



PAULO ROBERTO CARVALHO GONÇALVES

**REAÇÃO DE PROGÊNIES DE FEIJÃO,
DERIVADAS DE SELEÇÃO RECORRENTE
PARA MOFO-BRANCO, AO ÁCIDO OXÁLICO**

LAVRAS – MG

2012

PAULO ROBERTO CARVALHO GONÇALVES

**REAÇÃO DE PROGÊNIES DE FEIJÃO, DERIVADAS DE SELEÇÃO
RECORRENTE PARA MOFO-BRANCO, AO ÁCIDO OXÁLICO**

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

Dr. João Bosco dos Santos

LAVRAS – MG

2012

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

Gonçalves, Paulo Roberto Carvalho.

Reação de progênies de feijão, derivadas de seleção recorrente
para mofo branco, ao ácido oxálico / Paulo Roberto Carvalho
Gonçalves. – Lavras : UFLA, 2012.

56 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

Orientador: João Bosco dos Santos.

Bibliografia.

1. *Phaseolus vulgaris*. 2. *Sclerotinia sclerotiorum*. 3.
Resistência. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 631.53

PAULO ROBERTO CARVALHO GONÇALVES

**REAÇÃO DE PROGÊNIES DE FEIJÃO, DERIVADAS DE SELEÇÃO
RECORRENTE PARA MOFO-BRANCO, AO ÁCIDO OXÁLICO**

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 29 de fevereiro de 2012.

Dra. Ângela de Fátima Barbosa Abreu EMBRAPA

Dr. Hudson Teixeira EPAMIG

Dr. João Bosco dos Santos

Orientador

LAVRAS – MG

2012

À minha irmã e afilhada, Maria.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por cada dia de vida concedido.

Ao meu pai, pela educação e exemplo de honestidade.

À minha mãe, pelo amor, amizade e exemplo de garra e determinação. E por ser sempre minha maior motivação de seguir em frente.

Aos meus irmãos, pelo apoio, compreensão e por sempre acreditarem no meu potencial. Mesmo distantes, serão sempre meus melhores amigos.

À minha avó e madrinha Ida, por fazer minha vida sempre mais feliz e mais gostosa, e pelo aconchego insubstituível.

Aos meus avós, Paulo e Lourdes, pelo exemplo de persistência e pelo amor incondicional.

À minha madrinha Gelda, pelo apoio em todos os momentos de que precisei.

Ao meu padrinho Jairo, por sempre ter representado o meu exemplo de pessoa.

A toda minha família, pelo carinho, pela colaboração na formação do meu caráter e por representarem o alicerce em minha vida.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas pela oportunidade de fazer parte deste curso de excelência, e ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor João Bosco dos Santos, pela orientação, confiança, paciência, e por ser grande colaborador em meu amadurecimento profissional.

Às minhas amigas Ana Flávia, Cissa e Simoni, pela amizade constante, pela presença nos momentos mais especiais da minha vida, pela prazerosa convivência, por deixarem meus dias mais felizes e por me mostrarem o real significado de amizade.

Às amigas Danuza, Lilian e Thayssa, pelo companheirismo e ajuda em todos os momentos. Espero poder trabalharmos juntos um dia.

Aos amigos de república, Lucas, Gabriel e Rafael, por terem se tornado minha família, pela tolerância e pelos sorrisos até nas horas mais difíceis.

Ao Lamartine, por representar uma figura paterna durante todos esses anos, desejando sempre meu sucesso e crescimento. À sua esposa e filhas, por me acolherem como membro da família. Serei eternamente grato.

Aos colegas do Laboratório de Genética Molecular da UFLA, pela ajuda e troca de experiências. Com vocês, a rotina de trabalho se tornou mais prazerosa.

Aos componentes da banca desta dissertação, pelo aceite em participar da defesa e engrandecimento desta obra.

Aos professores e funcionários do Departamento de Biologia, especialmente Dona Irondina e Dona Sebastiana, pelo carinho e pelo sorriso sempre presente.

Ao Fernando Guedes, pela ajuda sempre imediata.

A todos os amigos que fiz nesses últimos seis anos, pela torcida e por fazerem parte da minha história. Aos amigos de uma vida toda, pelo amor e compreensão nos momentos de ausência.

E a todos aqueles, que embora não citados, contribuíram de alguma forma à realização desta obra.

A todos, o meu muito obrigado!

RESUMO

O mofo-branco é uma doença do feijoeiro que vem se destacando principalmente em áreas com cultivos sucessivos e irrigados. A medida mais eficiente no controle do patógeno que causa a doença é a utilização de cultivares resistentes, sendo necessária a discriminação de genótipos resistentes e suscetíveis. Como a resistência é complexa, para se obter uma avaliação precisa da reação de genótipos ao patógeno, devem ser utilizadas diferentes metodologias. Assim, objetivou-se, neste estudo, avaliar a reação ao ácido oxálico de progênies de feijão provenientes de seleção recorrente para resistência ao mofo-branco, conduzida praticando-se a avaliação e seleção de progênies pela inoculação com micélio (*straw test*). A metodologia de avaliação da reação ao ácido oxálico consiste na semeadura do feijão em bandejas, condução em casa de vegetação até a emissão da segunda folha trifoliolada, corte da planta na região do colo e exposição da parte aérea das plantas à absorção de uma solução de ácido oxálico. O método foi eficiente em discriminar as progênies quanto à resistência, fornecendo resultados que devem ser utilizados em conjunto com aqueles já obtidos pela metodologia do “*straw test*”, uma vez que os métodos podem estar relacionados a diferentes mecanismos de resistência.

Palavras-chave: *Sclerotinia sclerotiorum*. Resistência. *Phaseolus vulgaris*.

ABSTRACT

The white mold is a disease of common bean which has stood mostly in areas with successive crops and irrigation. The most efficient method to control the pathogen that causes disease is the use of resistant cultivars, which requires the discrimination of resistant and susceptible genotypes. To obtain an accurate assessment of the genotypes reaction to the pathogen, different methods should be used, since resistance is complex. Thus, the objective was to evaluate the progenies response to oxalic acid, from recurrent selection for resistance to white mold, which was conducted by practicing the evaluation and selection of progenies from inoculation with fungal mycelium (*straw test*). The methodology for assessing the response to oxalic acid consists of submitting 21-day old plants without roots in a solution of 20mM of oxalic acid, pH 4.0, for 15 to 20 hours. The method was effective in discriminating the progenies for resistance, that can be selected, and should be used in association with the results obtained by the “*straw test*” method, since the resistance may be related to different mechanisms.

Keywords: *Sclerotinia sclerotiorum*. Resistance. *Phaseolus vulgaris*.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
2.1	A cultura do feijoeiro-comum.....	13
2.2	O patógeno <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary.....	14
2.3	O mofo-branco em feijoeiro.....	15
2.4	Os mecanismos de infecção e o fator primário de patogenicidade ...	17
2.5	Controle genético da reação do feijoeiro comum ao mofo-branco ...	19
2.6	Métodos de inoculação para avaliação de germoplasma.....	23
2.6.1	Método indireto utilizando o ácido oxálico.....	25
2.7	Seleção recorrente.....	27
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.1	Local.....	30
3.2	Material vegetal.....	30
3.3	Obtenção do material vegetal.....	32
3.4	Instalação dos experimentos.....	32
3.5	Avaliação da resposta ao ácido oxálico.....	33
3.6	Análise dos dados.....	33
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5	CONCLUSÕES.....	47

1 INTRODUÇÃO

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é um dos principais componentes da dieta alimentar brasileira, constituindo uma das mais importantes fontes de proteína vegetal no país.

A produtividade do feijoeiro é afetada por diversos fatores bióticos e abióticos. Entre os fatores bióticos, que causam grandes prejuízos à cultura, destaca-se a ocorrência de doenças fúngicas. Especialmente no cultivo de outono/inverno, que utiliza irrigação via pivô central, o mofo-branco causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary é um dos maiores problemas. A temperatura amena e alta umidade encontradas nesse período são as condições ideais para o desenvolvimento da doença (SARTORATO; RAVA, 1994). Nessa situação, uma lavoura de feijão pode sofrer em média perdas de 30% ou mais, podendo alcançar níveis críticos em períodos chuvosos e quando medidas preventivas não são tomadas (OLIVEIRA, 2005).

Um agravante dessa doença é o fato do patógeno possuir uma forma de resistência, o escleródio, que permanece viável no solo por até 15 anos (LOBO JUNIOR; NASSER, 2007). Consequentemente, as áreas infectadas oferecem alto risco na implantação da cultura de feijão, chegando a inviabilizar a cultura dependendo do nível de infecção, aliado à dificuldade do controle da doença.

Algumas medidas de controle da doença podem ser tomadas, como a utilização de sementes de boa qualidade sanitária, controle do tráfego de pessoas e equipamentos provenientes de áreas infectadas, inspeção rigorosa da lavoura na fase reprodutiva, pulverização com fungicidas, destruição dos resíduos de culturas infectadas, aração profunda do solo, rotação de culturas, controle da água de irrigação e uso de antagonistas no solo. No entanto, seria de grande importância a obtenção de cultivares resistentes à *S. sclerotiorum*, uma vez que o controle genético é a medida de controle mais eficiente. Porém, há controvérsias

sobre o nível de resistência das linhagens/cultivares no Brasil. Mesmo os genótipos, usados como fonte de resistência nos programas de melhoramento, não possuem o nível adequado para o controle da doença, além de serem em sua grande maioria exóticos e não adaptados, impossibilitando a utilização direta dos mesmos pelos produtores. Assim, em curto prazo, a identificação de linhagens/cultivares resistentes é fundamental como uma medida adicional de controle, bem como fontes para serem usadas no melhoramento visando aumentar o nível de resistência.

No melhoramento, é imprescindível realizar a avaliação da reação de genótipos ao patógeno, tanto para identificar fontes de resistência, quanto para a seleção de linhagens superiores, mesmo que esse processo ainda seja difícil, como nesse caso, em que há evidências de que a resistência ao mofo-branco seja horizontal, implicando em variados mecanismos de resistência (ANTONIO et al., 2008). Com isso, para se obter uma avaliação mais precisa, é importante realizar a avaliação da reação ao patógeno utilizando diferentes metodologias. Um dos procedimentos é a utilização de um método indireto que visa identificar a resistência fisiológica, por meio da reação ao ácido oxálico, considerado um dos mais eficientes (KOLKMAN; KELLY, 2000). Suas vantagens são a avaliação de uma ampla gama de genótipos em um curto período de tempo, a independência da necessidade de manuseio do patógeno e dos erros em função da variabilidade patogênica e do fato de se poder evitar o efeito do ambiente na avaliação feita em campo. Evidências experimentais mostraram tanto em testes em casa de vegetação quanto em testes de campo, que os genótipos mais tolerantes ao ácido oxálico são os mais resistentes à doença, uma vez que o mesmo é considerado o fator primário de patogenicidade do fungo.

O melhoramento visando aumentar o nível de resistência das cultivares exploradas comercialmente no Brasil certamente terá impacto significativo na cadeia produtiva do feijoeiro, permitindo o cultivo em áreas com incidência do

patógeno e diminuindo custos com defensivos, os quais nem sempre são eficientes. Portanto, é necessário um trabalho de transferência dos alelos de resistência para cultivares elite para que estas possam ser utilizadas pelo produtor. Uma das alternativas para acumular os vários alelos de resistência é a seleção recorrente (RAMALHO; ABREU; SANTOS, 2001), que visa aumentar gradativamente a frequência de alelos favoráveis, por meio de repetidos ciclos de seleção, avaliação e recombinação (GERALDI, 2005). No caso de plantas autógamas, já existem vários resultados que comprovam a sua eficiência (AMARO, 2007; ARANTES; ABREU; RAMALHO, 2010; RAMALHO; ABREU; SANTOS, 2005).

No programa de melhoramento de feijão da UFLA, vem sendo conduzida a seleção recorrente visando aumentar a resistência ao mofo-branco. Nesse programa, a avaliação das progênies vem sendo feita após a inoculação com micélio do patógeno. Entretanto, em razão da resistência ser complexa, objetivou-se neste trabalho avaliar a reação das progênies, também ao ácido oxálico.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura do feijoeiro-comum

O feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é a espécie mais cultivada do gênero, representando cerca de 95% da produção mundial de feijão (BONETT; SCHEWE; SILVA, 2008). Seus grãos constituem-se em um dos componentes básicos da dieta alimentar, em países em desenvolvimento das regiões subtropicais, sendo uma importante fonte de proteínas, caloria e fibra alimentar, especialmente para a população de baixa renda. É rico em potássio, fósforo, cobre, ferro, zinco e magnésio, minerais essenciais ao metabolismo humano.

O Brasil é o maior produtor e consumidor dessa leguminosa, tendo produzido 3.767.500 toneladas na safra de 2010/2011, em uma área total plantada de 4.005.400 hectares (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2012). A produtividade média do feijoeiro, em todo o território nacional, ainda está em 941 Kg/ha, que está muito aquém de seu potencial produtivo (CONAB, 2012). O Estado de Minas Gerais é responsável por cerca de 16% da produção nacional de feijão, o segundo maior do Brasil, com área plantada de, aproximadamente, 401,3 mil hectares.

A produtividade de grãos de feijão no país, embora crescente, ainda é pequena. O baixo potencial produtivo se deve a uma série de fatores abióticos e bióticos, dentre os quais se destaca a ocorrência de doenças. Muitas doenças de origem biótica são potencialmente importantes para a cultura do feijoeiro. No Brasil, dentre as diversas doenças existentes, destaca-se o mofo-branco, um dos fatores limitantes do aumento do potencial produtivo do feijoeiro, especialmente nos cultivos intensivos e irrigados. O uso desse tipo de cultivo tem aumentado nos últimos anos, com a tecnificação da cultura, a possibilidade de exploração de áreas no inverno e, também, por ser uma boa opção na rotação de culturas.

2.2 O patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary

Representante do filo Ascomycota, subdivisão Ascomycotina, classe Discomycetes, ordem Helotiales, família Sclerotiniaceae e gênero *Sclerotinia*, o patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary foi descrito pela primeira vez em 1837 por Libert como *Peziza sclerotiorum*. Este binômio permaneceu vigente até que as espécies foram transferidas para o gênero *Sclerotinia*, sendo renomeado *Sclerotinia libertania* Fuckel em homenagem a Libert, com *Peziza sclerotiorum* Lib. e *S. sclerotii* Fuckel considerados sinônimos (PURDY, 1979).

Purdy (1979) observou que de Bary usou a combinação *S. sclerotiorum* em 1884 e, portanto, o nome e autoridade adequados para o fungo deveria ser *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Para resolver essa questão, a espécie-tipo para o gênero, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, foi proposta para conservação em 1976 por Buchwald e Neergaard (KOHN, 1979) e aceita em 1981.

O patógeno *S. sclerotiorum* é um fungo necrotrófico, que causa danos em muitas plantas de interesse econômico e Boland e Hall (1994) relacionaram 408 espécies como hospedeiras do patógeno, dentre elas o feijoeiro, soja, algodoeiro e o girassol (LEITE, 2005). Este fungo está disseminado por muitos países, e seus danos manifestam-se com maior severidade em áreas com clima úmido, associado a temperaturas amenas. Portanto, no Brasil, esta doença é altamente preocupante especialmente no inverno e em cultivos sob irrigação utilizando pivô central.

A espécie *S. sclerotiorum* apresenta hifas hialinas, septadas, ramificadas e multinucleadas com micélio variando de branco a castanho-amarelado. Produzem ascos de cor marrom, apotécios que surgem a partir de um estroma e escleródios associados a uma planta hospedeira (BOLTON et al., 2006).

2.3 O Mofo-branco em feijoeiro

O mofo-branco, causado pelo fungo *S. sclerotiorum* (Lib.) de Bary, é uma das doenças mais severas da cultura do feijoeiro-comum. As condições climáticas favoráveis para o desenvolvimento da doença são a alta umidade e temperaturas amenas (BOLAND; HALL, 1987; HUNTER et al., 1984). 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 (HUNTER et al., 1984), variando em função do local e do tipo de solo. Nessa situação, uma lavoura de feijão pode sofrer em média perdas de 30% ou mais, principalmente em períodos chuvosos e quando medidas preventivas não são tomadas (OLIVEIRA, 2005).

A doença inicia-se em reboleiras na lavoura, por ocasião do florescimento, especialmente nos locais onde há maior crescimento vegetativo e acamamento das plantas. Os sintomas são visíveis nas folhas, hastes e vagens, começando com a formação de manchas encharcadas, de coloração parda e consistência mole, seguida de crescimento micelial branco e cotonoso, que é característico da doença (LEITE, 2005). Com o progresso da doença, as folhas murcham e amarelecem. Os tecidos doentes tornam-se secos, leves e quebradiços, e as sementes infectadas ficam sem brilho, enrugadas e mais leves. Até o florescimento, dificilmente a doença torna-se importante, já que a flor representa a fonte primária de energia, servindo de fonte básica de nutrientes para o fungo iniciar o processo de infecção por esporos. Após o florescimento a doença é disseminada muito rapidamente, contribuindo sobremaneira para o estabelecimento de epidemias severas (SARTORATO; RAVA, 1994).

Na ausência de hospedeiro suscetível, o fungo pode persistir viável por um período de até 15 anos no solo, mesmo em ambientes desfavoráveis, por meio de estruturas de resistência de coloração escura, denominadas escleródios.

Estes são agregados de hifas melanizados, irregulares e visíveis a olho nu (SARTORATO; RAVA, 1994). A princípio, apresentam coloração branca e posteriormente, tornam-se negros e duros. Acredita-se que este revestimento de melanina tem a função de proteger o escleródio de condições adversas e de fungos parasitas. É, também, altamente resistente a substâncias químicas, calor seco até 600°C e ao congelamento (COLEY-SMITH; COOKE, 1971).

Os escleródios podem germinar de forma carpogênica ou miceliogênica, dependendo das condições ambientais. São vários os fatores que influenciam na germinação dos escleródios desse fungo, tais como: nutrientes do substrato no qual o escleródio é formado; idade dos escleródios; fatores ambientais como umidade, temperatura, luz, pH do solo e aeração; profundidade na qual o escleródio se encontra enterrado no solo e o tipo de solo (PHILLIPS, 1987). Os apotécios, corpos de frutificação, resultado da germinação carpogênica de escleródios, são a maior fonte de inóculo do fungo, pois produzem uma grande quantidade de ascósporos (em torno de dois milhões) que, ejetados, são facilmente transportados pelo vento e podem infectar plantas em um raio de 50 a 100m da fonte produtora (STEADMAN, 1983). Para que a germinação carpogênica ocorra, os escleródios devem receber luz suficiente (PHILLIPS, 1987), temperaturas entre 10 e 25°C (HUANG; KOZUB, 1991; PHILLIPS, 1987) e períodos de umidade contínua do solo. Caso contrário, só ocorre a germinação miceliogênica, de potencial epidêmico muito mais reduzido. Nesse tipo de germinação, há a produção de micélio hialino e septado.

Além da dispersão de esporos pelo vento e água, a disseminação do fungo também pode ocorrer pelas próprias estruturas de resistência aderidas aos implementos agrícolas, em restos culturais, misturadas ou aderidas às sementes em geral, como também por sementes contaminadas por micélio do fungo e escleródios transportados pela água (BOTELHO, 2011).

O controle do mofo-branco envolve a integração de uma série de medidas como cobertura do solo com palhada, manejo adequado da irrigação, controle químico, entre outras, uma vez que medidas isoladas não são eficientes, em virtude da rapidez de desenvolvimento da doença em condições favoráveis.

A escolha da época de semeadura, também, constitui uma medida fundamental para prevenir a ocorrência da doença, uma vez que se pode reduzir ao máximo os períodos de alta umidade e baixa temperatura. Outras práticas culturais importantes seriam: a redução do número de irrigações durante o período de floração, em lavouras irrigadas por pivô central; evitar adubações excessivas de nitrogênio, que pode tornar os tecidos mais suscetíveis ao fungo (LEITE, 2005); e a escolha de menores densidades de plantio, para permitir uma maior aeração das plantas e evitar o contato de plantas doentes com plantas saudáveis (VIEIRA; PAULA JÚNIOR; TEIXEIRA, 2010).

Contudo, entre as estratégias de controle da doença, a resistência genética seria a mais eficaz, tanto pela redução dos custos de produção quanto pelo menor impacto ambiental (CASTAÑO; VEAR; TOURVIELLE, 2001). No entanto, não há no Brasil, cultivares resistentes ao patógeno, tornando o mofo-branco uma doença de difícil erradicação, sendo necessária a utilização de vários outros mecanismos de controle visando amenizar a incidência de epidemias severas (OLIVEIRA, 2005).

2.4 Os mecanismos de infecção e o fator primário de patogenicidade

A patogênese efetiva pelo fungo *S. sclerotiorum* requer a secreção de ácido oxálico, o qual é o determinante essencial da patogenicidade desse fungo (DUTTON; EVANS, 1996; ZHOU; BOLAND, 1999). Evidências para tal afirmação são baseadas na recuperação de concentrações milimolares de oxalato em tecidos infectados (GODOY et al., 1990) e da injeção manual de oxalato, ou

ainda de filtrados da cultura contendo oxalato em plantas e posterior observação do desenvolvimento de sintomas assemelhados àqueles da doença, independentemente do patógeno (CESSNA et al., 2000). Tal evidência tem sido reforçada pela observação de que mutantes de *Sclerotinia* que são deficientes na habilidade de sintetizar oxalato são também não patogênicos, enquanto os descendentes que recuperaram sua capacidade biossintética de oxalato exibiram virulência normal (GODOY et al., 1990).

Especulações relativas ao mecanismo pelo qual a secreção de oxalato pode aumentar a virulência da *Sclerotinia* atualmente focam-se em três modelos de ação (DUTTON; EVANS, 1996). Primeiro, porque muitas das enzimas do fungo secretadas durante a invasão dos tecidos da planta possuem atividade máxima em baixo pH. Vários pesquisadores postularam que o oxalato pode ajudar na virulência da *Sclerotinia* substituindo o pH apoplástico para um valor mais satisfatório para a degradação enzimática das paredes celulares das plantas. Segundo, porque o oxalato pode ser diretamente tóxico para plantas hospedeiras. Presumidamente por causa da sua acidez, a secreção de oxalato sugere o enfraquecimento da planta e, assim, facilita a invasão. Finalmente, a quelação do Ca^{2+} da parede celular pelo oxalato compromete a defesa da planta relacionada ao Ca^{2+} e também enfraquece a parede celular (CESSNA et al., 2000).

Dessa forma, acredita-se que a invasão dos tecidos pelas hifas se dá pela secreção de ácido oxálico e outras enzimas, como a poligalacturonase, que tem sua atividade melhorada, em razão do baixo pH. O ácido oxálico secretado pelo micélio do patógeno tem pH ácido, próximo de quatro, que favorece a degradação da parede celular nos tecidos infectados, pois maximiza a atividade de enzimas degradantes. Além disso, remove íons de cálcio vinculados a pectinas, expondo as células hospedeiras às enzimas catabólicas do fungo. Segundo Guimarães e Stotz (2004), o ácido oxálico causa sintomas de ressecamento foliar por perturbação das funções das células-guarda dos

estômatos, responsáveis pela regulação osmótica, além de interferir no hormônio ABA, induzindo a abertura estomática. Em adição, Tariq e Jeffries (1986) afirmam que, na maioria dos casos, a penetração é direta pela cutícula e não pelos estômatos.

Apesar de sua estrutura simples e interações químicas limitadas, o ácido oxálico desempenha funções complexas e diversificadas no processo de infecção, por isso é considerado um fator de patogenicidade primário. O ácido oxálico atua como supressor da explosão oxidativa em plantas hospedeiras, desativando um dos mecanismos mais importantes de resistência de plantas a patógenos, por meio da liberação de oxigênio e peróxido de hidrogênio (CESSNA et al., 2000). A explosão oxidativa é necessária para várias respostas de defesa pós-induzidas.

A resistência ao oxalato (ROX) pode ser um importante componente de resistência fisiológica. Tem sido demonstrado que a resistência ao oxalato está correlacionada com a resistência a mofo-branco em campo (KOLKMAN; KELLY, 2000; TU, 1985).

2.5 Controle genético da reação do feijoeiro comum ao mofo-branco

Em muitas situações, o melhoramento genético é o único meio de conseguir aumentos na produtividade e qualidade e tem a vantagem de promover alterações hereditárias, ou seja, de ser possível transmitir as boas características obtidas pelo melhoramento, aos descendentes. Assim, em muitos casos, as vantagens agronômicas podem ser perpetuadas (CARNEIRO, 2009).

O conhecimento do tipo de ação gênica que predomina no controle genético de um caráter é um fator importante, principalmente para a 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, há uma maior dificuldade em se conhecer com detalhes a natureza de ação gênica presente (VENCOVSKY; BARRIGA, 1992).

Oliveira (2005) afirma que todas as cultivares disponíveis no Brasil são altamente suscetíveis ao patógeno. Fontes de resistência genética são restritas a algumas cultivares exóticas, que não são adaptadas às condições brasileiras e têm uso potencial nos programas de melhoramento, mas não podem ser usadas diretamente pelos produtores, por não apresentarem boa aceitação pelo consumidor brasileiro. Entretanto, mesmo essas fontes possuem níveis baixos de resistência (ANTONIO et al., 2008; TERÁN; SINGH, 2008).

A resistência genética ou intrínseca de alguns genótipos de feijão ao mofo-branco é denominada de resistência fisiológica ou parcial (ENDER; KELLY, 2005; KOLKMAN; KELLY, 2000; MIKLAS et al., 2001). Diferenças na resistência fisiológica são encontradas dentro das linhagens/cultivares de feijão comum (HUANG et al., 2002; HUNTER et al., 1982). Estudos adicionais demonstram que caracteres morfológicos da planta, também, funcionam como mecanismos de escape para controlar a doença, como a arquitetura da planta, a porosidade do dossel e maturidade precoce (KOLKMAN; KELLY, 2002; MAXWELL et al., 2007). Tais caracteres afetam condições microclimáticas como umidade, luminosidade, aeração e deposição de água, influenciando no estabelecimento e no desenvolvimento do fitopatógeno (KOLKMAN; KELLY, 2003). Huang, Mundel e Ericson (2003) afirmam que cultivares e linhagens de feijão com resistência fisiológica e hábito de crescimento arbustivo, são geralmente menos suscetíveis ao mofo-branco, até mesmo sob alta pressão da doença. Cultivares/linhagens que apresentam ausência de uma ou outra, ou de ambas as características, são mais suscetíveis ao mofo-branco do que os genótipos que possui ambas.

Huang e Kemp (1989) e Saindon, Huang e Kozub (1995) constataram que o crescimento arbustivo em feijão comum pode evitar a infecção das plantas por ascósporos de *S. sclerotiorum* e, assim, reduzir a ocorrência de mofo-branco no campo mais efetivamente que em culturas de genótipos prostrados. Essa resistência ao mofo-branco é em virtude do melhor aproveitamento da circulação de ar pela copa aberta, que propicia uma seca mais rápida após cada chuva ou irrigação.

Em avaliações comparando a contribuição da resistência fisiológica e do crescimento arbustivo na resistência ao mofo-branco, Huang, Mundel e Ericson (2003) constataram que cultivares, com maior resistência fisiológica e com crescimento prostrado, exibem uma maior incidência de mofo-branco na cultura que em cultivares com menor resistência fisiológica e com maior crescimento arbustivo.

Esses estudos revelaram, então, que a resistência fisiológica é, geralmente, um método pouco eficiente para reduzir a incidência e severidade do mofo-branco e prevenir a perda da produção de sementes. Um melhor controle da doença pode ser conseguido, combinando a resistência fisiológica com o hábito de crescimento arbustivo e com outros mecanismos de escape, reduzindo a perda de rendimento e da qualidade das sementes. Foi constatado que a dificuldade em alcançar o controle completo do mofo-branco em feijão comum se deve a níveis inadequados de resistência fisiológica dos genótipos testados, já que a incidência do patógeno também está relacionada com a pressão da doença. Ou seja, para o controle completo, o genótipo apenas apresentar resistência fisiológica não é o suficiente, pois como os graus de severidade da doença são diferentes, a resistência pode diminuir a incidência, mas não ser suficiente ao impedimento da ocorrência da mesma. Contudo, pode-se inferir que a resistência completa é inexistente no feijoeiro, embora progênies com certos níveis de resistência fisiológica tenham sido identificadas por meio do método indireto de

avaliação da reação do feijoeiro ao mofo-branco utilizando solução de ácido oxálico (ANTONIO et al., 2008; GONÇALVES; SANTOS, 2008).

O controle genético da resistência fisiológica é poligênico com acentuado efeito não genético. Antonio et al. (2008) observaram que um gene maior é responsável pela resistência ao mofo-branco, afirmando também a existência de genes menores que afetam a expressão desse gene maior. Porém, Ramalho, Santos e Zimmermann (1993) postularam que quanto a caracteres quantitativos, é muito difícil determinar precisamente o número de genes, principalmente pelo efeito ambiental interferente. Então, essas condições sugerem a existência de combinações de outros mecanismos de resistência, como o escape da doença, por meio do porte arbustivo, que reduz a umidade entre as plantas, somado aos mecanismos genéticos relacionados à defesa da planta contra o fungo.

Foram identificados, de forma independente, 35 locos de caracteres quantitativos (QTL) que condicionam resistência ao mofo-branco, unidos em 21 regiões distintas por nove grupos de ligação (SOULE et al., 2011). A identificação de QTLs tem sido realizada, utilizando-se bases genéticas limitadas e a resolução biparental, além de ter, geralmente, seu efeito estimado em poucos ambientes, tornando questionável a sua relevância, quando introduzidos por meio de cruzamento com germoplasmas do exterior, em virtude da interação QTL por ambiente (HARJES; ROCHEFORD; BAI, 2008).

Poucas são as linhagens comerciais desenvolvidas por melhoramento tradicional, que possuem resistência parcial ao mofo-branco (MIKLAS et al., 2006). A dificuldade em se desenvolver cultivares resistentes a este fitopatógeno deve-se ao fato de a resistência parcial ser quantitativa, com moderada a baixa herdabilidade e, também, à imprecisão na avaliação (MIKLAS et al., 2004). Miklas et al. (2001) observaram que a herdabilidade da resistência do feijoeiro comum ao mofo-branco, quando estimada em casa de vegetação pelo método

“*straw test*”, foi menor (0,65) do que quando estimada em condições de campo (0,78). Isso se deve ao fato de a resistência fisiológica, detectada pelo referido método, ser um dos componentes da resistência no campo, ou seja, tanto fisiológica quanto mecanismos de escape contribuem para a resistência em campo. Em avaliações realizadas por Lima (2010), utilizando o “*straw test*” em campo, a herdabilidade no sentido amplo estimada para o caráter se mostrou de elevada magnitude (0,90), que pode favorecer a seleção de genótipos superiores.

2.6 Métodos de inoculação para avaliação de germoplasma

O desenvolvimento de uma metodologia adequada à inoculação de plantas do feijoeiro com *S. sclerotiorum* (Lib.) De Bary é de grande importância para avaliação de genótipos quanto à resistência ao mofo-branco (TOLEDO-SOUZA; COSTA, 2003).

Ao se avaliar germoplasma, em busca de fontes de resistência a doenças, métodos eficientes de infecção uniforme das plântulas com isolados virulentos do patógeno são requisitos essenciais. Alguns métodos de inoculação, em condições controladas, têm sido empregados com sucesso em diversas culturas.

Por causa da expressão e detecção dos mecanismos de resistência fisiológica serem confundidos pelas condições ambientais e mecanismos de escape da planta, metodologias para seleção de cultivares de feijão, resistentes ao referido patógeno, têm sido estudadas na tentativa de se estabelecer eficiência e rapidez nesse tipo de trabalho.

No gênero *Phaseolus*, a inoculação e avaliação de genótipos, durante certo período de desenvolvimento, é uma técnica relativamente sensível para comparar interações entre feijão e *S. sclerotiorum* e foi desenvolvida por Hunter, Dickson e Cigna (1981). O procedimento consiste na remoção precoce do inóculo (48 horas após a inoculação em sítio específico) para reduzir a severidade da doença e melhor revelar a resistência parcial que é superada com

períodos mais longos de incubação. Esta técnica é útil para selecionar germoplasma com resistência parcial ou graus maiores de resistência como o identificado em *Phaseolus coccineus* (HUNTER; DICKSON; CIGNA, 1981; HUNTER et al., 1982), híbridos de *P. vulgaris* x *P. coccineus* (ABAWI, 1975), e *Phaseolus spp.* (MIDDLETON; REDDENZ, 1990).

Miklas, Grafton e Nelson (1992) utilizaram hastes de feijoeiro com onze e 28 dias, cortadas e inoculadas com micélio. Schwartz et al. (1987) estabeleceram uma metodologia de inoculação para teste de resistência em que era necessária a infestação do solo com escleródios, noventa dias antes do plantio, garantindo a formação de apotécios no período da floração.

Um método simples que não requer plantas em florescimento foi utilizado por Leone e Tonneijck (1990) para selecionar cultivares de feijoeiro a *S. sclerotiorum*. Folhas primárias destacadas foram pulverizadas com uma suspensão de ascósporos, sendo necessária a adição de KH_2PO_4 ou de misturas de fosfato inorgânico e glicose ao inóculo, para estimular a patogenicidade.

Outros métodos para detectar resistência fisiológica em feijão comum incluem a inoculação de folhas ou axilas foliares com discos de BDA contendo micélio do fungo (STEADMAN; POWERS; HIGGINS, 1997), o crescimento de calos em meio, contendo filtrado do patógeno (MIKLAS et al., 1992), a inoculação de escleródios em campo após a emergência da planta (HUANG; MUNDEL; ERICSON, 2003) e o “*straw test*”, ou teste do canudo (PETZOLD; DICKSON, 1996). Neste último, as plantas são inoculadas de três a cinco semanas após a semeadura. Os inóculos são crescidos em placas com meio de cultura batata dextrose ágar (BDA), a 23°C, fornecendo um crescimento uniforme. Para se conseguir um crescimento ativo é necessário repicar o fungo duas vezes e a inoculação deve ser realizada três dias após a repicagem. A placa pronta tem a aparência de algodão, mas ainda não apresenta a formação de escleródios. Canudos de plástico (6 mm de diâmetro) são cortados com 3 cm de

comprimento, uma extremidade é grampeada e a outra é deixada aberta para cortar o disco de ágar da placa. No interior do canudo é inserido o disco de ágar, contendo o micélio do fungo, que é fixado no ápice cortado da planta, permitindo o contato do patógeno com o hospedeiro. Alternativamente, pode-se utilizar uma ponteira plástica de micropipeta no lugar do canudo. Oito dias depois, são realizadas as avaliações segundo a escala de resistência ao mofo-branco proposta por Singh et al. (2007). Uma vantagem desse método é o fato de não ser destrutivo, permitindo a colheita das sementes de progênies resistentes no decorrer do programa de melhoramento.

A maioria dos testes citados até agora utilizam um número limitado de genótipos e dependem do micélio do fungo nos procedimentos de classificação. Além disso, a variabilidade na virulência dentro dos isolados (MIKLAS; GRAFTON; NELSON, 1992; PRATT; ROWE, 1995) e a sensibilidade do patógeno a altas temperaturas (BOLAND; HALL, 1987) limitam os métodos de avaliação em casa de vegetação e/ou campo usando o patógeno.

2.6.1 Método indireto utilizando o ácido oxálico

Como o melhoramento para resistência ao mofo-branco em feijão comum era limitado pela ausência de um simples e consistente método de classificação que avalie uma ampla gama de genótipos, Kolkman e Kelly (2000) criaram um método indireto de inoculação, em que o patógeno não é utilizado e, sim, o ácido oxálico, baseado em evidências de que os genótipos que absorvem o ácido mais lentamente são os mais resistentes (TU, 1985). Na avaliação são utilizadas plantas de 21 dias de idade, cortadas na região do colo. A extremidade inferior do caule é imersa em uma solução de ácido oxálico (20 mM) e pH 4,0, por um período de 15 a 20 horas. Por ser um período curto, a influência das condições ambientais que podem ocorrer em uma casa de vegetação, durante um

período mais longo de tempo, é reduzida. A avaliação dos genótipos é feita por uma rápida estimativa visual, utilizando-se de uma chave descritiva de notas, proposta por Kolkman e Kelly (2000).

A vantagem desse procedimento é a avaliação no estágio de “seedling”, podendo-se medir a reação de um grande número de genótipos em tempo e espaço reduzidos. Entretanto, é necessário utilizar plantas de tamanhos uniformes na fase em que ocorre a abertura da primeira folha trifoliolada e o aparecimento da segunda folha trifoliolada. É, também, um método vantajoso por ser independente da dificuldade de manuseio do patógeno e dos erros em função da variabilidade patogênica; por evitar o efeito do ambiente na avaliação em campo; por dispensar a floração, sendo importante na avaliação de plantas não adaptadas e sensíveis ao fotoperíodo; e, por último, por eliminar a variabilidade associada a testes em casa de vegetação, além de identificar resistência sem a interferência de outros mecanismos de resistência, como por exemplo, os mecanismos de escape, que ocorrem quando avaliados em campo.

Diversos estudos têm mostrado o relacionamento entre ácido oxálico produzido por *S. sclerotiorum* (Lib.) de Bary e patogenicidade. Foi constatado que o micélio exsuda abundantemente oxalato durante a infecção do tecido da planta (MAXWELL; LUMSDEN, 1970). Tem sido demonstrado que a resistência ao oxalato, um importante componente de resistência fisiológica, está correlacionada com a resistência a mofo-branco em campo (KOLKMAN; KELLY, 2000; TU, 1985).

Utilizando mutantes não produtores de oxalato, o mesmo foi identificado como o modo primário de patogênese para *S. sclerotiorum* (GODOY et al., 1990). O ambiente de baixo pH (pH4.0), criado pelo oxalato exsudado, é ótimo para o funcionamento da poligalacturonase e das enzimas pectolíticas produzidas pelo patógeno (MARCIANO; DI LENNA; MAGRO, 1983). Foi observado que o feijão comum possui diferenciação genética quanto à resposta

ao oxalato e, cultivares que eram mais suscetíveis ao mofo-branco exibiram mais danos estruturais severos à membrana plasmática e cloroplastos do que em cultivares resistentes expostas em solução de oxalato.

Logo, este tipo de teste, utilizando o ácido oxálico como método indireto de avaliação, além de ser de fácil condução, tem se mostrado eficiente e permite avaliar um grande número de genótipos sem contaminar o campo (ANTÔNIO et al., 2008; GONÇALVES; SANTOS, 2010).

2.7 Seleção recorrente

A seleção recorrente foi originalmente proposta na década de 1940, no melhoramento do milho. Posteriormente, foi adotada também para culturas autógamas. Em meados da década de 1960 foi empregada no melhoramento da aveia (KHADR; FREY, 1965). Desde então, houve uma aceitação progressiva do método no melhoramento de plantas autógamas e, mais recentemente, tem sido utilizada no melhoramento de diversas culturas, como, por exemplo, de arroz (MORAIS et al., 2003) e feijão (AMARO, 2007; ARANTES; ABREU; RAMALHO, 2010; CUNHA, 2005).

Seleção recorrente pode ser definida como um processo de ciclos sucessivos de seleção de indivíduos e/ou progênes superiores de uma população, seguida pela recombinação dos (as) selecionados (as) para formar uma nova população, a qual será utilizada no início de um novo ciclo de seleção. O processo pode ser visualizado como um sistema cíclico e dinâmico que visa aumentar gradativamente a frequência de alelos favoráveis para uma característica quantitativa, sem reduzir a variabilidade genética, por meio de repetidos ciclos de seleção, avaliação e recombinação (GERALDI, 2005). Além disso, a seleção recorrente constitui a principal alternativa quando se pretende realizar o melhoramento para múltiplos caracteres, controlados por vários genes,

condição que torna impossível obter sucesso com apenas um ciclo seletivo (HALLAUER, 1992).

O processo de seleção recorrente é constituído de três etapas básicas: obtenção da população segregante, avaliação e seleção das progênies e recombinação das progênies selecionadas para formar o próximo ciclo. Na obtenção da população segregante, a escolha de genitores que darão a origem à população base é uma das atividades que exige grande habilidade e conhecimento dos melhoristas, bem como a tomada de decisão quanto ao número de genitores que será utilizado. Ao se escolher trabalhar com número muito grande, a probabilidade de encontrar todos os genitores com boa expressão para o caráter é muito pequena. Em contrapartida, se o número for muito pequeno, a probabilidade de associar a maioria dos alelos favoráveis para o caráter em questão é, também, pequena. Com isso, Ramalho, Abreu e Santos (2001) aconselham a utilização de uma média de 10 a 20 genitores para a formação da população base. O progresso de uma população submetida à seleção recorrente ocorre sem a redução da sua variabilidade genética, e os ciclos podem ser conduzidos até que a frequência de alelos favoráveis na população atinja níveis satisfatórios. Por conseguinte, obtém-se uma maior probabilidade de sucesso na extração de linhagens superiores. Depois de melhorada, a população já pode ser utilizada diretamente como nova cultivar ou como fonte de linhagens superiores.

Geraldi (1997) cita como principais vantagens da seleção recorrente: obtenção de maior variabilidade genética pelo inter cruzamento de múltiplos genitores; maior oportunidade de recombinação genética, em virtude dos sucessivos ciclos de cruzamentos; maior eficiência no acúmulo de alelos favoráveis, pelo processo repetitivo de seleção e viabilidade de incorporação de germoplasma exótico na população. O método, ainda, permite a obtenção de linhagens superiores a cada ciclo seletivo e inclusão de novas linhagens no

processo de recombinação, além de ser útil na adaptação de germoplasma exótico às condições locais.

Em estudo realizado por Amaro et al. (2007), constatou-se que, após cinco ciclos de seleção recorrente para mancha angular, o ganho estimado foi de 6,4% por ciclo, havendo ainda um ganho indireto na produtividade de grãos de 8,9% por ciclo, uma vez que a doença é importante na performance da cultura, causando danos significativos à produção. Esse resultado comprovou a eficiência da seleção recorrente, os autores constaram também que há variabilidade genética entre as progênes ao longo dos ciclos de seleção, evidenciando a possibilidade de se continuar obtendo sucesso com a seleção recorrente.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

Todos os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, no Departamento de Biologia (DBI), da Universidade Federal de Lavras (UFLA). O município de Lavras situa-se na região sul do Estado de Minas Gerais, a 918 metros de altitude, 21°58' de latitude Sul e 42°22' de longitude Oeste.

3.2 Material vegetal

As 182 progênies utilizadas nos experimentos foram obtidas em um programa de seleção recorrente para mofo-branco, iniciado com o inter cruzamento entre 12 linhagens e/ou cultivares (Tabela 1), no esquema dialélico circulante ou cônico. Todas as linhagens/cultivares possuem resistência fisiológica parcial ao mofo-branco com destaque para a A195, fonte exótica de resistência (TERAN; SINGH, 2008). Os genótipos numerados de 1 a 7 são adaptadas na região Sul de Minas Gerais. Os numerados de 8 a 11 são progênies derivadas de retrocruzamento em que o doador da resistência ao mofo-branco foi a fonte G122 ou Ex Rico 23 e os genitores recorrentes foram a linhagem M20 ou a cultivar BRSMG Madrepérola. A linhagem G122 tem grãos grandes tipo pintado, a Ex Rico 23 tem grãos pequenos e 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-4², resistência parcial à mancha-angular, hábito de crescimento tipo II e grãos tipo carioca (SILVA; SANTOS; ABREU, 2006); e a Madrepérola possui o hábito de crescimento tipo III, tem excelente tipo de grãos carioca e alta produtividade.

Tabela 1 Linhagens e cultivares utilizadas no inter cruzamento com algumas de suas características

Cultivar/Linhagem	Tipo / Peso 100 grãos (g)	Hábito de Crescimento	Alelo de resistência à Antracnose	Reação a Mancha Angular
1-RP-2	Carioca/25	II	-	
2-MA-IV-18-266	Carioca/23	II	-	Resistente
3-BRS - Cometa	Carioca/23	II	-	
4-VC-16	Carioca/25	III	-	
5-Majestoso	Carioca/25	III	-	
6-CNFRJ10564	Pintado/42	I	-	
7-ESAL 550	Jalo/45	III	-	
8-RC1-G122-x	Carioca/22	II	<i>Co-4²</i>	Resistente
9-RC2-G122-y	Carioca/25	II	<i>Co-4²</i>	Resistente
10-RC2-G122-z	Carioca/23	II	<i>CO-4²</i>	Resistente
11-RC1-ExRico-x	Carioca/20	II	-	
12-A195	Bege/54	I		Resistente

Fonte: Adaptada de Carneiro, Leite e Santos (2011)

Todo o procedimento utilizado na obtenção das 182 progênies (62 progênies do ciclo 0, 62 progênies do ciclo I e 58 progênies do ciclo II) está descrito em Carneiro, Leite e Santos (2011). É importante salientar que essas progênies foram selecionadas a partir da inoculação da população segregante com o micélio do fungo em campo (método do “*straw test*”). Ou seja, em cada ciclo foi realizada uma avaliação, e as progênies selecionadas – com maiores níveis de resistência – foram utilizadas na condução do método de seleção recorrente. Assim, todas as progênies selecionadas em cada ciclo foram utilizadas no presente trabalho. Além das 182 progênies, utilizaram-se as testemunhas CNFC9506 e RP-2, igualmente utilizadas como testemunhas comuns na avaliação em campo pelo método do “*straw test*”, durante a condução da seleção recorrente.

3.3 Obtenção do material vegetal

Foram semeadas 60 sementes de cada um dos 184 genótipos de feijão-comum (182 progênies e as duas testemunhas comuns) em bandejas de isopor contendo substrato comercial Plantmax® para a obtenção de plantas de feijão. Cada semente foi plantada individualmente em uma célula da bandeja. Após o surgimento da segunda folha trifoliolada, por volta de 18 a 21 dias após a semeadura, foram selecionadas as 30 plantas mais uniformes.

3.4 Instalação dos experimentos

A metodologia foi executada em 16 experimentos, em função do grande número de genótipos avaliados e à estrutura disponível. Cada experimento consistiu da avaliação de 5 a 15 genótipos, dependendo da uniformidade das plantas e de duas testemunhas, RP-2 e CNFC9506, as quais foram mantidas como genótipos comuns em todos os experimentos.

Cada experimento foi implantado, utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado com três repetições, sendo cada parcela representada por 10 plantas.

De acordo com Kolkman e Kelly (2000), as raízes devem ser retiradas para uma maior eficácia na absorção do ácido oxálico. Portanto, cada planta foi cortada na base do caule.

As plantas foram mantidas em uma chapa de isopor perfurada, envolvidas com uma tira de espuma acima do colo, deixando imersa somente a parte inferior do caule (2cm) . Essa chapa foi colocada sobre uma bandeja plástica de 30cm de largura por 60cm de comprimento por 9cm de altura, contendo 4 litros de solução de ácido oxálico 20mM, pH 4, ajustado com hidróxido de sódio (NaOH). O tempo aproximado de exposição foi de 20 horas e

o experimento foi instalado ao final da tarde e, em ambiente protegido, para minimizar o efeito da transpiração e evitar a murcha das plantas em razão desse fator.

Em cada experimento, foi utilizado um controle, que consistia em um Becker, contendo 1 litro de água destilada com pH 4, ajustado com HCl, porém sem o ácido oxálico. Nesse caso era utilizada uma planta por genótipo.

3.5 Avaliação da resposta ao ácido oxálico

Após o período de exposição, os genótipos foram avaliados quanto à reação ao ácido oxálico, de acordo com a chave descritiva de notas proposta por Kolkman e Kelly (2000) sendo:

1= sem sintoma de murcha visível;

2= uma folha com sintomas de murcha (as duas folhas unifolioladas ou os três folíolos de uma folha trifoliolada são considerados como uma folha);

3= duas folhas com sintoma de murcha;

4= três ou mais folhas com sintoma de murcha;

5= murcha dos pecíolos;

6= murcha de toda a planta

Foi atribuída uma nota por planta. Os sintomas de murcha abrangem desde o enrolamento da ponta da folha à perda total de turgidez da folha inteira.

3.6 Análise dos dados

A média de cada parcela foi calculada e submetida às análises de variância. Foram feitas análises individuais, análises agrupadas por ciclo e uma análise agrupada geral (dos 16 experimentos). Os resultados foram obtidos com a execução do procedimento PROC GLM do programa SAS (STATISTICAL

ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS INSTITUTE, 2000). Posteriormente, as médias dos genótipos foram comparadas pelo teste de Scott e Knott (1974), ao nível de 5% de probabilidade, com o auxílio do software GENES (CRUZ, 2006).

O efeito de progênes foi considerado como fixo, pela procedência das mesmas, que vieram de uma série de seleções realizadas anteriormente.

Para a avaliação foi utilizado o modelo de análise de grupos de experimentos no delineamento inteiramente casualizado com testemunhas em comum, como apresentado a seguir:

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

Y_{ij} : observação referente ao tratamento i no experimento j ;

m : média geral;

a_j : efeito fixo do experimento j , sendo ($j = 1, 2, 3, \dots, 16$);

t_i : efeito fixo do tratamento i , sendo ($i = 1, 2, 3, \dots, 182$);

e_{ij} : efeito aleatório do erro experimental, associado à parcela que recebeu o tratamento i , no experimento j .

Estimou-se, também, a herdabilidade e seus intervalos de confiança segundo a expressão de Knapp, Stoup e Ross (1985), com o resultado das análises de variância. No presente estudo, como as progênes de cada ciclo representam um grupo já selecionado, seu efeito foi considerado como fixo. Assim, a herdabilidade estimada é, na verdade, o coeficiente de determinação genotípico e é útil para indicar as chances de ganho com a seleção somente entre elas.

As estimativas de herdabilidade foram obtidas por meio da expressão:

$$h^2 = (QM_{\text{Progênes}} - QM_{\text{Erro}}) / QM_{\text{Progênes}}$$

As expressões para a estimativa dos intervalos de confiança foram:

$$LI = \{1 - [(QM_{\text{Progênes}}/QM_{\text{Erro}}) F_{1-\alpha/2; GL \text{ Erro}; GL \text{ Genótipo}}]^{-1}\}$$

$$LS = \{1 - [(QM_{\text{Progênes}}/QM_{\text{Erro}}) F_{\alpha/2; GL \text{ Erro}; GL \text{ Genótipo}}]^{-1}\}$$

em que:

$\alpha = 0,05 = 5\%$ de probabilidade;

$F_{1-\alpha/2} = F_{0,975}$ = quantil superior,;

$F_{\alpha/2} = F_{0,025}$ = quantil inferior, ambos tabelados da distribuição F.

Para cada experimento foram calculados o coeficiente de variação experimental (CVe) e a acurácia seletiva ($r_{\hat{g}g}$). Esta última pela expressão (RESENDE; DUARTE, 2007):

$$r_{\hat{g}g} = (1 - 1/F)^{1/2}$$

em que F é o valor do teste F de Snedecor para o efeito de tratamentos (progênes) da análise de variância.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 20 horas de exposição ao ácido oxálico foi observado o desenvolvimento de alguns sintomas da doença nas plantas, como murcha das folhas e escurecimento das nervuras foliares (lesões encharcadas). Os sintomas de murcha do controle sem ácido oxálico em cada experimento foram desprezíveis e não significantes, indicando sua importância no aparecimento dos sintomas.

Os resultados da análise de variância agrupada e das estimativas de herdabilidade e acurácia seletiva estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2 Resumo da análise de variância agrupada geral para reação de genótipos de feijoeiro ao ácido oxálico

FV	GL	QM
Experimento	15	1,67**
Progênes	181	0,99**
Entre ciclos	2	0,13**
Progênes Ciclo 0	61	0,69**
Progênes Ciclo I	61	0,72**
Progênes Ciclo II	57	1,36**
Tratamentos Comuns x Exp.	15	0,22
Erro	462	0,15
Total	647	
Média geral ajustada		2,39
CV(%)		16,42
h^2 (%)		83,07
h^2_{LI}		78,28
h^2_{LS}		86,63
r_{gg}		91,14

**significativo a 5% de probabilidade pelo teste F

Diferenças genotípicas altamente significativas ($P < 0,0001$) foram identificadas entre os genótipos em resposta ao ácido oxálico (Tabela 2), assim como observado em outros trabalhos utilizando a mesma metodologia

(ANTÔNIO et al., 2008; CARVALHO, 2010; GONÇALVES; SANTOS, 2010). Isso evidencia que os diferentes genótipos possuem níveis diferentes de resistência ao mofo-branco; por consequência, possuem também diferentes alelos de resistência, comprovando a existência de variabilidade genética entre as progênes. Dessa forma, o sucesso com a seleção se torna favorável.

O coeficiente de variação de 16,42% e a acurácia seletiva de 91,14% indicam que os experimentos foram conduzidos com uma alta precisão experimental (REZENDE; DUARTE, 2007). Kolkman e Kelly (2000) encontraram coeficientes de variação de 14,10 a 20,30%, em estudos similares com feijão, em temperaturas controladas. Em contrapartida, os coeficientes de variação apresentados por Antônio et al. (2008) variaram de 25% a 48%.

Como a herdabilidade expressa a confiabilidade do valor fenotípico como estimador do valor genotípico, de tal forma que quanto maior a herdabilidade, maior o ganho genético por seleção (RAMALHO; SANTOS; ZIMMERMANN, 1993), neste trabalho, a ampla variação genética da reação das progênes é refletida pela herdabilidade de 83,07%, indicando grande chance de sucesso com a seleção. O valor de herdabilidade encontrado apresentou um intervalo de confiança pequeno, com limites positivos (limite inferior = 78,28%; limite superior = 86,63%), dando mais confiabilidade à estimativa. Apesar de alta, o valor da herdabilidade está de acordo com as encontradas por Antônio et al. (2008) e Kolkman e Kelly (2002), que variaram de 0,30 a 0,82.

A progênie mais resistente apresentou média de 1,16 e a mais sensível de 3,79. Vale ressaltar que as progênes que apresentaram maior nível de resistência exibiram médias menores. A testemunha CNFC9506 apresentou uma média de 2,35 e a testemunha RP-2 apresentou uma média de 2,40. É notório, pelo teste de agrupamento, que ambas as testemunhas apresentaram nível intermediário de resistência, bem como resposta similar ao ácido oxálico.

Durante a escolha das testemunhas, optou-se por utilizar as mesmas utilizadas na metodologia de avaliação direta de resistência ao mofo-branco, o “*straw test*”, que está sendo utilizado no programa de seleção recorrente para esta doença. Carvalho (2011) demonstra a possibilidade de as duas metodologias de avaliação da reação ao mofo-branco mensurarem mecanismos diferentes de reação ao fitopatógeno. Em um outro estudo, utilizando ácido oxálico, Gonçalves e Santos (2010) avaliam a reação dos genótipos em questão (CNFC9506 e RP-2), utilizando a testemunha resistente G122, a qual é geralmente utilizada como fonte de resistência ao mofo-branco em programas de melhoramento. Nesse trabalho, a cultivar CNFC9506 apresentou a maior média de todos os genótipos avaliados (4,83), sendo assim, a mais suscetível. Enquanto isso, a cultivar RP-2 apresentou uma das menores médias (1,97). Com isso, pode-se inferir que, em ambos os experimentos, a cultivar RP-2 apresentou respostas similares ao ácido oxálico. Em contrapartida, a cultivar CNFC9506 apresentou níveis contrastantes de resistência fisiológica nos dois trabalhos. Portanto, aconselha-se a utilização de testemunhas mais conhecidas e que exibam os níveis necessários de resistência, como a testemunha G122, que exibiu padrões de resposta esperados na maioria dos trabalhos já utilizados (ANTÔNIO et al., 2008; GONÇALVES; SANTOS, 2010; KOLKMAN; KELLY, 2000).

É necessário enfatizar que apesar de não-significativa, a reação média das testemunhas nos três ciclos foi ligeiramente diferente, apresentando médias de 2,61 no ciclo 0, 2,12 no ciclo I e 2,39 no ciclo II. Como elas foram utilizadas na análise agrupada, para a correção das médias das progênies, optou-se por realizar a análise por ciclo, evitando-se assim um efeito inflacionário das testemunhas na análise geral envolvendo todas as progênies.

O resumo das análises de variância agrupadas por ciclo, as estimativas de herdabilidade e acurácia seletiva, bem como o agrupamento de médias feito pelo teste de Scott-Knott estão apresentados nas tabelas 3 e 4.

Tabela 3 Resumo das análises de variância agrupadas por ciclo para reação de progênes ao ácido oxálico

FV	Ciclo 0			Ciclo I			Ciclo II		
	GL	QM	F(P)	GL	QM	F(P)	GL	QM	F(P)
Experimento	4	0,44**	4,10 (0,0035)	4	2,40**	17,97 (<0,0001)	5	2,02**	22,00 (<0,0001)
Progênes	63	0,69**	6,37 (<0,0001)	63	0,43**	3,23 (<0,0001)	59	0,60**	6,54 (<0,0001)
Erro	154	0,11		148	0,13		145	0,09	
Média		2,42			2,19			2,58	
CV(%)		13,59			16,71			11,72	
□ _{gg}		91,81			90,01			92,04	
h ² (%)		84,29			81,01			84,72	
h ² _{LI}		75,71			70,58			76,00	
h ² _{LS}		89,46			87,30			89,87	

**significativo a 5% de probabilidade pelo teste F

Tabela 4 Reação média das 182 progênes provenientes de três ciclos de seleção recorrente, ao ácido oxálico

	Ciclo 0		Ciclo I		Ciclo II							
	Progênes	Médias	Progênes	Médias	Progênes	Médias						
Ciclo 0	14\21	1.42	A	24\15	2.05	A	14\9	2.38	B	14\5	2.68	C
	14\10	1.47	A	14\29	2.06	A	19\8	2.38	B	24\16	2.73	C
	20\11	1.54	A	22\6	2.08	A	24\24	2.38	B	14\15	2.74	C
	14\3	1.66	A	24\14	2.09	A	22\5	2.41	B	22\4	2.74	C
	20\15	1.66	A	14\24	2.12	A	23\31	2.44	B	24\17	2.76	C
	14\8	1.79	A	14\26	2.17	A	13\15	2.45	B	19\6	2.83	C
	23\39	1.79	A	24\18	2.18	A	19\5	2.48	B	23\32	2.83	C
	19\9	1.88	A	23\10	2.23	A	23\8	2.49	B	23\33	2.83	C
	14\7	1.89	A	14\1	2.24	A	24\11	2.49	B	23\30	2.83	C
	13\7	1.89	A	17\7	2.24	A	19\2	2.54	B	15\17	2.84	C
	23\6	1.93	A	23\34	2.30	B	RP-2	2.57	B	13\6	2.88	C
	14\20	1.95	A	22\3	2.31	B	14\11	2.58	B	17\5	2.88	C
	14\28	1.95	A	23\11	2.33	B	23\7	2.62	B	16\6	2.99	C
	13\8	2.01	A	23\35	2.34	B	CNFC9506	2.65	C	15\30	3.06	C
	20\14	2.01	A	14\30	2.34	B	19\7	2.66	C	23\16	3.19	C
	14\16	2.05	A	23\9	2.37	B	22\9	2.66	C	23\12	3.25	C

Tabela 4, continuação

	Progênes	Médias*		Progênes	Médias*		Progênes	Médias*		Progênes	Médias	
Ciclo I	35\25	0.81	A	32\6	1.97	C	35\9	2.19	C	36\18	2.60	D
	35\21	0.96	A	31\7	2.04	C	28\15	2.20	C	36\26	2.66	D
	35\24	1.02	A	32\7	2.05	C	31\12	2.20	C	36\13	2.69	D
	35\4	1.07	A	32\9	2.05	C	32\14	2.20	C	36\19	2.70	D
	35\7	1.07	A	33\7	2.09	C	34\3	2.25	C	36\30	2.72	D
	35\23	1.09	A	34\4	2.09	C	36\8	2.26	C	36\31	2.76	D
	35\5	1.16	A	CNFC 9506	2.10	C	28\10	2.27	C	36\27	2.84	D
	35\11	1.42	B	29\2	2.10	C	36\9	2.29	C	32\11	2.88	D
	35\3	1.47	B	35\12	2.11	C	32\13	2.34	C	36\11	2.95	D
	34\1	1.52	B	33\4	2.12	C	35\15	2.35	C	36\6	3.03	D
	35\6	1.55	B	33\9	2.12	C	36\16	2.35	C	32\10	3.04	D
	35\1	1.59	B	36\28	2.12	C	28\1	2.37	C	36\23	3.06	D
	35\2	1.69	B	RP-2	2.15	C	27\5	2.38	C	36\5	3.10	D
	28\9	1.74	B	33\6	2.15	C	36\10	2.45	C	36\2	3.23	D
	35\20	1.76	B	36\15	2.16	C	36\3	2.49	C	36\7	3.26	D
	34\2	1.85	B	32\8	2.19	C	36\12	2.55	C	36\4	3.33	D
Ciclo II	42\16	1.51	A	3	2.35	C	38\7	2.56	C	42\13	2.90	D
	8	1.52	A	46\7	2.36	C	39\3	2.56	C	43\7	2.91	D
	46\1	1.99	B	46\10	2.36	C	43\6	2.61	C	41\8	2.92	D
	42\17	2.00	B	37\1	2.38	C	45\19	2.63	C	45\14	2.96	D
	43\2	2.01	B	45\17	2.39	C	40\7	2.66	C	38\16	2.98	D
	37\13	2.01	B	42\15	2.42	C	45\5	2.66	C	39\24	3.16	E
	45\13	2.07	B	46\15	2.42	C	45\22	2.76	D	42\19	3.21	E
	43\5	2.11	B	45\6	2.43	C	42\21	2.77	D	42\2	3.21	E
	44\8	2.14	B	46\16	2.46	C	42\23	2.81	D	40\3	3.29	E
	38\12	2.25	C	RP-2	2.46	C	42\4	2.81	D	41\21	3.36	E
	46\6	2.26	C	45\4	2.49	C	38\1	2.82	D	42\8	3.45	E
	40\6	2.29	C	39\2	2.52	C	46\14	2.86	D	42\12	3.45	E
	46\4	2.29	C	38\6	2.52	C	40\2	2.87	D	45\21	3.46	E
	CNFC9506	2.32	C	45\16	2.55	C	42\22	2.87	D	42\5	3.58	E
	44\9	2.34	C	4	2.55	C	44\3	2.87	D	42\6	3.63	E

*As medias seguidas da mesma letra pertencem ao mesmo grupo segundo o teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade

Analisando os dados por ciclo, diferenças altamente significativas ($P < 0,0001$) também foram identificadas entre as progênies em resposta ao ácido oxálico (Tabela 4), evidenciando que os diferentes genótipos possuem níveis diferentes de resistência ao mofo-branco e, conseqüentemente, também possuem diferentes alelos de resistência. Dessa forma, o sucesso com a seleção em cada ciclo se torna favorável, uma vez que existe variabilidade genética entre as progênies.

O coeficiente de variação foi relativamente baixo, apresentando valores de 13,59% no ciclo 0, 16,71% no ciclo I e 11,72% no ciclo II, sendo condizentes com coeficientes de variação encontrados em estudos similares (GONÇALVES; SANTOS, 2010; KOLKMAN; KELLY, 2000). A acurácia seletiva foi de 91,81% no ciclo 0, 90,01% no ciclo I e 92,04% no ciclo II, indicando uma precisão experimental muito alta nos três ciclos (REZENDE; DUARTE, 2007).

Uma ampla variação genética da reação das progênies ao ácido oxálico é refletida pelos valores de herdabilidade, sendo de 84,29% no ciclo 0, 81,01% no ciclo I e 84,72% no ciclo II. Esses valores encontrados também apresentaram intervalos de confiança pequenos e com limites positivos, dando mais confiabilidade às estimativas. Além disso, estão de acordo com os valores encontrados por Antonio et al. (2008) e Carvalho (2011).

Por meio do agrupamento de médias (Tabela 5), é notório que as testemunhas também apresentaram nível intermediário de resistência em cada ciclo individualmente. Deve-se destacar que, no ciclo 0, as testemunhas tiveram comportamento diferente do esperado, ou seja, a testemunha CNFC9506 foi mais sensível que a testemunha RP-2, apresentando notas de 2,65 e 2,57 respectivamente. Vale lembrar que as reações esperadas das testemunhas são para a inoculação direta com micélio em plantas íntegras e vivas (*straw test*). Os presentes resultados foram similares aos observados por Gonçalves e Santos (2010) quando essas testemunhas foram avaliadas no ácido oxálico. Como já abordado, isso também pode ser explicado em função do fato de as duas

metodologias de avaliação da reação ao mofo-branco mensurarem mecanismos diferentes de reação ao fitopatógeno.

O nível de resistência das progênies avaliadas pode ser considerado bom, haja vista que as médias das mesmas foram relativamente baixas, quando comparadas com a testemunha RP-2, em cada ciclo individualmente. No ciclo 0, foi possível identificar 42 progênies com notas médias inferiores à média da testemunha RP-2 (2,57), sendo 26 progênies pertencentes ao grupo com maior nível de resistência. Nesse ciclo as médias variaram desde 1,42 (progênie 35\25) até 3,25 (23\12). No ciclo I, 27 progênies apresentaram notas médias inferiores à testemunha RP-2 (2,15). Deve-se salientar que, neste ciclo, sete progênies apresentaram um alto nível de resistência, com notas médias ajustadas de 0,81 (progênie 35\25) a 1,16 (progênie35\5). As outras progênies resistentes foram: 35\21, 35\24, 35\4, 35\7 e 35\23. A progênie mais sensível ao ácido oxálico neste ciclo apresentou nota média de 3,33. No ciclo II, 24 progênies apresentaram maior nível de resistência que a testemunha RP-2 (2,46), sendo a progênie 42\16 a que apresentou melhor reação ao oxalato, com uma nota média de 1,51. No ciclo em questão, a progênie com menor nível de resistência (42/6) exibiu uma nota média 3,63.

Analisando as médias dos três ciclos individualmente, é perceptível uma redução na média das progênies do C-0 para o C-I (2,42 \rightarrow 2,19), ou seja, as progênies expressaram maior resistência. Contudo, do C-I para o C-II houve elevação na média (2,19 \rightarrow 2,58), superando a média do ciclo inicial. De acordo com esses resultados, pode-se inferir que a seleção foi eficiente no primeiro ciclo e ineficiente no segundo. Entretanto, como as médias das progênies foram ajustadas em cada ciclo na análise agrupada, utilizando-se o desempenho das testemunhas, elas podem ter inflacionado as médias das progênies no ciclo II em relação ao I (Tabela 4). Assim, pode-se avaliar o efeito da seleção recorrente verificando-se o número de progênies mais resistentes por ciclo em comparação

com a testemunha RP-2. Percebe-se que houve uma progressiva redução do número de progênies resistentes durante a condução da seleção recorrente. Foram 42 progênies no ciclo 0, 27 no ciclo I e 24 no ciclo II. Assim, pode-se depreender que a seleção não foi muito eficiente no decorrer dos três ciclos. Contudo, é importante lembrar que o programa de seleção recorrente foi conduzido praticando-se a avaliação e seleção de progênies a partir de inoculação com micélio do fungo. Como a resistência do feijão ao mofo-branco é complexa, há evidências de que as reações da planta ao fungo e ao ácido nem sempre são coincidentes (CARVALHO, 2011).

Deve-se destacar que a maioria das progênies com maior nível de resistência fisiológica faz parte do ciclo inicial. Dessa forma, pode-se inferir que o nível de resistência da população original era considerado alto. Isso leva a deduzir que a população original utilizada já possuía algum nível de resistência fisiológica para o mecanismo de reação à absorção ao ácido oxálico, provavelmente pela utilização de genitores com maior resistência fisiológica, durante a formação da população-base.

Com todas essas observações, chega-se à conclusão de que a segregação das reações ao oxalato pelas cultivares comprovam a eficiência do teste indireto utilizando ácido oxálico. Além disso, por ser um método em que o fungo não é utilizado, a variabilidade na virulência do patógeno é eliminada. Com isso, os resultados são mais uniformes.

Nesse estudo, os resultados confirmam uma das especulações relativas ao mecanismo pelo qual o ácido oxálico aumenta a virulência do patógeno (DUTTON; EVANS, 1996). Como as plantas apresentaram sintomas da doença na ausência do fungo, confirmou o modelo de ação proposto para o ácido oxálico, no qual é afirmado que o mesmo pode ser diretamente tóxico para plantas hospedeiras, por causa da sua acidez, sugerindo o enfraquecimento da planta e facilitando a invasão e ação do fungo.

A seleção baseada na resistência ao ácido oxálico pode não resultar em resposta correlacionada esperada para resistência em campo. Na realidade há evidências de ausência de correlação entre reações ao ácido oxálico e ao fungo a partir de inoculação com micélio (CARVALHO, 2011; LIMA et al., 2011; SOUZA, 2012). Carvalho (2011) encontrou uma correlação de -0,09 entre essas variáveis, sendo esse resultado confirmado por Souza (2012), que encontrou um coeficiente de correlação de -0,18, indicando uma baixíssima associação entre essas duas variáveis. Portanto, a grande vantagem seria obter progênies com alta resistência, ou seja, que associassem os dois componentes da resistência ao mofo-branco.

Tais observações permitem maior eficiência na seleção de progênies superiores e mais resistentes ao mofo-branco. Vale ressaltar, contudo, que esse nível de resistência é baixo e sozinho não consegue controlar a doença em campo. É necessário, para um melhor controle da doença, associá-la ao porte mais arbustivo, por exemplo.

A resistência do feijão ao ácido oxálico é um mecanismo de resistência específica que pode atuar isoladamente, ou mais provavelmente combinada com mecanismos de escape da planta, para fornecer níveis consistentes de resistência ao mofo-branco. Mecanismos de escape da planta, como floração ou maturação precoce, ou a copa mais arbustiva e mais aberta podem impedir a inoculação inicial e infecção subsequente do mofo-branco. Os mecanismos de resistência fisiológica podem não estar restritos à resistência ao ácido oxálico. Mecanismos de resistência alternativa em nível celular, como as fitoalexinas e inibidores enzimáticos (SUTTON; DEVERAL, 1984) podem ser importantes para a resistência ao mofo-branco.

Alguns genótipos, ao serem utilizados em campo, podem se comportar contrariamente ao esperado, como por exemplo, cultivares com alta resistência fisiológica serem muito afetados pelo patógeno e vice-versa. Isso porque

existem outros fatores genéticos e ambientais envolvidos, não considerados nesse estudo, que desempenham uma função não somente na resistência ao mofo-branco, como também no potencial de manutenção da produção de sementes sob pressão da doença. Estes fatores podem incluir características agronômicas, interações ambientais, distinções na arquitetura das plantas, como plantas eretas densas e plantas eretas esparsas.

Ao contrário do que foi afirmado por Oliveira (2005), algumas cultivares em uso no Brasil, bem como algumas linhagens promissoras dos programas de melhoramento em andamento, apresentam algum nível de resistência. Como exemplo, temos algumas linhagens/cultivares utilizadas nos experimentos VCU e Elite do programa de melhoramento da UFLA, como BRSMG Majestoso, BRSMG Talismã, BRSMG Supremo, ESAL 550, entre outras. Entretanto, como a resistência ao mofo-branco não é completa, é provável que os níveis apresentados por esses genótipos não sejam suficientes para o controle total da doença, porém, certamente irão contribuir para reduzir a necessidade de fungicidas e são promissoras para o aumento do nível de resistência por meio do melhoramento.

Dessa forma, a identificação de genótipos que apresentam resistência fisiológica é um passo importante para o melhoramento visando a resistência ao mofo-branco, uma vez que depois de identificadas, essas progênies poderão ser combinadas com cultivares que possuem hábito de crescimento arbustivo, mantendo características desejáveis, como alta produção e boa qualidade de mercado. Ou ainda serem utilizadas no prosseguimento da seleção recorrente, por meio de cruzamentos dessas progênies, com o intuito de aumentar gradativamente a frequência de alelos favoráveis nos ciclos subsequentes, sem reduzir a variabilidade genética e ser possível, assim, selecionar novas progênies com níveis cada vez maiores de resistência e com uso potencial nos programas de melhoramento.

Portanto, é viável a avaliação da reação de genótipos de feijão em solução de ácido oxálico, como indicador da parte da fisiológica da resistência à *S. sclerotiorum*, sendo esses resultados promissores para aplicação em um programa de melhoramento visando a resistência ao mofo-branco.

5 CONCLUSÕES

Existe ampla variabilidade de reação das progênies adaptadas de feijão ao ácido oxálico.

O método do ácido oxálico é rápido, eficiente e permite que grande número de genótipos sejam avaliados em qualquer época do ano. Portanto, pode ser utilizado como ferramenta complementar às avaliações de campo, na escolha das progênies a serem selecionadas e recombinadas durante o programa de seleção recorrente.

REFERÊNCIAS

- ABAWI, G. S. et al. Infection of bean by ascospores of *Whetzelinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 65, n. 6, p. 673-678, 1975.
- AMARO, G. B. et al. Phenotypic recurrent selection in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) with carioca-type grains for resistance to the fungi *Phaeoisariopsis griseola*. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 30, n. 3, p. 584-588, 2007.
- 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.
- ARANTES, L. O.; ABREU, A. F. B.; RAMALHO, M. A. P. Eight cycles of recurrent selection for resistance to angular leaf spot in common bean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 10, n. 3, p. 232-237, 2010.
- BOLAND, G. J.; HALL, R. Epidemiology of white mold bean in Ontario. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v. 9, n. 3, p. 218-224, June 1987.
- _____. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Otatawa, v. 16, n. 1, p. 93-108, Jan. 1994.
- BOLTON, M. D. et al. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, London, v. 7, n. 1, p. 1-16, Jan. 2006.
- BONETT, L. P.; SCHEWE, I.; SILVA, L. I. Variabilidade de *Colletotrichum lindemuthianum* em feijoeiro comum no Oeste do Estado do Paraná. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 9, n. 2, p. 207-210, 2008.
- BOTELHO, L. S. **Detecção, transmissão e efeitos de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja**. 2011. 96 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 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.; LEITE, M. E.; SANTOS, J. B. dos. Oxalic acid reaction and Phs SCAR marker of common bean progenies derived from recurrent selection based on grain yield. **Annual Report of Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 54, p. 138-139, 2011.

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

CASTAÑO, F.; VEAR, F.; TOURVIELLE, D. The genetics of resistance in sunflower capitula to *Sclerotinia sclerotiorum* measured by mycelium infections combined with ascospore tests. **Euphytica**, Wageningen, v. 122, n. 2, p. 373-380, Feb. 2001.

CESSNA, S. G. et al. Oxalic acid, a pathogenicity factor for *Sclerotinia sclerotiorum*, suppresses the oxidative burst of the host plant. **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, 1971.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos, safra 2011/2012, quinto levantamento**. Brasília, 2012. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_02_16_08_47_47_boletim_portugues_fevereiro_2012.pdf>. Acesso em: 13 fev. 2012.

CRUZ, C. D. **Programa genes: biometria**. Viçosa, MG: UFV, 2006. 382 p.

CUNHA, W. G. da. **Seleção de feijão do tipo carioca para porte ereto**. 2005. 130 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

DUTTON, M. V.; EVANS, C. S. Oxalate production by fungi: its role in pathogenicity and ecology in the soil environment. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 42, n. 9, p. 881-895, Sept. 1996.

ENDER, M.; KELLY, J. D. Identification of QTL associated with white mold resistance in common bean. **Crop Science**, Madison, v. 45, n. 6, p. 2482-2489, June 2005.

GERALDI, I. O. Por que realizar seleção recorrente? In: SIMPÓSIO DE ATUALIZAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 20., 2005, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2005. p. 1-8.

_____. Selección recorrente en el mejoramiento de plantas. In: GUIMARÃES, E. P. (Ed.). **Selección recorrente en arroz**. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1997. p. 3-11. (Publicación CIAT, 267).

GODOY, G. et al. Use of mutants to demonstrate the role of oxalic acid in pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum* on *Phaseolus vulgaris*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 37, n. 3, p. 179-191, Sept. 1990.

GONÇALVES, P. R. C.; SANTOS, J. B. dos. Physiological resistance of common bean cultivares and lines to white mold based on oxalic acid reaction. **Annual Report of Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 53, p. 236-237, 2010.

_____. 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.

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

HALLAUER, A. R. Recurrent selection in maize. **Plant Breeding Reviews**, New York, v. 9, n. 2, p. 115-179, 1992.

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.

HUANG, H. C. et al. Physiological resistance of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary and *Botrytis cinerea*. **Revista Mexicana de Fitopatología**, Chapingo, v. 20, n. 1, p. 182-186, 2002.

HUANG, H. C.; KEMP, G. A. Growth habit of dry beans (*Phaseolus vulgaris*) and incidence of white mold (*Sclerotinia sclerotiorum*). **Plant Protection Bulletin**, Taiwan, v. 31, n. 3, p. 304-309, 1989.

HUANG, H. C.; KOZUB, G. C. Temperature requirements for carpogonia germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates of different geographic origin. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, Taipei, v. 32, n. 3, p. 279-286, Mar. 1991.

HUANG, H. C.; MUNDEL, H. H.; ERICSON, 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.

HUNTER, J. E.; DICKSON, M. H.; CIGNA, J. A. Limited-term inoculation: a method to screen bean plants for partial resistance to white mold. **Plant Disease**, Quebec, v. 65, n. 5, p. 414-417, Oct. 1981.

HUNTER, J. E. et al. Evaluation of plant introductions of *Phaseolus spp.* for resistance to white mold. **Plant Disease**, Quebec, v. 66, n. 4, p. 320-322, Aug. 1982.

_____. Relationship between soil moisture and occurrence of *Sclerotinia sclerotiorum* and white mold disease on snap beans. **Protection Ecology**, Thessaloniki, v. 7, n. 4, p. 269-280, 1984.

KHADR, F. H.; FREY, K. J. Effectiveness of recurrent selection in oat breeding (*Avena sativa* L.). **Crop Science**, Madison, v. 5, n. 4, p. 349-354, July/Aug. 1965.

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./Feb. 1985.

KOHN, L. M. A monographic revision of the genus *Sclerotinia*. **Mycotaxon**, Ithaca, v. 9, p. 365-444, 1979.

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/June 2002.

_____. 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.

_____. QTL conferring resistance and avoidance to white mold in common bean. **Crop Science**, Madison, v. 43, n. 2, p. 539-548, Mar./Apr. 2003.

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).

LEONE, G.; TONNEJICK, A. E. G. A rapid procedure for procedure for screening the resistance of bean cultivars (*Phaseolus vulgaris*) to *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*. **Euphytica**, Wageningen, v. 48, n. 2, p. 87-90, Apr. 1990.

LIMA, I. A. **Seleção de progenies de feijoeiro tipo carioca em populaces 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.

LIMA, I. A. et al. Análise da resistência de cultivares elite e VCU de feijoeiro ao mofo-branco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 6., 2011, Búzios. **Anais...** Búzios: UFRRJ, 2011. 1 CD-ROM.

LOBO JÚNIOR, M.; NASSER, L. C. B. Mofo-branco pode limitar o agronegócio da soja, feijão e girassol em áreas infestadas. **Informativo Agromen**, Orlândia, v. 4, n. 20, p. 6-8, 2007.

MARCIANO, P.; DI LENNA, P.; MAGRO, P. Oxalic acid, cell wall-degradind enzymes and pH in pathogenesis and their significance in the virulence of two *Sclerotinia sclerotiorum* isolates on sunflower. **Physiology Plant Pathology**, London, v. 22, n. 3, p. 339-345, June 1983.

MAXWELL, D. P.; LUMSDEN, R. D. Oxalic acid production by *S. Sclerotiorum* in infected bean and in culture. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 60, n. 11, p. 1395-1398, Nov. 1970.

MAXWELL, J. J. et al. Quantitative trait loci linked to white mold resistance in common bean. **Crop Science**, Madison, v. 47, n. 6, p. 2285-2294, Nov./Dec. 2007.

MIDDLETON, K. K.; REDDENZ, J. Selection of *Sclerotinia sclerotiorum* resistance from a *Phaseolus spp.* germplasm collection. **Annual Report of Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 33, n. 2, p. 189-190, 1990.

MIKLAS, P. N. et al. Inheritance of ICA-Bunsi derived resistance to white mold in a navy × pinto bean cross. **Crop Science**, Madison, v. 44, p. 1584-1588, Sept./Oct. 2004.

_____. QTL conditioning physiological resistance and avoidance to white mold in dry bean. **Crop Science**, Madison, v. 41, n. 2, p. 309-315, Mar./Apr. 2001.

_____. Registration of partial white mold resistant pinto bean germplasm line USPT-WM-1. **Crop Science**, Madison, v. 46, n. 5, p. 2339-2344, Oct. 2006.

_____. Use of pathogen filtrate to differentiate physiological resistance of dry bean to white mold disease. **Crop Science**, Madison, v. 32, n. 2, p. 310-312, Apr. 1992.

MIKLAS, P. N.; GRAFTON, K. F.; NELSON, B. D. Screening for partial physiological resistance to white mold in dry bean using excised stems. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 117, n. 2, p. 321-327, 1992.

MORAIS, P. de M. et al. Performance da população CG1 em seu terceiro ciclo de seleção. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2., 2003, Porto Seguro. **Anais...** Porto Seguro: UFBA, 2003. 1 CD-ROM.

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

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.

PHILLIPS, A. J. L. Carpogenic germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*: a review. **Phytophylactica**, Pretoria, v. 19, n. 10, p. 279-283, Oct. 1987.

PRATT, R. G.; ROWE, D. E. Comparative pathogenicity of isolates of *Sclerotinia trifoliorum* and *S. sclerotiorum* on alfalfa cultivars. **Plant Disease**, Quebec, v. 79, n. 5, p. 474-477, Sept. 1995.

PURDY, L. H. *Sclerotinia sclerotiorum*: history, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution, and impact. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 69, p. 875-880, 1979.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SANTOS, J. B. Genetic progress after four cycles of recurrent selection for yield and grain traits in common bean. **Euphytica**, Wageningen, v. 144, n. 1/2, p. 23-29, July 2005.

_____. Melhoramento de espécies autógamas. In: NASS, L. L. et al. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 201-230.

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

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, 2007.

SAINDON, G.; HUANG, H. C.; KOZUB, G. C. White mold avoidance and agronomic attributes of upright common beans grown at multiple planting densities in narrow rows. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 120, n. 5, p. 843-847, 1995.

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

SCHWARTZ, H. F. et al. Field measurement of white mold effects upon dry beans with genetic resistance or upright plant architecture. **Crop Science**, Madison, v. 27, n. 4, p. 699-702, Aug. 1987.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Raleigh, v. 30, n. 3, p. 507-512, 1974.

SILVA, M. G. M.; SANTOS, J. B. dos; ABREU, A. de 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, out. 2006.

SINGH, S. P. et al. Registration of white mold resistant dry bean germplasm line A 195. **Journal of Plant Registrations**, Madison, v. 1, p. 62-63, May/June 2007.

SOULE, M. 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, Jan./Feb. 2011.

SOUZA, D. A. **Efeito da seleção recorrente para resistência a mancha angular na reação ao mofo branco e em alelos SSR de progênies de feijão**. 2012. 96 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS/STATS user's guide**. Version 8. Cary, 2000. Disponível em: <<http://www.sas.com/>>. Acesso em: 10 dez. 2011.

STEADMAN, J. R. White mold: a serious yield-limiting disease of bean. **Plant Disease**, Quebec, v. 67, n. 4, p. 346-350, 1983.

STEADMAN, J. R.; POWERS, K.; HIGGINS, B. Screening common bean for white mold resistance using detached leaves. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 40, p. 140-141, 1997.

SUTTON, D. C.; DEVERALL, B. J. Phytoalexin accumulation during infection of bean and soybean by ascospores and mycelium of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Pathology**, Honolulu, v. 33, n. 3, p. 377-383, Sept. 1984.

TARIQ, V. N.; JEFFRIES, P. Appressorium formation by *Sclerotinia sclerotiorum*: scanning electron microscopy. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 82, n. 4, p. 645-651, 1984.

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.

TU, J. C. Tolerance of white bean (*Phaseolus vulgaris*) to white mold (*Sclerotinia sclerotiorum*) associated whit tolerance to oxalic acid. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 26, p. 111-117, Jan. 1985.

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

VIEIRA, R. F.; PAULA JÚNIOR, T. P.; TEIXEIRA, H. White mold management in common bean by increasing within-row distance between plants. **Plant Disease**, Quebec, v. 94, n. 3, p. 361-367, Mar. 2010.

ZHOU, T.; BOLAND, G. J. Mycelial growth and production of oxalic acid by virulent and hypovirulent isolates of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v. 21, n. 1, p. 93-99, Jan. 1999.