

**SELEÇÃO DE LINHAGENS DE
FEIJÃO TIPO CARIOCA COM
RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE E À
MANCHA ANGULAR**

MANSUÊMIA ALVES COUTO

2005

MANSUÊMIA ALVES COUTO

**SELEÇÃO DE LINHAGENS DE FEIJÃO TIPO CARIOCA COM
RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE E À MANCHA ANGULAR**

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

Orientador

Prof. Dr. João Bosco dos Santos

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2005

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

Couto, Mansuêmia Alves

Seleção de linhagens de feijão tipo carioca com resistência à antracnose e à mancha angular / Mansuêmia Alves Couto. -- Lavras : UFLA, 2004.

74 p. : il.

Orientador: João Bosco dos Santos.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Feijão. 2. Doença fúngica. 3. Antracnose. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-635.65294

MANSUÊMIA ALVES COUTO

**SELEÇÃO DE LINHAGENS DE FEIJÃO TIPO CARIOCA COM
RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE E À MANCHA ANGULAR**

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

APROVADA em 04 de fevereiro de 2005

Prof. Dr. Lázaro José Chaves

UFG

Prof^a. Dr^a. Ângela de Fátima Barbosa Abreu

Embrapa Arroz e Feijão

Prof. João Bosco dos Santos
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

Ao meu pai,
Mansueto

MINHA HOMENAGEM

A minha mãe,
Maria Lúcia
Aos meus irmãos
Christiane
Wender

DEDICO

A DEUS,

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, por meio do Departamento de Biologia, pela oportunidade de realização do curso de mestrado;

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

Ao Prof. Dr. João Bosco dos Santos pela orientação, confiança, paciência e apoio constante ao decorrer do curso e realização deste trabalho;

À Dra. Ângela pelos ensinamentos durante condução dos experimentos de campo, viagens agradáveis, sugestões e principalmente pela amizade;

Ao Prof. Dr. Lázaro pelo incentivo a pesquisa, conselhos valiosos e pela credibilidade sempre depositada em mim;

Ao Dr. Aloísio Sartorato por disponibilizar o Laboratório do CNPAF e pelas sugestões;

À amiga Gláucia que me auxiliou bastante no CNPAF;

Aos Prof. Magno, César e Elaine pelos ensinamentos transmitidos;

Ao amigo Lamartine, pela enorme ajuda, e paciência, no laboratório de molecular;

Aos amigos do laboratório de resistência a doenças, principalmente a amiga Francine;

Aos amigos de curso Marciane, Wel, Juliana, Airton, Marcelo, Breno, Diogo, Dedé, Patrícia, Kaesel, Sarah, Willian, Wila, Matheus pelos anos de convivência agradáveis e pelos dias de estudo em grupo;

À Taislene pelo auxílio nos ajustes para finalização deste trabalho e por me ensinar a usar a quebra de página;

Ao Adriano pela compreensão, incentivo, confiança e por simplesmente, existir em minha vida deixando assim os dias mais cor de rosa;

À toda família do Sr. João e da dona Carmem pela acolhida, amizade, pelos ótimos momentos vividos neste lar harmonioso e abençoado;

Aos funcionários do Departamento de Biologia, Zélia, Rafaela, Irondina e Rosângela, pelo agradável convivência;

À secretária Elaine pela alegria, disposição e companheirismo;

À todos que, embora não citados, contribuíram para o sucesso desse trabalho;

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	i
ABSTRACT	i
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	4
2.1 CULTURA DO FEIJÃO NO BRASIL E EM MINAS GERAIS	4
2.2 ANTRACNOSE	6
2.3 MANCHA ANGULAR	9
2.4 PIRAMIDAÇÃO DE ALELOS DE RESISTÊNCIA COM O USO DE MARCADORES MOLECULARES	10
2.5 VARIABILIDADE PATOGÊNICA	16
2.6 MELHORAMENTO PARA CARACTERES AGRONÔMICOS	18
2.6.1 Tipo de grãos	19
2.6.2 Porte da planta	20
2.6.3 Produtividade de grãos	22
2.6.4 Considerações gerais	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 MATERIAL EXPERIMENTAL	25
3.2 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	25
3.2.1 Locais	25
3.2.2 Safra de “inverno” de 2003	26
3.2.3 Safra da “seca” de 2004	27
3.2.4 Safra de “inverno” de 2004	27
3.2.5 Caracteres avaliados	27
3.2.5.1 Reação das linhagens a <i>Phaeoisariopsis griseola</i> (Sacc.) Ferraris	27
3.2.5.2 Tipo de grão	28
3.2.5.3 Porte da planta	28
3.2.5.4 Produtividade de grãos	29
3.3 ANÁLISE DOS DADOS DE CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS	29
3.4 IDENTIFICAÇÃO DE LINHAGENS COM DIFERENTES ALELOS DE RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE	32
3.4.1 Reação das linhagens a <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	32
3.4.2 Uso de marcadores moleculares para detecção de pirâmide de alelos de resistência	34
3.4.2.1 Extração de DNA	34
3.4.2.2 Análise de PCR	35

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1 PRODUTIVIDADE DE GRÃOS	37
4.2 PORTE DA PLANTA.....	41
4.3 TIPO DE GRÃO	45
4.4 REAÇÃO À MANCHA ANGULAR	48
4.5 PESO DE CEM SEMENTES	50
4.6 GANHOS COM A SELEÇÃO	53
4.7 REAÇÃO DAS LINHAGENS AO <i>C. lindemuthianun</i>	56
5. CONCLUSÕES.....	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

RESUMO

COUTO, Mansuêmia Alves. **Seleção de linhagens de feijão tipo carioca com resistência à antracnose e à mancha angular.** Lavras: UFLA. 2005 72p. (Dissertação – Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).*

Na obtenção de novas cultivares de feijão resistentes a patógenos, outros fenótipos de interesse agrônomico devem ser considerados para atender a preferência do consumidor e do produtor. O presente trabalho teve como objetivo identificar linhagens de feijão que reúnam, além da resistência a antracnose, alta produtividade, grãos tipo Carioca, resistência à mancha angular e porte arbustivo. O material experimental constituiu de 153 linhagens selecionadas dentro de cinco famílias provenientes de retrocruzamentos. O genitor doador G2333 é portador da pirâmide de alelos de resistência a antracnose ($Co-4^2$, $Co-5$ e $Co-7$). Os genitores recorrentes ESAL 696 (resistente à mancha angular e antracnose) e CI 140 possuem características agrônomicas favoráveis. As linhagens foram avaliadas em três safras, inverno/2003, seca/2004 e inverno de 2004, e conduzidas em três locais da região Sul de Minas Gerais, Ijaci, Lavras e Lambari, sendo avaliadas as 153 linhagens, mais 16 testemunhas, na safra de inverno de 2003 em Lavras; 120 linhagens e a testemunha Talismã, na safra da seca de 2004 em Ijaci e Lavras, e finalmente, 48 linhagens, mais a testemunha Talismã em Lavras e Lambari. Foram avaliados os caracteres produção, porte, tipo de grão, peso de cem sementes e resistência à mancha angular e à antracnose. A resistência à antracnose foi verificada por meio de inoculações com as raças 2047, 1545 e 81 e também com o uso de um marcador molecular SCAR ligado ao alelo $Co-5$. Foi possível selecionar linhagens que reuniram alta produtividade, tipo de grão semelhante ao da cultivar Carioca, porte mais arbustivo e resistência à antracnose devido à pirâmide de alelos $Co-5$ e $Co-7$, bem como algumas linhagens portadoras do alelo $Co-4^2$ e dos alelos individuais $Co-5$ e $Co-7$. O marcador SCAR não foi eficiente para realizar seleção de genótipos portadores do alelo $Co-5$, dentro do conjunto de linhagens avaliado, devido a distância entre eles e o procedimento usado na seleção. Não foram identificadas linhagens com alta resistência à mancha angular.

*Orientador: João Bosco dos Santos – Universidade Federal de Lavras (UFLA)

ABSTRACT

COUTO, Mansuêmia Alves. **Selection of Carioca-type common bean lines resistant to anthracnose and to angular leaf spot.** Lavras: UFLA, 2005 72p. (Dissertation – Master Program in Genetic and Plant Breeding)*

The common bean improvement aiming to obtain pathogen resistant cultivars, and suitable agronomical traits must also be considered for assuring its use by farmers and consumers. The objective of the present work was to select common bean lines resistant to anthracnose and angular leaf spot, high yield, Carioca-type grain and upright plant habit. One hundred and fifty three lines were selected within five segregating families derived from backcrosses. G2333 was the donor parent of a pyramid of alleles for anthracnose resistance (*Co-4*², *Co-5* e *Co-7*), and the recurrent parents were lines ESAL 696 (resistant to angular leaf spot and anthracnose through the *Co-5* allele) and CI 140 that have ideal agronomical traits. The lines were evaluated and selected in three seasons in the following way: 153 lines plus 16 checks in the winter of 2003; 120 lines plus cv. Talismã cultivars as checks in the dry season of 2004 in two locations (Ijaci and Lavras); and finally, 48 lines plus the check Talismã in two locations (Lavras and Lambari). Grain yield, plant and grain type, 100-seed weight and resistance to angular leaf spot (natural incidence) and anthracnose (inoculation of races 2047, 1545 and 81) were evaluated. The SCAR marker linked to the *Co-5* allele was also used for selection. Lines with high grain yield, Carioca-type grains, upright plant habit, and anthracnose resistance with the pyramid *Co-5* and *Co-7*, some with *Co-4*² or *Co-5* or *Co-7* were selected. The SCAR marker was not efficient for selecting lines with *Co-5* allele due to the high distance between the marker and the allele and also the procedure used for selection. Only lines with mild resistance to angular leaf spot were identified.

*Guidance Committee: João Bosco dos Santos – UFLA (Major Professor)

1 INTRODUÇÃO

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) assume um grande valor social, uma vez que constitui a base da alimentação da população brasileira, além de gerar empregos, requerendo bastante mão-de-obra durante todo o ciclo, principalmente no momento da colheita.

A produção nacional de feijão supera três milhões de toneladas, com produtividade média de 700 kg/ha. Na safra de inverno, que é a mais tecnificada, obteve-se produtividade média de 2.480 kg/ha (CONAB, 2004). No entanto, a cultura é afetada por inúmeros fatores de origem tanto biótica como abiótica. Dentre os fatores bióticos destacam-se as doenças como antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. e Magn.) Scrib.) e mancha angular (*Phaseoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferr.), que reduzem a produtividade e, conseqüentemente, a oferta desta leguminosa no mercado.

Estas doenças ocorrem em toda a parte aérea da planta e, além de diminuir o rendimento da cultura, depreciam a qualidade do produto. Podem ser controladas pelo uso de práticas culturais, controles químicos e pela resistência das plantas. O emprego da resistência genética tem merecido especial destaque dentro de um sistema integrado de controle a doenças, pois não onera custos e não é perigoso para a natureza, para o agricultor e para o consumidor. Entretanto, a capacidade de variação patogênica dos fungos tem dificultado este trabalho, tornando imperativo manter atualizado seu conhecimento para, mediante a exploração da variabilidade existente no feijoeiro comum, obter novas cultivares resistentes (Rava et al., 1994).

É de suma importância introduzir novas fontes de alelos de resistência e obter cultivares que possuam mais de um alelo de resistência, isto é, uma pirâmide de alelos para que elas fiquem protegidas de um grande número de

raças e possuam resistência mais duradoura (Mendonça,1996). No entanto, para a construção da pirâmide de alelos de resistência, uma dificuldade é a não disponibilidade de um conjunto de raças que permita identificar todos os alelos de resistência que venham a ser piramidados em uma única linhagem. Essa dificuldade pode ser contornada com o uso de marcadores moleculares.

Vários marcadores dos alelos de resistência já foram identificados, principalmente para antracnose (Young et al., 1998; Alzate-Marin et al., 2001a; Queiroz et al, 2004). Um dos alelos mais importantes é o *Co-4²*, presente na cultivar G2333 (Young et al., 1998), por conferir resistência a todas as raças identificadas no Brasil (Alzate-Marin & Sartorato, 2004).

Outro problema encontrado no uso da maioria das fontes de resistência é o fato de elas não serem adaptadas e possuírem caracteres indesejáveis sob o ponto de vista agrônomo e comercial. Com isso, torna-se necessário o emprego de retrocruzamento, visando à redução da frequência de alelos desfavoráveis da linhagem doadora e que seja mantido o alelo de interesse.

O programa de melhoramento de feijoeiro da Universidade Federal de Lavras dispõe de populações originadas de retrocruzamento, no qual fez-se a transferência da pirâmide de alelos contra a antracnose, presente na linhagem não adaptada G2333, para linhagens com grãos tipo carioca e adaptadas (Hagiwara, 2001). A partir dessas populações tem-se avaliado e selecionado linhagens promissoras que contêm pirâmide de alelos para resistência ao *C. lindemuthianum* e que reúnam outros fenótipos agrônômicos desejáveis (Pereira, 2003).

Diante deste contexto, o presente trabalho teve como objetivos: i) Identificar, entre as linhagens de feijoeiro oriundas de um programa de retrocruzamento, algumas com pirâmide de alelos de resistência a *C. lindemuthianum* presentes na cultivar G2333; ii) Selecionar linhagens de

feijoeiro que reúnam, além da resistência à antracnose, alta produtividade, grãos tipo Carioca, resistência à mancha angular e porte ereto.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CULTURA DO FEIJÃO NO BRASIL E EM MINAS GERAIS

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) constitui importante fonte de proteínas, carboidrato e ferro, principalmente para a população brasileira de baixa renda. Além disso, apresenta expressiva importância econômico-social, pois demanda muita mão de obra, principalmente na ocasião da colheita, constituindo, assim, uma das principais fontes de trabalho no meio rural e mesmo urbano em determinadas regiões do país. Estima-se que esta cultura utilize cerca de sete milhões de homem/dia-ciclo de produção, envolvendo 295.000 produtores, considerando apenas o Estado de Minas Gerais (Borém & Carneiro, 1998).

É cultivado em praticamente todos os estados brasileiros, principalmente no Paraná, Minas Gerais, Bahia, São Paulo e Goiás, representando, conjuntamente, mais de 50% da produção. A estimativa de área plantada com a cultura do feijão no país, para safra 2004/2005, é de aproximadamente 4,2 milhões ha, considerando as três safras. Estima-se uma produção superior a três milhões de toneladas para o ano de 2005 (CONAB, 2004).

Parte da produção é obtida por produtores pouco tecnificados, que reservam determinada quantidade da produção para seu sustento e vendem o excedente. Isso contribui para que esta seja uma cultura estigmatizada, pouco competitiva em relação a outras culturas. Apesar da forte concorrência de produtos mais voltados para o mercado externo, o feijão continua numa posição de destaque no agronegócio brasileiro, pois, no período de 1990 a 2002, respondeu por 5,2% da renda agrícola total, sendo o oitavo produto em renda (Ferreira et al., 2002).

No Brasil, o feijão pode ser cultivado em três épocas distintas: *i*) safra das “águas”, com plantio concentrado nos meses de outubro e novembro; *ii*) safra

da “seca”, com plantio nos meses de fevereiro a março; e *iii*) safra de “inverno”, com plantio irrigado de abril a agosto. As safras das “águas” e da “seca” são cultivadas de forma tradicional, por pequenos e médios agricultores, muitos ainda utilizando sistemas consorciados e baixo nível tecnológico. Em contrapartida, o cultivo de “inverno” é praticado, na sua maioria, por produtores que se enquadram como empresários agrícolas, utilizando alta tecnologia (Araújo, 1998). A crescente incorporação de áreas irrigadas ao processo produtivo tem reduzido os problemas de abastecimento, pois houve maior estabilidade na quantidade ofertada e nos preços.

Minas Gerais ocupa o segundo lugar no ranking nacional de produção de feijão, totalizando 453,8 mil toneladas (CONAB, 2004). É um dos principais pólos de produção da safra de inverno. O estado produz 15% do grão produzido em todo o ano, ocupando uma área plantada de 10,17% do total das áreas plantadas brasileiras, considerando as três safras em conjunto. Como tem ocorrido no restante do país, o feijão irrigado vem aumentando sua importância na safra mineira.

Apesar de a cultura ter essa importância, o consumo *per capita* de feijão no Brasil reduziu 22,4% nos últimos anos. As possíveis causas da redução do consumo desta leguminosa nas últimas décadas foram o êxodo rural, com alterações dos padrões de consumo da população priorizando alimento de preparo rápido, a redução do preço de outras fontes protéicas, a instabilidade de oferta do produto. Uma das principais causas da baixa produtividade da cultura e instabilidade de oferta do produto é a ocorrência de várias doenças, principalmente porque a maioria das cultivares utilizadas no Brasil corresponde àquelas com tipo de grão semelhante ao da cultivar Carioca, que é suscetível à maioria dos patógenos importantes (Ramalho & Abreu, 1998).

2.2 ANTRACNOSE

A antracnose do feijoeiro comum, causada por *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib., é uma das doenças de maior importância econômica desta cultura, afetando as cultivares suscetíveis estabelecidas em localidades com temperatura moderada a fria e alta umidade relativa. Mais precisamente, a doença desenvolve-se melhor entre as temperaturas de 13° C e 27° C, com um ótimo em 17° C e alta umidade (Crispín et al., 1976).

Na sua forma assexual, o agente causal da antracnose, o fungo *C. lindemuthianum*, pertence à classe dos Deuteromicotina e à ordem *Melanconiales*. Na forma sexual, é conhecido como *Glomerella cingulata* f. sp. *phaseoli*, pertencendo à classe dos Ascomicotina e à ordem *Diaportales* (Kimati, 1995).

O patógeno sobrevive de uma estação a outra ou de um cultivo a outro como micélio dormente dentro do tegumento da semente, nas células dos cotilédones, na forma de esporos, ou em restos culturais. A transmissão à longa distância é realizada pela semente contaminada e, a curta distância, pelos respingos da água de chuva, insetos, animais, homem e implementos agrícolas (Sartorato et al., 1996).

Os sintomas de antracnose aparecem em todos os órgãos aéreos da planta e raramente nas raízes. As lesões formadas no hipocótilo atingem consideráveis tamanhos, começando por uma pequena mancha que cresce gradualmente no caule, no sentido longitudinal. Posteriormente estas lesões tornam-se deprimidas e de coloração marrom-escuro. No pecíolo e no caule as lesões são ovaladas e deprimidas, adquirindo coloração escura. Nas folhas, as lesões ocorrem inicialmente na face abaxial, ao longo das nervuras, como pequenas manchas de

cor pardo-avermelhada, as quais, posteriormente, tornam-se de cor café-escura a negra (Chaves, 1980).

Sintomas mais típicos da doença ocorrem nas vagens, sendo as lesões arredondadas, deprimidas, de tamanho variável, apresentando o centro claro delimitado por um anel negro levemente protuberante, o qual se acha geralmente rodeado por uma borda de cor café-avermelhada (Kimati, 1995).

Quanto mais precoce for o aparecimento desta doença no feijoeiro, maior poderá ser a redução na produção. As perdas podem atingir 100% quando são utilizadas sementes contaminadas e as condições de ambiente forem favoráveis ao seu desenvolvimento (Sartorato & Rava, 2002).

Em Minas Gerais, a antracnose causa perdas consideráveis, particularmente nas regiões Sul e Zona da Mata, onde as condições climáticas favorecem o desenvolvimento do fungo (Vieira, 1998).

O controle da antracnose via resistência é amplamente viável porque existem vários genes independentes no feijão e, em cada, um ou mais alelos conferem resistência a várias raças, conforme apresentado na Tabela 01 (Young & Kelly, 1996; Balardin et al., 1997; Young et al., 1998; Melotto & Kelly, 2000; Alzate-Marin et al., 2001b; Gonçalves-Vidigal et al., 2001; Alzate-Marin et al., 2002; Tomazella et al., 2002; Vidigal et al., 2003; Vidigal Filho et al., 2004).

A resistência à antracnose no feijoeiro comum é condicionada por nove genes principais independentes. De acordo com Kelly & Vallejo (2004) os genes *Co-3/ Co-9* são na realidade alélicos. Geneticamente esta nomenclatura está errada, pois o usual seria utilizar o mesmo símbolo e diferencia-los por sobrescritos, como, por exemplo, o *Co-4/ Co-4²*. Os alelos *Co-2* ao *Co-10* são de origem Mesoamericana e apenas o loco *Co-1* é de origem Andina. Desse conjunto de alelos apenas o *co-8* é recessivo. Constata-se também a existência de séries alélicas para os locos *Co-1*, *Co-3* e *Co-4*

TABELA 1. Alelos de resistência à antracnose e respectivas raças por eles controlados.

Alelo de Resistência	Número de raças ¹	Resistente às raças ¹
<i>Co-1</i>	32	1,8,9,17,64,65,69,72,73,77,81,85,89,93,96,97,101,105,109,117,121,125,135,193,217,249,320,321,337,453,585
<i>Co-1²</i>	3	5,7,73
<i>Co-1³</i>	1	73
<i>Co-1⁴</i>	-	-
<i>Co-1⁵</i>	-	-
<i>Co-2</i>	28	1,7,23,17,55,64,65,67,69,71,81,83,85,86,87,96,97,101,102,117,119,193,320,321,337,339,343,453
<i>Co-3</i>	8	1,7,8,17,23,31,55,137
<i>Co-3²</i>	-	-
<i>Co-4</i>	43	1,7,8,17,23,31,55,64,65,67,69,71,72,73,75,77,79,81,83,85,86,87,89,93,95,96,97,101,102,105,109,111,117,119,121,123,125,127,137,193,217,249,585
<i>Co-4²</i>	50	1,5,7,8,17,23,31,55,64,65,67,69,71,72,73,75,77,79,81,83,85,86,87,89,93,95,96,97,101,102,105,109,111,117,119,121,123,125,127,137,193,217,249,320,321,337,339,343,453,585
<i>Co-4³</i>	15	1,7,17,31,55,64,65,69,73,81,87,89,95,193,23,64
<i>Co-5</i>	43	1,7,8,17,23,31,55,64,65,67,69,71,72,73,75,77,79,81,83,85,86,87,89,93,95,96,97,101,102,105,109,111,117,119,121,123,125,127,137,193,217,249
<i>Co-6 e co-8 *</i>	49	1,7,8,17,23,31,55,64,65,67,69,71,72,73,75,77,79,81,83,85,86,87,89,93,95,96,97,101,102,105,109,111,117,119,121,123,125,127,137,193,217,249,320,321,337,339,343,453,585
<i>Co-7</i>	9	1,7,17,55,65,73,81,89,193
<i>Co-9</i>	1	7
<i>Co-10</i>	4	73,79,81,89

^{1/}Considerando as 50 raças identificadas no Brasil até 2004. *Efeitos dos alelos *Co-6* e *co-8*, presentes na cultivar AB 136 considerados em conjunto.

Sete alelos de resistência têm sido mapeados para integrar o mapa de ligação do feijão. O loco *Co-1* foi encontrado no grupo de ligação B1; *Co-2* no B11; *Co-3* no B4; *Co-4* no B8; *Co-6* no B7; e *Co-9* e *Co-10* foram localizados no

grupo de ligação B4, mas não se encontram ligados. Em adição, verificou-se a existência de co-localização de genes de resistência de efeito maior e QTL condicionando resistência parcial à antracnose. Marcadores moleculares ligados a alelos *Co* de efeito maior têm sido reportados auxiliando na seleção de linhagens para o controle da doença por meio da piramidação de alelos (Kelly & Vallejo, 2004).

2.3 MANCHA ANGULAR

A mancha angular, causada por *Phaseoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferr., no passado foi considerada uma doença de pouca importância para o feijoeiro comum por ocorrer, principalmente, no final do ciclo da cultura e por acreditar-se que causava poucos danos à produção. Entretanto, nas últimas décadas, passou a ser considerada uma das principais doenças desta leguminosa, sendo a ela atribuídas as perdas de muitas lavouras (Sartorato & Rava, 1994). As razões desta mudança deveram-se à expansão da cultura por praticamente todo o ano, na maioria das regiões, e ao plantio de materiais suscetíveis aliados a ambientes favoráveis, proporcionando condições ideais ao seu desenvolvimento e permanência do inóculo no campo (Sartorato, 1989).

O agente causal desta doença, o fungo *Phaeoisariopsis griseola*, pertence à classe dos Deuteromicotina (forma assexuada), à ordem Moniliales e à família Stilbaceae (Kimati, 1995). Este fungo sobrevive por um período de até dezenove meses em resíduos de cultura na superfície do solo, podendo sobreviver também em sementes infectadas (Crispín et al., 1976). Seus principais agentes de disseminação são as chuvas, os ventos (correntes de ar), as sementes e partículas do solo infestadas.

Os sintomas ocorrem nas folhas, nas vagens, nos caules e nos ramos. Nas folhas primárias as lesões são aproximadamente circulares, com halos

concêntricos de cor castanho-escuro, e nas folhas trifolioladas, as lesões têm formato angular, característica que deu o nome à doença. Quando as lesões atingem grande número, coalescem, causando o amarelecimento das folhas e o desfolhamento prematuro. Nos caules e ramos, as lesões são alongadas, de coloração castanho-escuro. Nas vagens, as lesões são inicialmente superficiais, quase circulares, de coloração castanho-avermelhada e com bordas escuras (Kimati, 1995).

Em estudos desenvolvidos por Sartorato & Rava (1992) foi determinado que, no geral, para cada 10% de aumento na severidade da doença, há uma redução da ordem de 7,9% no rendimento de grãos.

No Sul do Estado de Minas Gerais depara-se com condições edafoclimáticas propícias à disseminação e reprodução dos patógenos causadores da mancha angular e da antracnose. Com isso, estes patógenos podem causar grandes perdas e inviabilizar o uso de cultivares suscetíveis. Diante desses aspectos, a obtenção de cultivares resistentes constitui a alternativa mais eficiente para o controle da doença. Isso porque praticamente não onera o custo de produção e, também não é prejudicial à natureza e a saúde do agricultor.

2.4 PIRAMIDAÇÃO DE ALELOS DE RESISTÊNCIA COM O USO DE MARCADORES MOLECULARES

Segundo Flor (1971), uma das maneiras mais eficientes para controle de doenças em plantas é o desenvolvimento de cultivares com mais alelos de resistência vertical de genes diferentes. Conseqüentemente, uma alternativa para aumentar a vida útil das cultivares seria construir pirâmide de alelos verticais para cada patógeno (Mendonça, 1996; Alzate-Marin et al., 2001b; Sartorato, 2002) ou utilizar a resistência horizontal.

Para a construção de uma pirâmide de alelos existem duas dificuldades

principais. A primeira é conseguir vários alelos verticais de resistência eficientes para o controle do patógeno nas principais regiões produtoras. Para determinar quais alelos verticais são eficientes para o controle da doença em uma dada região é necessário fazer um levantamento da população do patógeno e identificar quais raças são predominantes. Tal levantamento foi realizado nas principais regiões brasileiras produtoras de feijão (Alzate-Marin & Sartorato, 2004), desta forma é possíveis identificar alelos de resistência, à antracnose, mais promissores para uso no melhoramento do feijão no Brasil e suas respectivas fontes (Alzate-Marin et al 2001b; Silvério et al., 2002; Kelly & Miklas, 1998; Vidigal et al., 2003; Ferreira et al., 2003, Sartorato & Pereira, 2003).

A segunda dificuldade é identificar a presença de dois ou mais alelos de resistência em um único genótipo. Especificamente para o controle do *C. lindemuthianum*, em que os principais alelos conferem resistência a um grande número de raças, torna-se necessário um conjunto de raças diferenciadoras dos alelos em apreço para que eles possam ser identificados em um único genótipo. Como todas as raças não são disponíveis para serem usadas como diferenciadoras de genes e algumas nem foram ainda identificadas, é impossível ter certeza, de forma rápida, que dois ou mais alelos ocorrem em um único genótipo utilizando os procedimentos normais de genética por meio da inoculação (Young et al., 1998). A solução para esse problema é a utilização de marcadores moleculares para a realização de seleção indireta.

Os marcadores moleculares surgiram como uma grande contribuição do desenvolvimento das técnicas moleculares que permitem a análise do genoma. Por meio deles é possível analisar cada genótipo de interesse, possibilitando, assim, a obtenção de informações relativas à variabilidade existente, a identificação de genótipos ou genes específicos e a associação entre marcadores moleculares e características fenotípicas.

Os marcadores mais utilizados atualmente são baseados numa das técnicas mais poderosa da biologia molecular, que é a Reação de Polimerização em Cadeia ou PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Esta permite a síntese enzimática de milhões de cópias de um segmento específico de DNA. A reação ocorre em vários ciclos gerando uma amplificação do fragmento de DNA-alvo em progressão geométrica. Cada ciclo envolve três etapas: (i) desnaturação da molécula de DNA; (ii) pareamento dos *primer*¹ com seqüências complementares (anelamento) que flanqueiam o sítio-alvo; e (iii) síntese das novas fitas de DNA a partir das extremidades 3'-OH livres dos *primers* (Guimarães & Moreira, 1999).

O RAPD é uma variação da técnica de PCR que utiliza *primer* de dez nucleotídeos com seqüência arbitrária. Este tipo de marcador possibilita a detecção de apenas um alelo por loco, sendo que a presença de uma banda no gel identifica indivíduos homozigotos dominantes (AA) ou heterozigotos (Aa), não permitindo a distinção entre eles. Por isso, os marcadores RAPD são denominados marcadores dominantes (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Por outro lado, a técnica de RAPD tem sido conhecida pela sensibilidade a muitos fatores (tampão, concentração de MgCl₂, número de ciclos, *Taq*-polimerase, concentração de DNA e termociclador) que limitam a sua reprodutibilidade, principalmente entre diferentes laboratórios (Penner et al., 1993, citado por Sartorato et al., 2000). O uso da técnica denominada *Sequence Characterized Amplified Region* (SCAR) produz marcadores genéticos com grande especificidade, o que soluciona, em parte, este problema.

O melhoramento assistido por marcadores, comparado aos métodos convencionais, oferece maior eficiência e rapidez, principalmente se forem utilizados marcadores genéticos intimamente ligados e flanqueando o alelo de

¹ *primers* são oligonucleotídeos (pequenas moléculas de DNA de fita simples) sintetizadas artificialmente e utilizadas como iniciadores da replicação da seqüência de DNA desejada (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

interesse. Isto reduz o número exaustivo de testes de patogenicidade, e principalmente viabiliza a construção de pirâmides (Kelly & Miklas, 1998). Uma vantagem adicional para o melhoramento do feijão, visando a construção de pirâmide de alelos para resistência à antracnose, é o fato de a maioria dos alelos de resistência mais importante já estarem marcados e já se ter informação disponível dos *primers* que identificam os marcadores. Além disso, vários marcadores RAPD já foram convertidos para PCR (Polymerase Chain Reaction) ou SCAR, o que os tornam mais precisos (Tabela 02). Assim, tais *primers* podem ser utilizados para fazer a seleção indireta.

No caso da mancha angular, além de alguns alelos verticais já marcados (Sartorato et al., 1999a; Sartorato et al., 1999b; Nietzsche et al., 2000; Caixeta, et al., 2003), marcadores QTL (*Quantitative Trait Loci*) têm recebido uma especial atenção (Mello et al., 2002). O grande número de raças do agente causal desta doença propicia uma instabilidade da resistência vertical, aumentando a importância da resistência parcial e, conseqüentemente, a importância do mapeamento de QTL.

Esforços vêm sendo dedicados no isolamento da região genômica do alelo *Co-4²*. Assim o fragmento de DNA parte do próprio alelo poderá se utilizado como próprio marcador, eliminando a chance de recombinação e com isso, garantindo maior sucesso com a seleção indireta (Melotto et al., 2003).

TABELA 2. Alelos de resistência à antracnose com as respectivas fontes de resistência, origem da fonte e alguns marcadores moleculares ligados.

Alelo de Resistência	FONTE	ORIGEM ¹	PRIMER ²	REFERÊNCIA
<i>Co-1</i>	Dark Red Kidiney	A	OF10 ₅₃₀ (1,9)	Kelly & Miklas, 1998
<i>Co-1</i> ²	Kaboon	M	sem relato	Melloto & Kelly, 2000
<i>Co-1</i> ³	Perry Marrow	M	sem relato	Melloto & Kelly, 2000
<i>Co-1</i> ⁴	Widusa, AND227	M	sem relato	Gonçalves-Vidigal et al., 2003
<i>Co-1</i> ⁵	Widusa, AND227	M	sem relato	Gonçalves-Vidigal et al., 2003
<i>Co-2</i>	Cornell 49242	M	OQ4 ₁₄₄₀ (2,0) B3555 ₁₀₀₀ (5,4) OH20 ₄₅₀	Kelly & Miklas, 1998
<i>Co-3</i>	México 222	M	sem relato	Kelly & Vallejo, 2004
<i>Co-3</i> ²	México 227	M	sem relato	Kelly & Vallejo, 2004

...“continua”...

“TABELA 2, cont.”

Alelo de Resistência	FONTE	ORIGEM ¹	PRIMER ²	REFERÊNCIA
<i>Co-4</i>	TO, P45	M	SAY20* OPY20 ₈₃₀ (0,0) OPC08 ₉₁₀ (9,7) SOC08*	Arruda et al., 2000; Queiroz et al., 2004
<i>Co-4²</i>	G2333, SEL1308	M	SAS13* OAS13 ₉₅₀ (0,0) OAL09 ₇₄₀ (3,1) SH18 ₁₁₅₀ (4,27) SBB14 ₁₀₅₀ (5,89) OPL04(0.0)	Awale & Kelly, 2001; Miklas & Kelly, 2002; Silva & Santos, 2001
<i>Co-6</i>	AB-136 Catrachita	M	OAH1 ₇₈₀ (12,3) OPAZ04 ₅₆₀ (1,7) SAZ04* OPAZ20 ₈₄₅ SAZ20* OAK20 ₈₉₀ (7,3)	Gonçalves-Vidigal et al., 2001; Queiroz et al., 2004
<i>Co-7</i>	G2333	M	sem relato	Kelly & Vallejo, 2004
<i>Co-8</i>	AB 136	M	OAZ20 ₉₅₀ (2,2)	Kelly & Vallejo, 2004
<i>Co-9</i>	Widusa, Bat 93, PI207262	M	OB12 ₃₅₀ (2,9) SAB12* OAH18 ₁₁₀ (4,6)	Kelly & Vallejo, 2004
<i>Co-10</i>	Ouro Negro	M	sem Relato	Alzate-Marin et al., 2001a

^{1/} Origem: Andina (A), Mesoamericana (M); ^{2/} Tamanho em Pares de Base, Frequência de Recombinação em cM; * marcador RAPD convertido em SCAR.

2.5 VARIABILIDADE PATOGÊNICA

Vários fenômenos são responsáveis pela variabilidade em fungos, entre eles mutação, recombinação sexual, heterocariose, parassexualidade, transposons e fatores citoplasmáticos, recentemente o polimorfismo cromossômico (PCr) foi considerado, também, como fator responsável pelo aumento da variabilidade. A transferência de material genético entre várias estruturas do patógeno, inclusive entre conídios, tem sido relatada como mecanismo de ampliação da variabilidade em *Colletotrichum lindemuthianum* (Rocca et al., 2003). Com isso surgem novos alelos nas populações, os quais sofrem seleção e são rearranjados graças à recombinação genética, havendo dispersão destes alelos quando ocorrem migrações de indivíduos de um local a outro.

O fungo *C. lindemuthianum* possui ampla diversidade de virulência, o que pode ser verificado pelo elevado número de raças fisiológicas existentes. O primeiro relato a respeito da variabilidade de fungo foi feito por Barrus (1911) ao observar que cultivares de feijão se comportaram de formas diferentes quando inoculadas com isolados de diferentes procedências, denotando a existência de duas raças distintas do patógeno, as quais foram denominadas de Alfa e Beta. Essas raças constituem um grupo de raças *Co* já identificadas (Rava et al., 1994).

Com a preocupação de padronizar o sistema de nomenclatura a fim de facilitar comparações entre resultados de diferentes regiões, Habgood (1970) propôs um critério que foi aprovado em reunião realizada no Centro Internacional de Agricultura Tropical, em 1988 (CIAT, 1990). De acordo com esta proposta, cada cultivar do conjunto de diferenciadoras recebe um valor igual a 2^{i-1} , em que 2 é o número de classes de reações consideradas (resistente ou suscetível) e i é o número de ordem da cultivar. A reação de resistência ou suscetibilidade apresentada pelas cultivares recebe, respectivamente, os valores 0 ou 1 (Tabela 3). Assim, a identificação de uma raça é obtida pelo somatório dos

valores das cultivares ($\sum 2^{i-1}$) que se mostraram suscetíveis (Rava et al., 1993). Neste método, as diferenciadoras devem ser utilizadas sempre na mesma ordem. Este procedimento definido na referida reunião (CIAT, 1990) foi empregado em vários trabalhos visando identificar raças de *C. lindemuthianum* (Rava et al., 1993; Rava et al., 1994; Pastor-Corrales et al., 1995).

Com este procedimento realizaram-se análises da variabilidade patogênicas de *C. lindemuthianum* no período de 1994 e 2002 e identificou-se um total de 50 raças no Brasil (1, 5, 7, 8, 17, 23, 31, 55, 64, 65, 67, 69, 71, 72, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 86, 87, 89, 93, 95, 96, 97, 101, 102, 105, 109, 111, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 137, 193, 217, 249, 320, 321, 337, 339, 343, 453, 585). Entre estas raças, as mais freqüentes foram 65, 73, 81 e 87 (Alzate-Marin & Sartorato, 2004). Resultado semelhante foi observado por Silva (2004). Este autor identificou dezenove raças distintas entre 88 isolados oriundos do Paraná, Minas Gerais, Goiás, Bahia, Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul, Santa Catarina, São Paulo, Distrito Federal e Costa Rica. Verificou-se que as raças 65, 81 e 73 apresentaram maior estabilidade em relação às demais, fato evidenciado por sua maior freqüência, observada neste levantamento e no levantamento dos últimos dez anos.

TABELA 3. Cultivares, sistema binário e valores das cultivares utilizadas na identificação de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* (CIAT, 1990).

Cultivares em ordem de utilização	Sistema Binário	Valor numérico das cultivares	
		Suscetível	Resistente
1. Michelite	2 ⁰	1	0
2. Dark Red Kidney	2 ¹	2	0
3. Perry Marrow	2 ²	4	0
4. Cornell 49-242	2 ³	8	0
5. Widusa	2 ⁴	16	0
6. Kaboon	2 ⁵	32	0
7. México 222	2 ⁶	64	0
8. PI 207262	2 ⁷	128	0
9. TO	2 ⁸	256	0
10. TU	2 ⁹	512	0
11. AB 136	2 ¹⁰	1024	0
12. G 2333	2 ¹¹	2048	0

2.6 MELHORAMENTO PARA CARACTERES AGRONÔMICOS

Na obtenção de novas cultivares resistentes à antracnose e mancha angular, outros fenótipos de interesse agronômico também necessitam ser considerados e os mais importantes são: *i*) tipo de grãos aceitáveis pelo consumidor, como aquele semelhante ao da cultivar Carioca com grão cor creme clara com estrias marrom-claras, sem halo e não achatado; *ii*) porte ereto, o que

evita perdas na colheita e favorece a colheita mecanizada; e *iii*) adaptação e alta produtividade.

No entanto, as fontes de resistência em geral são cultivares mal adaptadas às condições ambientais da região e com vários fenótipos indesejáveis. Assim, o meio mais viável para transferência de alelos de resistência é o método de retrocruzamento, que tem por objetivo recuperar o genótipo do genitor recorrente, exceto para um ou poucos alelos insatisfatórios que o melhorista procura transferir a partir do genitor doador (Fehr, 1987).

2.6.1 Tipo de grãos

O feijão é uma cultura que apresenta ampla variação de tamanho, forma, cor e brilho de sementes. Como os caracteres relacionados ao grão têm grande importância na aceitação comercial de uma determinada cultivar, os melhoristas têm dado atenção à preferência regional por tipo de grão ao recomendar uma cultivar. Em Minas Gerais, na Zona da Mata, a preferência recai sobre os grãos de cor preta, vermelha e do tipo Carioca. No alto Paranaíba e Triângulo Mineiro, os feijões de cor roxa e amarela ocupam uma parcela do mercado, porém a preferência é o tipo Carioca ocorrendo o mesmo nas demais regiões do estado. O feijão carioca é o mais cultivado em Minas Gerais e no Brasil (Ramalho & Abreu, 1998).

A cultivar Carioca 80, criada pelo Instituto Agronômico de Campinas em 1980, associou boa produtividade e tipo de grão carioca e possui o alelo *Co-2* de resistência à antracnose, porém apresenta halo de cor amarela e também problemas de cozimento. As consumidoras associaram o problema do cozimento com o halo amarelo, o brilho do grão e o fundo escuro; com isso, dificilmente grãos com esses fenótipos terão boa aceitação no mercado.

Outro caráter associado à aceitação da cultivar do tipo Carioca é o tamanho dos grãos. A preferência é para grãos de tamanho médio, isto é, cem grãos pesando de 23 a 25 gramas (Ramalho & Abreu, 1998).

Diante da grande demanda por feijões do tipo carioca, sem os defeitos da cultivar Carioca original, como suscetibilidade à antracnose, mancha angular e arquitetura, os programas de melhoramento têm-se dedicado, na sua maioria, ao melhoramento desse tipo comercial. Como a seleção se baseia em tipo de grão, isso poderia contribuir para o estreitamento da base genética nesse grupo de cultivares. No entanto, com o objetivo principal de introduzir novos alelos de resistência a patógenos e porte mais arbustivo, cruzamentos com outras fontes vêm sendo realizados, contribuindo para manter ampla a variabilidade genética para vários caracteres.

2.6.2 Porte da planta

No que se refere ao porte, um dos seus componentes mais importantes é o hábito de crescimento. As plantas de hábito determinado desenvolvem inflorescência no ápice da haste principal e das hastes laterais, sendo que o florescimento ocorre do ápice para a base (Santos & Gavilanes, 1998). No hábito indeterminado, os meristemas apicais da haste principal e das laterais continuam vegetativos durante o florescimento, que ocorre da base para o ápice. O hábito de crescimento pode apresentar quatro tipos: tipo I, plantas de crescimento determinado e arbustivo; tipo II, plantas com crescimento indeterminado e guia curta; tipo III, plantas de crescimento indeterminado e guia longa; e tipo IV, semelhante ao tipo III, porém com plantas mais volúveis e com internódios mais longos.

Nas últimas décadas tem-se dado ênfase ao melhoramento da arquitetura de plantas para que novas cultivares se aproximem mais do ideótipo (Adams,

1982), isto é, que sejam de tipo II, com porte o mais ereto possível e com maior tolerância ao acamamento. Com isso espera-se, sobretudo, que se facilitem os tratamentos culturais, haja a possibilidade de colheita mecanizada, e se reduzam perdas na colheita, com grãos de melhor qualidade.

Em estudo do controle genético do caráter verificou-se predominância do efeito aditivo, evidenciando a possibilidade de sucesso com a seleção, especialmente se esta for realizada após a avaliação em algumas gerações e/ou ambientes (Teixeira et al., 1999).

Collicchio et al. (1997) realizaram trabalho com objetivo de verificar ocorrência de correlação entre porte da planta e tamanho de grão, já que todos os materiais cultivados disponíveis que apresentam porte ereto possuem sementes pequenas. Estes autores observaram que não há correlação entre a nota do porte e o peso de 100 sementes, o que indica ser possível selecionar plantas eretas com qualquer tamanho de sementes. Os autores verificaram correlações positivas, porém de pequena magnitude, entre arquitetura de planta (nota de porte) e produtividade de grãos. Já a correlação entre o peso de 100 sementes e a produção é positiva, podendo-se inferir que é possível obter cultivares com porte ereto, boa produtividade e qualquer tamanho de sementes.

Outro aspecto a ser considerado é o fato de as cultivares de porte ereto, e principalmente com poucas hastas, serem geralmente menos produtivas do que aquelas de hábito de crescimento III, que acamam com maior frequência, porque possuem maior número de hastas mais largas. Assim, o principal objetivo é a seleção de linhagens do tipo II, mas, com maior número de hastas mais curtas, que corresponde à planta mais vigorosa, com potencial de produtividade equivalente ao das cultivares tipo III.

2.6.3 Produtividade de grãos

Estudos sobre o controle genético da produção e seus componentes primários em feijão, realizados por Santos et al. (1985), demonstraram que a ação gênica aditiva é predominante em relação à dominância. Portanto deve-se considerar o comportamento médio das cultivares e das populações segregantes para a seleção dos materiais a serem utilizadas nos programas de melhoramento. Todavia, a produtividade é um caráter de baixa herdabilidade, ou seja, muito influenciado pelo ambiente, e nessa condição a seleção só será eficiente se associada a avaliações das famílias com repetições.

Muitos melhoristas fazem a identificação de indivíduos e/ou famílias de constituição fenotípica superior visualmente. Como as diferenças a serem detectadas entre indivíduos, especialmente para produtividade de grãos, não são expressivas, esse procedimento é questionável. Silva et al. (1994) observaram que a seleção visual para produtividade de grãos do feijoeiro identificou, em média, apenas 7,8% das famílias com melhor desempenho.

Na condução de um programa de melhoramento visando resistência a doenças em condições de campo, a etapa de avaliação é crucial. Isso porque ela depende de uma distribuição uniforme do patógeno e, sobretudo, dos critérios utilizados pelo avaliador. Considerando que a correlação entre a produtividade de grãos e a nota dos sintomas é negativa e alta (Ramalho et al., 1993), espera-se que famílias mais produtivas sejam também as mais resistentes ao patógeno e prevaleçam na região. Em trabalho realizado por Abreu et al. (2003) constatou-se que, sob alta severidade da doença, a produtividade de grão foi um ótimo critério seletivo para identificação de famílias resistentes. Desse modo, é possível encontrar plantas produtivas e resistentes.

Considerando que praticamente em todos os programas de melhoramento a produtividade é sempre o caráter que recebe maior atenção, os resultados

obtidos por Abreu et al. (2003) evidenciam que mesmo não sendo efetuada a seleção para resistência a *C. lindemuthianum*, indiretamente isso ocorre, sem custo adicional, pela identificação das famílias mais produtivas, desde que o experimento seja conduzido na presença do patógeno. Contudo, se o objetivo do programa for selecionar linhagem totalmente resistente, somente a produtividade de grãos pode não ser um bom indicativo, pois cultivares que apresentam poucos sintomas podem não ter a produtividade afetada. O critério seria interessante apenas para descartar materiais altamente suscetíveis, pois nesse caso a produtividade é drasticamente reduzida.

2.6.4 Considerações gerais

No melhoramento do feijoeiro por meio de hibridações são importantes os procedimentos a serem adotados na seleção de populações segregantes. Entre os caracteres considerados, a cor de grão é o que possui maior herdabilidade, seguido do peso da semente, do porte da planta e da produtividade de grãos. Assim, durante a condução das populações segregantes, logo nas primeiras gerações, deve ser obtido um grande número de sementes para a seleção de tipo de grão mais aceitável.

Santos et al. (2001) verificaram que a seleção precoce para tipo de grão, realizada na geração F_2 , não resultou na redução da média, nem da variância genética da produtividade de grãos em gerações mais avançadas e, conseqüentemente, não afetou o sucesso com o processo seletivo para esse caráter. Com isso, uma rigorosa seleção para tipo de grão nas gerações iniciais possibilita aos melhoristas concentrarem os seus esforços na seleção de outros caracteres apenas nas famílias com grãos comercialmente aceitáveis, aumentando a chance de sucesso.

Portanto, após a seleção para grão tipo Carioca realiza-se a seleção para porte, que pode ser iniciada visualmente no momento de retirada das famílias das populações segregantes, e refinada nas primeiras avaliações experimentais. Entretanto, nas avaliações das famílias em experimentos com repetições, a seleção deve se basear principalmente na produtividade de grãos.

Em relação à seleção para resistência a patógenos, se ela for monogênica ou vertical, como no caso da antracnose, também deve ser praticada na primeira geração segregante, juntamente com o tipo de grão. Assim, maiores esforços podem ser dedicados nas famílias mais promissoras. Porém, se a resistência for horizontal, que é importante para mancha angular, maior atenção deve ser dada durante a fase de avaliação de famílias ou linhagens. Evidentemente, nas gerações mais avançadas novas seleções para caracteres de alta herdabilidade também devem ser realizadas, devido à segregação dos heterozigotos mantidos nas seleções das gerações iniciais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL EXPERIMENTAL

O material experimental constituiu-se de 153 linhagens oriundas de retrocruzamentos entre o genitor doador G2333 e os genitores recorrentes ESAL 696 e CI 140 (Hagiwara, 2001). Entre elas, 19 linhagens são provenientes de uma família segregante $F_{4:7}RC_1$ [(G2333 X ESAL 696) X ESAL 696] e 134 linhagens são provenientes de quatro famílias segregantes $F_{1:4}RC_2$ {[[(G2333 X ESAL 696) X ESAL 696] X CI 140}.

O G2333 é uma linhagem mexicana com vários fenótipos desfavoráveis, tais como hábito de crescimento IV, grãos vermelhos e sensibilidade ao fotoperíodo. No entanto, essa linhagem é portadora de uma pirâmide de alelos que confere resistência a todas as raças de *C. lindemuthianum* que ocorrem no Brasil (*Co-4*², *Co-5* e *Co-7*). A linhagem ESAL 696 possui alguns fenótipos favoráveis, como hábito de crescimento II, grãos semelhantes ao da cultivar Carioca, resistência a *P. griseola* e é portadora do alelo *Co-5* de resistência ao *C. lindemuthianum*. A linhagem CI140 é proveniente de um programa de seleção recorrente em andamento na UFLA e se destaca pelo excelente tipo de grão, semelhante ao da cultivar Carioca, porém, possui hábito de crescimento III e suscetível aos dois patógenos.

3.2 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

3.2.1 Locais

Os experimentos de campo foram conduzidos na área experimental do Departamento de Biologia (DBI) da UFLA, em Lavras, localizado na região sul de Minas Gerais a 910 m de altitude, 21° 14' S de latitude e 45° 00' W de

longitude; na fazenda experimental da EPAMIG (Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais), em Lambari, também na região sul do estado a 845 m de altitude, 21° 31' S de latitude e 45° 22' W de longitude e no município de Ijaci, localizado a oito quilômetros de Lavras e com 832m de altitude.

A extração e análise molecular de DNA foram realizadas no laboratório de genética molecular (DBI - UFLA). O preparo de inóculo de *Colletotrichum lindemuthianum* foi realizado no laboratório de resistência a doenças (DBI-UFLA).

Todos os experimentos receberam adubação na semeadura com 300 kg/ha da fórmula 8-28-16, mais 150 kg/ha de sulfato de amônio em cobertura. Os experimentos foram irrigados por aspersão quando necessário. Em todos os experimentos o espaçamento entre linhas foi de 50 cm e a densidade de semeadura foi de quinze sementes por metro linear. Os demais tratos culturais foram os normalmente utilizados para a cultura.

3.2.2 Safra de “inverno” de 2003

Avaliaram-se, em Lavras, 153 linhagens, sendo 134 originadas de quatro famílias $F_{1;4}RC_2$ {[G2333 X ESAL 696] X ESAL 696] X CI 140}, dezoito de uma família $F_{4;7}RC_1$ [(G2333 X ESAL 696) X ESAL 696] e dezesseis linhagens testemunhas, sendo quinze do programa de melhoramento de feijão da UFLA (Pereira, 2003), além da cultivar Talismã. O experimento foi conduzido em delineamento látice quadrado simples 13 X 13, com duas repetições e parcela de uma linha de um metro.

3.2.3 Safra da “seca” de 2004

Em Ijaci e Lambari foram avaliadas 120 linhagens, sendo 100 previamente selecionadas na safra de inverno de 2003, considerando principalmente, tipo de grão; 20 linhagens superiores provenientes da família F_{1.4}RC₂ {[G2333 X ESAL 696) X ESAL 696] X CI 140}, avaliadas na seca de 2003 por Ferreira & Santos (2003), e também a cultivar Talismã como testemunha. Utilizou-se o delineamento de látice 11 X 11 com três repetições e parcela de duas linhas de dois metros.

3.2.4 Safra de “inverno” de 2004

Avaliaram-se, em Lavras e Lambari, 48 linhagens, as quais foram mais promissoras na safra da seca do mesmo ano, e também a cultivar Talismã. O delineamento utilizado foi o látice 7 X 7 com três repetições e parcela de duas linhas de dois metros.

3.2.5 Caracteres avaliados

3.2.5.1 Reação das linhagens a *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferraris

A avaliação da severidade da mancha angular foi realizada utilizando-se diagrama de notas de um a nove, por meio de dois avaliadores. O grau um representa ausência de sintomas visíveis da doença e o grau nove representa mais de 80% de severidade da área foliar infectadas (Sartorato & Thung, 2002).

Essa avaliação, geralmente é realizada nos experimentos da seca, pois neste período o patógeno encontra condições climáticas favoráveis para o seu desenvolvimento.

3.2.5.2 Tipo de grão

Para a avaliação de aspecto de grãos adotou-se uma escala semelhante à utilizada por Ramalho et al. (1998) e Santos (2001), com notas variando de um a cinco, em que: 1- típico grão carioca, cor creme com estrias marrom-claras, fundo claro, sem halo, grão não achatados; 2- grãos tipo carioca com deficiência em uma das características mencionadas no padrão; 3- grão tipo carioca com deficiência em duas das características mencionadas no padrão; 4- grão tipo carioca com deficiência em três das características mencionadas no padrão; 5- grãos creme com estrias marrom-escuras, fundo escuro, com halo, grãos achatados.

Nas safras do ano de 2004 avaliou-se também o peso de cem sementes, já que a preferência para o consumo é para grãos de tamanho médio, isto é, cem grãos pesando de 23 a 25 gramas (Ramalho & Abreu, 1998).

3.2.5.3 Porte da planta

A avaliação de porte foi realizada por meio de uma escala descritiva de notas semelhante à proposta por Collicchio (1995), com notas variando de um a cinco, em que: 1- hábito I ou II, planta ereta, com uma haste e com inserção alta das primeiras vagens; 1,5- hábito I ou II, planta ereta, com guia curta; 2- hábito I ou II, planta ereta, com algumas ramificações; 2,5- hábito I ou II, planta ereta, com algumas guias longas; 3- hábito II ou III, planta ereta, com muitas ramificações e tendência a prostrado; 3,5- hábito II ou III, planta semi-ereta, pouco prostrada; 4- hábito III, planta semi-ereta, medianamente prostrada; 4,5- hábito III, planta prostrada; 5- hábito III, planta com entrenós longos, muito prostrada.

Utilizaram-se médias de dois avaliadores na análise de variância de cada caráter.

3.2.5.4 Produtividade de grãos

A produção de grãos foi mensurada em g/parcela e, posteriormente, transformada para kg/ha a fim de padronizar os dados, devido aos diferentes tamanhos de parcelas utilizados.

3.3 ANÁLISE DOS DADOS DE CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS

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

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

em que:

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

m : efeito fixo da média geral do ensaio;

r_j : efeito aleatório da repetição j , sendo ($j = 1, 2, \dots, J$) assumindo $r_j \sim N(0, \sigma_r^2)$;

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

$b_{k(j)}$: efeito aleatório do bloco k , na repetição j , sendo ($k = 1, 2, \dots, K$) assumindo como $b_i \sim N(0, \sigma_b^2)$;

e_{ijk} : efeito aleatório do erro experimental, da parcela que recebeu o tratamento i , no bloco k , dentro da repetição j , assumindo $e_{ijk} \sim N(0, \sigma_e^2)$;

Posteriormente foi realizada a análise conjunta por ambientes, considerando as médias ajustadas dos 49 tratamentos comuns. Vale salientar que

inicialmente foi aplicado o teste de Bartlett, certificando-se, assim, da homogeneidade de variância do erro e indicando a possibilidade da realização das análises conjuntas (Ramalho et al., 2000). Todos os efeitos foram considerados como fixos, exceto o efeito de blocos e o erro médio.

$$\bar{Y}_{il} = m + t_i + a_l + (ta)_{il} + \bar{e}_{il}$$

em que:

\bar{Y}_{il} : média observada referente ao tratamento i, no ambiente l;

m: média geral do experimento;

t_i : efeito fixo do tratamento i ($i = 1, 2, \dots, 49$);

a_l : efeito fixo do ambiente l ($l = 1, 2, \dots, L$);

$(ta)_{il}$: efeito fixo da interação entre o tratamento i e o ambiente l;

\bar{e}_{il} : erro experimental médio associado à observação \bar{Y}_{il} , assumindo $e_{il} \sim N(0, \sigma_e^2)$;

Considerando o efeito de tratamento como fixo estimou-se o coeficiente de determinação genotípico (h^2), que indica quanto da variação fenotípica observada entre as médias dos tratamentos é devida a causas genéticas. Esta estimativa será referida como herdabilidade (h^2), restrita ao conjunto de linhagens utilizado nesse trabalho. Estimaram-se, também, intervalos de confiança segundo Knapp et al. (1985) para cada caráter, considerando as análises individuais e conjuntas.

As estimativas de herdabilidade foram obtidas por meio das expressões:

$$h^2 = (QM_{\text{linhagens}} - QM_{\text{erro efetivo}}) / QM_{\text{linhagens}}, \text{ para as análises individuais;}$$

$$h^2 = (QM_{\text{linhagens}} - QM_{\text{erro médio}}) / QM_{\text{linhagens}}, \text{ para as análises conjuntas.}$$

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

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

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

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

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

em que:

ds: diferencial de seleção que é a diferença entre a média das linhagens selecionadas e a média geral do experimento;

A decomposição da interação linhagens por ambientes foi realizada utilizando o seguinte estimador:

$$\sigma^2_{GA} = 0,5 (\sigma_{G1} - \sigma_{G2})^2 + \sigma_{G1} \sigma_{G2} (1 - r_{12});$$

em que:

$\sigma_{G1} \sigma_{G2}$: representam o desvio padrão dos genótipos para o caráter considerado, nos ambientes 1 e 2, respectivamente.

r_{12} : coeficiente de correlação entre o desempenho médio das cultivares nas duas condições.

Foram estimadas as correlações fenotípicas para os caracteres avaliados utilizando o programa computacional MSTATC.

3.4 IDENTIFICAÇÃO DE LINHAGENS COM DIFERENTES ALELOS DE RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE

3.4.1 Reação das linhagens a *Colletotrichum lindemuthianum*.

A reação à antracnose foi avaliada considerando principalmente a reação do patógeno, a partir das inoculações nos estágios de *seedlings*.

A produção de inóculo foi realizada colocando-se o fungo, proveniente de cultura monospórica, para multiplicar em vagens esterilizadas, parcialmente imersas em meio de ágar - água (Pio-Ribeiro & Chaves, 1975), as quais foram incubadas a 21-22°C, em ausência de luz, durante oito a dez dias. Posteriormente, a partir destes tubos preparou-se uma suspensão de conídios adicionando-se água destilada. Em seguida, esta foi coada através de tecido de filó e armazenada em um becker esterilizado. A concentração dos conídios presentes na suspensão foi determinada em um hemacitômetro, e diluída para a concentração de $1,2 \times 10^6$ conídios ml^{-1} .

As linhagens foram semeadas em bandejas de isopor com 128 células, contendo substrato plantimax. Utilizaram-se doze sementes de cada linhagem, procedendo a inoculação dez dias após a semeadura, quando as plântulas apresentaram as folhas primárias abertas, pulverizando a suspensão de esporos em ambas as faces das folhas. Posteriormente, as plântulas foram mantidas sob condições de 100% de umidade por 24 a 48 horas, em câmaras com doze horas de luz alternadas por doze horas de escuro. Em seguida as bandejas foram transferidas para casa de vegetação, onde permaneceram até o momento da avaliação dos sintomas, a qual foi realizada oito a dez dias após a inoculação, considerando a incidência de doença.

As linhagens foram inoculadas com as raças 2047, 1545 e 81 de *C. lindemuthianum* para identificar sua constituição genética quanto aos alelos de

resistência. Também foi utilizado o marcador molecular SCAR para auxiliar na identificação das linhagens com os alelos de resistência provenientes da cultivar G2333, *Co-7*, *Co-5* e *Co-4²* (Figura 1).

A inoculação com a raça 2047 foi realizada nas plântulas provenientes dos grãos colhidos do experimento do inverno de 2003. A raça 1545 foi inoculada nas plântulas suscetíveis à raça 2047, oriundas dos grãos colhidos na safra da seca de 2004, e a raça 81 foi inoculada nas plântulas do experimento do inverno de 2004.

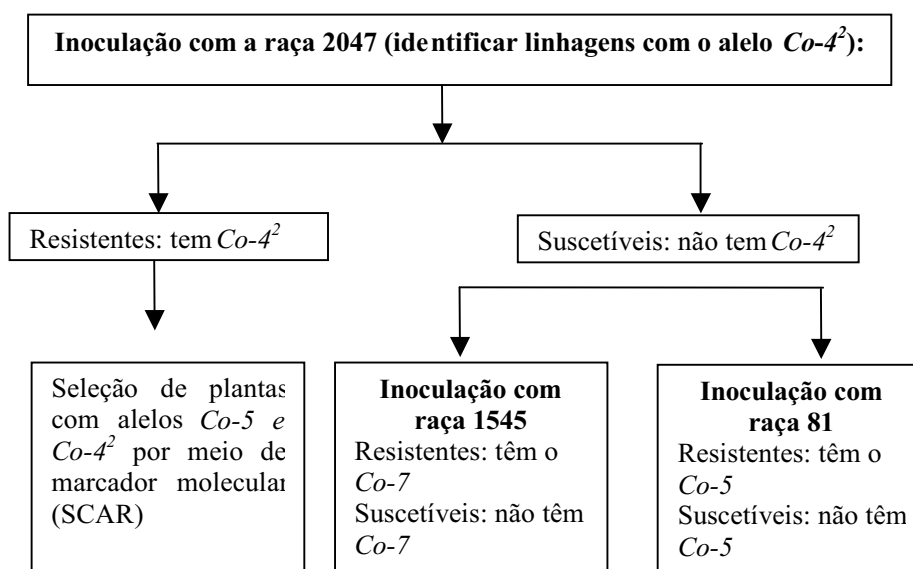


Figura 1 Esquema de inoculações e uso de marcador molecular para identificação da constituição genética das linhagens quanto aos alelos de resistência à antracnose.

3.4.2 Uso de marcadores moleculares para detecção de pirâmide de alelos de resistência

3.4.2.1 Extração de DNA

De cada dez plantas por linhagem coletaram-se aproximadamente 2g de folhas jovens para a extração de DNA, utilizando-se um procedimento modificado de Rogers & Bendich (1988).

As folhas foram maceradas em almofariz com sílica esterilizada, juntamente com 10 ml de tampão de extração pré-aquecido a 65° C (0,2g de brometo de cetiltrimetil-amônio; 1ml de Tris 1M; 0,4ml de EDTA 0,5M; 0,82g de NaCl; 0,1g de PVP (polivinilpirrolidona) 40.000; 8,6ml de água pura) e 20µl de 2-βmercaptoetanol.

Em seguida o macerado foi mantido em banho-maria a 65° C por 30-40 minutos. Posteriormente foram adicionados 10 ml da solução clorofórmio-álcool isoamil (24:1), agitando lentamente, e em seguida o material foi centrifugado a 5.000rpm por 10 minutos, para separar a fase orgânica da aquosa. O sobrenadante foi coletado e precipitado pela adição de 30 ml da solução álcool 95% : acetato de amônio 7,5M (6:1) e mantido no freezer a -20° C por aproximadamente 12 horas.

Após a precipitação, os ácidos nucleicos foram transferidos para tubos de microcentrífuga tipo *Eppendorf*, centrifugados e secos. Em seguida, os ácidos nucleicos foram reidratados em tampão TE (200-300µl da solução Tris 1mM e EDTA 0,1mM, pH 8,0). Foi realizada a segunda extração com clorofórmio: álcool isoamil (24:1). O sobrenadante foi coletado e adicionado o triplo do seu volume com a solução álcool 95% : acetato de sódio 3M (20:1) e mantido no freezer por aproximadamente uma hora. Os ácidos nucleicos precipitados foram reidratados em tampão TE e em seguida procedeu-se a quantificação do DNA

usando o fluorímetro Hoeffler Scientifica TKO 100 e, posteriormente, diluiu-se para a concentração de 10ng/μl, utilizada na reação de PCR.

3.4.2.2 Análise de PCR

As reações de amplificação de PCR foram conduzidas em termociclador Mastercycler Gradient Eppendorf 5331 versão 2.3.

Para as análises com marcador SCAR utilizou-se o *primer* SAB03, que amplifica um fragmento de DNA de aproximadamente 400pb e apresenta uma frequência de recombinação de 12,98% com o alelo *Co-5* (Vallejo & Kelly, 2001). As reações de amplificação foram desenvolvidas em um volume de 16,47 μl. Preparou-se a reação com os seguintes componentes: 3.3 μl de DNA na concentração de 10 ng/μl; dNTP 200 μM; tampão de reação com os seguintes constituintes: 50 mM de Tris-HCl; 20 mM de KCl; 4,1 μg de BSA; 164 μg de Ficol; tartazine a 20 mM; 2 mM de MgCl₂; *primer* na concentração de 0,4 μM, para cada um dos *primers*; uma unidade de *Taq* polimerase. Cada reação foi colocada em tubo de 200 μl com parede fina e imediatamente transferida para o termociclador.

O termociclador foi programado para 32 ciclos, sendo cada um constituído pela desnaturação a 94° C por vinte segundos, anelamento dos *primers* a 62° C também por vinte segundo e alongamento a 72° C por quarenta segundos. Após os 32 ciclos promoveu-se o alongamento do DNA a 72° C por mais quatro minutos.

Após a amplificação os produtos da reação foram separados por eletroforese, em gel de ágar na concentração 3% em tampão TBE (0,045M de TRIS-Borato e 0,001M de EDTA), a 100 volts por três horas. Os fragmentos de DNA foram corados em brometo de etídeo a uma concentração de 0,5 μg/ml, visualizados em transiluminador de luz ultravioleta e as imagens foram

capturadas na câmara digital KODAK EDAS 290 e arquivadas através do software KODAK 1D Image©.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PRODUTIVIDADE DE GRÃOS

As linhagens avaliadas diferiram quanto à produtividade de grãos em todos os experimentos, exceto para a safra de inverno de 2003, em Lavras (Tabela 4). Infere-se que as linhagens selecionadas ainda são geneticamente divergentes, havendo chance de seleção das superiores.

A precisão experimental avaliada por meio do coeficiente de variação (CV), apresentou valores de 14,40% a 31,68%. Estas estimativas foram superiores à relatada por Marques Júnior (1997), que encontrou CV médio de 20,7% para avaliação de linhas puras. Os maiores valores de CV foram obtidos nos experimentos conduzidos na safra de inverno de 2003, em Lavras, e na seca de 2004, em Lambari. O menor valor de CV foi observado no experimento de Ijaci, onde foi realizada irrigação por pivô central. Nos demais experimentos a irrigação deve ter sido mais desuniforme e contribuído para o maior erro experimental. Além disso, na safra de inverno de 2003 verificou-se a maior desuniformidade na irrigação por aspersão devido à ação do vento ocasionando deriva e, provavelmente, à maior heterogeneidade na produção das parcelas de uma mesma linhagem. Verificou-se, também, incidência de ferrugem. Todos esses fatores, aliado ao fato de a parcela ser constituída por uma linha de um metro, contribuíram para um elevado coeficiente de variação.

Bertolucci (1990) mostrou ser viável o uso de parcelas pequenas na avaliação de famílias, contudo, a estimativa do coeficiente de variação sempre foi maior nas parcelas de menor dimensão, especialmente aquelas com uma única linha. Pode-se observar, ainda, que a maior média de produção ocorreu na safra de inverno de 2003. O fato de se terem utilizado parcelas de apenas um metro, separado nas extremidades por corredores de 0,50 m, provavelmente

reduziu a competição entre as plantas quando comparadas com as condições convencionais de plantio, o que deve ter levado a uma superestimativa da produtividade.

É notória a existência de correlação negativa entre valores de coeficiente de variação e de herdabilidade, sendo esta última muito influenciada pela precisão experimental, haja vista que no denominador da expressão está contida a variância do erro. De acordo com Marques Júnior (1997), a maior precisão experimental está associada a maiores valores de herdabilidade, permitindo detectar com maior segurança as diferenças genéticas entre as linhagens. É, portanto, fundamental ter boa precisão experimental para haver sucesso com a seleção.

As estimativas de herdabilidade para as safras da seca/04, em Ijaci, e inverno/04, em Lavras, podem ser consideradas altas para o caráter em questão, já que ele é muito influenciado pelo ambiente, além de apresentarem limites do intervalo de confiança sempre positivos (Ramalho et al., 1993; Pereira et al., 2004). Para a safra de inverno de 2003, não foi estimada a herdabilidade, já que não houve diferença significativa entre os tratamentos.

A aparente discordância entre os resultados da análise de variância e as estimativas de herdabilidade para as safras da seca e inverno de 2004, em Lambari, é devido ao tipo de tabela de F usada em cada teste.

Observando os valores de herdabilidade na safra da seca/04 em Ijaci e em Lambari, evidencia-se que a herdabilidade é mutável, sendo uma propriedade não só do caráter, mas também da população e das condições ambientais a que foram submetidos os indivíduos da população. Na realidade, a herdabilidade pode ser aumentada não somente pela introdução de mais variação genética na população, mas também uniformizando o ambiente no qual as plantas irão se desenvolver (Ramalho et al., 1993). Nestes dois experimentos, os materiais experimentais avaliados foram os mesmos, diferindo apenas a precisão

ambiental, já que o coeficiente de variação dobrou de um ambiente para o outro. Dessa forma, em Ijaci o valor de herdabilidade reflete maior confiabilidade do valor fenotípico como indicador do valor reprodutivo.

TABELA 4. Resumo das análises individuais de variância para produção de grãos nas safras da seca de 2004 e inverno de 2003 e 2004, em Lavras, Lambari e Ijaci, e estimativas de herdabilidades (h^2) com os respectivos limites inferior (h^2_{LI}) e superior (h^2_{LS}).

ESTIMATIVAS	INV/03	SECA/04		INVERNO/04	
	Lavras	Ijaci	Lambari	Lavras	Lambari
Nº linhagens	169	121	121	49	49
QM linhagens	ns	**	*	**	*
Média (kg/ha)	3754,56	1770,21	1286,91	3722,97	2082,31
Média/testemunha	4856,69	2480,11	624,882	3129,35	2128,16
CV(%)	31,68	14,40	30,77	23,09	22,22
h^2	-	82,06	26,35	58,06	36,66
h^2_{LI}	-	75,16	-1,97	28,79	-7,51
h^2_{LS}	-	86,86	46,06	74,51	61,48

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

Em todos os experimentos foi utilizada como testemunha a cultivar Talismã, que é altamente produtiva e com excelente tipo de grão. Porém, no experimento da seca/04, em Lambari, a testemunha apresentou desempenho 48,56% inferior à média geral. Comparando o desempenho das linhagens avaliadas neste experimento com a testemunha, observa-se que apenas uma linhagem foi inferior a cultivar Talismã, embora, provavelmente, algum fator experimental deva ter contribuído para o baixo rendimento, principalmente da testemunha. Em contrapartida, no experimento conduzido em Ijaci, apenas três linhagens foram superiores a cultivar Talismã. Vale mencionar que neste

experimento houve grande incidência de mofo branco e, mesmo assim, a produtividade pode ser considerada elevada. Na última safra, 71,43% das linhagens avaliadas em Lavras apresentaram produtividade de grãos maior que a cultivar Talismã, infere-se a possibilidade de ganho com a seleção de linhagens com maior produtividade, nessa condição experimental mais favorável.

Visando conhecer melhor a produtividade de grãos das 48 linhagens selecionadas, utilizaram-se as médias ajustadas da safra da seca de 2004 em Ijaci e Lambari e da safra de inverno de 2004 em Lavras e Lambari para a realização da análise de variância conjunta (Tabela 5). Verificou-se efeito significativo para linhagens, evidenciando diferenças genéticas entre elas ($P \leq 0,01$). A estimativa da herdabilidade foi superior à relatada por outros autores (Ramalho et al., 1993; Pereira, 2003; Teixeira, 2004). Este valor elevado confirma a divergência genética entre as linhagens, possibilitando sucesso com a seleção. Verifica-se, ainda, que 69,39% das linhagens tiveram desempenho superior à média da testemunha e 44,89% apresentaram médias mais elevadas que a média geral (Tabela 17).

O comportamento das linhagens não foi coincidente nos diferentes ambientes, certamente devido à sensibilidade do caráter às variações ambientais. Na decomposição da interação linhagens por ambientes houve o predomínio da parte complexa, correspondendo a 85,7% da interação, o que tende a impedir seleção de materiais promissores para todos os ambientes, simultaneamente. As correlações médias de Pearson (0,08) e Spearman (0,02) apresentaram valores reduzidos corroborando a não coincidência das médias nos diferentes ambientes.

Considerando o efeito pronunciado da interação, o ideal seria identificar as populações mais promissoras para cada ambiente ou região específica (Cruz & Regazzi, 2001), o que é praticamente inviável para uma cultura como a do feijão. Por outro lado, com raras exceções, as populações segregantes são avançadas e submetidas à seleção em um único local. Nesse caso, conforme constatado por

Pirola (2000), pode-se estar selecionando linhagens com adaptação a um ambiente específico, o que reduz a região de abrangência para recomendação da cultivar. Assim, a melhor estratégia seria avaliar as populações segregantes em ambientes representativos de uma região de abrangência e explorar aquelas de ampla adaptação e que reúnam o maior número de fenótipos favoráveis.

TABELA 5 .Resumo da análise conjunta de variância para produção de grãos, considerando a safra da seca de 2004 em Ijaci e Lambari e a safra de inverno/2004 em Lavras e Lambari, estimativas de herdabilidade e respectivos limites inferior (h^2_{LI}) e superior (h^2_{LS}).

Fonte de Variação	GL	QM
Ambientes (A)	3	159135819,7 **
Linhagens (L)	48	929599,623 **
L X A	144	617366,991 **
Erro médio	576	209930,994
Média	-	2238,058
CV (%)	-	20,27
h^2	-	77,41
h^2_{LI}	-	64,30
h^2_{LS}	-	84,60

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

4.2 PORTE DA PLANTA

As linhagens também foram geneticamente heterogêneas ($P \leq 0,01$) em relação ao porte da planta, exceto para o experimento de inverno/03, quando houve problemas experimentais principalmente quanto à distribuição de água de

irrigação (Tabela 6). Valores de CV foram superiores aos relatados por Marques Júnior (1997), mas, não interferiu na observação de ampla variação genética entre as linhagens.

A presença da variação entre linhagens, para safras da seca e inverno de 2004, foi confirmada pela estimativa da herdabilidade, que foi semelhante à relatada por Collichio (1995), de 80%, aumentando a segurança na seleção fenotípica. Isto também é indicativo de possibilidade de encontrar linhagens com porte mais arbustivo. As notas médias foram semelhantes às medias da testemunha, o que implica na existência de várias linhagens com porte mais ereto.

Esse caráter é influenciado por alguns fatores ambientais especialmente, como temperatura e umidade. Em presença de umidade e calor o feijoeiro se desenvolve mais vegetativamente (Teixeira, 1997). Diante disso, torna-se necessário fazer várias avaliações em diferentes épocas para se certificar de que as variações observadas são de origem ambiental ou genética. Collichio (1995) recomendou que a avaliação seja realizada em condições ambientais desfavoráveis ao porte, pois assim as cultivares que se mantiverem eretas sob essas condições também o serão nas condições que promovem melhoria no porte.

Considerando a análise conjunta em relação ao porte envolvendo a safra da seca e do inverno do ano de 2004 (Tabela 7), houve diferença significativa para as 49 linhagens avaliadas. A variação entre as linhagens pode ser confirmada pelo elevado valor de herdabilidade, valor este superior aos relatados na literatura (Ramalho et al., 1993; Pereira, 2003).

Na decomposição da interação linhagens por ambientes verifica-se que 81,35% correspondem à parte complexa, que implica em dificuldade para selecionar linhagens com porte favorável comum aos diferentes ambiente. Entretanto, as estimativas médias da correlação de Pearson (0,85**) e Spearman (0,84**) indicam que as classificações das melhores linhagens devem ser

semelhantes nos diferentes ambientes. Segundo Cruz & Castoldi (1991), o procedimento adotado na decomposição da interação tende a superestimar a parte complexa. Essa superestimativa deve ter sido significativa no presente resultado, pois entre as dez melhores linhagens, em cada um dos quatro ambientes, duas são comuns em todos e seis ocorreram em três ambientes.

TABELA 6. Resumo das análises de variância individuais para porte (nota 1-5) nas safras da seca e inverno de 2003 e 2004, em Lavras, Lambari e Ijaci, e estimativas de herdabilidades e respectivos limites inferior (h^2_{LI}) e superior (h^2_{LS}).

ESTIMATIVAS	INV/03	SECA/04		INVERNO/04	
	Lavras	Ijaci	Lambari	Lavras	Lambari
Nº linhagens	169	121	121	49	49
QM linhagens	ns	**	**	**	**
Média	2,55	3,14	2,47	2,62	2,60
Média/testemunha	2,62	3,32	2,88	2,55	2,67
CV(%)	16,78	12,74	11,94	17,63	14,91
h^2	-	61,72	78,51	80,85	72,50
h^2_{LI}	-	46,99	70,25	67,49	53,29
h^2_{LS}	-	71,97	84,27	88,36	83,28

** significativo a 1% de probabilidade e ^{ns} não significativo, pelo teste F.

As linhagens apresentaram uma variação de notas para o porte de 2,01 a 3,36, sendo a média da cultivar testemunha 2,88. Pode-se observar, ainda, que 61,22% das linhagens avaliadas apresentaram porte mais arbustivo que o da testemunha Talismã (Tabela 17), resultado muito favorável para a seleção de linhagens com porte arbustivo.

TABELA 7. Resumo da análise conjunta de variância para a nota de (1-5) de porte, considerando a safra da seca de 2004, em Ijaci e Lambari, e a safra de inverno/2004 em Lavras e Lambari e estimativas de herdabilidade e respectivos limites inferior (h^2_{LI}) e superior (h^2_{LS}).

Fonte de variação	GL	QM
Ambientes (A)	3	15,357 **
Linhagens (L)	48	1,902**
L X A	144	0,219 **
Erro médio	576	0,139
Média	-	2,725
CV (%)	-	13,71
h^2'	-	92,66
h^2_{LI}	-	88,41
h^2_{LS}	-	95,00

**significativo a 1% de probabilidade pelo teste F

4.3 TIPO DE GRÃO

As linhagens foram também geneticamente contrastantes em relação ao tipo de grão ($P \leq 0,01$), indicando a possibilidade de seleção de algumas linhagens superiores (Tabela 8). Neste caso a superioridade do tipo de grãos corresponde àqueles com peso de 100 grãos de 23 a 25g, formato semelhante ao da cultivar Carioca e cores de fundo e da listras as mais claras possíveis (Ramalho & Abreu, 1998).

A precisão experimental medida pelo coeficiente de variação foi coerente com a obtida em avaliações semelhantes (Pereira et al., 2004). A estimativa média de herdabilidade para as análises individuais foi elevada e semelhante à relatada por Pereira et al. (2004). Isso indica que o caráter é pouco influenciado pelo ambiente, ocorrendo, assim, uma situação favorável para a seleção. Partindo desse pressuposto, neste trabalho realizou-se seleção somente com base no tipo de grão comercialmente favorável numa primeira etapa, visando avaliar os outros caracteres naquelas linhagens mais promissoras para o tipo de grãos.

Pode-se observar melhoria na qualidade de grão quando comparado à testemunha ao considerar a porcentagem de linhagens superiores à cultivar Talismã em cada safra. Na safra de inverno/03, 20,71% das linhagens foram superiores; na safra da seca/04, 31,4%; e finalmente, na safra de inverno/04, 44,81% das linhagens apresentaram tipo de grão igual, ou melhor, que o da testemunha. Como o tipo de grão foi um dos caracteres mais considerados durante as sucessivas seleções, e a cultivar Talismã foi sempre utilizada como testemunha, este resultado é similar ao ganho realizado. Infere-se, portanto, que o tipo de grão das linhagens já é comercialmente aceitável. Além disso, acentuadas diferenças genéticas entre elas e o elevado valor de herdabilidade sugerem a possibilidade de selecionar linhagens superiores.

Outro aspecto que deve ser considerado é que mesmo tendo sido realizadas seleções com base nesse caráter em todas as safras, ainda nota-se a existência de ampla variação genética entre as linhagens selecionadas na última etapa. Isso mostra que embora esse caráter seja relativamente pouco afetado pelo ambiente, deve haver muitos genes envolvidos. Somente afetando a cor do grão há evidência de mais de dezoito (Santos & Gavilanes, 1998). Vale mencionar que estas linhagens são originadas de cruzamento com G 2333, que apresenta tipo de grão vermelho, com linhagens com tipo de grão carioca, ampliando, desta forma, a variabilidade para este caráter.

TABELA 8. Resumo das análises de variâncias individuais para tipo de grão (nota 1-5) nas safras de inverno de 2003 e 2004, em Lavras, e na safra da seca Ijaci, e estimativas de herdabilidades e respectivos limites inferior (h^2_{LI}) e superior (h^2_{LS}).

ESTIMATIVAS	INV/03 Lavras	SECA/04 Ijaci	INV/04 Lavras
Nº linhagens	169	121	49
QM linhagens	**	**	**
Média	2,36	2,44	2,57
Média/testemunha	2,02	2,22	2,66
CV(%)	15,50	14,88	12,94
h^2	51,45	77,04	78,89
h^2_{LI}	33,54	68,21	64,16
h^2_{LS}	64,66	83,19	87,17

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

Em acordo com os resultados das análises individuais a análise conjunta apresentada na Tabela 09 mostra diferenças genéticas entre as linhagens ($P \leq 0,01$), sugerindo a possibilidade de ganhos com a seleção. A estimativa de

herdabilidade de 85,76% também confirma a ampla variação genética entre as linhagens provenientes da última seleção. Observam-se notas variando entre 1,75 e 3,35, sendo que 57,14% das linhagens selecionadas apresentaram tipo de grão melhor que o da cultivar Talismã e, portanto, podem ser consideradas ótimas comercialmente (Tabela 17).

Outro resultado favorável foi a ausência de interação linhagens por ambientes, indicando comportamento coincidente das linhagens nos diferentes ambientes, confirmando a pouca influência do ambiente na expressão do caráter. As estimativas elevadas de correlação média de Spearman (0,69**) e de Pearson (0,64**) envolvendo as médias dos diferentes ambientes, são coerentes com a não significância da fonte de variação linhagens por ambientes.

TABELA 9. Resumo da análise conjunta de variância para tipo de grão, considerando a safra da seca de 2004, em Ijaci, a safra de inverno/2004 em Lavras, e estimativas de herdabilidade e respectivos limites inferior (h^2_{LI}) e superior (h^2_{LS}).

Fonte de Variação	GL	QM
Ambientes (A)	1	9,078 **
Linhagens (L)	48	0,885 **
L X A	48	0,162 ^{ns}
Erro médio	288	0,126
Média	-	2,40
CV (%)	-	14,81
h^2	-	85,76
h^2_{LI}	-	77,30
h^2_{LS}	-	90,48

** e ^{ns} significativo a 1% de probabilidade, não significativo, respectivamente, pelo teste F.

4.4 REAÇÃO À MANCHA ANGULAR

A época ideal para avaliar essa doença em campo é na safra da seca, quando o fungo encontra condições favoráveis para seu desenvolvimento com temperatura moderada (24°C) e períodos suficientemente longos de alta umidade relativa, alternados por períodos de baixa umidade e ação dos ventos (Cardona-Alvarez & Walker, 1956 citado por Sartorato & Rava, 1994). Por isso o caráter foi avaliado na safra da seca de 2004 em Lavras e Lambari (Tabela 10).

Nota-se a existência de ampla variação genética entre as linhagens ($P \leq 0,01$) quanto à reação a *Phaseoisariopsis griseola* e boa precisão experimental, sendo os valores de coeficiente de variação semelhantes aos citados por Pereira et al. (2004) e Teixeira (2004).

As estimativas de herdabilidade foram de média (41,61%) a alta (71,63%), sendo ligeiramente inferiores às relatadas por Teixeira (2004), de 57,83% a 79,52%, e maiores que apresentados por Pereira et al. (2004), de 57,73% e 58,91%. Como já foi mencionado, a herdabilidade é mutável e, por isso, encontram-se diversos valores para o mesmo caráter. Porém, estes valores elevados proporcionam maior segurança na seleção fenotípica.

De acordo com análise conjunta (Tabela 11), houve diferença genética entre as linhagens, corroborando os resultados das análises individuais. A média geral foi 5,612, indicando suscetibilidade a essa doença. Os valores das notas variaram de 3,46 a 6,67, sendo possível selecionar linhagens com maior nível de resistência. A cultivar Talismã apresentou-se suscetível à mancha angular com média de 6,33 (Tabela 17). Verifica-se diferença significativa a 5% de probabilidade para a interação linhagens por ambientes e isso pode ser indicativo de diferentes raças nos dois locais

TABELA 10. Resumo das análises de variância individuais para mancha angular (nota 1-9) nas safras da seca 2004, em Ijaci e Lavras, e estimativas de herdabilidades e respectivos limites inferior (h^2_{LI}) e superior (h^2_{LS}).

ESTIMATIVAS	SECA/04	
	Ijaci	Lavras
Nº linhagens	121	121
QM linhagens	**	**
Média	5,64	6,08
Média/testemunha	5,62	7,03
CV(%)	17,46	13,14
h^2	41,61	71,63
h^2_{LI}	19,15	60,72
h^2_{LS}	57,24	79,22

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

TABELA 11. Resumo da análise conjunta de variância do caráter reação à mancha angular, considerando a safra da seca de 2004, em Ijaci e Lambari e estimativas de herdabilidades e respectivos limites inferior (h^2_{LI}) e superior (h^2_{LS}).

Fonte de variação	GL	QM
Ambientes (A)	1	3,123*
Linhagens (L)	48	2,892**
L X A	48	1,230 *
Erro médio	420	0,845
Média	-	5,612
CV (%)	-	15,98
h^2	-	72,16
h^2_{LI}	-	58,78
h^2_{LS}	-	75,58

* e ** significativo a 1% e 5%, respectivamente, pelo teste F.

É importante esclarecer que a linhagem ESAL 696 é portadora de um alelo para resistência ao patógeno (Vieira, 2004), sendo essa uma das razões pelas quais ela foi utilizada como um dos genitores recorrentes. Entretanto, durante as avaliações das populações segregantes e linhagens, nas gerações sucessivas, notou-se que o alelo de resistência provavelmente foi vencido por alguma raça que surgiu na população do patógeno. Isso explica as médias relativamente altas das linhagens (Tabela 17).

4.5 PESO DE CEM SEMENTES

Verifica-se diferença significativa ($P \leq 0,01$) entre as linhagens avaliadas nas safras da seca e inverno de 2004, tanto em Ijaci quanto em Lambari (Tabela

12). Vale ressaltar que também há divergência entre os genitores que deram origem a essas linhagens.

Os reduzidos valores de CV são comparáveis com o resultado de trabalho semelhante com a cultura do feijoeiro (Teixeira, 2004), permitindo detectar diferenças significativas entre os tratamentos. Conseqüentemente, as estimativas de herdabilidade foram elevadas e coerentes com as estimativas relatadas por Teixeira (2004), sugerindo possibilidade de sucesso com a seleção mesmo nas etapas iniciais de um programa de melhoramento.

O peso de cem sementes está diretamente relacionada com o tamanho da semente, característica de grande importância no melhoramento do feijão porque, dentre outros fatores, determina a aceitação de uma cultivar pelo mercado consumidor. Além da relevância na aceitação comercial, o tamanho do grão é um dos componentes primários da produção, é controlado por poucos genes e sofre pouca influência ambiental, podendo ser usado na seleção indireta. Entretanto, relatos da presença de correlação entre produtividade de grãos e peso de cem sementes apresentam ampla variação na literatura. Segundo Ramalho et al. (1993), na maioria dos casos essa correlação assumiu valores positivos e altos.

TABELA 12. Resumo das análises individuais para peso de cem sementes (g) nas safras da seca e inverno de 2004, em Lavras e Ijaci, e estimativas de herdabilidade e respectivos limites inferior (h^2_{LI}) e superior (h^2_{LS}).

ESTIMATIVAS	SECA/04	INV/04
	Ijaci	Lavras
Nº linhagens	121	49
QM linhagens	**	**
Média (g/100sementes)	19,51	26,23
Média/testemunha	20,36	24,52
CV(%)	2,87	3,47
h^2	98,52	97,03
h^2_{LI}	97,95	94,96
h^2_{LS}	98,91	98,19

** significativo a 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

Na análise conjunta, em que se consideraram como ambientes a safra de inverno e da seca de 2004, foi observado o efeito pronunciado para linhagens, safra e interação safra por linhagens (Tabela 13). Uma possível causa da interação é a expressão diferencial dos genes para peso de cem sementes nos ambientes específicos. Outro fator a se considerar é a alta incidência de mancha angular na safra da seca reduzindo o tamanho dos grãos. No entanto, pode-se observar elevado valor para herdabilidade porque a maior parte da variação fenotípica é genética. Na decomposição da interação linhagens por ambientes verificou o predomínio da parte complexa. Em acordo com Vencovsky & Barriga (1992), essa decomposição deve ser vista cautelosamente, especialmente em casos de alta correlação fenotípica. Nesse trabalho verificaram-se estimativas significativas para correlação de Spearman (0,31*) e de Pearson (0,57**). Suas magnitudes intermediárias estão de acordo com a interação significativa.

TABELA 13. Resumo da análise conjunta de variância para peso de cem sementes, considerando a safra da seca de 2004, em Ijaci, a safra de inverno/2004 em Lavras e estimativas de herdabilidade e respectivos limites inferior (h^2_{LI}) e superior (h^2_{LS}).

Fonte de Variação	GL	QM
Ambientes (A)	1	3380,505 **
Linhagens (L)	48	41,694**
L X A	48	11,4**
Erro médio	288	0,4502
Média	-	22,841
CV (%)	-	2,90
h^2	-	98,92
h^2_{LI}	-	98,28
h^2_{LS}	-	99,28

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

O peso de cem sementes variou de 18,68 a 32,13 g/100 sementes, sendo o peso da cultivar Talismã 22,4 g/100 sementes. Verificou-se que 20,41% das linhagens foram agrupadas pelo teste de Scott e Knot no mesmo grupo que o da Cultivar testemunha Talismã (Tabela 17).

4.6 GANHOS COM A SELEÇÃO

Considerando a seleção das cinco melhores linhagens (aproximadamente 10%) com base nas médias ajustadas das análises conjuntas para produção de grão, peso de cem sementes, tipo de grão, porte ou reação à mancha angular, observaram-se ganhos acentuados para a maioria dos caracteres. É necessário esclarecer que, neste caso, as melhores linhagens foram consideradas as de maior produtividade de grão ou aquelas com as menores notas para tipo de grãos, porte

e reação à mancha angular. No caso do peso de cem sementes foram consideradas ideais aquelas que apresentam 0,5 desvio padrão acima da média de todas as linhagens (Tabela 14).

Quando foram considerados todos os caracteres em conjunto, adotou-se como critério para seleção das linhagens que apresentaram valores maiores que a estimativa da média mais um desvio padrão, para os caracteres tipo de grão e produção, média mais 1,2 desvios para porte e mancha angular e média mais 0,5 desvio padrão para o peso de 100 sementes (Tabela 14). As cinco melhores linhagens selecionadas foram D1, D7, E5, E9 e E38 (Tabela 17). Notam-se ainda ganhos pronunciados com a seleção para a produtividade e tipo de grãos. Apesar de esses dois caracteres terem sido os mais considerados durante as sucessivas gerações de seleção, ainda resta ampla variabilidade genética para ambos e confirma-se a eficiência das seleções realizadas. Em relação ao porte e mancha angular houver reduções nos ganhos, porém, eles ainda foram consideráveis. Mesmo para o peso de cem sementes as linhagens apresentam tamanhos ideais, considerando o critério adotado.

Ao considerar vários caracteres no processo de seleção, os ganhos para cada um isoladamente são menores, como pode ser observado na Tabela 14. Uma das causas da redução do ganho com a seleção de um caráter individual, em comparação com a seleção em múltiplos caracteres, pode ser devido à correlação desfavorável entre os caracteres avaliados. Na Tabela 15 verifica-se correlação significativa entre tipo de grão e peso de cem sementes e entre tipo de grão e porte, ou seja, as linhagens que apresentam melhor tipo de grão também são as melhores linhagens quanto ao peso de cem sementes, porém tendem possuir porte inferior. Entretanto, as magnitudes das correlações são intermediárias, havendo a possibilidade da seleção de recombinantes favoráveis. Para as demais estimativas não se verificou correlação indicando a possibilidade de seleção de linhagens que sejam superiores em todos os caracteres. Pereira (2003) verificou

correlação positiva, porém baixa, apenas entre porte e mancha angular, indicando que as linhagens com melhor porte foram também as mais resistentes. Collichio et al. (1997) verificaram correlações positivas apenas entre porte e produtividade de grãos e também entre peso de cem sementes e produção, permitindo inferir que é possível obter cultivares com porte ereto, boa produtividade e qualquer tamanho de sementes.

Considerando apenas a produtividade como critério para seleção, também se observa uma redução no ganho esperado para todas as características, exceto para peso de cem sementes. Observa-se que as cinco linhagens mais produtivas possuem sementes menores.

TABELA 14. Estimativas de ganho esperado com a seleção das cinco linhagens de maior expressão para produção, peso de cem sementes, tipo de grão, porte, reação à mancha angular.

Estimativa	Produção	Porte	Tipo de Grão	Peso de 100 sementes	Mancha angular
GS ¹	408,5 (18%)	- 0,57 (21%)	- 0,43 (18 %)	0,34 (1,5%)	-0,94 (17%)
GS ²	329,9 (15%)	0,25 (9,4%)	-0,38 (16%)	-0,21 (0,9%)	-0,48 (8,6%)
GS ³	408,5 (18%)	0,11 (4,1%)	-0,18 (7,4%)	-0,76 (3,3%)	-0,42 (7,6%)

^{1/} Ganho com a seleção considerando cinco linhagens mais promissoras, para cada caráter separadamente. ^{2/} Ganho com a seleção considerando todas as características em conjunto. ^{3/} Ganho com a seleção considerando as cinco linhagens mais produtivas.

TABELA 15. Correlações fenotípicas entre os caracteres avaliados.

Caracteres	Correlação
Peso de cem sementes x Produção	0,053 ^{ns}
Peso de cem sementes x Mancha angular	-0,24 ^{ns}
Peso de cem sementes x Tipo de grão	0,34*
Peso de cem sementes x Porte	-0,23 ^{ns}
Produção x Mancha angular	-0,26 ^{ns}
Produção x Tipo de grão	-0,27 ^{ns}
Produção x Porte	0,28 ^{ns}
Mancha angular x Tipo de grão	0,23 ^{ns}
Mancha angular x Porte	-0,06 ^{ns}
Tipo de grão x Porte	-0,62**

*, **, ^{ns} significativo a 5%, 1% e não significativo, respectivamente, pelo teste t.

4.7 REAÇÃO DAS LINHAGENS AO *C. lindemuthianum*

Durante as sucessivas gerações selecionou-se para grão tipo Carioca, maior produtividade, porte tipo II e resistência à mancha angular e à antracnose, uma vez que o objetivo foi selecionar linhagens que reunissem fenótipos favoráveis e com possibilidade de se tornarem novas cultivares. O cruzamento com a cultivar G2333 foi realizado para transferir a pirâmide de alelos de resistência a linhagens com características comerciais. No entanto, durante os retrocruzamentos e condução das populações pode ocorrer recombinação alélica, tornando necessário conhecer a constituição genética das linhagens em relação a esses alelos. Na tabela 16 encontram-se as possíveis combinações de alelos que se espera encontrar por meio de inoculações e também com o uso de marcador.

TABELA 16. Possíveis combinações alélicas identificadas por meio de inoculações e marcador SCAR do alelo *Co-5*.

Alelos de resistência	Reação às raças			SCAR (<i>Co-5</i>)
	2047	1545	81	
<i>Co-4², Co-5, Co-7</i>	R	- ^{1/}	-	Banda presente
<i>Co-4², Co-7</i>	R	-	-	Banda ausente
<i>Co-5, Co-7</i>	S	R	R	Banda presente
<i>Co-5</i>	S	S	R	Banda presente
<i>Co-7</i>	S	R	S	-
Nenhum	S	S	S	-

^{1/} não utilizada.

Inicialmente foram inoculadas 169 linhagens com a raça 2047 e identificaram-se 35 resistentes. Porém, com a seleção baseada em outros caracteres, principalmente tipo de grão, somente dez foram mantidas entre as 48 linhagens selecionadas. Na safra de inverno de 2004 foram incluídas três linhagens provenientes de família F_{1:4} RC₂ (Ferreira & Santos, 2003) e, entre estas, uma (M31) possui o alelo *Co-4²* (Tabela 17).

A raça 2047 somente não vence o alelo de resistência *Co-4²*, que ocorre na cultivar diferenciadora G2333. Assim, o valor desse alelo é 2¹¹ (2048), segundo Habgood (1970). Portanto, esse alelo de resistência deve ser vencido por uma raça igual ou superior a 2048, a qual não foram ainda identificadas no Brasil. Conseqüentemente, linhagens portadoras do alelo *Co-4²* são resistentes a todas as raças identificadas no Brasil; por isso, por meio de inoculação não é possível verificar se estas linhagens são portadoras dos alelos *Co-5* e/ou *Co-7* tornando-se necessário o uso de marcadores.

Todas as onze linhagens, portadoras do alelo *Co-4²*, são descendentes do segundo retrocruzamento e, por isso, podem ou não ser portadoras do alelo *Co-5*, o qual não está presente no segundo genitor recorrente CI 140. Para detecção da pirâmide *Co-4²* e *Co-5* utilizou-se o marcador SCAR ligado ao alelo *Co-5* e

amplificado pelo *primer* SAB03. O resultado da amplificação encontra-se na Figura 2 e pode-se verificar a presença da banda com 400pb apenas nas cultivares G2333 e TU, indicando que as linhagens não possuem o alelo *Co-5*. Vale ressaltar, entretanto, que este marcador tem a possibilidade de se recombinar a uma frequência de 12,98% (Vallejo e Kelly, 2001). Portanto, há possibilidade de haver linhagens com o *Co-4*² e também com *Co-5*.

É importante esclarecer que durante os retrocruzamentos e condução das populações segregantes foram realizadas seleções para fenótipos agrônômicos, principalmente tipo de grãos e resistência à antracnose. Conseqüentemente, com a eliminação dos fenótipos desfavoráveis provenientes do genitor doador, aliada ao fato de ele ter participado apenas no primeiro cruzamento, infere-se que grande parte de seu genoma tenha sido eliminado, inclusive o marcador SCAR, na maioria das linhagens portadoras do alelo *Co-5*.

Não foi possível identificar a presença do alelo *Co-7* nas linhagens portadoras do alelo *Co-4*², pois, ainda não foi encontrado um marcador para esse alelo. A identificação de linhagens portadoras deste alelo só pode ser feita por meio de inoculação (Tabela 17).

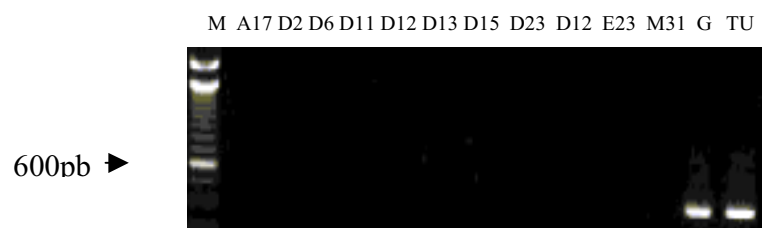


FIGURA 2. Perfil de bandas de marcador padrão de tamanho na coluna M e Banda de 400pb no genitor doador G2333 (Coluna 12) e na linhagem TU (Coluna 13)

O trabalho realizado por Young et al. (1998) mostrou que a resistência à raça 1545 ($2^{10}+2^9+2^3+2^0$) em populações derivadas de cruzamento de G2333 com cultivar suscetível a antracnose é controlada por dois genes. Como essa raça vence o alelo *Co-5*, devida à presença de 512 (2^9) na sua constituição, evidencia-se que a resistência, neste cruzamento, é condicionada pelos alelos *Co-4*² e *Co-7*. Diante disso, pode-se afirmar que a resistência observada nas linhagens inoculadas com a raça 1545 é devida ao alelo *Co-7*. Estas linhagens, por sua vez, podem ou não ser portadoras do *Co-5*. Para verificar a presença do alelo *Co-5* inoculou-se com a raça 81, pois o alelo *Co-7* tem a resistência vencida pela raça que possui 2^6 (64) na sua constituição (Alzate-Marin et al., 2001b). Portanto, ao se inocularem linhagens suscetíveis à raça 2047 com a raça 81 ($2^6+2^4+2^0$), foi possível identificar linhagens portadoras do alelo *Co-5* e com a pirâmide *Co-5*, *Co-7* (Tabela 17).

Com o intuito de confirmar a validade do marcador SCAR na seleção de linhagens portadoras do alelo *Co-5* e de *Co-5* e *Co-7* (Tabela 17), elas foram também utilizadas na reação de PCR com o *primer* SAB03. Conforme pode ser visualizado na Figura 3, o marcador somente foi amplificado na linhagem A1 e na testemunha resistente TU.

As linhagens identificadas com a letra C são descendentes de apenas um retrocruzamento; ambos os genitores são portadores do alelo *Co-5* e, conseqüentemente, as linhagens são homozigóticas para esse alelo. Mesmo assim, não se observou o marcador SCAR. Deduz-se, então, que o genitor ESAL 696 não possui o marcador SCAR, mesmo sendo resistente, pois na sua genealogia está a linhagem TU, uma das fontes de resistência portadora do alelo *Co-5*. Dada a distância do marcador em relação ao alelo de resistência há a possibilidade da separação dos dois, especialmente porque o genitor G2333, portador do marcador, foi utilizado apenas no primeiro cruzamento.

Entre as linhagens descendentes da família A apenas uma é portadora do alelo *Co-5* e também do marcador SCAR (Figura 3), com isso infere-se que o alelo é proveniente do genitor doador G2333.

É interessante notar que todas as linhagens selecionadas na família B são portadoras do alelo *Co-5*, embora nenhuma tenha apresentado o marcador SCAR, havendo, assim, maior possibilidade de o alelo ter sido herdado do genitor recorrente ESAL 696. Além disso, é provável que essa família seja homozigótica para o referido alelo.

No caso das linhagens selecionadas na família D, não se observou nenhuma com o alelo *Co-5*. No entanto, em sete dessas linhagens ocorre, também, o alelo *Co-4*², e onde há a possibilidade de ocorrer o alelo *Co-5*, embora separado do marcador SCAR. As linhagens suscetíveis indicam que a planta que originou essa família deveria ser heterozigótica para o alelo *Co-5* ou desprovida desse alelo.

A maioria das linhagens selecionadas na família E é portadora do alelo *Co-5* e também não apresentou o marcador SCAR (Figura 3). Vale frisar que as duas linhagens com o *Co-4*² têm maior chance de também serem portadoras do *Co-5*, em comparação com linhagens provenientes da família D.

Entre as três linhagens da família M, duas são suscetíveis e uma possui o *Co-4*², que também não mostrou o marcador SCAR. Assim, é improvável que essa linhagem tenha o *Co-5* uma vez que há a chance de que a planta que gerou a família M também tenha sido desprovida desse alelo.

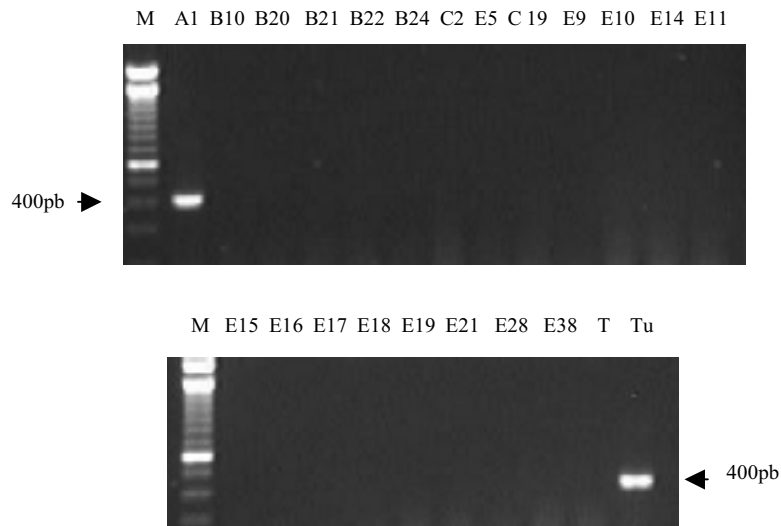


FIGURA 3. Perfil de bandas de marcador padrão de tamanho na coluna M e Banda de 400pb na Coluna a1 e Coluna TU (cultivar TU). Coluna a1 a e38: linhagens resistentes com raça 81. Coluna e11: cultivar suscetível a raça 81. T: cultivar Talismã

Entre as 48 linhagens selecionadas, cinco se destacaram (D1, D7, E5, E9, E38) devido ao ótimo desempenho médio (Tabela 17). As linhagens E5, E9, E38 são portadoras da pirâmide de alelos *Co-7* e *Co-5*. A linhagem A17, devido à menor produção de grãos, nessas condições experimentais não foi incluída entre as cinco para a estimativa do ganho com a seleção, porém foi selecionada para ser avaliada junto ao ensaio elite em Minas Gerais pelo fato de reunir alguns fenótipos agronômicos favoráveis, e principalmente por ser portadora do alelo *Co-4²*, que confere resistência a todas as raças de *C. lindemuthianum* encontradas no Brasil. Em condições de alta incidência de doença, certamente essa linhagem se sobressairá em relação às demais suscetíveis às raças predominantes no local.

Além dessa linhagem, a linhagem D2 também é promissora, pois possui produtividade e tipo de grãos razoáveis, além de possuir o alelo *Co-4²*. O fato de a maioria das linhagens com o alelo *Co-4²* possuir menores produtividades e tipo

de grãos inferiores sugere que esse alelo pode estar associado a alelos desfavoráveis, provenientes do genitor doador G2333.

TABELA 17. Médias ajustadas de produção, peso de cem sementes, porte, reação à mancha angular e alelos de resistência.

Linagem	Produção (kg/ha)	Peso cem Sementes (g)	Tipo de grãos nota(1-5)	Porte nota (1-5)	Mancha angular nota (1-9)	Combinações de alelos <i>Co</i>
A1	2208,80c	28,22c	2,54b	3,05b	6,02b	<i>Co-7e Co-5</i>
A5	2195,39c	19,87l	2,32c	2,96b	6,13b	Nenhum
A6	2188,86c	21,16j	2,09d	2,89b	6,67a	Nenhum
A11	2128,63c	20,38k	2,46c	3,01b	5,98b	Nenhum
A17	1849,28c	21,04j	2,60b	2,84b	5,73b	<i>Co-4²</i>
A20	1884,78c	21,79i	2,28c	2,73c	5,82b	Nenhum
A21	1823,51c	20,45k	2,20c	2,61c	6,14b	Nenhum
A35	2057,22c	21,33j	2,41c	2,48c	6,54a	Nenhum
B10	1865,83c	22,77g	2,24c	2,30d	5,30c	<i>Co-5</i>
B20	2366,63b	20,50k	2,68b	2,01d	6,18b	<i>Co-7e Co-5</i>
B21	1875,46c	23,02g	2,62b	2,29d	4,88c	<i>Co-5</i>
B22	1643,32c	22,39h	2,54b	2,31d	4,72d	<i>Co-5</i>
B24	2169,09c	21,76i	2,46c	2,47c	5,30c	<i>Co-5</i>
C2	2026,46c	20,70k	2,56b	2,42c	6,78a	<i>Co-5</i>
C19	2004,87c	21,96i	2,48c	2,26d	6,04b	<i>Co-5</i>
D1	3099,25a	22,83g	1,95d	2,84b	3,46e	Nenhum
D2	2336,64b	27,98c	2,22c	2,52c	4,61d	<i>Co-4²</i>
D3	2134,05c	23,77f	2,13d	2,53c	5,49c	Nenhum
D4	2460,68b	22,29h	2,19c	2,57c	5,63b	Nenhum
D6	2354,31b	26,49d	2,71b	2,40c	5,80b	<i>Co-4²</i>
D7	2746,91a	23,51f	1,98d	2,69c	4,59d	Nenhum
D11	2100,63c	23,13g	3,22a	2,03d	5,37c	<i>Co-4²</i>
D12	2201,70c	30,23b	3,18a	2,64c	5,00c	<i>Co-4²</i>
D13	2500,62b	23,98f	3,35a	2,19d	6,05b	<i>Co-4²</i>
D15	2062,85c	22,06i	2,99a	2,02d	5,31c	<i>Co-4²</i>
D16	2533,46b	24,21e	2,37c	2,47c	6,33a	Nenhum
D19	2132,51c	24,23e	2,09d	2,49c	5,24c	Nenhum
D22	2361,27b	24,63e	2,08d	2,53c	5,99b	Nenhum
D23	2333,72b	32,13a	3,17a	2,39c	5,82b	<i>Co-4²</i>

...“continua”...

“TABELA 17, cont.”

Linagem	Produção (kg/ha)	Peso cem Sementes (g)	Tipo de grãos nota(1-5)	Porte nota (1-5)	Mancha angular nota (1-9)	Combinações de alelos Co
E9	2448,13b	21,60i	1,82d	3,16a	5,15c	<i>Co-7e Co-5</i>
E5	2524,65b	22,26h	1,98d	3,01b	5,95b	<i>Co-7e Co-5</i>
E10	2332,77b	21,52i	2,15d	3,27a	5,51c	<i>Co-7e Co-5</i>
E11	2667,40a	19,67l	2,37c	2,95b	4,79d	<i>Co-7</i>
E12	2309,29b	24,47e	2,76b	2,68c	5,84b	<i>Co-4²</i>
E14	2461,69b	18,68m	2,05d	3,26a	5,06c	<i>Co-5</i>
E15	2253,53c	24,74e	2,14d	3,40a	4,70d	<i>Co-5</i>
E16	2417,78b	19,69l	1,75d	3,22a	6,22a	<i>Co-7e Co-5</i>
E17	2795,85a	20,19k	2,30c	3,30a	5,94b	<i>Co-7e Co-5</i>
E18	2380,80b	21,45i	2,07d	3,29a	5,80b	<i>Co-5</i>
E19	2296,01b	20,77j	2,50c	3,13a	6,52a	<i>Co-5</i>
E21	2061,14c	23,37g	2,01d	3,13a	5,79b	<i>Co-5</i>
E22	1846,66c	21,44i	2,25c	3,36a	5,49c	Nenhum
E23	2064,27c	22,18h	3,05a	2,30d	6,54a	<i>Co-4²</i>
E28	2221,12c	24,35e	1,91d	3,28a	4,18d	<i>Co-5</i>
E38	2513,92b	22,94g	2,02d	3,31a	5,59b	<i>Co-7e Co-5</i>
M3	2230,58c	23,90f	2,60b	2,25d	4,88c	Nenhum
M19	2162,61c	23,83f	2,42c	2,64c	5,34c	Nenhum
M31	1939,37c	21,03j	2,87b	2,80b	6,59a	<i>Co-4²</i>
TALISMÃ	2090,63c	22,44h	2,44c	2,88b	6,33a	Nenhum

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott e Knot com 5% de probabilidade. Linhagens denominadas com as letras A, B, D, E e M são originadas de famílias $F_{1:4} RC_2$, e linhagens com letra C são originadas de uma família $F_{4:7} RC_1$.

5. CONCLUSÕES

Foi possível selecionar linhagens que reuniram alta produtividade, tipo de grão semelhante ao da cultivar Carioca, porte mais arbustivo e resistência à antracnose devida a pirâmide de alelos *Co-5* e *Co-7*, bem como algumas linhagens portadoras do alelo *Co-4*² e dos alelos individuais *Co-5* e *Co-7*.

Não foram identificadas linhagens com alta resistência à mancha angular

O marcador SCAR não foi eficiente para realizar seleção de genótipos portadores do alelo *Co-5*, dentro do conjunto de linhagens avaliado, devido a distância entre eles e ao procedimento de seleção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, A. F. B.; RAMALHO, M. A. P.; GONÇALVES, F. M. A.; MENDONÇA, H. A. Utilização da produtividade de grãos na seleção para resistência ao *Colletotrichum lindemuthianum* no feijoeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 356-362, mar./abr. 2003.
- ADAMS, M. H. Plant architecture and yield breeding. **Iowa State Journal of Research**, Ames, v. 56, n. 3, p. 225-254, 1982.
- ALZATE-MARIN, A. L.; COSTA, M. R.; SARTORATO, A.; RAVA, C. A.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Use of markers as a tool to verify presence of disease resistance genes in common bean cultivars. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 1, n. 2, p. 125-133, Apr./June 2001a.
- ALZATE-MARÍN, A. L.; MENARIM, H.; BAIA, G. S.; PAULA JR., T. J.; SOUZA, K. A.; COSTA, M. R.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Inheritance of anthracnose resistance in the common bean differential cultivar G 2333 and identification of a new molecular marker linked to the *Co-4²* gene. **Journal Phytopathology**, Hamburg, v. 149, n. 3, p. 259-264, 2001b.
- ALZATE-MARIN, A. L.; SARTORATO, A. Analysis of the pathogenic variability of *Colletotrichum lindemuthianum* in Brazil. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative (BIC)**, Fort Collins, v. 47, p. 241-242, 2004.
- ALZATE-MARIN, A. L.; SILVA, M. G. M.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Validation of RAPD to *Co-4* Anthracnose resistance alleles in common bean cultivar PI 207. 262. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative (BIC)**, Fort Collins, v. 45, p. 114-115, 2002.
- ARAÚJO, G. A. A. Preparo do solo e Pantio. In: VIEIRA, C.; PAULA JR, T. J.; BORÉM, A. (Ed). **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. Viçosa: UFV, 1998. p. 99-122.
- ARRUDA, M. C.; ALZATE-MARIN, A. L.; CHAGAS, M. A. M.; BARROS, E. G. Identification of Random Amplified Polymorphic DNA markers linked to the *Co-4* resistance gene to *Colletotrichum lindemuthianum* in Common Bean. **Phytopathology**, St. Paul, v. 90, n. 7, p. 758-761, July 2000.

AWALE, H. E.; KELLY, J. D. Development of SCAR markers linked to *Co-4²* gene in common bean. **Annual report of the bean improvement cooperative (BIC)**, Fort Collins, v. 44, p. 119-120, 2001.

BALARDIN, R. S.; JAROSZ, A. M.; KELLY, J. D. Virulence and molecular diversity in *Colletotrichum lindemuthianum* from South, Central, and North America. **Phytopatology**, St. Paul, v. 87, n. 12, p. 1184-1191, Dec. 1997.

BARRUS, M. F. Varietal of varieties of bean in their susceptibility to anthracnose. **Phytopatology**, St. Paul, v. 1, p. 190-195, 1911.

BERTOLUCCI, F. L. G. **Novas alternativas de tamanho e forma da parcela experimental para avaliação de progênie do feijoeiro**. 1990. 105 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, MG.

BORÉM, A.; CARNEIRO, J. E. S. A Cultura In: VIEIRA, C.; PAULA JR, T. J.; BORÉM, A. (Ed). **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**, Viçosa:UFV, 1998. p. 13-18.

CAIXETA, E. T.; BORÉM, A.; FAGUNDES, S. A.; NIESTCHE, S.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Inheritance of angular leaf spot resistance in common bean line BAT 332 and identification of RAPD markers linked to the resistance gene. **Euphytica**, Wageningen, v. 134, n. 3, p. 297-303, 2003.

CHAVES, G. La Antracnosis. In: SCHWARTZ, H. F.; Galvez, G. E. (Ed.) . **Problemas de producion del frijol: enfermedades, insectos, limitacioins edáficas y climáticas de *Phaseolus vulgaris***. Cali: CIAT, 1980. p. 37-53.

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL – CIAT. **Programa de frijol: informe anual de 1988**. Cali, 1990. p. 128-129. (CIAT . Documento de trabajo, 72).

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

COLLICHIO, E.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Associação entre o porte da planta do feijoeiro e o tamanho dos grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 3, p. 297-304, mar. 1997.

CONAB. Disponível em: 2004.<<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 2004.

CRISPÍN, M. A.; SIFUENTES, J. A.; AVILA, J. C. **Enfermedades y plagas del frijol en México**. México: INIA, 1976. 42 p. (INIA. Folleto de Divulgación, 39).

CRUZ, C. D.; CASTOLDI, F. Decomposição da interação genótipos X ambientes em partes simples e complexa. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 38, n. 219, p. 422-430, set./out. 1991.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2. ed. rev. Viçosa: UFV, 2001. 390 p.

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

FERREIRA, C. M.; PELOSO, M. J. **Feijão na economia nacional**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa – Arroz e Feijão, 2002. 47 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Documento, 135)

FERREIRA, J. J.; RODRIGUEZ, C.; PAÑEDA, A.; GIRALDEZ, R. Allelism test for resistance to race 38 of anthracnose in common bean differential cultivar, “Widusa”. **Annual report of the bean improvement cooperative (BIC)**, Fort Collins, v. 46, p. 169-170, 2003.

FERREIRA, J. L.; SANTOS, J. B. Obtenção de cultivares de feijão com resistência múltipla contra *Colletotrichum lindemuthianum*. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFLA, 12., Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2003. p. 96.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. 3. ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1998. 220 p. (Embrapa-Cenargem. Documento, 20).

FLOR, H. H. Current status of the gene-for-gene concept. **Annual Review Phytopathology**, Palo alto, v. 9, p. 275-296, 1971.

GONÇALVES-VIDIGAL, M. C.; SAKIYAMA, N. S.; VIDIGAL FILHO, P. S.; AMARAL JUNIOR, A. T.; POLITENE, J. P.; OLIVEIRA, V. R. Resistance of common bean cultivar AB136 to race 31 and 69 of *Colletotrichum lindemuthianum*: the *Co-6* locus. **Crop Breeding and applied Biotechnology**, Londrina, v. 1, n. 2, p. 99-104, Apr./June 2001.

GONÇALVES-VIDIGAL, M. C.; VALLEJO, V.; KELLY, J. D. Characterization of the anthracnose resistance in the differential cultivar Widusa. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative (BIC)**, Fort Collins, v. 46, p. 175-176, 2003.

GUIMARÃES, C. T.; MOREIRA, M. A. Genética molecular aplicada ao melhoramento de plantas. In: BORÉM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999. p. 715-740.

HABGOOD, H. Designation of physiological races of plant pathogens. **Nature**, New York, v. 227, n. 5264, p. 1267-126, Sept. 1970.

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

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

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

KIMATI, H. Doenças do feijoeiro - *Phaseolus vulgaris* L. In: GALLI, F. **Manual de fitopatologia das plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 2, cap. 19, p. 297-318.

KNAPP, S. J.; STROUP, 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./fev. 1985.

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

MELLO, L. C.; SANTOS, J. B.; FERREIRA, D. F. Mapeamento de QTLs para reação ao oídio e mancha angular do feijoeiro comum em diferentes locais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 8, p. 1115-1126, ago. 2002.

MELOTTO, M.; FRANCISCO, C.; CAMARGO, L. E. A. Towards cloning the *Co-4²* locus using a Bean BAC library. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 46, p. 51-52, 2003.

MELOTTO, M.; KELLY, J. D. An allelic series at the *Co. 1* locus conditioning resistance to anthracnose in common bean of Andean origin. **Euphytica**, Wageningen, v. 116, n. 2, p. 143-149, 2000.

MENDONÇA, H. A. de. **Controle genético ao fungo *Colletotrichum lindemuthianum* e da cor de halo em feijão (*Phaseolus vulgaris*)**. 1996. 60 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

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

NIETSCHÉ, S.; BORÉM, A.; CARVALHO, G. A.; ROCHA, R. C.; PAULO JR., T. J.; DE BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. RAPD and SCAR markers linked to a gene conferring resistance to angular leaf spot in common bean. **Journal Phytopathology**, Hamburg, v. 148, n. 2, p. 117-121, 2000.

PASTOR-CORRALES, M. A.; OTOYA, M. M.; MOLINA, A.; SINGH, S. P. Resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from Middle American and Andean South America in difference common bean races. **Plant Disease**, St. Paul, v. 79, n. 1, p. 63-67, Jan. 1995.

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

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

PIO-RIBEIRO, G.; CHAVES, G. M. Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* Scrib. que ocorrem em alguns municípios de Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro. **Experientiae**, Viçosa, MG, v. 19, n. 6, p. 95-118, mar. 1975.

PIROLA, L. H. **Seleção natural e a interação famílias x local na cultura do feijoeiro**. 2000. 52 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

QUEIROZ, V. T.; SOUZA, C. S.; COSTA, M. R. , SANGLAD, D. A.; ARRUDA, K. M. A.; SOUZA, T. L. P. O.; RAGAGNIN, V. A.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Development of SCAR markers linked to common bean anthracnose resistance gene *Co-4*. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative (BIC)**, Fort Collins, v. 47, p. 249-250, 2004.

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

RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F.; OLIVEIRA, A. C. **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. Lavras: UFLA, 2000. 360 p.

RAMALHO, M. A. P.; PIROLA, L. H.; ABREU, A. F. B. Alternativas na seleção de plantas de feijoeiro com porte ereto e grão tipo carioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 12, p. 1989-1994, dez. 1998.

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

RAVA, C. A.; MOLINA, J.; KAUFFMANN, M.; Determinacion de razas fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* en Nicaragua. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 3, p. 388-391, set. 1993.

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

ROCCA, M. G.; DAVIDE, L. C.; MENDES-COSTA, M. C.; WHEALS, A. Conidial anastomosis tubes in *Colletotrichum*. **Fungal Genetics and Biology**, Orlando, v. 40, n. 2, p. 138-145, nov. 2003

ROGERS, S. O.; BENDICH, A. J. Extration of DNA from plant tissues. **Plant Moleculart Biology**, Dordrecht, v. 5, n. 2, p. 69-76, 1988.

SANTOS, J. B.; GAVILANES, M. L. Botânica. In: VIEIRA, C.; PAULA JR, T. J.; BORÉM, A. (Ed). **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**, Viçosa: UFV, 1998. p. 55-82.

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

SANTOS, V. S.; RAMALHO, M. A. P.; CARNEIRO, J. E. S.; ABREU, A. F. B. Consequences of early selection for grain type in common bean breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 1, n. 4, p. 347-354, Oct./Dec. 2001.

SARTORATO, A. **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília: Embrapa-SPI, 1994. 300 p. (Embrapa CNPAF. Documentos, 50).

SARTORATO, A. **Resistência vertical e horizontal do feijoeiro comum a *Isaiopsis griseola***. 1989. 131 f. Tese (Doutorado) – Escola superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

SARTORATO, A.; NIETSCH, S.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Inheritance of angular leaf spot resistance and RAPD markers linked to disease resistance gene in common beans. **Annual report of the bean improvement cooperative (BIC)**, Fort Collins, v. 42, p. 21-23, 1999a.

SARTORATO, A.; NIETSCH, S.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. SCAR markers linked to angular leaf spot resistance gene in common bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative (BIC)**, Fort Collins, n. 42, p. 23-24, 1999b.

SARTORATO, A.; PEREIRA, P. A. A. Wild beans as source of resistance to *Colletotrichum lindemuthianum*. **Annual report of the bean improvement cooperative (BIC)**, Fort Collins, v. 46, p. 9-10, 2003.

SARTORATO, A.; RAVA, C. A. **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. 2. ed. Santo Antônio de Goiás: Embrapa – Arroz e Feijão, 2002. CD-ROM.

SARTORATO, A.; RAVA, C. A. Resistência do feijoeiro comum á mancha angular. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 2002. p. 117-119.

SATORATO, A.; RAVA, C. A. Influência da cultivar e do número de inoculações na severidade da mancha angular (*Isariopsis griseola*) e nas perdas na produção do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 3, p. 247-25, dez. 1992.

SATORATO, A.; NIETSCHKE, S.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. RAPD and SCAR markers linked to resistance gene to angular leaf spot in common beans. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 4, p. 637-642, dez. 2000.

SATORATO, A.; RAVA, C. A.; RIOS, G. P. Doenças fúngicas e bacterianas da parte aérea. In: ARAÚJO, R. R.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. (Coord.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: POTAFOS, 1996. 786 p.

SATORATO, A.; THUNG, M. **Determinação da variabilidade patogênica de *Phaeoisariopsis griseola* e avaliação da mancha angular**. Santo Antonio de Goiás: Embrapa - Arroz e Feijão, 2002. 4 p. (Série Documentos, Documento, 132).

SILVA, H. D.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; MARTINS, L. A. Efeitos da seleção visual para produtividade de grãos em populações segregantes do feijoeiro. II Seleção entre famílias. **Ciência e Prática**, Lavras, v. 18, v. 2, p. 181-185, abr./jun. 1994.

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

SILVA, M.V.; SANTOS, J.B. Identificação de marcador RAPD ligado ao alelo *Co-4²* de resistência do feijoeiro comum ao agente causal da antracnose. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 5, p. 1097-1104, 2001.

SILVERIO, L.; VIDIGAL, G. M. C.; VIDIGAL FILHO, P. S.; BARELLI, M. A. A.; THOMAZELLA, C.; NUNES, W. M. C. Genetic resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* race 2047 in G 2333. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative (BIC)**, Fort Collins, v. 45, p. 74-75, 2002.

TEIXEIRA, F. F. **Controle genético do porte do feijoeiro**. 1997. 86 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

TEIXEIRA, F. F. **Uso de marcadores microsatélites no mapeamento e identificação de QTL para caracteres de importância agrônômica do feijão.** 2004. 170 p. Dissertação (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

TEIXEIRA, F. F.; RAMALHO, M. A. R; ABREU, A. F. B. Genetic control of plant architecture in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 22, n. 4, p. 577-582, Dec. 1999.

THOMAZELLA, C.; GONÇALVES-VIDIGAL, M. C.; VIDIGAL FILHO, P. S.; NUNES, W. M. C.; VIDA, J. B. Characterization of *Colletotrichum lindemuthianum* races in Paraná state, Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 2, n. 1, p. 55-60, Jan./Mar. 2002.

VALLEJO, V.; KELLY, J. D. Development of a SCAR marker linked to *Co-5* locus in common bean. **Annual report of the bean improvement cooperative (BIC)**, Fort Collins, v. 44, p. 121-122, 2001.

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

VIEIRA, C. **Doença e pragas do feijoeiro.** Viçosa: UFV, 1998. 231 p.

VIEIRA, F. C. **Controle genético da reação do feijoeiro ao *Phaeoisariopsis griseola* e seleção de famílias baseada em caracteres agrônômicos.** 2004. 31 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

VIDIGAL, M. C. G.; VALLEJO, V.; KELLY, J. D. Characterization of the Anthracnose resistance in the differential cultivar Widusa. **Annual report of the bean improvement cooperative (BIC)**, Fort Collins, v. 46, p. 175-176, 2003.

VIDIGAL FILHO, P. S.; GONÇALVES-VIDIGAL, M. C.; KELLY, J. D.; KIRK, W. W. Sources of resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in traditional cultivars of common bean from Paraná, Brazil. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative (BIC)**, Fort Collins, v. 47, p. 53-24, 2004.

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

YOUNG, R. A.; MELOTTO, M.; NODARI, R. O.; KELLY, J. D. Marker-assisted dissection of the oligogenic anthracnose resistance in the common bean cultivar, 'G2333'. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 96, n. 1, p. 87-94, Jan. 1998.