005	2
12	6,39	9,23	83,81	1,17	0,0082	2
13	5,42	13,15	80,02	1,41	0,0198	2
6	4,60	15,25	86,20	1,49	0,0036	2
14	5,05	9,30	83,37	0,73	0,0092	2
15	4,53	12,10	79,35	0,81	0,0227	2
16	2,93	13,28	79,09	0,41	0,0334	2
17	4,34	12,14	88,28	1,26	0,0016	2
8	3,38	18,00	35,04	0,43	0,3963	2
18	3,24	10,80	82,68	0,39	0,0103	3
8	3,79	10,94	39,96	0,21	0,3470	3
19	4,02	11,74	88,70	1,05	0,0011	3
20	3,74	10,50	75,05	0,35	0,0470	3
6	4,96	8,13	91,47	1,02	0,0001	3
21	4,85	9,15	89,51	0,99	0,0006	3
22	4,04	15,56	63,34	0,66	0,1472	3

\*Isolado 6 e 8, utilizados nas três safras de avaliação. Cada isolado está identificado na Tabela 1

Os coeficientes de variação (CV%) variaram de 8,13% a 18,78%, para o Isolado 6 na terceira safra e Isolado 3, respectivamente. Mesmo com grande variação, os CV's apresentaram magnitude relativamente baixa. As estimativas da acurácia seletiva na maior parte dos experimentos foram altas. Somente para o Isolado 8 na segunda e terceira safra que apresentaram baixa precisão, de 35,04% e 39,96%, respectivamente, e também para o Isolado 10, com acurácia de 42,47% (Tabela 3). Para os demais experimentos a acurácia variou de moderada a muito alta, podendo-se considerar boa precisão experimental nas avaliações. É importante mencionar que a baixa acurácia está associada a baixos valores de F, especialmente nos casos em que ele não foi significativo. No presente caso isso se deveu a alguns isolados, em geral menos agressivos, que não foram capazes de discriminar as linhagens quanto ao nível de resistência. Consequentemente, a menor agressividade esteve associada à reação média menor que resultou em maior coeficiente de variação. Portanto, não se trata precisamente de baixa precisão experimental. Neste estudo utilizou-se a avaliação em campo, enquanto que na maioria dos outros trabalhos normalmente a inoculação pelo *Straw test* é feita em casa de vegetação. Uma razão para se inocular em campo foi para obter resultados mais semelhantes aos de cultura. Outra razão é a limitação de espaço em casa de vegetação. Nota-se que a precisão experimental nos dois ambientes é semelhante (TERÁN; SINGH, 2010) e, portanto, os resultados de campo são igualmente confiáveis.

Com relação aos isolados comuns, apenas o Isolado 6 foi significativo em todas as safras (Tabela 3). Entretanto, o Isolado 8 foi significativo apenas na primeira safra.

Do total de 22 isolados utilizados nas avaliações, 70% foram estatisticamente significativos, evidenciando a existência de diferença genética ou diferentes alelos de resistência à *S. sclerotiorum*.

A partir dos resultados das análises individuais foi realizada a análise agrupada utilizando as médias ajustadas (Tabela 4). As estimativas dos efeitos de isolados e linhagens foram significativas, confirmando a diferença genética entre ambos. A não significância do efeito da interação linhagens por isolados demonstra que as linhagens mantiveram comportamento coincidente, o que é desejado nos programas de melhoramento visando à resistência, e que permite inferir que as linhagens mais resistentes mantiveram um padrão de resposta quando inoculadas com diferentes isolados de *S. sclerotiorum*. Esse resultado indica que o controle genético da reação do feijão ao mofo branco é essencialmente do tipo horizontal (PARLEVLIET, 1981). Houve diferença significativa da interação safra por isolados, o que permite inferir sobre o efeito do ambiente na agressividade dos isolados. Houve também uma pequena interação linhagens por safra, indicando que as linhagens não mantiveram o mesmo comportamento quando foram consideradas as três safras. Infelizmente não foi possível avaliar todos os isolados em todas as safras. Talvez por essa razão a magnitude dessa interação tenha sido 25% e 30% dos efeitos de isolados e linhagens. Mesmo assim, pode-se inferir que a agressividade do isolado pode depender da época de avaliação e talvez esteja relacionada à origem de cada um. Como já relatado a estimativa do CV foi relativamente de baixa magnitude, 13,82%, similar ao observado em avaliações semelhantes (CARNEIRO et al., 2011; CARVALHO, 2011; LIMA, 2010). A estimativa da acurácia seletiva demonstra uma precisão experimental muito alta, com um valor de 98,76%.

A reação média de cada linhagem representa o seu efeito médio quando inoculada com os Isolados. Sendo assim, as linhagens que apresentaram maiores níveis de resistência foram as linhagens 6 (3,74), 7 (3,92), 11 (3,93), 5 (4,00), 3 (4,08) e 8 (4,21) (Tabela 2A). As linhagens que apresentaram maiores valores na reação média aos isolados foram as linhagens 12 (5,38) testemunha, 2 (4,78), 10

(4,73), 4 (4,58), 9 (4,47) e 1 (4,46), apresentando menores níveis de resistência (Tabela 9, ANEXO). Resultado idêntico ao observado na análise dialélica.

Com relação aos Isolados, o efeito médio de um dado Isolado representa a sua agressividade média quando inoculado em todas as linhagens. Com isso, os Isolados mais agressivos foram os Isolados 12 (6,38), 13 (5,42), 14 (5,02), 6 safra 3 (4,96), 21 (4,85) e 2 (4,76) (Tabela 2A). Sendo os Isolados 16 (2,91), 18 (3,25), 8 safra 2 (3,36), 3 (3,43), 20 (3,74) e 8 safra 3 (3,79) os menos agressivos, pois apresentaram menores valores médios quando inoculados em todas as linhagens (Tabela 2A). Os resultados são também idênticos aos observados na análise dialélica.

Tabela 4 Resumo da Análise agrupada para os dados de severidade do mofo branco do feijoeiro nas linhagens inoculadas com 22 isolados de *S. sclerotiorum*. Lavras, 2013

FV	GL	QM	Pr>F
Safra (S)	2	4,6811	<0,01
Isolados (I)	21	18,5835	<0,01
Linhagem (L)	11	14,8945	<0,01
I x L	231	0,3875	0,2987
S x I	2	4,8525	<0,01
S x L	22	0,5916	0,0381
Erro	589	0,3664	
Média	4,38		
CV (%)	13,82		
$r_{g\hat{a}}$ (%)	98,76		

#### 4.2 Análise Dialélica

A partir das médias ajustadas obtidas na análise de variância foi realizada a análise dialélica por meio do modelo IV de *Griffing* (1956), de acordo com a metodologia proposta por Melo e Santos (1999). Esse método

permite de maneira simples informar sobre o nível de resistência horizontal de cada linhagem e de agressividade de cada isolado.

Na Tabela 5 é apresentado o resumo da análise dialélica envolvendo os 22 isolados de *S. sclerotiorum* e as 12 linhagens de feijão. Verifica-se que todas as fontes de variação foram significativas ( $P < 0,01$ ). Ao contrário do observado na análise agrupada, notou-se interação significativa de linhagens por isolados CEI ( $s_{ij}$ ). Isso provavelmente aconteceu porque na presente análise utilizou-se as médias ajustadas derivadas da análise agrupada. Além disso, apesar do efeito significativo da CEI ( $s_{ij}$ ), sua magnitude é cerca de 34 vezes inferior ao efeito de linhagens e 45 vezes inferior ao efeito de isolados, caracterizando, portanto, apenas a resistência horizontal (PARLEVLIET, 1981).

Tabela 5 Resumo da análise de variância do esquema dialelo parcial para os dados de severidade do mofo branco do feijoeiro nas linhagens inoculadas com 22 isolados de *S. sclerotiorum*. Lavras, 2013

FV	GL	QM	Pr>F
Combinação	263	2,8154	<0,01
CGR ( $r_i$ )	11	16,1672	<0,01
CGA ( $a_j$ )	21	21,5076	<0,01
CEI ( $s_{ij}$ )	231	0,480328	0,0057
Erro	589	0,3665	
Média	4,37		

Segundo Melo e Santos (1999), a resistência horizontal de um genótipo está altamente correlacionada ao valor da CGR ( $r_i$ ). Sendo assim, para a estimativa da CGR ( $r_i$ ), os resultados indicam diferentes níveis de resistência das linhagens, portanto, elas podem ser portadoras de diferentes alelos de resistência. Também em relação aos isolados, a estimativa CGA ( $a_j$ ) foi significativa indicando a ocorrência de diferentes alelos de agressividade. Houve diferença significativa para a CEI ( $s_{ij}$ ), porém de baixa magnitude, e desconsiderando esse efeito pode-se indicar a inexistência de resistência vertical,

ou seja, a resistência horizontal é compatível com a ocorrência de interação hospedeiro por patógenos de pequena magnitude (PARLEVLIET, 1981).

Diante da heterogeneidade das linhagens foram estimados os efeitos da resistência horizontal para cada uma. Todas as linhagens diferiram quanto às estimativas da capacidade geral de reação CGR ( $r_i$ ). As estimativas variaram de -0.59386 (linhagem 6) a 1.01845 (Corujinha), sendo que 83% das estimativas foram significativas, como pode ser visualizado na Tabela 6.

Tabela 6 Estimativa da capacidade geral de reação CGR ( $r_i$ ) para severidade do mofo branco as linhagens de feijão. Lavras, 2013

Linhagem	CGR ( $r_i$ )
1- 28	0,09428
2- 10	0,44132**
3- 19	-0,27611**
4- 14	0,21621**
5- 92	-0,38513**
6- 89	-0,59386**
7- 88	-0,44186**
8- 112	-0,16000*
9- 125	0,10243
10- 138	0,36955**
11- 667	-0,43942**
12- Corujinha	1,01845**

\*,\*\* difente de zero a 5% e 1% de probabilidade pelo teste t

As menores estimativas da CGR ( $r_i$ ) foram observadas para as linhagens 6, 7, 11, 5 e 3. No presente caso, quanto menor o valor da CGR ( $r_i$ ) maior é a resistência horizontal. Isso ocorre por que a avaliação foi realizada com notas, em que maiores notas significam menor resistência. As diferentes magnitudes das CGR ( $r_i$ ) indicam que as linhagens têm diferentes composições alélicas para a resistência e que todas são superiores à testemunha suscetível. Apenas as linhagens 2 e 10 possuem aparentemente, menor número de alelos de resistência.

Quanto à CGA ( $a_j$ ), o maior valor corresponde à maior agressividade do Isolado. Os Isolados 12, 13, 11, 14, 21, 2 e 6 foram os mais agressivos e implica que eles devem ser preferidos para a avaliação do nível de resistência de genótipos de feijão. Os Isolados menos agressivos foram os 16, 18, 3, 20, 8 e 1 (Tabela 7). Observa-se também que os Isolados são geneticamente heterogêneos e, portanto, devem possuir diferentes conjuntos de alelos de agressividade.

Tabela 7 Estimativa da capacidade geral de agressividade CGA ( $a_j$ ) para severidade do mofo branco nas linhagens de feijão. Lavras, 2013

Isolado	CGA ( $a_j$ )
1	-0,47302**
2	0,38494**
3	-0,98263**
4	-0,34506**
5	0,21269*
6	0,35185**
7	0,03837
8	-0,49347**
9	-0,10339
10	0,16363
11	0,80012**
12	2,00977**
13	1,04050**
14	0,66739**
15	0,16189
16	-1,48182**
17	0,00577
18	-1,12728**
19	-0,35107**
20	-0,63783**
21	0,47994**
22	-0,33450**

\*,\*\* diferente de zero a 5% e 1% de probabilidade pelo teste t

Resultados similares de variação no nível de resistência horizontal do hospedeiro e no nível de agressividade dos isolados foram observados por Carneiro (2012), no patossistema feijão-*S. sclerotiorum*. Em outros patossistemas também constatou-se que o dialelo foi eficiente em esclarecer a interação patógeno x hospedeiro (BUIATE et al., 2010; CORNÉLIO, 2001; DAVIDE; SOUZA, 2009; MARANHA; RAMALHO; FARIAS, 2002; PEREIRA, 2013).

Evidenciou-se uma tendência de variação na agressividade dos isolados nas diferentes safras de avaliação, pois quando um isolado foi utilizado em uma época de avaliação com clima diferente do predominante em sua região de origem, os mesmos sempre apresentaram menor agressividade quando comparados com isolados oriundos de regiões com clima semelhante à safra de avaliação. Na Tabela 1, estão descritas as mesorregiões da origem de todos os isolados, com as respectivas caracterizações climáticas. Como já foi descrito anteriormente as avaliações foram realizadas em três safras no município de Lavras - MG, que é caracterizado como de clima tropical de altitude por estar localizado em uma região de altitude, na Mesorregião Sul/Sudeste de Minas.

Também foram obtidos os dados climatológicos do período de avaliação das linhagens com os isolados de *S. sclerotiorum* no município de Lavras, onde é possível observar a variação climática de cada safra (Tabela 1A). Os dados Climatológicos foram obtidos no Departamento de Engenharia da UFLA na Estação de Agrometeorologia e Climatologia.

Foi observado um maior número de isolados mais agressivos na safra de inverno de 2011, na qual a maior parte dos Isolados foi oriunda de regiões mais frias do Estado de Minas Gerais, clima tropical de altitude, semelhante ao clima do município de Lavras - MG, com destaque para os Isolados 11, 12, 13 e 14. Já o Isolado 16 de origem tropical e utilizado na safra de inverno, foi o menos agressivo (Tabela 7).

Os Isolados comuns, 6 e 8, também apresentaram baixa agressividade quando considerada todas as safras. Contudo, o Isolado 6 foi o mais agressivo na safra de inverno de 2011, o que pode ser justificado também pelo fato de ser oriundo de uma região de clima frio, semelhante ao clima da avaliação da safra de inverno de 2011. Sendo assim, ficou evidente que para avaliação da resistência ao mofo branco deve-se ter preferência em utilizar Isolados de regiões com clima semelhante à época do ano a qual se procede as avaliações, tornando as avaliações mais fidedignas.

No geral os Isolados oriundos de regiões mais frias apresentaram agressividade inferior quando utilizados nas safras da seca de 2011 e 2012, e o mesmo ocorreu com os isolados de regiões mais quentes utilizados na avaliação da safra de inverno de 2011.

É importante salientar que o isolado de maior agressividade permite discriminar ao máximo os hospedeiros quanto ao nível de resistência como os Isolados 12 e 13 (YAN; FALK, 2002). Como constatado com o isolado 8, sua baixa agressividade não discriminou as linhagens de feijão em duas épocas, mesmo elas sendo geneticamente contrastantes, quanto à resistência e especialmente em relação à testemunha suscetível Corujinha.

### **4.3 Análise GGE *biplot***

Na análise gráfica do GGE *biplot*, as linhagens mais resistentes ou mais suscetíveis estão localizadas no vértice do polígono, sendo que as linhagens mais resistentes estão nas extremidades mais distantes em relação aos isolados (Figura 2).

Desse modo, pode-se inferir, a partir da Figura 2, que as linhagens 7, 8, 6, 5, 11, e 3 foram as mais resistentes aos vinte e dois isolados de *S. sclerotiorum*, a linhagem 12 (testemunha) foi a mais suscetível e as linhagens 4,

1, 10, 2 e 9 apresentaram algum nível de resistência. Esse resultado é semelhante ao observado na análise dialélica, indicando boa representatividade dos efeitos da reação das linhagens aos isolados no gráfico, o que pode ser também evidenciado pelos valores de PC1 (62,7%) e PC2 (8,3%). As linhagens que se situam próximas umas das outras no gráfico, como os grupos de linhagens 5, 11 e 3; o grupo de linhagens 7 e 8; a linhagem 6 manteve-se isolada; o grupo de linhagens 4, 1; o grupo de linhagens 10, 2 e 9, apresentam padrão de resistência particulares em reação aos isolados utilizados e provavelmente possuem grupos particulares de alelos de resistência.

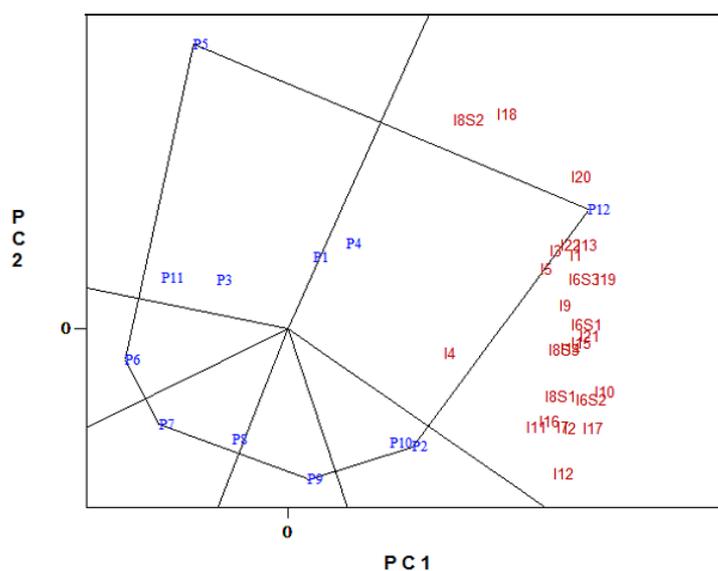


Figura 2 Reação de 12 linhagens (P) de feijão aos isolados (I) de *S. sclerotiorum*. PC1=62,7% e PC2=8,3%, correspondendo a 71% da variação total. Lavras, 2013

Em razão dos níveis de agressividade dos Isolados variarem em função da origem de cada um e também das condições em que eles foram utilizados, pode ter contribuído para o agrupamento das linhagens.

Em relação à agressividade dos Isolados (I), a interpretação é análoga à plotagem para linhagem (Figura 3). Sendo assim, os Isolados 12 e 13 foram os mais agressivos para todas as linhagens, situados próximos, sendo assim, pertencentes ao mesmo grupo, podendo ser caracterizados com o mesmo padrão de agressividade. O Isolado 16 apresentou menor agressividade, que de acordo com a análise gráfica ficou separado dos demais. Pode-se observar a formação de mais dois grupos de isolados menos agressivos, sendo um constituído pelos Isolados 18, 20, 19 e 22 e outro formado pelos isolados 1, 9, 7, 2, 4 e o Isolado 8 na safra 1, os isolados pertencentes ao mesmo grupo podem ser considerados com o mesmo padrão de agressividade (Figura 3).

O Isolado 8, que foi comum em todas as safras, apresentou uma grande instabilidade, pois o mesmo surge nos três grupos de isolados menos agressivos. O Isolado 6 também comum em todas as safras apresentou maior estabilidade quando comparado com o Isolado 8, o que pode ser explicado pelo fato do Isolado 6 ser oriundo de região mais fria, ao contrário do Isolado 8 que é oriundo de uma região mais quente e certamente foi o isolado que mais contribuiu para a interação linhagens por isolados, evidenciando o grande efeito do ambiente na expressão de sua agressividade nas linhagens.

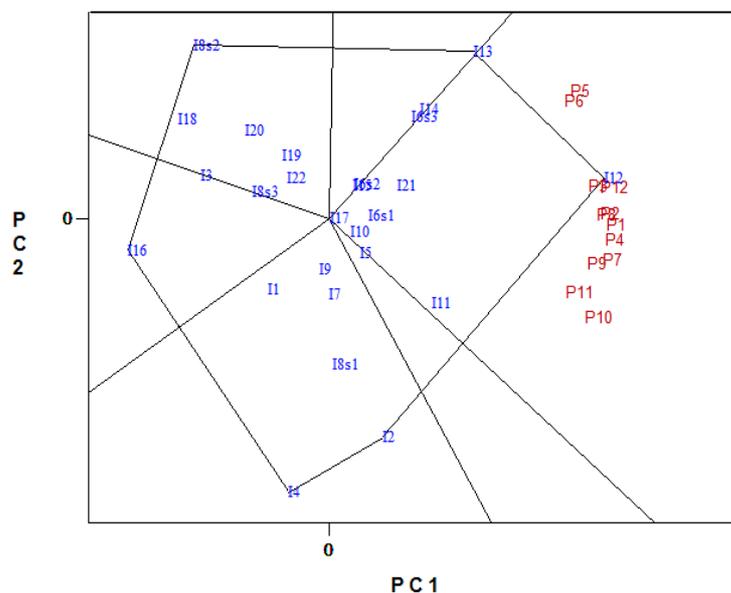


Figura 3 Agressividade dos 22 isolados (I) de *S. sclerotiorum* as 12 linhagens (P) de feijão. PC1=80,0% e PC2=4,6% correspondendo a 84,6% da variação total. Lavras, 2013

Tanto o nível de resistência quanto a estabilidade das linhagens a determinados isolados são importantes, pois ambos são fundamentais para o bom desempenho das linhagens nos diferentes ambientes em que forem cultivadas. A metodologia GGE *biplot* permite inferir também sobre a estabilidade de determinados genótipos. Foi observado que as linhagens 2, 3, 6, 7, 11 e Corujinha, foram as mais estáveis. Entretanto, comparando com as capacidades específicas de reação CEI ( $s_{ij}$ ) estimadas no dialelo, somente as linhagens 3 e 7 foram as que não contribuíram para a interação linhagem x isolado, pois as suas estimativas foram zero, indicando que somente elas apresentaram certa estabilidade (Tabela 9). Já as linhagens 2 e 6 também consideradas estáveis no GGE *biplot* foram as que mais contribuíram para a interação linhagem x isolados no dialelo, pois apresentaram números altos de CEI ( $s_{ij}$ ), 5 e 4, respectivamente.

Assim, fica evidente que os dois procedimentos não são completamente concordantes quando se considera especificamente a interação linhagens por isolados (Tabela 9). Vale lembrar que no procedimento GGE são considerados apenas os dois primeiros componentes principais que explicaram de 71% a 84,6% da variação total dos efeitos genéticos e da interação linhagens por isolados. Além disso, a análise gráfica não contempla um teste estatístico das estimativas dos efeitos genéticos e da interação linhagens por isolados. Já no caso do dialelo, as estimativas CGR ( $r_i$ ), CGA ( $a_j$ ) e CEI ( $s_{ij}$ ) foram todas testadas pelo teste t, além dessas estimativas terem sido obtidas a partir da variação total dos genótipos e da interação linhagens por isolados. Portanto, ambos os procedimentos são úteis, porém, com maior confiabilidade do dialelo, especificamente no estudo da interação linhagens por isolados.

Tabela 9 Estimativa da capacidade específica de reação CEI ( $s_{ij}$ ) significativas por linhagem e valores de instabilidade determinados pelo GGE *biplot* (IGGEB). Lavras, 2013

Linhagem	CEI ( $s_{ij}$ )*	IGGEB
1	0	0.164
2	5	-0.255
3	0	-0.087
4	0	0.196
5	1	0.044
6	4	-0.445
7	0	-0.507
8	4	0.203
9	4	0.549
10	3	0.387
11	1	-0.035
Corujinha	2	-0.197

\* Número de vezes que cada linhagem participou da Capacidade Específica de Interação significativa, no dialelo; (IGGEB = Estimativa de instabilidade das linhagens com a metodologia GGE *biplot*)

## 5 CONCLUSÕES

Há variabilidade entre as linhagens para resistência fisiológica. Sendo assim, poderão ser realizados cruzamentos entre as melhores, que possuem alelos de resistência diferentes oriundos das cultivares Ex Rico 23 e G122 para obtenção de genótipo com maior resistência fisiológica.

Há também variabilidade entre os isolados, evidenciando a existência de diferença genética ou diferentes alelos de agressividade entre eles. O emprego dos isolados mais agressivos é mais eficiente para discriminar os níveis de resistência das linhagens.

Tanto o dialelo quanto o GGE são eficientes para identificar o valor genotípico de linhagens e isolados, com destaque para o dialelo especificamente para o estudo da interação linhagens por isolados.

## REFERÊNCIAS

- ABAWI, G. S.; GROGAN, R. G. Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 69, n. 8, p. 899–904, 1979.
- ABREU, M. J.; MENDONÇA, T. R.; SOUZA, E. A. Caracterização morfológica de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 10., 2011, Goiânia. **Anais...** Goiânia: UFG, 2011. 1 CD ROM.
- 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: 10 out. 2012.
- ANTONIO, R. P. et al. 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.
- BAG, T. K. Notes on the variation of sclerotial structure of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de bary, incitant of cabbage head rot. **ENVIS Bulletin: Himalayan Ecology**, Almora, v. 7, n. 1, 1999.
- BOLTON, M. D.; THOMMA, B. P. H. J.; NELSON, B. D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, London, v. 7, n. 1, p. 1–16, 2006.
- BUIATE, E. A. S. et al. Evaluation of resistance in sorghum genotypes to the causal agent of anthracnose. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 10, p. 166-172, 2010.
- CARDOSO, J. E. Mofo branco. In: SARTORATO, A.; RAVA, C. A. (Ed.). **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. p. 111-122.

CARNEIRO, F. F. et al. Genetics of common bean resistance to white mold. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 11, p. 165-173, 2011.

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, 2009.

CARNEIRO, F. F. **Melhoramento genético do feijoeiro visando resistência ao mofo branco**. 2012. 134 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

CARVALHO, R. S. B. **Reação de progênies de feijão tipo carioca ao mofo branco**. 2011. 73p. Dissertação (Mestrado em genética e Melhoramento de Plantas) -Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

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.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira**: grãos, segundo levantamento 2012/2013. Brasília, 2012.

CORNÉLIO, V.M.O. **Identificação de raças de *Pyricularia grisea* Sacc. no arroz de terras altas em Minas Gerais, incidência e severidade da Brusone e tipos de resistência**. 2001. 82 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

DAVIDE, L. M. C.; SOUZA, E. A. Pathogenic variability within race 65 of *Colletotrichum lindemuthianum* and its implications for common bean breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 9, p. 23-30, 2009.

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

GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal of Biological Science**, Melbourne, v. 9, p. 463-493, 1956.

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.

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.

KARL, A. C.; NASSER, L. C. B.; CAFÉ FILHO, A. C. **Mofo 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. et al. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, 580 p.

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./Feb. 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.

KULL, L. S. et al. Evaluation of resistance screening methods for *Sclerotinia* stem rot of soybean and dry bean. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 87, p. 1471-1476, 2003.

KULL, L. S. et al. Mycelial compatibility grouping and aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 88, n. 4, p. 325–332, 2004.

LEHNER, M. S. et al. 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.

LEITE, R. M. V. B. C. **Ocorrência de doenças causadas por *Sclerotinia sclerotiorum* em girassol e soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 2005. 3 p. (Comunicado Técnico, 76).

LIMA, I. A. **Seleção de progenies 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, 2010.

LUMSDEN, R. D.; DOW, R. L. Histopathology of *Sclerotinia sclerotiorum* infection of bean. **Phytopathology**, St. Paul, v. 63, n. 6, p. 708–715, June 1973.

LUMSDEN, R. D. Histology and physiology of pathogenesis in plant diseases caused by *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 69, n. 8, p. 890–896, 1979.

LUMSDEN, R. D.; WERGIN, W. P. Scanning-electron microscopy of infection of bean by species of *Sclerotinia*. **Mycologia**, New York, v. 72, n. 6, p. 1200–1209, Nov./Dec. 1980.

MARANHA, F. G. C. B.; RAMALHO, A. P.; FARIAS, F. J. C. Estratégias de análise da reação de cultivares de algodoeiro a patógenos. **Revista Brasileira de Oleginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 6, n. 2, p. 565-575, maio/ago. 2002.

MCLEAN, D. M. Role of dead flower parts in infection of certain crucifers by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 42, p. 663, 1958.

MELO, L. C.; SANTOS, J. B. Identification of resistant genotypes considering polygenic systems in host-pathogen interaction. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 22, n. 4, p. 601-608, Dec. 1999.

MERT-TÜRK, F. et al. Microsatellite and Morphological Markers Reveal Genetic Variation within a Population of *Sclerotinia sclerotiorum* from Oilseed Rape in the Çanakkale Province of Turkey. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 155, p. 182-187, 2007.

MIKLAS, P. N. et al. Inheritance of ICA Bunsiderived resistance in a navy × pinto bean cross. **Crop Science**, Madison, v. 44, p. 1584-1588, 2004.

MIKLAS, P. N. et al. 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. et al. Registration of four white mold resistant dry bean germplasm lines: I9365-3, I9365-5, I9365-31, and 92BG7. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 6, p. 1728, Nov./Dec. 1998.

MIKLAS, P. N. et al. Registration of partial white mold resistant pinto bean germplasm line USPT-WM-1. **Crop Science**, Madison, v. 46, n. 5, p. 2339, 2006.

MIKLAS, P. N. et al. Using a subsample of the core collection to identify new sources of resistance to white mold in common bean. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 2, p. 569-563, Mar./Apr. 1999.

NAPOLEÃO, R. et al. Intensidade do mofo-branco do feijoeiro em plantio convencional e direto sob diferentes lâminas d'água. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, p. 374-379, 2005.

NETER, J.; WASSERMAN, W. **Applied linear statistical models: regression, analysis of variance and experimental designs**. Illinois: R. D. Irwin, 1974. 841 p.

OLIVEIRA, J. R. **Podridões de sementes, tombamentos, podridões de raízes e colo**. Disponível em: <<http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/r783101411.html>>. Acesso em: 5 out. 2011.

OLIVEIRA, M. B.; LOBO JUNIOR, M.; PETROFEZA, S. Aspectos moleculares da interação do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* e plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 10., 2011, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão, 2011. 1 CD ROM.

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

PARLEVLIT, J. E. Disease resistance in plants and its consequences for plant breeding. In: FREY, K. J. (Ed.). **Plant breeding II**. Ames: The Iowa State University, 1981.

PEREIRA, R. **Reação de genótipos de feijão e virulência de isolados do agente causal da mancha angular**. 2013. 60 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

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.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; ZIMMERMANN, M. J. O. **Genética quantitativa em plantas autógamas**: aplicações ao melhoramento do feijoeiro. Goiânia: UFG, 1993. 217 p.

RAVA, C. A. **Doenças causadas por fungos do solo**. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/>>. Acesso em: 14 out. 2012.

RESENDE, M. D. V.; DUARTE J. B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 37, n. 3, p. 182-194, set. 2007.

RESENDE, M. D. V. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 975 p.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A. Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v. 30, p. 507-512, 1974.

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

SOULE, M. L. et al. Comparative QTL map for white mold resistance in common bean, and characterization of partial resistance in dry bean lines VA19 and I9365-31. **Crop Science**, Madison, v. 51, p. 123-139, 2011.

SOUZA, T. P. et al. Modo de infecção do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary em folha de feijão. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA, 2007, 1., Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2007.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS language and procedures**: usage: version 8.1. Cary, 2000. 1 CD ROM.

TERÁN, H.; SINGH, S. P. Gamete and recurrent selection for improving physiological resistance to white mold in common bean. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 90, n. 2, p. 153-162, Mar. 2010.

TERÁN, H.; SINGH, S. P. Gamete selection for improving physiological resistance to white mold in common bean. **Euphytica**, Wageningen, v. 25, n. 3, p. 271-280, Jan. 2009.

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. ; COSTA, J. L. 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**.  
Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496 p.

YAN, W. et al. Cultivar evaluation and mega-environment investigation based on the GGEbiplot. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 597-605, 2000.

YAN, W.; FALK, D. E. Biplot analysis of host-by-pathogen interaction. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 86, p. 1396-1401, 2002.

YAN, W.; KANG, S. M. Biplot analysis of host genotype-by-pathogen strain interactions In:GGE biplot analysis : a graphical tool for breeders, geneticists, and agronomists. New York: Washington, 2002. 271 p.

YAN, W.; KANG, M. S. **GGE biplot analysis**: a graphical tool for breeders, geneticists, and agronomists. Boca Raton: CRC, 2003.

YAN, W.; TINKER, N. A. A biplot approach for investigating QTL-by-environment patterns. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 15, n. 1, p. 31-43, Jan. 2005.

## ANEXOS

Tabela 1A Dados climatológicos do período compreendido da inoculação a avaliação da resistência do feijão aos isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*. Lavras, 2013

Data	Temp. Max.	Temp. Min.	Temp. Média	Prec.	Umidade	Evap.	Safra
18/04/11	28.4	17.1	21.4	0.0	70.0	3.38	1
19/04/11	29.0	17.2	22.0	0.0	67.0	5.97	1
20/04/11	28.0	16.6	21.0	0.0	64.0	4.19	1
21/04/11	29.8	16.5	21.9	0.0	66.0	4.80	1
22/04/11	29.8	17.5	21.9	0.0	66.0	5.40	1
23/04/11	30.0	16.7	22.3	0.0	69.0	5.20	1
24/04/11	30.0	16.5	23.0	0.0	65.0	5.90	1
25/04/11	30.2	18.2	22.9	0.0	68.0	5.30	1
10/09/11	33.0	14.5	23.9	0.0	42.0	9.94	2
11/09/11	27.8	18.2	21.8	0.0	65.0	4.80	2
12/09/11	25.6	16.1	19.2	0.0	71.0	4.94	2
13/09/11	30.0	16.5	22.4	0.0	62.0	4.48	2
14/09/11	27.5	17.7	20.5	0.0	69.0	6.19	2
15/09/11	23.8	16.1	18.6	0.0	69.0	3.33	2
16/09/11	22.2	15.6	17.4	0.0	69.0	6.06	2
17/09/11	23.4	11.4	17.2	0.0	55.0	7.24	2
08/02/12	32.8	19.9	26.1	1.0	57.5	7.84	3
09/02/12	32.8	19.2	25.2	0.0	66.5	7.84	3
10/02/12	30.5	20.3	23.7	0.0	80.8	5.79	3
11/02/12	25.5	19.9	22.1	15.5	83.5	4.10	3
12/02/12	24.0	18.5	20.3	14.4	91.0	2.73	3
13/02/12	24.2	18.1	20.5	22.2	89.8	1.34	3
14/02/12	28.2	17.9	22.7	2.1	68.0	6.29	3
15/02/12	29.8	17.8	23.0	0.0	68.5	6.82	3

\*Temp. max. = Temperatura máxima; Temp. Min. = Temperatura mínima; Temp. Média = Temperatura média; Prec. = Precipitação; Evap. = Evapotranspiração

Tabela 2A Reação de cada linhagem quando inoculada com um determinado isolado, reação média das linhagens aos diferentes isolados e da agressividade média dos isolados quando inoculados nas diferentes linhagens, considerando as três safras de avaliação. Lavras, 2013

Médias													
Isolados	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	Isolados <sup>2</sup>
I6S1	5,10	4,98	4,57	5,14	4,42	3,22	4,62	4,33	5,00	5,19	3,08	5,90	4,63b
I6S2	4,44	5,02	4,77	4,58	3,74	4,33	3,56	4,59	5,10	5,10	3,70	5,85	4,57b
I6S3	5,11	5,81	4,82	4,89	4,63	4,67	4,28	4,93	4,30	5,05	4,71	6,31	4,96b
I8S1	4,19	4,72	4,78	4,75	3,64	2,84	4,19	4,13	5,11	4,93	3,93	5,24	4,37b
I8S2	3,70	3,03	3,48	3,93	3,79	3,11	2,60	3,40	3,32	3,13	2,82	3,98	3,36c
I8S3	3,81	4,00	3,96	3,91	3,44	3,64	3,78	3,31	3,92	3,90	3,53	4,33	3,79c
I1	3,78	3,70	3,50	4,46	3,73	2,92	3,48	3,43	3,52	5,00	3,67	5,47	3,89c
I2	4,95	5,23	4,21	4,86	3,83	3,28	4,33	4,67	5,71	5,57	4,67	5,81	4,76b
I3	3,29	3,42	2,90	3,14	3,74	2,93	3,10	3,19	3,29	4,20	3,19	4,76	3,43c
I4	4,50	4,46	3,34	4,76	3,17	3,13	3,95	3,24	3,50	5,14	4,90	4,27	4,03c
I5	4,45	4,30	4,81	5,00	4,39	3,02	4,24	4,84	4,62	4,86	4,21	5,86	4,55b
I7	4,43	4,43	3,71	4,67	3,55	3,68	3,62	5,03	5,33	5,00	3,62	5,62	4,39b
I9	4,86	3,92	3,84	4,48	4,00	3,47	3,95	4,00	4,67	4,95	3,86	5,29	4,27b
I10	4,86	5,10	3,88	4,83	3,94	4,22	4,10	4,38	4,53	5,22	3,83	5,42	4,53b
I11	5,57	6,37	4,29	5,30	4,26	3,75	4,38	5,80	6,50	4,76	4,65	6,19	5,15b
I12	6,49	7,60	5,90	6,58	5,46	6,21	5,93	6,54	6,61	6,70	5,43	7,09	6,38a
I13	5,54	5,95	4,59	5,43	5,65	4,96	4,86	5,18	5,55	5,29	4,81	7,19	5,42a
I14	5,25	5,34	4,73	5,42	4,53	5,28	4,41	4,71	5,22	5,30	4,14	5,96	5,02b
I15	4,28	5,50	4,20	4,94	4,32	3,94	3,96	4,74	4,19	4,88	4,19	5,30	4,54b

Tabela 2A, conclusão

Médias													
Isolados	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	Isolados <sup>2</sup>
I16	2,47	3,43	2,86	2,72	2,47	2,74	2,81	2,70	2,81	3,43	2,85	3,64	2,91c
I17	4,32	5,12	3,79	4,59	3,53	4,18	3,93	4,78	4,43	4,95	3,45	5,72	4,40b
I18	3,19	3,41	3,19	3,81	3,56	2,96	2,68	2,84	3,08	3,11	3,28	3,86	3,25c
I19	3,90	4,98	3,91	4,13	3,94	3,43	3,22	3,63	3,85	4,31	3,72	5,26	4,03c
I20	4,13	3,95	3,63	3,88	3,82	3,39	3,25	3,47	3,60	3,71	3,54	4,49	3,74c
I21	4,78	5,86	4,62	4,93	4,49	4,54	4,58	4,07	4,63	5,36	4,47	5,94	4,85b
I22	4,48	4,58	3,91	3,93	3,99	3,32	4,00	3,51	3,86	4,00	3,85	5,05	4,04c
Linhagens <sup>1</sup>	4,46a	4,78a	4,08b	4,58a	4,00b	3,74b	3,92b	4,21b	4,47a	4,73a	3,93b	5,38a	

<sup>1</sup>Médias seguidas de letras diferentes são geneticamente heterogêneas de acordo com o teste Scott e Knott (1974), a 5,09% de probabilidade para as linhagens e a 5% de probabilidade para os isolados.