



**RAFAEL NOVAIS DE MIRANDA**

**IDENTIFICAÇÃO DE REGIÃO GENÔMICA ASSOCIADA À  
RESISTÊNCIA DO FEIJÃO-COMUM À *Pseudocercospora grise-  
ola* EM CONDIÇÕES DE CAMPO**

**Lavras - MG  
2023**

**RAFAEL NOVAIS DE MIRANDA**

**IDENTIFICAÇÃO DE REGIÃO GENÔMICA ASSOCIADA À RESISTÊNCIA DO  
FEIJÃO-COMUM À *Pseudocercospora griseola* EM CONDIÇÕES DE CAMPO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte da exigência do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Doutor.

Profa. Dra. Elaine Aparecida de Souza  
Orientadora

**LAVRAS - MG  
2023**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Miranda, Rafael Novais de.

Identificação de região genômica associada à resistência do feijão-comum à *Pseudocercospora griseola* em condições de campo / Rafael Novais de Miranda. - 2023.

70 p. : il.

Orientador(a): Elaine Aparecida de Souza.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2023.  
Bibliografia.

1. Resistência genética. 2. SNPs. 3. DArT. I. Souza, Elaine Aparecida de. II. Título.

**RAFAEL NOVAIS DE MIRANDA**


**IDENTIFICAÇÃO DE REGIÃO GENÔMICA ASSOCIADA À RESISTÊNCIA DO  
FEIJÃO-COMUM À *Pseudocercospora griseola* EM CONDIÇÕES DE CAMPO**

**IDENTIFICATION OF GENOMIC REGION ASSOCIATED WITH COMMON BEAN  
RESISTANCE TO *Pseudocercospora griseola* UNDER FIELD CONDITIONS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte da exigência do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 13 de dezembro de 2023.

Prof. Dr. Vinícius Quintão Carneiro	UFLA
Dra. Fernanda Aparecida Castro Pereira	PhD
Dra. Larissa Carvalho Costa	USDA
Dra. Rosana Pereira Vianello	EMBRAPA

Documento assinado digitalmente  
 ELAINE APARECIDA DE SOUZA  
Data: 20/02/2024 11:12:08-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Elaine Aparecida de Souza  
Orientadora

**LAVRAS – MG  
2023**

Em primeiro lugar, desejo expressar minha profunda gratidão a Deus por ser a fonte de todas as bênçãos que permeiam minha jornada. Suas inúmeras graças e orientações têm sido fundamentais, moldando não apenas minhas conquistas, mas também meu crescimento pessoal e acadêmico.

**OFEREÇO**

À minha amada família, expresso minha profunda gratidão pelo constante apoio, amor incondicional e carinho que têm me concedido ao longo de todas as jornadas da minha existência. Agradeço também pela inestimável força que me concederam, motivando-me a jamais desistir diante dos desafios.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A conclusão desta tese só foi possível graças ao apoio de diversas pessoas ao longo desses anos que se passara. Sou imensamente grato pela participação direta e indireta de todos os companheiros e familiares, cujo suporte tornou este processo mais fácil e enriquecedor.

Em primeiro lugar, gostaria de expressar minha gratidão a Deus, pois sem Ele nada na minha vida seria possível. Cada conquista alcançada e cada obstáculo superado são reflexos da Sua ajuda e orientação. Sou eternamente grato pela proteção e bênçãos concedidas a mim e aos meus familiares.

Ao meu pai, Domingos, expresso minha profunda gratidão por seu constante apoio em minha jornada acadêmica, sempre enfatizando a relevância da obtenção do título de doutorado para o meu desenvolvimento profissional, mostrando-me o valor e os benefícios desse caminho.

Agradeço imensamente à minha mãe, Maria das Graças, pelo apoio inabalável e suas constantes orações. Seu incentivo contínuo em meus estudos e decisões, juntamente com suas preces, têm sido um suporte fundamental, rogando a proteção divina em todos os caminhos que escolho trilhar.

A tia Vera desempenhou um papel fundamental em meu crescimento pessoal, sempre pronta para me ajudar em todas as situações. Seus incentivos e conselhos foram o alicerce que me deu força para seguir em frente, independentemente dos desafios.

Aos meus irmãos Marcelo e em memória ao meu irmão Leandro, com quem cresci e compartilhei aprendizados sobre a vida. As memórias felizes da nossa infância permanecem gravadas na minha mente, servindo como um modelo de felicidade a seguir. Como o irmão mais novo, sempre os admirei e os vi como referências.

Em memória as minhas avós, vó Santa e vó Helena, guardo com imenso carinho as recordações das viagens feitas para visitá-las. Vó Santa esteve sempre presente no meu crescimento, compartilhando constantemente o seu sonho de ver os netos formados. Ela sempre expressava esse desejo com carinho e incentivo ao longo do tempo em que estive ao seu lado. Vó Helena, a quem eu visitava sempre que possível, mesmo que fosse um pouco mais difícil devido à distância de Uberlândia, sempre demonstrou um imenso entusiasmo pelas minhas conquistas, apoiando-me e compartilhando conversas afetuosas. Mantenho com afeto uma memória muito especial de um momento marcante da minha infância, quando fizemos um passeio no Parque

Halfeld durante uma das minhas visitas. Até hoje, consigo visualizar claramente o sorriso de vocês ao me verem. Essas memórias são preciosas e permanecem vívidas em minha mente.

À minha amada família, com um carinho especial voltado à minha madrinha e padrinho, Angela e Júlio, aos meus tios Walter (Beterrebes), Olides, Zé, Laura, Laurenice, Clélia, Eneida, João, Auxiliadora, Margarida e Mônica, e aos meus primos Antônio, Marcos, Flávia, Maíra, Felipe, Débora e Juliana.

Aos meus queridos amigos de infância, Flávio, Fred e Cláudio, nos quais compartilhamos todas as etapas e conquistas de nossas vidas. Apesar da distância que por vezes nos separou, nossa amizade nunca enfraqueceu. Mesmo após meses sem nos vermos ou conversarmos, quando nos reunimos, parece que o tempo não passou, e a conexão entre nós permanece tão forte quanto sempre foi.

Gostaria de estender meus mais sinceros agradecimentos ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da UFLA. É com grande orgulho que pude cursar tanto meu doutorado quanto meu mestrado neste programa, o qual possui reconhecimento nacional. Os anos dedicados aqui foram verdadeiramente enriquecedores e marcantes em minha trajetória acadêmica, profissional e pessoal.

À professora Dra. Elaine, gostaria de expressar minha profunda gratidão por ter sido minha orientadora nessa minha etapa acadêmica. Sua orientação e apoio durante a elaboração desta tese, me serviram de incentivo para a conclusão desta pesquisa. Sempre serei grato pelo crescimento meu acadêmico e pessoal durante essa etapa. Este trabalho não teria sido concretizado sem sua orientação e apoio, e por isso, sou imensamente grato por ter tido a honra de trabalhar sob sua orientação.

Aos demais professores e ex-professores do programa - Welison, José Airton, João Cândido, Vânia, Flávia, Giovana, Evandro, Lucimara, Tiago, Vinícius, Magno, César e João Bosco - quero expressar minha sincera gratidão pelos valiosos ensinamentos que compartilharam. Cada um de vocês teve um papel fundamental no meu crescimento acadêmico.

A todos os colegas do Laboratório de Resistência de Plantas da UFLA, tanto àqueles que já fizeram parte do laboratório - Larissa, Paula, Fernanda, Ana, Gleice e Kátia - quanto aos atuais - Miller, Ednilson, Israel, Alex, Mariana e Reberth - expresso minha profunda gratidão. Cada um de vocês desempenhou um papel crucial nessa jornada. Agradeço imensamente pela colaboração e pela convivência harmoniosa que tornaram nosso ambiente de trabalho mais produtivo e acolhedor.

Gostaria de dedicar um agradecimento especial à minha amiga Mariana Andrade, cujo apoio inestimável, tanto acadêmico quanto pessoal, foi fundamental ao longo de todo este percurso. Suas risadas contagiantes, nossos encontros animados em lanchonetes e festas tornaram esta jornada muito mais leve e prazerosa. Sou imensamente grato(a) por sua presença e suporte constante. A Fernanda, que desempenhou um importante papel ao longo do meu percurso no doutorado, foi muito importante a sua presença me fornecendo todo e qualquer suporte necessário tanto em laboratório quanto na pesquisa em si. Além disso, não posso deixar de expressar minha gratidão ao meu amigo Reberth, que esteve sempre ao meu lado, fornecendo força, apoio e contribuições intelectuais essenciais para a realização deste trabalho, além é claro dos desa- bafos que sempre vinha com muitas risadas. Obrigada pelo esforço, dedicação e amizade ines- timáveis.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), expresso minha profunda gratidão pela bolsa concedida du- rante o curso de doutorado. Esse apoio foi fundamental para o desenvolvimento da minha for- mação acadêmica e para a realização desta pesquisa.

**FICAM AQUI OS MEUS AGRADECIMENTOS A TODOS!**



"A educação é a arma mais poderosa que você  
pode usar para mudar o mundo."

Nelson Mandela

## RESUMO

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das culturas mais importantes para a segurança alimentar mundial, especialmente em países em desenvolvimento, onde é uma das principais fontes de proteína vegetal. A mancha angular, causada pelo fungo *Pseudocercospora griseola*, é uma das principais doenças que afetam a cultura, podendo causar perdas expressivas. O uso de cultivares resistentes é uma das principais estratégias de controle dessa doença, reduzindo significativamente as perdas de produção. Um dos exemplos disso foi a obtenção da linhagem MAIII-16.159 resistente a isolados de *P. griseola*, a partir da parceria do programa de Genética e Melhoramento de Plantas da Universidade Federal de Lavras com a EMBRAPA, no Brasil. A identificação dos genes envolvidos na resistência é importante para compreender melhor os mecanismos de defesa da planta e interação entre patógeno e hospedeiro, o que possibilita a identificação e compreensão dos genes envolvidos nessa resposta de defesa. Logo, o objetivo deste estudo foi identificar regiões genômicas associadas à resistência à *P. griseola*. Para isto, utilizamos linhagens endogâmicas obtidas a partir de um cruzamento biparental de genitores puros e contrastantes para resistência à *P. griseola*. O painel de estudos para identificar a resistência à Mancha Angular foi composto por 180 linhagens endogâmicas derivadas do cruzamento entre MAIII-16.159 (resistente) e BRS Horizonte (suscetível), o qual apresentou um desvio significativo na proporção de segregação. As linhagens foram submetidas a fenotipagem e genotipagem para a identificação de marcadores moleculares. A avaliação fenotípica da severidade da mancha angular das linhagens foi realizada em campo no estádio R8 conduzido em DBC com duas repetições, em condições naturais de ocorrência do patógeno durante a safra das águas de 2022/2023. Esse estádio fisiológico representa o ponto de maturação das vagens, indicando o período em que ocorre o enchimento delas. A genotipagem foi realizada empregando marcadores SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) e silico-DArT (Diversity Arrays Technology). Os genes foram identificados utilizando a v2.1 da sequência genômica do feijão-comum no Phytozome v1.16.9. Foi identificado um marcador significativo, o marcador DART3819, localizado na posição 14.329.208 pb do cromossomo PV04. Esse marcador revelou uma associação estatisticamente significativa com a resistência à mancha angular, apresentando um efeito negativo (-0,92) que contribuiu para a redução da severidade da doença, explicando 47% da variação fenotípica observada. Portanto, a linhagem MAIII-16.159 possui uma região no cromossomo Pv04 associada a alelos de genes responsáveis pela resistência à *P. griseola* no estádio R8 de desenvolvimento do feijão-comum.

**Palavras-chave:** Melhoramento genético. Resistência genética. Mancha angular. SNPs. DArT

## ABSTRACT

Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is one of the most important crops for global food security, especially in developing countries, where it is one of the main sources of vegetable protein. Angular leaf spot, caused by the fungus *Pseudocercospora griseola*, is one of the major diseases affecting this crop, leading to significant losses. The use of resistant cultivars is a primary strategy for disease control, reducing significantly crop production losses. An example of this is the development of the MAIII-16.159 line, resistant to *P. griseola* isolates, through a partnership between the Plant Genetics and Breeding Program at the Universidade Federal de Lavras and EMBRAPA in Brazil. The identification of genes involved in resistance is important to better understand the plant's defense mechanisms and interaction between pathogen and host, which makes it possible to identify and understand the genes involved in this defense response. Therefore, the objective of this study was to identify genomic regions associated with resistance to *P. griseola*. For this, we used inbred lines obtained from a biparental cross of pure and contrasting parents for resistance to *P. griseola*. The study panel to identify resistance to Angular Spot was composed of 180 inbred lines derived from the cross between MAIII-16.159 (resistant) and BRS Horizonte (susceptible), which presented a significant deviation in the segregation proportion. The lines were subjected to phenotyping and genotyping to identify molecular markers. The phenotypic assessment of the severity of the angular spot of the strains was carried out in the field at the R8 stage, conducted in DBC with two replications, under natural conditions of occurrence of the pathogen during the 2022/2023 water harvest. This physiological stage represents the point of maturation of the pods, indicating the period in which they fill. Genotyping was carried out using SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) and silico-DArT (Diversity Arrays Technology) markers. Genes were identified using v2.1 of the common bean genomic sequence in Phytozome v1.16.9. A significant marker was identified, the DART3819 marker, located at position 14,329,208 bp of the PV04 chromosome. This marker revealed a statistically significant association with resistance to angular spot, presenting a negative effect (-0.92) that contributed to reducing the severity of the disease, explaining 47% of the observed phenotypic variation. Therefore, the MAIII-16.159 line possesses a region on chromosome Pv04 associated with gene alleles responsible for resistance to *P. griseola* at stage R8 of common bean development.

**Keywords:** Genetic breeding. Genetic resistance. Angular leaf spot. SNPs. DArT.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição de frequência das notas médias de severidade da mancha angular.....	36
Figura 2 - Padrão de decaimento do desequilíbrio de ligação e densidade de marcadores ao longo do genoma .....	38
Figura 3 - Arranjo da densidade dos SNPs no genoma do painel .....	39
Figura 4 - Manhattan Plot e QQ Plot.....	41
Figura 5 - Boxplot das pontuações de severidade da mancha angular no painel de fenotipagem .....	42
Figura 6 - Mapa genético dos genes de resistência identificados para a mancha angular no braço curto do cromossomo Pv04 .....	43
Figura 7 - Temperatura e precipitação na área experimental durante a safra das águas de 2022/2023 .....	65

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Cultivares diferenciadoras de feijão utilizadas para a classificação das raças de <i>P. griseola</i> através do sistema binário .....	22
Tabela 2 - Genes de resistência à mancha angular mapeados em feijão-comum.....	26
Tabela 3 - Escala descritiva de notas para a avaliação da severidade da mancha angular no feijão-comum no estágio R8.....	33
Tabela 4 - Marcadores SNPs e silico-DArTs selecionados por cromossomo. ....	37
Tabela 5 - Marcador molecular, obtido a partir da análise de associação usando o painel de 180 linhagens endogâmicas e seus genitores.....	40
Tabela 6 - Sequência de nucleotídeos do marcador identificado associado à resistência à <i>P. griseola</i> . ....	40
Tabela 7 - Anotações dos genes identificados baseados na posição física do marcador DART3819. ....	43
Tabela 8 – Médias da severidade de incidência de mancha angular nas 180 linhagens de feijão-comum avaliadas. ....	66

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	14
2.	REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1.	A cultura do feijão-comum.....	17
2.2.	Mancha angular .....	18
2.3.	Diversidade na virulência de <i>P. griseola</i> .....	19
2.4.	Herança da resistência do feijão-comum a <i>P. griseola</i> .....	22
2.5.	Marcadores moleculares .....	26
2.6.	Linhagens endogâmicas recombinantes .....	28
2.7.	Desequilíbrio de ligação em fase gamética para mapeamento genético .....	29
3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1.	Painel de RILs .....	32
3.2.	Extração de DNA dos genótipos .....	32
3.3.	Genotipagem e identificação dos marcadores SNP e silico-DArT.....	32
3.4.	Fenotipagem de severidade da mancha angular nas linhagens recombinantes .....	33
3.5.	Análises estatísticas dos dados fenotípicos .....	33
3.6.	Estudo de Associação Genômica.....	34
3.7.	Identificação de genes candidatos .....	34
4.	RESULTADOS .....	35
4.1.	Dados meteorológicos .....	35
4.2.	Fenotipagem da severidade da mancha angular .....	35
4.3.	Genotipagem de marcadores SNPs e silico-DarTs.....	36
4.4.	Desequilíbrio de ligação no genoma .....	37
4.5.	Densidade de marcadores .....	38
4.6.	Análise de associação genômica.....	39
4.7.	Genes candidatos à resistência à <i>P. griseola</i> .....	42
5.	DISCUSSÃO.....	44
6.	CONCLUSÃO.....	52
	REFERÊNCIAS .....	53
	ANEXO A .....	65
	ANEXO B .....	66

## 1. INTRODUÇÃO

A mancha angular, causada pelo fungo *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous & U. Braun, é uma das principais doenças para a cultura do feijão-comum, afetando os campos de produções em mais de 80 países (LANDERAS et al., 2017). Esta doença resulta em perdas significativas na produção, podendo chegar a até 80% (SCHWARTZ et al., 1981; SEIJAS et al., 1985; DE JESUS et al., 2001), dependendo da suscetibilidade das cultivares, das condições climáticas, da virulência do patógeno e, sobretudo, do estágio de desenvolvimento da planta (REZENE; MEKONIN, 2019; AYTENFSU; TEREFE, 2023). Os danos podem ser causados nas folhas, vagens, hastes e sementes, afetando tanto a produtividade quanto a qualidade dos grãos (GIRMA et al., 2022). Estudos da interação hospedeiro-patógeno têm permitido identificar regiões responsáveis pela resistência do feijão-comum à mancha angular (ALMEIDA et al., 2021; FRITSCHÉ-NETO et al., 2019; PÁDUA, 2022; PEREIRA et al., 2019; VIDIGAL FILHO et al., 2020).

O patógeno *P. griseola* possui uma ampla diversidade genética e de virulência, dividindo-se em raças andinas e mesoamericanas que coevoluíram com diferentes grupos de feijão-comum (CROUS et al., 2006). Enquanto as raças andinas infectam o feijão andino, as raças mesoamericanas afetam ambos os grupos e são mais virulentas nos hospedeiros mesoamericanos. No entanto, devido à complexidade da interação patógeno-hospedeiro, a identificação dos locos de resistência à mancha angular se torna difícil (AYTENFSU et al., 2019).

Atualmente, apenas cinco locos são oficialmente reconhecidos e aceitos pelo Comitê de Genética do BIC (Bean Improvement Cooperative) (ALMEIDA et al., 2021). Entre estes, três locos são independentes e com alelos dominantes conferindo a resistência: *Phg-1*, mapeado no cromossomo Pv01 da cultivar AND 277 (ALMEIDA et al., 2021; GOMES-MESSIAS et al., 2022; LIMA et al., 2023); *Phg-2*, mapeado no Pv08 da cultivar México 54 e BAT 332 (ALMEIDA et al., 2021; GIL et al., 2019; NAY et al., 2019); e *Phg-3*, mapeado no cromossomo Pv04 na cultivar Ouro Negro (ALMEIDA et al., 2021; VALENTINI et al., 2017). Os dois outros locos são QTLs (Quantitative Trait Loci) de efeito maior: *Phg-4*, correspondente ao QTL ALS4.1<sup>GS,UC</sup> mapeado no cromossomo Pv04 da cultivar G5686 (ALMEIDA et al., 2021; GOMES-MESSIAS et al., 2022; TABOADA et al., 2022); e *Phg-5*, identificado anteriormente como QTL ALS10.1<sup>DG,UC,GS</sup> mapeado no Pv10 das cultivares CAL 143 e G5686 (ALMEIDA et al., 2021; GOMES-MESSIAS et al., 2022; NAY et al., 2019; RODRÍGUEZ et al., 2019).

A obtenção de linhagens de feijão-comum resistentes à mancha angular pode ser obtida por meio da piramidação de alelos favoráveis, um exemplo é a linhagem MAIII-16.159 oriunda da colaboração entre a UFLA e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) iniciada em 1998. O principal objetivo do programa é acumular alelos favoráveis por meio do método seleção recorrente visando resistência duradoura à mancha angular. Essa linhagem foi obtida por meio de cruzamentos no esquema de dialelo circulante, envolvendo sete linhagens de feijão-comum do tipo Carioca e 10 fontes de resistência andinas e mesoamericanas à mancha angular (AMARO et al., 2007; ARANTES; ABREU; RAMALHO, 2010; NAY et al., 2019). Em reconhecimento a esse esforço, durante o Workshop "Angular Leaf Spot and Root Rot" realizado em Skukuza, África do Sul, em 2015, a linhagem MAIII-16.159 foi indicada para fazer parte do novo conjunto internacional de cultivares diferenciadoras de mancha angular. Conhecer os genes e ou regiões genômicas associadas a resistência à *P. griseola* pode ser importante para compreender melhor a interação do patógeno com o feijão-comum, além de facilitar a identificação de marcadores moleculares que poderão ser utilizados nos programas de melhoramento.

De maneira geral, a identificação de regiões genômicas associadas a características agronômicas, incluindo a resistência a doenças, é conduzida através de marcadores moleculares, os quais permitem avaliar a correlação entre as características fenotípicas e genotípicas. (SINHA; KUSHWAHA; DESHMUKH, 2022). Duas técnicas amplamente empregadas para esse fim são o mapeamento tradicional de QTL e o mapeamento associativo, baseado no desequilíbrio de ligação (FRITSCHÉ-NETO et al., 2019; VIDIGAL FILHO et al., 2020; WU et al., 2022). Avanços foram impulsionados pelas ferramentas genômicas, como a genotipagem de alto rendimento com marcadores de Polimorfismo de Nucleotídeo Único (SNP) e silico-DArT, juntamente com a montagem do genoma de referência do feijão-comum (SCHMUTZ et al., 2014; SONG et al., 2015; VLASOVA et al., 2016), possibilitando a identificação de locos associados a características agronômicas (CORTES; ZHANG; YU, 2021; INGVARSSON; STREET, 2011; TANG et al., 2016).

Uma das estratégias que tem sido utilizada na identificação de regiões genômicas associadas a resistência à mancha angular seria a utilização de RILs. Essas linhagens são obtidas a partir do cruzamento de dois genitores puros e contrastantes para um determinado caráter, seguido de várias gerações de autofecundação. Esse processo quebra os blocos de ligação, o que permite uma melhor resolução para a identificação das regiões genômicas associadas à resistência (BROMAN, 2005). A escolha dos genitores é fundamental para o sucesso da análise de



associação genética. Quanto maior a variabilidade genética entre eles, maior a eficácia de obter polimorfismos para as características fenotípicas almejadas (SEGMAN; BJORNSTAF; NDJI-ONDJOP, 2006), facilitando a detecção de marcadores associados aos caracteres de interesse (BHATIA, 2020; BHATIA; BAJWA, 2022; DORMATEY et al., 2020).

O estudo de associação genômica no feijão-comum tem sido realizado em algumas oportunidades para diversos caracteres, tais como como fenologia, componentes de produção, e rendimento de grãos (DELFINI et al., 2021; WU et al., 2022), tempo de floração (MACQUEEN et al., 2020; NADEEM et al., 2021), resistência à quebra de vagens (PARKER et al., 2020), conteúdo mineral do grão (DELFINI et al., 2021), resistência à seca e estresse abiótico (KELLER et al., 2015; VALDISSER et al., 2020). Além disso, vários estudos têm investigado regiões que conferem resistência genética a doenças causadas por diferentes patógenos, tais como a podridão radicular causada por *Pythium ultimum* (DRAMADRI et al., 2020), *Rhizoctonia solani* (OLADZAD et al., 2019), *Fusarium solani* (HUSTER et al., 2021; PAULINO et al., 2021; ZITNICK-ANDERSON et al., 2020), cretamento bacteriano comum (SIMONS et al., 2021), cretamento bacteriano aureolado (MONTEIRO et al., 2021; TOCK et al., 2017), mofo branco (CAMPA; GARCIA-FERNÁNDEZ, 2020; JUNIOR; FERREIRA, 2023), antracnose (BANOO et al., 2020; COSTA et al., 2021), além de trabalhos relacionados a resistência à *P. griseola* (VALENTINI et al., 2017; GIL et al., 2019; NAY et al., 2019; RODRÍGUEZ et al., 2019; ALMEIDA et al., 2021; GOMES-MESSIAS et al., 2022; LIMA et al., 2023). A identificação desses marcadores genéticos tem contribuído para informações importantes para o melhoramento genético do feijão, permitindo o uso da seleção assistida por marcadores visando resistência à patógenos. Portanto, o objetivo deste estudo foi identificar regiões genômicas associadas à resistência à mancha angular em uma população de linhagens endogâmicas recombinantes, obtidas a partir dos genitores MAIII-16.159 (resistente) e BRS Horizonte (suscetível) de feijão-comum sob condições naturais em estágio fenológico R8, por meio do estudo de associação genômica ampla.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. A cultura do feijão-comum

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris L.*) representa uma das culturas mais importantes para a segurança alimentar em todo o mundo, especialmente em países em desenvolvimento, onde é uma das principais fontes de proteína vegetal (ALVAREZ-DIAZ et al., 2022; GUPTA; SALGOTRA; VENEGAS, 2022; OBLESSUC; BRIDGES; MELOTTO, 2022). Dentre as principais culturas alimentares no Brasil, o feijão-comum desempenha um papel fundamental tanto em termos econômicos, quanto sociais e culturais. A origem desta cultura ocorreu a partir de dois principais centros de domesticação, a região Mesoamericana (centro das Américas, em torno do México) e a região Andina (sul dos Andes e norte da Argentina) (KLÄSENER; RIBEIRO; ARGENTA, 2022; RIBEIRO; MAZIERO, 2023; ASKI et al., 2022). Atualmente, há trezentos e sessenta cultivares registradas no MAPA com características distintas de grãos, incluindo tamanho, cor, sabor e textura, desempenhando um papel fundamental para a dieta da população brasileira, sendo considerado um alimento essencial (WANDER; DA SILVA; FERREIRA, 2021).

O cultivo no território brasileiro é realizado em três safras: a primeira é a "safra das águas", semeada entre outubro e novembro; a segunda é a "safra da seca", semeada entre março e abril; e a terceira é a "safra de inverno" ou "safra de outono/inverno", semeada a partir de junho e colhida entre agosto e outubro (ARIANI et al., 2022). O Brasil é o maior produtor e consumidor de feijão-comum do mundo, responsável por aproximadamente um terço da produção dos países do MERCOSUL e 10% da produção global (FAOSTAT, 2023).

Na safra 2022/2023, o Brasil obteve uma produção de 2,27 milhões de toneladas de feijão-comum, cultivado em uma área de 1,58 milhões de hectares, resultando em uma produtividade média de 1.573 kg/ha (EMBRAPA: ARROZ e FEIJÃO, 2023). No cenário nacional, as maiores produtividades de grãos foram obtidas pelo Distrito Federal e pelo estado de Goiás na terceira safra, com rendimento de grãos em média de 2.172 Kg/ha e 2.449 Kg/ha, respectivamente (CONAB, 2023). Contudo, há relatos de altos níveis de produtividade atingindo 6.000 kg/ha em algumas propriedades, o que evidencia o potencial da cultura (EMBRAPA: ARROZ e FEIJÃO, 2023). Os estados com maior produção são Paraná, seguido por Minas Gerais, Mato Grosso, Goiás e Bahia, representando cerca de 68% da produção total do país (CONAB, 2023).

Apesar dos esforços, a produção de feijão-comum no Brasil ainda enfrenta desafios consideráveis, tais como variações climáticas e problemas fitossanitários da cultura (ASSEFA et

al., 2019; GONÇALVES-VIDIGAL et al., 2011; LOSA et al., 2022; NAY et al., 2019). Doenças fúngicas, como a mancha angular, são capazes de afetar o desenvolvimento da planta e reduzir drasticamente a qualidade dos grãos, principalmente quando em condições ambientais favoráveis para o desenvolvimento da doença (NADEEM et al., 2021). Embora muitos produtores recorram ao uso de fungicidas, a alternativa mais viável economicamente é o emprego de cultivares resistentes (NAY et al., 2019). Nesse sentido, para a sustentabilidade dos programas de melhoramento genético do feijão-comum no país e para garantir incrementos significativos para a produtividade, é necessário o investimento em pesquisas que contribuam com o entendimento das regiões genômicas associadas à resistência aos principais fitopatógenos presentes no território nacional.

## 2.2. Mancha angular

Entre as doenças mais comuns em todo o mundo na cultura do feijão-comum está a mancha angular, que é causada pelo fungo *Pseudocercospora griseola*. Essa doença é considerada uma das mais devastadoras e recorrentes nas áreas de maior produção da América Latina e África, sendo encontrada em mais de 80 países (LANDERAS et al., 2017). A sua nomenclatura já passou por diversas mudanças, sendo a última designação oficial a de *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous & U. Braun (CROUS et al., 2006).

O impacto do patógeno na produção pode ser significativo, podendo causar perdas de até 80% na produção (SCHWARTZ et al., 1981; SEIJAS et al., 1985; DE JESUS et al., 2001), dependendo do nível de suscetibilidade das cultivares, das condições climáticas favoráveis durante o ciclo da cultura, da virulência dos isolados e, principalmente, do estágio de desenvolvimento da planta (REZENE; MEKONIN, 2019; AYTENFSU; TEREFE, 2023). Em ataques mais severos, a doença pode causar lesões necróticas nas folhas, vagens e hastes, afetando também as sementes e resultando em perdas na produtividade e na qualidade dos grãos, que acabam se tornando indesejáveis para o consumo humano (GIRMA et al., 2022).

A germinação dos conídios é o ponto de partida para a infecção deste fungo. Esse processo ocorre entre 3 e 6 horas após a inoculação, em temperaturas ótimas que variam entre 20 e 28°C (LIBRELON et al., 2022; SERRATO-DIAZ et al., 2020; AYTENFSU; TEREFE, 2023) penetrando nas folhas através dos estômatos em até 2 dias (LIBRELON et al., 2022). O fungo penetra no hospedeiro e começa a colonizá-lo. Durante a colonização, o patógeno produz sinêmios, compostos por conidióforos paralelos e escuros, que se formam na face abaxial da folha em tufo visíveis a olho nu (CANPOLAT; MADEN, 2020; SERRATO-DIAZ et al., 2020;

AYTENFSU; TEREFE, 2023). Os sintomas na planta são lesões circulares concêntricas de coloração castanho escuro nas folhas primárias, pequenas manchas angulares com coloração de cinza escuro ou castanho e clorose nas folhas trifoliadas, os quais surgem entre 8 e 12 dias após a penetração (KERR, 2019; LIBRELON et al., 2022; SERRATO-DIAZ et al., 2020). Nas vagens, as lesões são grandes, circulares, com tonalidade castanho-avermelhada e um halo circundante escurecido. Durante períodos de elevada umidade, o patógeno tem a capacidade de se reproduzir por meio da esporulação (NAY et al., 2019; PÁDUA et al., 2022; AYTENFSU; TEREFE, 2023). A infecção pode disseminar-se para as sementes, comprometendo o seu desenvolvimento e resultando em manchas, deformações e rugosidades. Além disso, as plantas afetadas também podem apresentar lesões alongadas de coloração castanho-escuro no caule, ramos e pecíolos (ALMEIDA et al., 2021; AYTENFSU; TEREFE, 2023).

As sementes infectadas e os restos culturais infectados são considerados as principais fontes de inóculo para a disseminação da doença a longas distâncias (DEGU; YAREGAL; GUIDISA, 2020). O patógeno pode permanecer viável por um período prolongado, até um ano nas sementes e mais de 19 meses nos restos culturais, mesmo sem a presença de hospedeiros vivos (MONGI et al., 2016). A disseminação dos conídios pode ocorrer pelo vento, bem como por meio de gotículas de água e equipamentos agrícolas. A variação na virulência do patógeno entre diferentes isolados resulta em um elevado número de raças fisiológicas distintas (PÁDUA et al., 2022). Diante da variabilidade patogênica e genética do fungo, é possível desenvolver estratégias que auxiliem nos programas de melhoramento para a obtenção de cultivares resistentes à mancha angular, bem como identificar genes de resistência a doença.

O controle dessa doença é um desafio, pois o patógeno é altamente adaptável e pode se reproduzir rapidamente em diferentes condições (REZENE; MEKONIN, 2019). A prevenção e o controle da doença envolvem a utilização de práticas culturais adequadas, como a rotação de culturas, o uso de cultivares resistentes, o manejo integrado de pragas e doenças e o uso de fungicidas (ALMEIDA et al., 2021; NAY et al., 2019). A implementação dessas práticas pode ajudar a reduzir o impacto dos sintomas e aumentar a produtividade na cultura.

### **2.3. Diversidade na virulência de *P. griseola***

A variação genética entre os isolados de *P. griseola* foi inicialmente relatada por Brock (1951), que observou diferentes padrões de virulência em isolados australianos ao serem inoculados em cultivares de feijão-comum. Neste estudo, foi avaliada uma amostra composta por mais de 150 acessos de *P. vulgaris*, juntamente com dois acessos de *P. coccineus*. Dez

cultivares de *P. vulgaris* e uma de *P. coccineus* exibiram resistência à doença. Não havia na época, uma metodologia padronizada para identificar as raças do patógeno. A partir desse trabalho, outros pesquisadores têm confirmado uma alta variabilidade de virulência do agente causal da mancha angular (BASAVARAJA et al., 2020; GONÇALVES-VIDIGAL et al., 2011; PEREIRA et al., 2015). Em 1995, Pastor-Corrales e Jara conduziram um estudo que avaliou a diversidade genética de *P. griseola* e sua coevolução com o feijão-comum na América Latina. Os resultados revelaram a segregação dos fenótipos de virulência em dois grupos gênicos distintos: o grupo Andino, com compatibilidade predominante em cultivares de feijão-comum de origem Andina, e o grupo Mesoamericano, com compatibilidade principalmente com cultivares de origem Mesoamericana, embora possa ser virulento também com alguns acessos do grupo Andino. De acordo com os pesquisadores, os isolados Andinos de *P. griseola* (*P. griseola formae griseola*) coevoluíram com as cultivares de feijão-comum de origem Andina, enquanto os isolados mesoamericanos (*P. griseola formae mesoamericana*) coevoluíram com as cultivares de origem Mesoamericana.

Devido às constatações da variabilidade de virulência, foi necessária a padronização de um conjunto de cultivares diferenciadoras e uma nova nomenclatura para as raças do patógeno. O processo foi discutido durante o "International Workshop on the Angular Leaf Spot of Common Beans", realizado no Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) em 1995 (PASTOR-CORRALES; JARA, 1995). Para tal, foi proposto o método binário de HABGOOD (1970), que consiste em atribuir um valor a cada cultivar suscetível e determinar numericamente a raça somando-se os valores de todas as cultivares dentro de cada grupo. Foram utilizadas 12 cultivares diferenciadoras, sendo 6 de origem Andina e 6 de origem Mesoamericana. Essa nomenclatura permitiu identificar a raça por meio de um número, no qual as cultivares de cada grupo são identificadas ordenadamente pelos números de 1 a 6 (Tabela 1).

Na época em que a metodologia foi proposta, foram realizados diversos estudos para avaliar a diversidade genética de isolados de *P. griseola* no Brasil. Aparício et al. (1998), Garcia et al. (2006), Nietsche et al. (2002), Pastor-Corrales e Paula Jr. (1996), Sartorato (2002), Sartorato (2004) e Sartorato e Alzate-Marin (2004), analisaram isolados de diferentes regiões do país, identificando diversas raças. Foi constatada a existência de uma grande variabilidade genética do fungo no Brasil, sendo que nos últimos levantamentos realizados, a raça 63-63 é a mais frequente (LIBRELON et al., 2020; PÁDUA et al., 2021; PEREIRA et al., 2019). Esta raça quebra a resistência de todas as cultivares diferenciadoras propostas, sendo, muito frequente na América Latina e na África. No entanto, foi constatada variação na capacidade de

virulência mesmo entre os isolados dentro da mesma raça, quando inoculados em diferentes grupos de cultivares de feijão-comum (DDAMULIRA et al., 2012; PEREIRA et al., 2015; SARTORATO, 2004; SILVA et al., 2008; STENGLEIN; BALATTI, 2006; WAGARA et al., 2004).

Pereira et al. (2015) demonstraram que as cultivares diferenciadoras não foram eficazes em detectar a grande variabilidade existente dentro dos isolados da raça 63-63, sendo necessária uma revisão do conjunto de cultivares diferenciadoras para avaliar a variabilidade da virulência das raças dos isolados. A linhagem MAIII-16.159 do programa de seleção recorrente para mancha angular da Universidade Federal de Lavras foi proposta para ser incluída no conjunto de linhagem diferenciadoras para mitigar esse problema, uma vez que ela possui um alto nível de resistência à *P. griseola* (ARANTES; ABREU; RAMALHO, 2010; PÁDUA, 2022; PEREIRA; ABREU; SOUZA, 2011; PEREIRA et al., 2015; REZENDE et al., 2017).

Assim, para consolidar uma estratégia de melhoramento eficaz para a resistência à doença, é necessário compreender detalhadamente os mecanismos de evolução da virulência e diversidade deste patógeno, pois a sua variabilidade é capaz de suplantar a resistência genética do hospedeiro (ALMEIDA et al., 2020; ALMEIDA et al., 2021; NAY et al., 2019). As principais estratégias de melhoramento visando a resistência duradoura à mancha angular estão relacionadas à piramidação de genes de resistência andinos e mesoamericanos, ou à introdução de fontes de resistência mesoamericanas em regiões onde predominam isolados andinos, e vice-versa (ALMEIDA et al., 2021; GUZMAN et al., 1995; PASTOR-CORRALES et al., 1998). Além disso, a seleção recorrente é um método crucial que garante a acumulação de alelos de resistência provenientes de ambos os grupos genéticos (ABREU et al., 2023; AMARO et al., 2007; ARANTES; ABREU; RAMALHO, 2010). No entanto, para direcionar os programas de melhoramento, é necessário além de entender o controle genético da resistência à mancha angular, é importante também, detalhar as regiões genômicas associadas a este caráter.

Tabela 1 - Cultivares diferenciadoras de feijão utilizadas para a classificação das raças de *P. griseola* através do sistema binário.

Cultivares	Conjunto	Série binomial	Valor binário
Dom Timóteo	Andino	2 <sup>0</sup>	1
G 11796	Andino	2 <sup>1</sup>	2
Bolón Bayo	Andino	2 <sup>2</sup>	4
Montcalm	Andino	2 <sup>3</sup>	8
Amendoim	Andino	2 <sup>4</sup>	16
G 5686	Andino	2 <sup>5</sup>	32
Pan 72	Mesoamericano	2 <sup>0</sup>	1
G 2858	Mesoamericano	2 <sup>1</sup>	2
Flor de Mayo	Mesoamericano	2 <sup>2</sup>	4
México 54	Mesoamericano	2 <sup>3</sup>	8
Bat 332	Mesoamericano	2 <sup>4</sup>	16
Cornell 49-242	Mesoamericano	2 <sup>5</sup>	32

Fonte: PÁDUA (2022)

#### 2.4. Herança da resistência do feijão-comum a *P. griseola*

A compreensão da interação entre patógeno e hospedeiro é uma etapa fundamental na busca pelo desenvolvimento de cultivares resistentes (BASAVARAJA et al., 2020). A alta variabilidade patogênica do fungo exige a combinação de genes de diferentes fontes de resistência (RODRÍGUEZ et al., 2019). Estudos com marcadores moleculares, apontaram a complexidade da resistência à mancha angular no feijão-comum, revelando um caráter complexo com herança quantitativa, em que os genes de efeito principal são os principais determinantes da resistência específica, os genes de efeito secundário podem desempenhar um papel modulador, cuja expressão pode variar em diferentes ambientes. A interação entre genes de efeito principal e secundário, juntamente com a influência do ambiente, contribui para a complexidade genética da resistência (GONÇALVES-VIDIGAL et al., 2011; LIBRELON et al. 2020; MAHUKU et al., 2009; NAY et al., 2019), conferindo respostas genéticas diferentes (NAY et al., 2019). A resistência foi encontrada nas cultivares diferenciadoras Mesoamericanas: México 54, Cornell 49-242 e BAT 332, com reação de incompatibilidade (resistência) a 40, 31 e 31 raças diferentes, respectivamente; e a fonte Andina: G5686, com resistência a 34 raças, de um total de 60, são as principais fontes de resistência usadas do Brasil (NAY et al., 2019; NIETSCHKE et al., 2002).

No entanto, a raça 63-63 prevalece sobre todos os alelos de resistência existentes no conjunto de diferenciadoras, constatando a necessidade de identificação e caracterização de novas fontes de resistência à mancha angular, capazes de suplantarem a raça 63-63 (LIBRELON et al., 2020; PÁDUA et al., 2022; PEREIRA et al., 2019).

Os estudos sobre a identificação de fontes de resistência para a mancha angular do feijão-comum tiveram início com Sartorato et al. (1999), que foram os primeiros a identificar um marcador molecular próximo a um loco de resistência na população segregante obtidas a partir do cruzamento biparental entre os genótipos México 54 e Rudá. Os autores caracterizaram a resistência como sendo monogênica devido à presença de um único gene. Caixeta et al. (2005), por meio de testes de alelismo utilizando quatro cultivares resistentes verificaram que a resistência é oriunda de diferentes alelos, portanto, maior complexidade de herança em relação aos estudos anteriores. Além disso, os autores identificaram que o genótipo Cornell 49-242 apresenta um loco com alelo dominante, enquanto o genótipo México 54 possui três locos de resistência (*Phg-2*, *Phg-5* e *Phg-6*).

Após esses estudos, vários outros foram realizados para identificar locos relacionados à resistência ao fungo causador da mancha angular no feijão-comum. López et al. (2003) identificaram cinco locos ligados à resistência à mancha angular, caracterizando herança poligênica para resistência. Mahuku et al. (2009) e Gonçalves-Vidigal et al. (2011) reportaram locos responsáveis por conferir resistência à várias raças do patógeno, ambos mapeados no cromossomo Pv01. Oblessuc et al. (2012) identificaram sete QTL de resistência em uma população segregante, sendo o QTL ALS10.1<sup>UC</sup> o de maior efeito. Keller et al. (2015) identificaram três QTL relacionados, sendo o de maior efeito mapeado no cromossomo Pv04. Perseguini et al. (2016) identificaram onze associações significativas para a avaliação de resistência, sendo o cromossomo Pv4 detentor de seis marcadores significativos. Fritsche-Neto et al. (2019) identificaram dois SNPs significativos no cromossomo Pv11. Nay et al. (2019) identificaram o loco do Pv08, denominado *Phg-2*, responsável pela resistência a várias raças de mancha angular, em casa de vegetação e em condições naturais.

A resistência à mancha angular em plantas de feijão-comum é oligogênica, envolvendo diversos loci relacionados à resistência à *P. griseola*, alguns com efeitos principais e outros secundários. Alguns locos foram identificados em diferentes populações, incluindo regiões mapeadas no cromossomo Pv01, tais como locos de efeito primário, como o ALS10.1<sup>UC</sup> e o ALS4.1<sup>GS/UC</sup>. A consideração de diferentes raças do fungo causador da doença é essencial, visto que a resistência pode ser específica para cada uma delas. Diversas metodologias, como



mapeamento associativo, GWAS (Estudo de Associação Genômica Ampla) e análise de co-segregação, contribuíram para a identificação de locos relacionados à resistência em feijão-comum.

Somente em novembro de 2015, durante a reunião do Comitê Genético da BIC realizada durante o Encontro BIC em Niagara Falls, Canadá, é que cinco locos foram oficialmente reconhecidos como associados à resistência genética do feijão-comum à mancha angular (SOUZA et al., 2016). Destes, três desses locos são independentes e dominantes (*Phg-1*, *Phg-2* e *Phg-3*), mapeados nos cromossomos Pv01, Pv08 e Pv04, respectivamente, enquanto os outros 2 são QTL de maiores efeitos (*Phg-4* e *Phg-5*), mapeados no cromossomo Pv04 e Pv10, respectivamente (Tabela 2).

Essa classificação oficial dos locos de resistência à mancha angular do Comitê Genético da BIC, representou um marco importante no entendimento da resistência genética do feijão-comum a essa doença. Esses cinco locos reconhecidos, incluindo os três genes (*Phg-1*, *Phg-2* e *Phg-3*) e os dois QTLs de grande efeito (*Phg-4* e *Phg-5*), agora servem como referência para programas de melhoramento genético. Após esses estudos, outros trabalhos têm contribuído significativamente para a identificação de regiões genômicas envolvidas na resistência à mancha angular. Destacam-se os estudos conduzidos por Almeida et al. (2021), Fritsche-Neto et al. (2019), Pádua (2022), Pereira et al. (2019) e Vidigal Filho et al. (2020).

Fritsche-Neto et al. (2019) avaliaram 60 linhagens de feijão-comum, as quais representam o germoplasma elite, desenvolvido pelo programa de melhoramento da EMBRAPA ao longo de 22 anos, para medir a severidade da mancha angular e da antracnose. Os autores identificaram um marcador genético significativo localizado no cromossomo Pv10, que explicou 19% da variação fenotípica para a resistência à mancha angular. Vidigal Filho et al. (2020) identificaram dois SNPs associados à resistência à raça 31-23, um no cromossomo Pv02 e outro no Pv04, e outros seis para a raça 63-39, sendo um no Pv03 e outro no Pv06, e os outros quatro no Pv08, entre 44,5 Mb e 46 Mb.

Pereira et al. (2019) mostraram que a resistência à mancha angular no feijão-comum é quantitativa e varia de acordo com o estágio fenológico da planta. Obléssuc et al. (2012) identificaram vários QTLs responsáveis pela resistência a mancha angular no feijão-comum utilizando uma população de 346 linhagens recombinantes provenientes do cruzamento entre IAC-UNA x CAL 143. Almeida et al. (2021) identificaram regiões genômicas associadas à resistência localizados em diferentes cromossomos, e cuja expressão pode variar dependendo do estágio de fenológico da planta. O loco *Phg-5* foi identificado em ambos os conjuntos genotípicos

e apresentou significância para os estádios V3, em condições controladas de infecção, e R8, com inoculação artificial em condições de campo. O marcador SNP ss715646348, na posição 40,16 Mb do cromossomo Pv10, associado ao loco *Phg-5*, é de interesse para seleção assistida. O loco ALS10.2 foi significativo apenas para o estágio V2 (ALMEIDA et al., 2021). Já no estágio fenológico R8, Almeida et al. (2021) identificaram regiões genômicas associadas à resistência, destacando-se os QTLs ALS11.1, ALS3.1 e ALS10.1, situados nos cromossomos 11, 3 e 10, respectivamente, os quais explicaram uma média de 7,97% da variação fenotípica associada à resistência a esta doença.

Pádua (2022) identificou três regiões genômicas responsáveis pela resistência à *P. griseola*, sendo duas localizadas no cromossomo Pv08, em diferentes estádios fenológicos V2 (DART7825) e V3 (DART7260), e a terceira no cromossomo Pv04, no estágio V2 (DART3496). Todos os efeitos foram negativos explicando 53%, 57% e 44% da variação fenotípica associada à resistência, respectivamente. As posições específicas dos marcadores encontrados evidenciam que os alelos dos genes de resistência identificados são oriundos da linhagem resistente MAIII-16.159. Foi verificado que a resistência aumenta à medida que os estádios fenológicos avançam, sugerindo uma possível expressão de genes de efeito menor no estágio V3. Almeida et al. (2021) relatam observações semelhantes sobre este fato, destacando a importância não apenas das regiões genômicas identificadas, mas também da interação entre os estádios fenológicos e a expressão desses genes na resposta da planta à infecção por *P. griseola*.

Tabela 2 - Genes de resistência à mancha angular mapeados em feijão-comum.

Loco	Fonte de Resistência	Pool gênico	Cromossomo	Raça do patógeno	Referências
<i>Phg-1</i>	AND 277	A <sup>1</sup>	Pv01	63-23	CARVALHO et al., 1998; GONÇALVES-VIDIGAL et al., 2011.
<i>Phg-2</i>	Mexico 54	MA <sup>2</sup>	Pv08	63-19	NAMAYANJA et al., 2006; SARTORATO et al., 2000.
<i>Phg-2</i> <sup>2</sup>	BAT 332	MA	Pv08	63-39	NAMAYANJA et al., 2006.
<i>Phg-3</i>	Ouro Negro	MA	Pv04	63-39	CORRÊA et al., 2001; FALEIRO et al., 2003; GONÇALVES-VIDIGAL et al., 2013.
<i>Phg-4</i>	G5686	A	Pv04	31-0	KELLER et al., 2015; MAHUKU et al., 2009; SOUZA et al., 2016.
<i>Phg-5</i>	CAL 143	A	Pv10	0-39	KELLER et al., 2015; OBLESSUC et al., 2012; OBLESSUC et al., 2013; SOUZA et al., 2016.
	G5686	A	Pv10	31-0	KELLER et al., 2015.

<sup>1</sup> Andino; <sup>2</sup> Mesoamericano. Fonte: SOUZA et al. (2016)

## 2.5. Marcadores moleculares

Os marcadores moleculares são sequências de nucleotídeos localizadas em posições específicas do genoma, exibindo variabilidade entre os genótipos para análise de herança (SCHULMAN, 2007). Para sua adequada utilização, devem apresentar elevado polimorfismo, possibilitar a distinção entre alelos, ter distribuição uniforme no genoma, ser facilmente detectáveis, ter custo reduzido e alta reprodutibilidade (XU, 2010). O uso desses marcadores auxilia na seleção fenotípica em plantas, independente do ambiente (RODRIGUES et al., 2019), sendo amplamente aplicado em estudos de diversidade genética, evolução, mapas genéticos, identificação de QTLs e genes candidatos, seleção assistida, seleção genômica e caracterização de bancos de germoplasma (MAHAJAN et al., 2023). A escolha do marcador mais adequado

depende do objetivo da pesquisa, recursos financeiros e infraestrutura disponível (RODRÍGUEZ et al., 2019).

Marcadores silico-DArTs e SNPs (Polimorfismos de Nucleotídeo Único) são os mais utilizados em estudos genômicos. A tecnologia DArTseq tem permitido a varredura de genomas inteiros em diversas espécies de plantas, independentemente de sequências específicas (JACCOUD et al., 2001). Os marcadores silico-DArTs são gerados por meio de adaptadores específicos que se ligam aos primers usados na etapa de enriquecimento por PCR, é um método baseado em hibridização. Esses adaptadores contêm sequências conhecidas que permitem a ligação seletiva aos locais de interesse no genoma, facilitando a amplificação seletiva de fragmentos de DNA durante a PCR (ADU et al., 2021). O polimorfismo é detectado pela presença ou ausência de sequências entre as amostras, denominado de Variantes de Presença-Ausência (PAV - Presence-Absence Variants), que são registrados utilizando um sistema binário (1 ou 0), os quais são conhecidos como marcadores in silico DArT. Com essa abordagem, o método DArTseq oferece uma análise abrangente e eficiente do genoma, sendo útil em estudos de variabilidade genética, mapeamento genético, detecção de polimorfismo de DNA e associação genômica em diferentes organismos (MACE et al., 2009).

Os SNPs, por sua vez, são uma das formas mais comuns de marcadores genéticos, amplamente distribuídos no genoma, apresentando alta frequência populacional (GOMES-MESSIAS et al., 2022; GUPTA; SALGOTRA; VENEGAS, 2022; HUSTER et al., 2021). Os SNPs consistem em variações de um único nucleotídeo presentes em pelo menos 1% da população (SCHROEDER; FLADUNG, 2010). Devido à sua alta frequência, os SNPs são amplamente utilizados em genotipagem de larga escala, permitindo a identificação de marcadores associados a características complexas. Eles se tornaram uma ferramenta valiosa na pesquisa genética, auxiliando na identificação de genes relacionados a doenças e no entendimento da variação genética entre populações (NAY et al., 2019). Estes marcadores têm sido utilizados em estudos de associação genômica, genética populacional, mapeamento genético e diagnóstico de doenças genéticas.

Painéis de genotipagem que empregam marcadores altamente polimórficos, como SNPs e silico-DArTs, validados e distribuídos de maneira abrangente pelo genoma, oferecem uma abordagem simplificada e acessível para análises genéticas em grande escala (ALMEIDA et al., 2021). Eles podem ser utilizados em programas de melhoramento genético, fornecendo marcadores bialélicos e codominantes, identificando genes e locos associados a características quantitativas, avaliando diversidade genética, realizando análises de associação e selecionando

genótipos com base em marcadores (CARRO-HUELGA et al., 2019). A construção de chips de genotipagem com um grande número de SNPs validados tem demonstrado a importância no melhoramento de plantas, destacando-se na genômica (BORNOWSKI et al., 2020; COSTA et al., 2021; PAULINO et al., 2021; SONG et al., 2015). Esses painéis simplificam e tornam mais acessível a análise de dados genéticos em grande escala, oferecendo alta resolução. A utilização de painéis de diversidade e ensaios BeadChip aumentou significativamente a probabilidade de obter marcadores fortemente ligados para genes alvos. O primeiro chip para feijão-comum, relatado por Blair et al. (2013), continha 763 SNPs validados, proporcionando uma ferramenta essencial para estudos genéticos e de melhoramento. Posteriormente, Song et al. (2015) introduziu o BeadChip BARCBean6K\_3 (Illumina), que é composto por um conjunto de 5.398 SNPs validados. O mais recente é o BeadChip BARCBean12K Illumina, com 11.292 SNPs validados, é um importante avanço tecnológico que aumentou significativamente a capacidade de obtenção de marcadores fortemente ligados ao gene alvo (MIKLAS et al., 2020). A abordagem de mapeamento de QTLs tem sido uma ferramenta valiosa para a identificação de regiões genômicas associadas a características de importância econômica no feijão-comum. Essa abordagem foi utilizada para mapear regiões genômicas associadas à resistência a uma série de doenças, incluindo podridões radiculares (DRAMADRI et al., 2020; HUSTER et al., 2021; PAULINO et al., 2021; ZITNICK-ANDERSON et al., 2020), cretamento bacteriano (MONTEIRO et al., 2021; SIMONS et al., 2021), mofo branco (CAMPA; GARCIA-FERNÁNDEZ, 2020; JUNIOR; FERREIRA, 2023), antracnose (BANOO et al., 2020; COSTA et al., 2021; ZUIDERVEEN et al., 2016) e mancha angular (ALMEIDA et al., 2021; FRITSCHÉ-NETO et al., 2019; NAY et al., 2019; PERSEGUINI et al., 2016; VIDIGAL FILHO et al., 2020). A identificação de marcadores associados à resistência a essas doenças é um passo importante para o desenvolvimento de cultivares mais resistentes.

## **2.6. Linhagens endogâmicas recombinantes**

As RILS (Recombinant Inbred Lines ou Linhagens Endogâmicas Recombinantes) são populações de plantas que são obtidas a partir de um cruzamento biparental. Após o cruzamento, as plantas são autofecundadas ou acasaladas entre irmãos repetidas vezes, até que se tornem linhagens endogâmicas (BROMAN, 2005). O genoma dessas linhagens contém os genes dos dois progenitores, em diferentes combinações. A utilização das RILs é importante, pois permite identificar genes de interesse responsáveis por características complexas, como a resistência a doenças (PÁDUA, 2022).

Para a obtenção de populações de RILs, é necessário que os genitores apresentem contrastes significativos no caráter de interesse. O método mais utilizado para gerar RILs é o SSD (Single Seed Descent), que é realizado a partir da geração  $F_2$ . Neste método cada planta é sucessivamente autofecundada até a geração  $F_6$  ou superior, utilizando apenas uma semente por planta para avançar as gerações. Cada RIL representa uma planta  $F_2$ , o que garante que a variabilidade presente na população  $F_2$  esteja representada nas RILs resultantes (POLLARD, 2012).

As RILs apresentam diversas vantagens, dentre as quais destacam-se a alta variabilidade genética, alto grau de homozigose, viabilidade de experimentos replicados e maior resolução no mapeamento genético (BROMAN, 2005; PÁDUA, 2022). A obtenção de estimativas confiáveis de parâmetros genéticos, fundamentadas em dados acurados de populações RILs, demanda tamanhos populacionais e quantidades apropriadas de marcadores. É importante considerar também, fatores como o tipo de população, a taxa de segregação de cada loco, a frequência de recombinação e o valor de LOD (Logarithm of Odds, ou logaritmo da probabilidade) utilizado para detectar a ligação (SILVA et al., 2007). Populações de 150 até 500 RILs são suficientes para a obtenção de mapas confiáveis com nível de saturação do genoma alto (5 cM de distância média entre marcas), médio (10 cM de distância média entre marcas) e baixo (20 cM de distância média entre marcas) (SILVA et al., 2007; SINHA; KUSHWAHA; DESHMUKH, 2022). Além disso, é importante considerar a seleção de marcadores polimórficos se são distribuídos uniformemente ao longo do genoma, a escolha de um valor de LOD adequado é fundamental para evitar o aparecimento de falsos positivos quando baixo ou omissões de ligações quando alto. Portanto, é necessário um equilíbrio entre a sensibilidade e a especificidade na definição do valor de LOD (DE RON et al., 2022; TIGIST et al., 2019).

Um estudo de associação genética acurado a partir de populações de RILs é um procedimento complexo e está sujeito aos fatores citados que devem ser considerados para garantir a eficácia. Diversos estudos com populações RILs de feijão-comum foram utilizadas em estudos de resistência a doenças, tolerância a estresses e qualidade de grãos (BASSI et al., 2017; BRÍÑEZ et al., 2017; BRUN et al., 2010; OBLESSUC et al., 2012, 2022).

## **2.7. Desequilíbrio de ligação em fase gamética para mapeamento genético**

Nas últimas décadas, marcadores moleculares baseados em DNA têm sido utilizados em estudos genéticos de espécies vegetais. Um dos seus usos é a construção de mapas moleculares genômicos no feijão-comum por meio de marcadores moleculares, pois permitem a

identificação de locos gênicos associados a alterações da expressão fenotípica de caracteres (AYTENFSU; TEREFE, 2023).

A identificação e validação de QTLs é uma estratégia eficiente utilizada em programas de melhoramento para identificar locos associados a caracteres de interesse agrônômico. O mapeamento de ligação é uma estratégia comumente utilizada para identificar QTLs. Uma parcela de marcadores moleculares atualmente empregados em programas de melhoramento foi identificada por meio deste método. Nesse procedimento, uma população biparental é gerada com o intuito de identificar regiões genômicas que segregam junto com uma característica de interesse, como por exemplo, a resistência de plantas a doenças (DIAZ et al., 2020; KOVER et al., 2009).

Nessa abordagem, são utilizadas populações de cruzamentos, nos quais os genitores são conhecidos, como é o caso, por exemplo, em espécies autógamas. O mapeamento de ligação é realizado com base em populações F<sub>2</sub>, retrocruzamentos ou RILs (CARNEIRO; VIEIRA, 2002; COCKRAM; MACKAY, 2018), o objetivo consiste em identificar regiões do genoma que apresentam co-segregação com a característica de interesse. Embora essa abordagem possua resolução limitada ela é eficiente na demarcação de regiões genômicas associadas a caracteres específicos (DIAZ et al., 2020).

Por outro lado, o mapeamento de associação identifica associações diretas entre marcadores e caracteres em uma população mais ampla. O GWAS, devido ao seu baixo desequilíbrio de ligação (LD), oferece maior resolução na identificação de genes específicos. Porém, é importante observar a estrutura populacional, podem resultar em falsas associações, tendo por isso a necessidade de ter grandes populações para mitigar os efeitos das baixas frequências alélicas e utilizar a matriz de parentesco como covariável no modelo (ALMEIDA et al., 2021; COSTA et al., 2020; DIAZ et al., 2020; OMRANI et al., 2019).

O LD é a associação não aleatória entre dois marcadores genéticos, genes ou QTLs situados próximos um do outro no cromossomo, ou seja, seria a correlação entre polimorfismos de uma população (GUPTA; RUSTGI; KULWAL, 2005; MYLES et al., 2009; RAFALSKI, 2010). Como resultado da ligação genética, esses genes tendem a ser transmitidos juntos para as gerações futuras, sendo menos provável que ocorra recombinação entre eles (GUPTA; RUSTGI; KULWAL, 2005).

Entretanto, o LD pode ser originado não somente devido à ligação genética direta, mas também devido a fenômenos como seleção natural, mutação, deriva genética, estrutura

populacional, endogamia, tamanho populacional reduzido e epistasia (DIAZ et al., 2020; GUPTA; RUSTGI; KULWAL, 2005; ROSSI et al., 2009). É importante entender esses fatores ao interpretar os resultados dos estudos de LD para evitar erros de interpretação, pois se um estudo de LD encontrar uma associação entre dois marcadores genéticos, é possível que o LD seja causado por um fator diferente da ligação genética (DIAZ et al., 2020).

Portanto a distância entre os marcadores genéticos, o tamanho da população e a história evolutiva da população são outros fatores importantes a serem considerados (DIAZ et al., 2020; GUPTA; RUSTGI; KULWAL, 2005). Marcadores genéticos distantes, populações pequenas e eventos históricos, como seleção natural e deriva genética, podem causar LD mesmo que não haja ligação genética entre os marcadores ou genes estudados. Ao considerar esses fatores, os pesquisadores podem melhorar sua capacidade de interpretar os resultados dos estudos de LD e evitar erros de interpretação (GUPTA; RUSTGI; KULWAL, 2005).



### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Painel de RILs**

O painel de estudos para identificação a resistência à Mancha Angular obtido por Pádua (2022) foi gerado a partir do cruzamento biparental entre a linhagem MAIII-16.159, resistente à *P. griseola*, e a cultivar BRS Horizonte, suscetível. A partir da geração F<sub>2</sub>, a população foi avançada pelo método de seleção SSD (Single Seed Descent). Na geração F<sub>7</sub>, foram obtidas 180 linhagens recombinantes que foram fenotipadas e genotipadas, para identificação de marcadores silico-DArTs e SNPs. A população obtida, foi inicialmente planejado para o mapeamento de QTLs, mas não se mostrou adequado devido a um desvio de segregação acentuado. Como alternativa, realizou-se a análise de associação genômica sob condições de alto desequilíbrio de ligação.

#### **3.2. Extração de DNA dos genótipos**

O DNA das linhagens e dos genitores foram extraídos por Pádua (2022) a partir de folhas jovens com o Mini Kit da Planta DNeasy da Qiagen<sup>®</sup>, seguindo as instruções do fabricante. As amostras foram coletadas e processadas conforme o protocolo, desde a lise das células até a purificação do DNA. Após a extração, a concentração e qualidade do DNA foram avaliadas utilizando o sistema Qubit da Thermo Scientific<sup>®</sup>, que forneceu dados sobre a quantidade de DNA obtida e a pureza da amostra. A integridade do DNA foi avaliada por meio de eletroforese em gel de agarose 1%.

#### **3.3. Genotipagem e identificação dos marcadores SNP e silico-DArT**

Conforme descrito por Pádua (2022) a genotipagem foi realizada pela empresa Diversity Arrays Technology Pty. Ltd., sediada em Yarralumia, ACT, Canberra, Austrália. As amostras de DNA foram devidamente acondicionadas e enviados à empresa. A genotipagem foi conduzida através da metodologia DArTseq, seguindo o protocolo estabelecido por Kilian et al. (2012). Essa abordagem emprega a redução de complexidade genômica, alinhada às tecnologias de próxima geração de sequenciamento (NGS - Next-generation sequencing) (MARDIS, 2008). Os marcadores silico-DArTs e SNPs foram identificados nas amostras de DNA das linhagens recombinantes e seus genitores.

### 3.4. Fenotipagem de severidade da mancha angular nas linhagens recombinantes

As 180 linhagens e seus genitores, foram avaliadas em campo durante a safra das águas de 2022/2023. Os dados de precipitação e temperatura foram obtidos da Estação Climatológica Principal da UFLA, localizada em Lavras, Minas Gerais, no período de 16 de nov. de 2022 a 06 de fev. de 2023. Essa estação é parceira do INMET e está localizada a 21°14'S de latitude, 45°00'W de longitude e possui uma altitude de 918,84 metros (INMET, 2023). A severidade da mancha angular foi avaliada 82 dias após a semeadura, no estágio fenológico R8. O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados (DBC) com duas repetições. Cada parcela consistiu em duas linhas de dois metros de comprimento com 33 sementes. Para essa avaliação, empregamos a escala de notas de Schoonhoven e Pastor-Corrales (1987), que varia de 1 a 9 (Tabela 3), atribuindo uma nota média por parcela.

Tabela 3 - Escala descritiva de notas para a avaliação da severidade da mancha angular no feijão-comum no estágio R8.

Nota	Descrição
1	Ausência de sintomas;
2	Presença de lesões não-esporuladas cobrindo até 3% da área foliar;
3	Lesões não-esporuladas abrangendo até 5% da área foliar;
4	Lesões esporuladas cobrindo cerca de 10% da área foliar;
5	Lesões esporuladas de 2 mm ou 3 mm cobrindo cerca de 10-15% da área foliar;
6	Lesões esporuladas com mais de 3 mm de diâmetro, afetando aproximadamente 15-20% da área foliar;
7	Lesões esporuladas com mais de 3 mm de diâmetro, afetando aproximadamente 20-25% da área foliar;
8	Lesões extensas, frequentemente acompanhadas de tecidos cloróticos que podem se fundir e cobrir de 25% a 35% da área foliar;
9	Presença de sintomas graves da doença, incluindo queda prematura das folhas e morte das plantas.

Fonte: SCHOONHOVEN; PASTOR-CORRALES (1987).

### 3.5. Análises estatísticas dos dados fenotípicos

As estatísticas descritivas e a análise de variância (ANOVA), bem como os parâmetros genéticos, foram estimados utilizando o software R (R Core Team, versão 4.0.4). A

normalidade dos resíduos da ANOVA foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk (SHAPIRO; WILK, 1965). As notas médias de severidade das linhagens foram comparadas pelo teste de comparação múltipla de Scott-Knott ao nível de 5 % de probabilidade utilizando o software SISVAR (FERREIRA, 2019).

### **3.6. Estudo de Associação Genômica**

A análise foi conduzida utilizando o software R (R Core Team, versão 4.0.4). Para este estudo, foi utilizado o modelo misto Circulating Probability Unification - FarmCPU (LIU et al., 2016), que combina efeitos fixos e aleatórios, implementado por meio do software GAPIT (WANG et al., 2021). Para controlar possíveis efeitos da estrutura populacional, foram utilizadas técnicas de análise de Componentes Principais (PCA) em conjunto com a matriz de parentesco. Para facilitar a visualização dos resultados e identificar locais de associação, gráficos de Manhattan foram gerados utilizando o pacote qqman v0.1.2 (TURNER, 2014).

### **3.7. Identificação de genes candidatos**

Após a detecção de marcadores significativamente associados ( $p$ -valor  $< 0,05$ ) à reação de resistência à *P. griseola* sob incidência natural, foi realizada a análise de busca por genes candidatos no Jbrowse Phytozome v1.16.9 (BUELS et al., 2016; JBROWSE, 2023), utilizando o genoma *Phaseolus vulgaris* v2.1 (SCHMUTZ et al., 2014). Para a identificação de genes que estão próximos aos marcadores associados, foi definida uma região genômica com uma janela de 350 Kb. Posteriormente, foi realizada a anotação funcional desses genes para visando identificar a sua função na determinação da resistência à doença.

## **4. RESULTADOS**

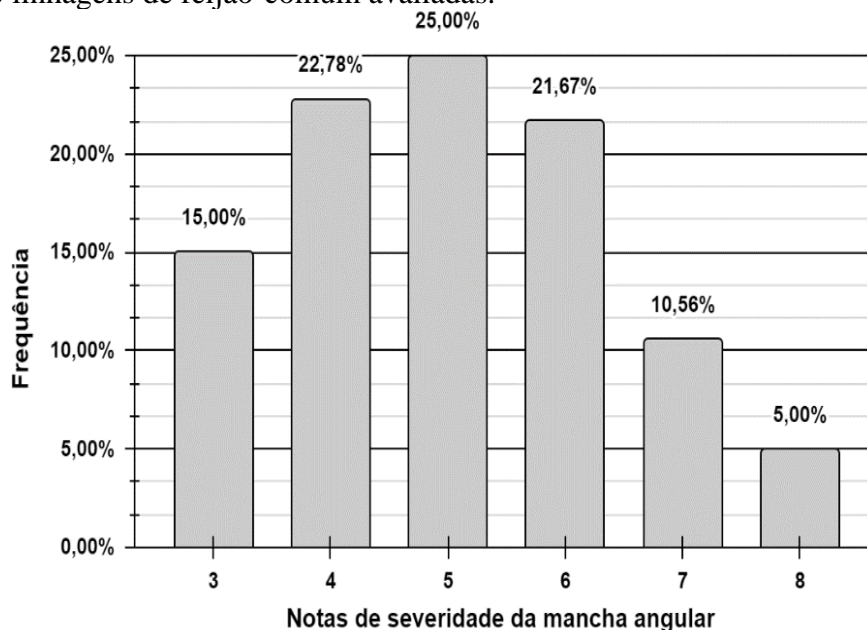
### **4.1. Dados meteorológicos**

De acordo com os dados meteorológicos durante a safra das águas 2022/2023, a área experimental registrou um volume total de precipitação de 926,8 mm, sendo que o dia 10 de janeiro de 2023 foi o mais chuvoso, com 82,6 mm de precipitação. A média durante esse período foi de 12,35 mm, com 57,32% dos dias marcados por ocorrências de chuva. A umidade relativa do ar durante esse período foi em torno de 77,06%, enquanto a temperatura média foi de 22,8°C. As temperaturas extremas registradas compreenderam uma mínima de 17,9°C e uma máxima de 28,4°C (ANEXO A).

### **4.2. Fenotipagem da severidade da mancha angular**

As linhagens apresentaram diferenças significativas para a severidade da mancha angular ( $p$ -valor < 0,01), indicando a presença de variabilidade genética. O coeficiente de variação experimental (CV) foi estimado em 17,81%, enquanto a herdabilidade no sentido amplo ( $h^2$ ) foi de 0,78. As notas de severidade da mancha angular entre as linhagens avaliadas no estágio R8 variaram de 3 a 8, com uma média de 5, sendo as notas médias das linhagens genitoras MAIII 16159 e BRS Horizonte 3 e 7, respectivamente. De acordo com o teste de Scott-Knott, as médias das notas de severidade da mancha angular das linhagens foram classificadas em quatro grupos (ANEXO B). As linhagens do grupo que foram classificadas como resistentes apresentaram nota de severidade máxima de 4. De acordo com o critério de Paula Júnior et al. (2012), 37,78%, 46,67% e 15,56% das linhagens avaliadas podem ser classificadas como resistentes (notas  $\leq 4$ ), moderadamente resistentes (notas 5 e 6) e suscetíveis (notas  $\geq 7$ ), respectivamente (Figura 1).

Figura 1 - Distribuição de frequência das notas médias de severidade da mancha angular das 180 linhagens de feijão-comum avaliadas.



Fonte: Dados do autor (2023).

#### 4.3. Genotipagem de marcadores SNPs e silico-DarTs

Um total de 23.786 marcadores genéticos, foi considerado inicialmente, dos quais 14.018 eram DArTs e 9.768 eram SNPs. Para a filtragem, foram removidos alelos com frequência menor que 0,05 ( $MAF > 0,05$ ) e call rate  $> 0,90$  e aqueles que foram monomórficos nos genitores e heteromórfico na progênie. Portanto, foram selecionados 4.932 marcadores para a análise de associação, consistindo em 1.982 SNPs e 2.950 DArTs. Em média, cada cromossomo foi identificado com 180 marcadores SNPs, variando de 74 no cromossomo Pv05 a 332 no cromossomo Pv08. Em relação aos marcadores DArTs, foi observada uma média de 268 marcadores por cromossomo, variando de 108 no cromossomo Pv05 a 532 no cromossomo Pv08 (Tabela 4).

Tabela 4 - Marcadores SNPs e silico-DArTs selecionados por cromossomo.

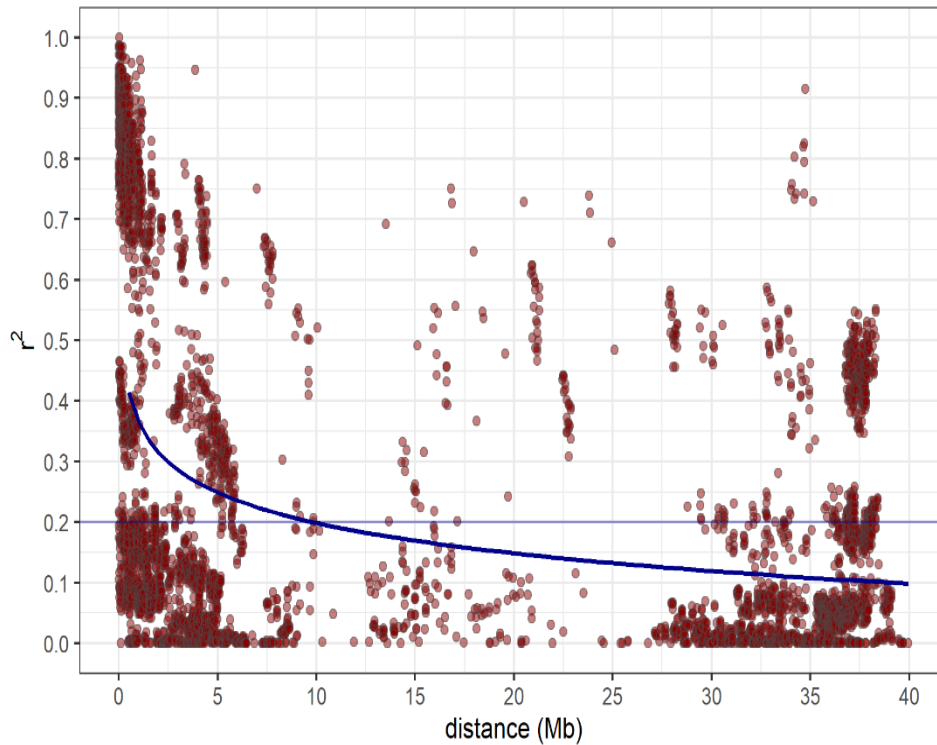
Cromossomo	Quantificação de marcadores	
	SNPs	DArTs
Pv01	154	224
Pv02	330	400
Pv03	162	251
Pv04	137	259
Pv05	74	108
Pv06	192	255
Pv07	189	268
Pv08	332	532
Pv09	144	178
Pv10	189	294
Pv11	79	181
Total	1982	2950
Média / cromossomo	180	268
Mínimo – Máximo	74 – 332	108 - 532

Fonte: Dados do autor (2023).

#### 4.4. Desequilíbrio de ligação no genoma

Foi adotado um ponto de corte de 0,2 na avaliação de LD, o qual é alcançado aproximadamente em um intervalo de 10 megabases (Mb). A maioria dos marcadores está localizada dentro dessa extensão, possivelmente devido a autofecundação do feijão-comum. O padrão de LD é caracterizado por um decaimento gradual em várias megabases do genoma, conforme ilustrado pela linha azul. Isso indica que a diminuição do LD é progressiva à medida que a distância entre marcadores aumenta (Figura 2).

Figura 2 - Padrão de decaimento do desequilíbrio de ligação e densidade de marcadores ao longo do genoma. A linha azul no gráfico representa o padrão de decaimento do LD em todo o genoma. O ponto de corte, onde o valor de  $r^2 = 0,2$ , é indicado pela linha cinza. Os pontos vermelhos no gráfico representam a distância entre dois marcadores do genoma.

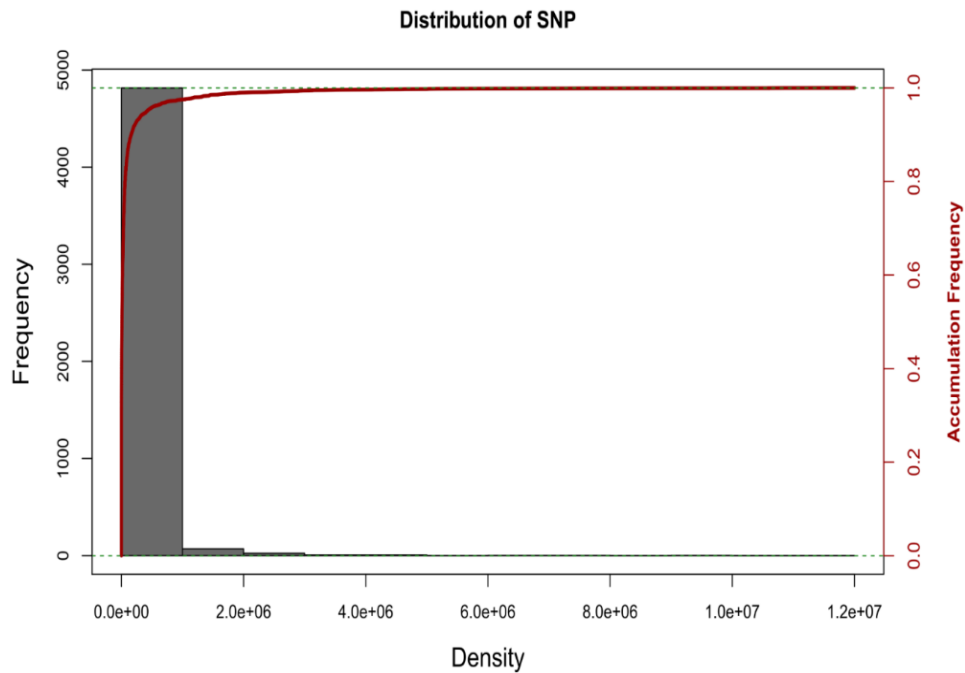


Fonte: Dados do autor (2023).

#### 4.5. Densidade de marcadores

A análise de densidade de SNPs (Figura 3) revelou que a maioria das regiões do genoma apresentou baixa densidade, com apenas poucas regiões apresentando uma densidade mais alta. Esse padrão é consistente com o parentesco do painel, o que aumenta a probabilidade de que eles compartilhem os mesmos marcadores genéticos.

Figura 3 - Arranjo da densidade dos SNPs no genoma do painel.



Fonte: Dados do autor (2023).

#### 4.6. Análise de associação genômica

Foi identificado um marcador genético com associação significativa à resistência contra *P. griseola* ( $p$ -valor  $< 0,01$ ) (Figura 4-A) no estágio fenológico R8 da planta de feijão-comum. O efeito do marcador é negativo, de -0,9223, o que significa que ele está associado à redução da severidade da doença, explicando 47% da variabilidade fenotípica (Tabela 5). Outras informações sobre este marcador são apresentadas na referida tabela. O marcador DART3819 está localizado na posição 14.329.208 pb do cromossomo Pv04. Tanto o marcador identificado quanto sua sequência de nucleotídeos correspondente estão detalhados na Tabela 6. O resultado da análise foi visualizado por meio dos Manhattan Plot (Figura 4-A) e QQ Plot (Figura 4-B). As linhagens com o marcador DART3819 apresentaram notas de severidade significativamente inferiores em relação às linhagens sem o marcador (Figura 5).



Tabela 5 - Marcador molecular, obtido a partir da análise de associação usando o painel de 180 linhagens endogâmicas e seus genitores MAIII-16.159 e BRS Horizonte, avaliado fenotipicamente para resistência à mancha angular no estágio fenológico R8.

Marcador	Cromossomo	Posição Física (Pb)	<i>p</i> -valor	MAF	Efeito	R <sup>2</sup>
DART3819	Pv04	14.329.208	3,02E-06	0,40	-0,92	0,47

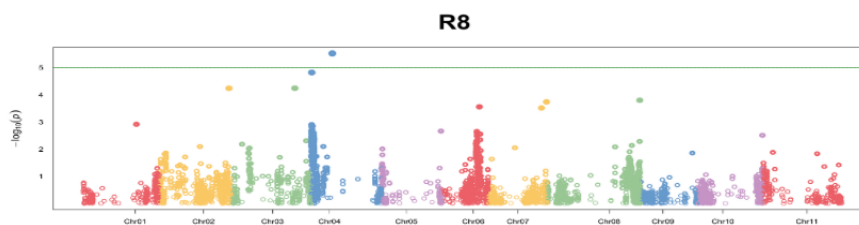
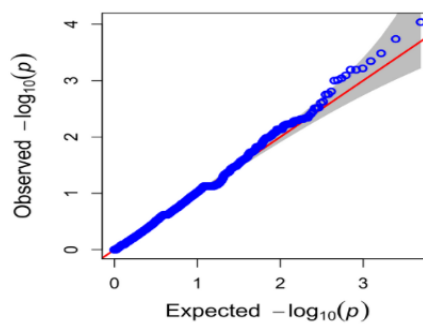
Fonte: Dados do autor (2023).

Tabela 6 - Sequência de nucleotídeos do marcador identificado associado à resistência à *P. griseola*.

Marcador	Cromossomo	Sequência de nucleotídeos
DART3819	Pv04	TGCAGATCAAGAGGTCACCGGTTCGAAC- CCGGTTGGGGGGCCCTTTCTTTTACAGA- TCGGAAGAGCGGT

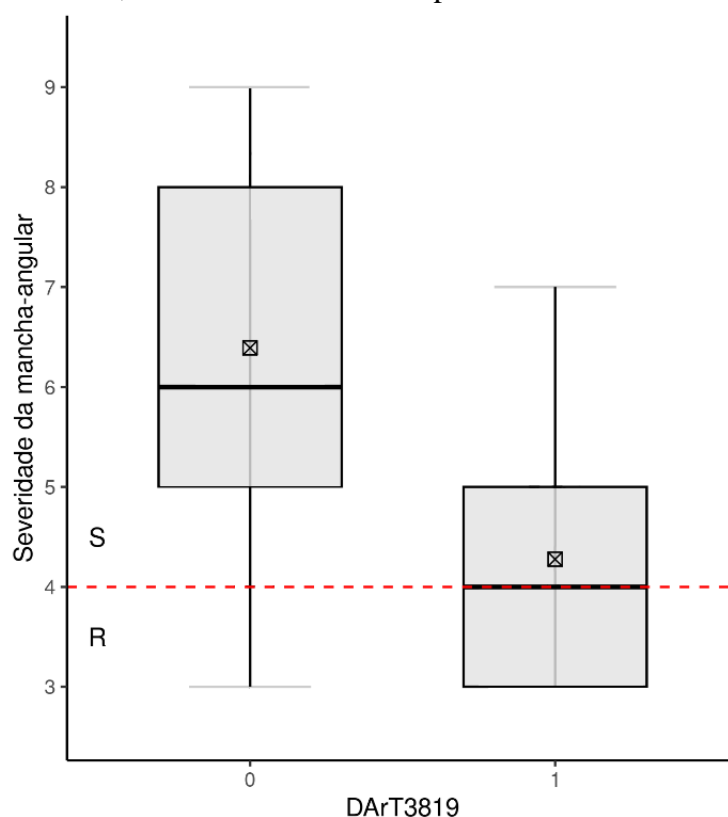
Fonte: Dados do autor (2023).

Figura 4 - Manhattan Plot (A) e QQ Plot (B) para análises de associação usando 180 linhagens endogâmicas obtidas do cruzamento MAIII-16.159 x BRS Horizonte genotipadas com 4.932 marcadores após filtragem e avaliadas quanto à reação à *P. griseola* no estádio R8. A linha verde no gráfico de Manhattan Plot é o limite de significância, enquanto a linha vermelha no QQ Plot é a referência que representa a distribuição esperada dos dados.

**A****B**

Fonte: Dados do autor (2023).

Figura 5 - Boxplot das pontuações de severidade da mancha angular no painel de fenotipagem. Linhagens sem o marcador são representadas por 0, enquanto as linhagens com o marcador são representadas por 1. A linha vermelha indica o limiar entre resistência e suscetibilidade, conforme determinado pelo teste de Scott-Knott.



Fonte: Dados do autor (2023).

#### 4.7. Genes candidatos à resistência à *P. griseola*

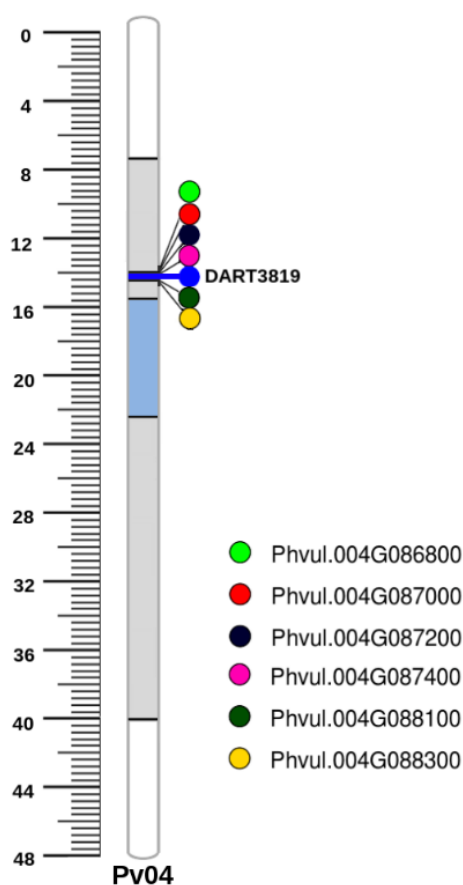
Utilizando-se a v2.1 da sequência genômica do feijão-comum no Phytozome v1.16.9 (BUELS et al., 2016) e considerando uma janela de 350 Kb no genoma, foram identificados próximos ao marcador DART3819 os genes, *Phvul.004G086800*, *Phvul.004G087000*, *Phvul.004G087200*, *Phvul.004G087400*, *Phvul.004G088100*, *Phvul.004G088300* e *Phvul.004G095700* (Tabela 7 e Figura 6).

Tabela 7 - Anotações dos genes identificados baseados na posição física do marcador DART3819.

Genes	Anotações dos genes
<i>Phvul.004G086800</i>	Regulador de senescência;
<i>Phvul.004G087000</i>	Síntese laccase, Cupredoxin e Multicopper oxidase;
<i>Phvul.004G087200</i>	Oxidoredutase, N-termina e NAD(P)-binding domain;
<i>Phvul.004G087400</i>	Oxidoredutase, N-termina e NAD(P)-binding domain;
<i>Phvul.004G088100</i>	Fator de iniciação da tradução eIF-4 gama, domínio MA3;
<i>Phvul.004G088300</i>	Síntese da proteína gigantea;

Fonte: Dados do autor (2023).

Figura 6 - Mapa genético dos genes de resistência identificados para a mancha angular no braço curto do cromossomo Pv04. As áreas centroméricas e pericentroméricas são visualizadas em tons de azul claro e cinza, respectivamente. As posições físicas são indicadas em pares de megabases (Mb), seguindo o genoma de referência.



Fonte: Dados do autor (2023).

## 5. DISCUSSÃO

O controle genético da resistência à *P. griseola* no feijão-comum é determinado por genes de efeito principal e genes de efeito secundário (ALMEIDA et al., 2021; GONÇALVES-VIDIGAL et al., 2013; KELLER et al., 2015; OBLESSUC et al., 2012; SOUZA et al., 2016). No entanto, a resistência é dificultada pelo surgimento frequente de novas raças de *P. griseola* com diferentes níveis de virulência (AYTENFSU; TEREFE, 2023). A busca por fontes duradouras de resistência é importante para a eficácia das estratégias de melhoramento genético, o que inclui o desenvolvimento de marcadores moleculares capazes de identificar genes associados a resistência a doenças. A estratégia de introgressão de alelos de resistência provenientes de grupos gênicos distintos, por meio da seleção assistida por marcadores, é uma abordagem promissora na obtenção de cultivares de feijão-comum que sejam resistentes e sustentáveis ao longo do tempo (GOMES-MESSIAS et al., 2022; MILLER et al., 2018; VIEIRA et al., 2018).

Neste trabalho, uma população biparental foi sintetizada e avançada até F<sub>7</sub> pelo método de SSD para a obtenção de linhagens endogâmicas, com o objetivo de mapear QTLs. No entanto, a segregação fenotípica observada na geração F<sub>7</sub> apresentou um desvio significativo, não segregando na proporção 1:1. Esse desvio foi confirmado pelos dados genotípicos obtidos por Pádua (2022). Diversas estratégias foram adotadas para identificar tal distorção fenotípica observada. A análise incluiu a verificação da distribuição dos SNPs e a porcentagem de dados perdidos. Foi realizada a filtragem dos SNPs visando amenizar a distorção. Os marcadores heteromórficos, isto é, aqueles que apresentavam monomorfismo nos genitores e segregação nas progênes foram removidos. Os indivíduos com alta taxa de erro de genotipagem foram automaticamente removidos pelo próprio processo de filtragem, sendo que essa porcentagem foi baixa.

Contudo, o mapeamento de QTLs foi inviabilizado e outra estratégia foi utilizada para realizar inferência biológica sobre as regiões genômicas associadas com a resistência à mancha angular. As linhagens obtidas e os dois genitores apresentaram grande diversidade genética para vários caracteres, como altura de planta, porte, produtividade, resistência a outras doenças e, além disso, um alto desequilíbrio de ligação (PÁDUA, 2022). Portanto, para identificar essas regiões associadas à resistência à mancha angular, foi realizada uma análise de associação entre marcadores e fenótipo em condições de alto desequilíbrio de ligação. Essa estratégia apresenta menor resolução, mas proporciona informações suficientes para interpretações biológicas sobre

as regiões genômicas, de forma geral, responsáveis pela resistência à mancha angular (PÁDUA, 2022).

A herança da resistência à *P. griseola* é considerada tanto quantitativa quanto qualitativa, com vários locos associados à resistência (ALMEIDA et al., 2021; BASSI et al., 2017; NAY et al., 2019; PERSEGUINI et al., 2016). Durante os diferentes estádios fenológicos do feijão-comum, a resistência à mancha angular é influenciada por diferentes QTLs (ALMEIDA et al., 2021; PÁDUA, 2022; SILVA, 2023, comunicação pessoal; VIDIGAL FILHO et al., 2020). Conforme a planta desenvolve, genes de efeitos menores e maiores são expressos, manifestando uma resistência mais eficaz em estádios avançados, caracterizando a "resistência de planta adulta" (BARCELLOS et al., 1997; COSTA et al., 2006; BURDON et al., 2014; PEREIRA et al., 2019). O estudo de fenotipagem de Pereira et al. (2019) revelou que a suscetibilidade das plantas nos estádios V2 e V3 persistiu no campo, mas a resistência expressa nessas etapas de crescimento não se manteve necessariamente em estádios fenológicos posteriores. Diferentes regiões genômicas foram identificadas em outros estudos, mostrando a complexidade da resistência à mancha angular (ALMEIDA et al., 2021; NAY et al., 2019; PÁDUA, 2022; SILVA, 2023, comunicação pessoal).

No presente trabalho, a identificação da região genômica associada à resistência à *P. griseola* foi possível devido às diferenças observadas entre as linhagens endogâmicas do painel, a ocorrência natural do patógeno e às condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento da mancha angular (ANEXO A) durante a condução do experimento. É importante destacar que o clima subtropical é altamente propício para o desenvolvimento da mancha angular, devido às suas temperaturas amenas e à elevada umidade relativa (AYTENFSU; TEREFE, 2023). O clima subtropical, com temperaturas amenas na faixa de 20 a 25 °C e umidade relativa alta, é favorável para o desenvolvimento dessa doença. Nessa safra, as condições ambientais foram atípicas em relação aos anos anteriores, com um aumento significativo da ocorrência de doenças fúngicas, tal como a mancha angular. A alta pluviosidade neste período foi a principal causa deste aumento, mantendo as médias da umidade relativa do ar e da temperatura em 77,06% e 22,8°C, respectivamente (INMET, 2023).

As condições ambientais atípicas, podem ter influenciado a regulação da expressão gênica do feijão-comum devido a mecanismos epigenéticos (ALMEIDA et al., 2021; COSTA et al., 2006). Esse fenômeno pode ser influenciado por variáveis ambientais, como a exposição a patógenos, estresses ambientais e pelo estádio fenológico da planta. Evidências apontam que nos estádios iniciais, os genótipos tendem a mostrar maior suscetibilidade, uma ideia

corroborada por Librelon et al. (2015), os quais afirmaram que as fases iniciais de crescimento frequentemente resultam em sintomas mais graves nas plantas.

Por se tratar de um cenário de campo, as informações obtidas neste estudo são relevantes para o entendimento da resistência do feijão-comum à mancha angular. Nesse ambiente, as plantas se encontram em condições reais, com interações complexas entre fatores bióticos e abióticos, que influenciam a expressão da resistência, resultando em respostas precisas (REZENE; MEKONIN, 2019; RODRÍGUEZ et al., 2019).

A metodologia empregada neste estudo foi a DArTseq, uma abordagem eficaz para a identificação de marcadores genéticos por meio de uma estratégia de redução de complexidade do genoma. Através dessa técnica, foram identificadas duas categorias distintas de marcadores: os SNPs (Polimorfismos de Nucleotídeo Único), que constituem uma classe de marcadores co-dominantes, e os marcadores silico DArT, os quais representam marcadores dominantes. Este método permitiu uma análise detalhada da variação genética, fornecendo informações valiosas para estudos genômicos e a compreensão das características moleculares.

A complexidade do assunto torna importante a compreensão da resposta de defesa do feijão-comum à *P. griseola*. O marcador molecular silico-DArT (DART3819) apresentou uma associação significativa a resistência à *P. griseola* ( $p$ -valor < 0,01), identificada pelo marcador significativo no gráfico de Manhattan Plot (Figura 4-A). Pelo gráfico QQ Plot (Figura 4-B) verifica-se que as associações apresentaram distribuição aleatória, sem desvios significativos (FRITSCHÉ-NETO et al., 2019; YU et al., 2006). A associação foi de efeito negativa, significando que indivíduos com o marcador DART3819 atuam na redução da severidade da doença (Tabela 5). Além disso, este marcador explicou 47% ( $R^2$ ) da variação fenotípica para a severidade da mancha angular, estimativa esta superior a maioria dos trabalhos já realizados visando resistência à *P. griseola* (ALMEIDA et al., 2019; FRITSCHÉ-NETO et al., 2019; NAY et al., 2019; PEREIRA et al., 2019; SARTORATO et al., 2000). A região está localizada na posição 14.329.208 pb do cromossomo Pv04, na região pericentromérica (Figura 6, Tabela 5 e Tabela 6).

Genes em regiões pericentroméricas são restritos em eventos de recombinação, resultando na formação de extensos blocos gênicos em LD, o que dificulta a dissociação de alelos e marcadores genéticos adjacentes durante o processo de segregação (MEZIADI et al., 2016). Em decorrência disso, a identificação de QTLs nessas regiões em populações segregantes é acompanhada por um grande intervalo de confiança. Estudos realizados por Schmutz et al.

(2014) e Blair et al. (2018), corroboram com essa observação, destacando a complexidade e os desafios associados à caracterização precisa dessas regiões genômicas no feijão-comum.

A análise genômica indica a possibilidade de vários genes associados a este marcador estarem envolvidos na resistência, podendo os alelos favoráveis das linhagens endogâmicas resistentes ter sido herdados do genitor resistente MAIII-16.159. Essa linhagem foi obtida por meio de cruzamentos no esquema dialelo circulante entre 7 linhagens de feijão-comum do tipo Carioca e 10 fontes de resistência andinas e mesoamericanas à mancha angular, como AN 512561, AND 277, Ouro Negro, Compuesto Negro Chimaltenango, CAL 143, MAR 2, MAR 1, G5686, MA 4.137 e Jalo (AMARO et al., 2007; ARANTES; ABREU; RAMALHO, 2010), em parceria entre a UFLA e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) iniciada em 1998. Esta linhagem tem apresentado nível de resistência superior à das linhagens e cultivares genitoras, evidenciando que este programa tem sido eficiente em acumular gradualmente alelos favoráveis à resistência a mancha angular na população, de forma rápida e durável (ARANTES; ABREU; RAMALHO, 2010; PÁDUA, 2022).

Para a identificação dos genes, optamos por uma janela de identificação de 350 Kb no genoma. Apesar do alto desequilíbrio de ligação e da menor resolução associada, essa estratégia levou à identificação de seis genes putativos relacionados à resistência à doença em questão (Tabela 7). Os genes foram identificados utilizando a v2.1 da sequência genômica do feijão-comum no Phytozome v1.16.9 (BUELS et al., 2016). Os genes *Phvul.004G087400* e *Phvul.004G087200* estão localizados a uma distância de 60 kb e 110 kb do marcador, respectivamente, sendo considerados os mais próximos a ele. Eles codificam proteínas da família Gfo/Idh/MocA, que são oxidorreduases dependentes de NAD(P). Essas enzimas têm sido associadas à resistência a patógenos no feijão caupi (HENG et al., 2020; VAN GESTELEN; ASARD; CAUBERGS, 1997) e em outras espécies de plantas. Elas funcionam como moléculas de sinalização intracelular, desencadeando outras condições de defesa, como a reação de hipersensibilidade (TENHAKEN et al., 1995) e a resistência adquirida sistêmica (CHEN; SILVA; KLESSIG, 1993; DEMPSEY; KLESSIG, 1994; RYALS et al., 1995). A combinação dessas reações é essencial para a célula vegetal sobreviver ao estresse causado pela invasão do patógeno (TABERMAN et al., 2016; THODEN et al., 1997).

Outro provável gene relacionado à resistência à mancha angular seria o gene *Phvul.004G087000*, localizado a 167 Kb do marcador. Este gene codifica uma proteína envolvida na biossíntese de laccase, uma enzima que catalisa a oxidação de fenóis, levando à formação de lignina, substância que fortalece a parede celular das plantas, tornando-as mais



resistentes a infecções por patógenos (AHMADI; MIBUS; SEREK, 2008; KUČKO et al., 2022). Além disso, esta enzima também desempenha papel na cicatrização de ferimentos que ocorrem após a senescência de órgãos. Durante a abscisão, são geradas feridas na planta, a laccase participa da recuperação dessas áreas danificadas, por meio tanto da regeneração dos protoplastos quanto da deposição de lignina nessas regiões. (KUČKO et al., 2022; MAYER; STAPLES, 2002). Esse tipo de resposta também pode estar associado com mecanismos de defesa, uma vez que a identificação de injúrias causadas pelo patógeno pode ativar uma maior deposição de lignina na parede celular garantindo uma barreira física contra a entrada de patógenos.

Os outros três genes estão localizados a distâncias maiores do marcador, que vão de 185 Kb até 350 Kb, suas funções abrangem a codificação de diferentes proteínas, que vão desde a sinalização celular até a senescência. O gene *Phvul.004G086800*, localizado a 185 Kb do marcador codifica uma proteína associada à regulação da senescência da planta, sugerindo sua possível implicação na resistência a doenças. Esta proteína pertence à família de proteínas que inclui o AtS40-3 de *Arabidopsis thaliana*, assim como sequências homólogas de outras plantas. A expressão de AtS40-3 é induzida durante o processo de senescência e é regulada por diversos estímulos, tais como exposição à escuridão, ácido abscísico (ABA), ácido salicílico e ataques de patógenos (FISCHER-KILBIENSKI et al., 2010; WANG et al., 2022; YANG et al., 2022).

O gene *Phvul.004G088100* está localizado a uma distância de 250 Kb do marcador DArT. Esse gene é responsável pela codificação de uma proteína envolvida no processo de iniciação da tradução. A proteína codificada por esse gene desempenha um papel como fator de iniciação da tradução, facilitando a ligação do RNA mensageiro (mRNA) ao ribossomo. Além disso, ela possui um domínio MA3, uma estrutura proteica presente em diversas proteínas envolvidas na defesa contra patógenos, permitindo a ligação a moléculas de reconhecimento de patógenos produzidas pelos próprios patógenos, o que pode ser usado pelas plantas para detectar infecções (BOISNARD et al., 2007; HÉBRARD et al., 2010).

O gene *Phvul.004G088300*, responsável pela síntese da proteína Gigantea (GI), está localizado a 350 Kb do marcador DArT. Trata-se de uma proteína nuclear exclusiva de plantas que desempenha um papel crucial na regulação de diversos processos fisiológicos e de desenvolvimento, incluindo ritmo circadiano, sinalização luminosa, tolerância ao frio, resposta hormonal e floração (MISHRA; PANIGRAHI, 2015; SINGH, 2022). Essa função na floração pode indiretamente influenciar a resistência à mancha angular, pois plantas precoces podem apresentar níveis mais elevados de resistência, devido à ativação de outras regiões genômicas de efeito

secundário durante o período de infecção. Trabalhos recentes revelaram uma associação entre GI e a sinalização de defesa em plantas (SINGH, 2022). Este gene tem um papel duplo na regulação da resistência a doenças em plantas, atuando de maneira positiva em certas circunstâncias (SINGH, 2022) e negativa em outras (KUNDU; SAHU, 2021; LYONS et al., 2015; PATNAIK et al., 2023), dependendo do tipo de patógeno e da sincronização da floração. Em plantas, a enzima PAD4 desempenha um papel fundamental na imunidade basal, sendo ativada pela ligação a moléculas de reconhecimento de patógenos, as quais são produzidas pelos próprios patógenos e podem ser empregadas pelas plantas para identificar a presença da infecção. Outra proteína relevante é a EDS1, que, quando ativada, desencadeia uma cascata de eventos de sinalização levando à produção de moléculas de defesa. Uma hipótese é que as respostas de defesa mediadas por GI possam envolver também a cascata de sinalização PAD4/EDS1. Isso sugere que a proteína GI pode ativar a PAD4, que, por sua vez, ativaria a EDS1. Esta sequência de eventos de sinalização poderia resultar na produção de moléculas de defesa que auxiliam as plantas na resistência à mancha angular.

Vale ressaltar que pelo fato de a avaliação fenotípica ter sido realizada no estágio R8 do feijão-comum, o marcador DART3819, significativo para a resistência à mancha angular, mostrou que a atuação desses genes e seus mecanismos de resistência são relevantes durante as etapas finais do ciclo vegetativo. Esta fase fenológica está associada à maior ocorrência de eventos que envolvem ataques de patógenos, momento em que são ativados processos bioquímicos e fisiológicos relevantes para a resposta às condições ambientais e as interações com patógenos. Essa informação é corroborada em estudos conduzidos por Almeida et al. (2021), Pádua (2022) e Silva et al. (2023, comunicação pessoal) no qual foi identificado diferentes marcadores associados à resistência à mancha angular em diferentes estádios fenológicos do feijão-comum, contribuindo para a compreensão da expressão diferencial desses mecanismos de resposta a condições adversas ao longo do ciclo de crescimento da planta.

Os marcadores associados à resistência à mancha angular identificados por Almeida et al. (2021), foram significativos em diversos cromossomos ao longo de diferentes estádios fenológicos. No estágio V2, foram observados SNPs significativos nos cromossomos Pv01, Pv04, Pv07 e dois no cromossomo Pv08. No estágio V3, identificaram-se três SNPs no cromossomo Pv01, além de um SNP em cada um dos cromossomos Pv02, Pv03, Pv08 e Pv10. Em estádios fenológicos mais avançados, como o estágio R8, foram encontrados dois SNPs estatisticamente significativos, um localizado no cromossomo Pv02 e outro no cromossomo Pv03. Por outro lado, Pádua (2022) utilizando o mesmo painel de linhagens endogâmicas que o presente

trabalho, identificou três marcadores significativos relacionados à resistência à raça 63-63 de *P. griseola*. Destes, dois foram identificados no estádio V2, situados nos cromossomos Pv04 e Pv08, enquanto o terceiro foi encontrado no estádio V3, no cromossomo Pv08. O loco identificado no cromossomo Pv08 no estádio V2 validou uma região de estudo anterior do loco *Phg-2*, conforme previamente descrito (NAY et al., 2019; SARTORATO et al., 2000). Silva et al. (2023, comunicação pessoal) em seu trabalho, detectaram um total de oito SNPs, sendo que cinco deles apresentaram efeito negativo. Destes, três foram expressos no estádio V3, sendo que um no cromossomo Pv04, outro no Pv10 e o último no Pv11. Já os SNPs identificados no estádio R7 foram distribuídos em dois locos, um no cromossomo Pv04 e outro no cromossomo Pv10.

A investigação das relações genômicas associadas à resistência à mancha angular mostra diferenças entre estádios fenológicos específicos e a resposta de resistência (ALMEIDA et al., 2021; PÁDUA, 2022; SILVA, 2023, comunicação pessoal). Nos estádios V2 e V3, compartilham semelhanças nas regiões genômicas relacionadas à resistência, apresentando três cromossomos - Pv01, Pv04 e Pv08 - que abrigam essas regiões (ALMEIDA et al., 2021; PÁDUA, 2022). Ao comparar os estádios V3 e R8, surgem diferenças, identificando outros três cromossomos, Pv03, Pv04 e Pv10 (ALMEIDA et al., 2021; SILVA, 2023, comunicação pessoal), em contraste com os estádios V2 e R8, onde somente o Pv04 foi identificado (PÁDUA, 2022; SILVA, 2023, comunicação pessoal). Portanto, a presença de uma forte associação entre o cromossomo Pv04 e a resistência à mancha angular, independentemente do estádio fenológico em que a planta de feijão-comum se encontra, pode ser sugerida pelos estudos já realizados.

A frequência de estudos que identificam regiões genômicas no cromossomo Pv04 associadas à resistência a doença ao longo dos estádios fenológicos indica uma base genética forte para essa resistência (ALMEIDA et al., 2021; PÁDUA, 2022; SILVA, 2023, comunicação pessoal). Por outro lado, regiões instáveis tem sido identificadas, possivelmente associadas a variações epigenéticas (MEZIADI et al., 2016) na resposta da planta à infecção em diferentes fases de crescimento, as quais foram identificados em um único estádio fenológico, nos cromossomos Pv02, Pv07 e Pv11. A correlação entre o efeito da planta adulta e os mecanismos epigenéticos na regulação da resistência, parece desempenhar uma função importante na expressão de genes associados à resistência (TALBERT; HENIKOFF, 2006; VITTE et al., 2014). Isso sugere que a resposta da planta à infecção é fortemente influenciada por mecanismos epigenéticos que se tornam mais proeminentes à medida que a planta amadurece. A expressão dos genes de resistência pode estar correlacionada com uma adaptação na planta hospedeira, influenciando

diretamente a capacidade da planta em responder e se defender contra agentes patogênicos ou estresses ambientais específicos (PURRINGTON, 2000; TIAN et al., 2003). Pereira et al. (2019) verificou alta correlação entre as notas de severidade da mancha nas plantas avaliadas no estágio V3 e no campo, onde as avaliações são realizadas na planta adulta, sugerindo que apesar de diferentes genes atuarem em diferentes estádios de desenvolvimento, existem alguns genes que atuam em ambos os estádios. Uma possível explicação para essa observação poderia estar relacionada a questões epigenéticas na regulação desses genes em diferentes estádios fenológicos (MEZIADI et al., 2016).

Nesse sentido, novos estudos de mapeamento fino são necessários para identificar marcadores moleculares intimamente associados a essa região. Como provavelmente existem vários locos nessa região, é necessário utilizar outras populações de validação, que possibilitarão a identificação e validação de marcadores moleculares mais próximos, os quais poderão ser empregados na seleção assistida para a resistência à *P. griseola*. Essa abordagem é uma ferramenta complementar à seleção tradicional, uma vez que a resistência é influenciada por vários genes. Ela pode ser usada como um ponto de partida adicional para a descoberta, validação e investigação funcional de genes que controlam as diversas características do feijão-comum. A seleção baseada em marcadores moleculares é uma estratégia eficaz para a identificação de indivíduos resistentes a doenças, especialmente se for utilizada mais de uma sonda (MATIAS et al., 2023). Inicialmente, a seleção é realizada em condições controladas, utilizando marcadores moleculares para identificar indivíduos com alelos associados à resistência. Posteriormente, os indivíduos selecionados são avaliados fenotipicamente, em ambiente de casa de vegetação e campo, durante diferentes safras, quando as condições são favoráveis ao desenvolvimento da doença.

## 6. CONCLUSÃO

A linhagem MAIII-16.159 possui uma região no cromossomo Pv04 associada a alelos de genes responsáveis pela resistência à *P. griseola* no estágio R8 de desenvolvimento do feijão-comum.

## REFERÊNCIAS

- ADU, Bright Gyamfi et al. High-density DArT-based SilicoDArT and SNP markers for genetic diversity and population structure studies in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Plos one**, v. 16, n. 7, p. e0255290, 2021.
- AHMADI, Noorollah; MIBUS, Heiko; SEREK, Margrethe. Isolation of an ethylene-induced putative nucleotide laccase in miniature roses (*Rosa hybrida* L.). **Journal of plant growth regulation**, v. 27, p. 320-330, 2008.
- ALMEIDA, Caléo Panhoca de et al. Angular leaf spot resistance loci associated with different plant growth stages in common bean. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 647043, 2021.
- ALVAREZ-DIAZ, Juan C. et al. Genome-wide identification of key components of RNA silencing in two *Phaseolus vulgaris* genotypes of contrasting origin and their expression analyses in response to fungal infection. **Genes**, v. 13, n. 1, p. 64, 2022.
- AMARO, Geovani Bernardo et al. Phenotypic recurrent selection in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L) with carioca-type grains for resistance to the fungi *Phaeoisariopsis griseola*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, p. 584-588, 2007.
- APARÍCIO, B. H. E. Caracterización de la diversidad molecular y la virulencia de aislamientos del hongo *Phaeoisariopsis griseola* de Brasil y Bolivia. Cali, Colombia: Universidad del Valle. 120p. **Trabajo (Grado)** – Universidad del Valle, 1998.
- ARANTES, Lúcio de Oliveira; ABREU, Ângela de Fátima Barbosa; RAMALHO, Magno Antonio Patto. Eight cycles of recurrent selection for resistance to angular leaf spot in common bean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 10, p. 232-237, 2010.
- ARIANI, Andrea et al. The GAMA Approach for the Analysis of Large Germplasm Collections: Genetic Diversity and Landscape Genomics of Common Bean (*Phaseolus Vulgaris*) Landraces in Brazil. **Research Square**. 2022.
- ASKI, Muraleedhar S. et al. Unraveling origin, history, genetics, and strategies for accelerated domestication and diversification of food legumes. **Frontiers in Genetics**, v. 13, p. 932430, 2022.
- AYTENFSU, Misganaw; TEREFE, Habtamu. A review of *Pseudocercospora griseola* in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Africa. **CABI Reviews**, n. 2023, 2023.
- AYTENFSU, Misganaw; TEREFE, Habtamu; AYANA, Getachew. Aggressiveness of *Phaeoisariopsis griseola* isolates and reaction of common bean varieties to the isolates under greenhouse conditions. **African Journal of Agricultural Research**, v. 14, p. 1553-1567, 2019.
- BANOO, Aqleema et al. North-western Himalayan common beans: population structure and mapping of quantitative anthracnose resistance through genome wide association study. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 571618, 2020.

- BARCELLOS, A. L.; MORAES-FERNANDES, M. I. B.; ROELFS, A. P. Wheat leaf rust (*Puccinia recondita*): resistance durability. **Summa Phytopathologica**, v. 23, p. 101-111, 1997.
- BASAVARAJA, T. et al. Molecular and conventional breeding strategies for improving biotic stress resistance in common bean. **Accelerated Plant Breeding**, v. 3, p. 389-421, 2020.
- BASSI, Denis et al. Linkage and mapping of quantitative trait loci associated with angular leaf spot and powdery mildew resistance in common beans. **Genetics and molecular biology**, v. 40, p. 109-122, 2017.
- BLAIR, Matthew W. et al. A high-throughput SNP marker system for parental polymorphism screening, and diversity analysis in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied genetics**, v. 126, p. 535-548, 2013.
- BLAIR, Matthew W. et al. Uneven recombination rate and linkage disequilibrium across a reference SNP map for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **PloS one**, v. 13, n. 3, p. e0189597, 2018.
- BOISNARD, Arnaud et al. Evaluation of genes from eIF4E and eIF4G multigenic families as potential candidates for partial resistance QTLs to Rice yellow mottle virus in rice. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 116, n. 1, p. 53-62, 2007.
- BORNOWSKI, Nolan; SONG, Qijian; KELLY, James D. QTL mapping of post-processing color retention in two black bean populations. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 133, p. 3085-3100, 2020.
- BRINÑEZ, Boris et al. Mapping QTLs for drought tolerance in a SEA 5 x AND 277 common bean cross with SSRs and SNP markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 40, p. 813-823, 2017.
- BROCK, R. D. Resistance to angular leaf spot among varieties of beans. **Journal of the Australian Institute of Agriculture Science**, v. 17, n. 1, p. 25-30. 1951.
- BROMAN, Karl W. The genomes of recombinant inbred lines. **Genetics**, v. 169, n. 2, p. 1133-1146, 2005.
- BRUN, Hortense et al. Quantitative resistance increases the durability of qualitative resistance to *Leptosphaeria maculans* in *Brassica napus*. **New Phytologist**, v. 185, n. 1, p. 285-299, 2010.
- BUELS, Robert et al. JBrowse: a dynamic web platform for genome visualization and analysis. **Genome biology**, v. 17, n. 1, p. 1-12, 2016.
- BURDON, Jeremy J. et al. Guiding deployment of resistance in cereals using evolutionary principles. **Evolutionary Applications**, v. 7, n. 6, p. 609-624, 2014.
- CAIXETA, Eveline Teixeira et al. Allelic relationships for genes that confer resistance to angular leaf spot in common bean. **Euphytica**, v. 145, p. 237-245, 2005.

CAMPA, Ana; GARCÍA-FERNÁNDEZ, Carmen; FERREIRA, Juan José. Genome-wide association study (GWAS) for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in common bean. **Genes**, v. 11, n. 12, p. 1496, 2020.

CANPOLAT, Sirel; MADEN, Salih. Reactions of some common bean cultivars grown in Turkey against some isolates of angular leaf spot disease, caused by *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous & U. Braun. **Plant Protection Bulletin**, v. 60, n. 2, p. 45-54, 2020.

CARNEIRO, Monalisa Sampaio; VIEIRA, Maria Lucia Carneiro. Genetic maps in plants. **Bragantia**, v. 61, p. 89-100, 2002.

CARVALHO, Geraldo Assis de et al. Herança da resistência da linhagem AND-277 de feijoeiro-comum a raça 63-23 de *Phaeoisariopsis griseola* e identificação de marcador RAPD ligado ao gene de resistência. **Fitopatologia brasileira**, v. 23, n. 4, p. 482-485, 1998.

CHEN, Zhixiang; SILVA, Herman; KLESSIG, Daniel F. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. **Science**, v. 262, n. 5141, p. 1883-1886, 1993.

COCKRAM, James; MACKAY, Ian. Genetic mapping populations for conducting high-resolution trait mapping in plants. **Plant genetics and molecular biology**, p. 109-138, 2018.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). **Portal de Informações Agropecuárias: Feijão**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 6 abr. 2023.

CORRÊA, RONAN X. et al. Herança da resistência à mancha-angular do feijoeiro e identificação de marcadores moleculares flanqueando o loco de resistência. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 27-32, 2001.

COSTA, Larissa Carvalho et al. Different loci control resistance to different isolates of the same race of *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 134, p. 543-556, 2021.

CROUS, Pedro W. et al. Re-evaluating the taxonomic status of *Phaeoisariopsis griseola*, the causal agent of angular leaf spot of bean. **Studies in Mycology**, v. 55, n. 1, p. 163-173, 2006.

DDAMULIRA, Gabriel et al. Distribution and variability of *Pseudocercospora griseola* in Uganda. 2012.

DE JESUS, W. C. et al. Effects of angular leaf spot and rust on yield loss of *Phaseolus vulgaris*. **Phytopathology**, v. 91, n. 11, p. 1045-1053, 2001.

DE RON, Antonio M. et al. Common Bean Genetics, Breeding, and Genomics for Adaptation to Biotic Stress Conditions. **Genomic Designing for Biotic Stress Resistant Pulse Crops**. Cham: Springer International Publishing, 2022. p. 1-116.

DEGU, T.; YAREGAL, W.; GUDISA, T. Status of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) diseases in metekel zone, north west Ethiopia. **Journal Plant Pathology Microbiology**, v. 11, p. 494, 2020.



DEMPSEY, D. Maris Amick; KLESSIG, Daniel F. Salicylic acid, active oxygen species and systemic acquired resistance in plants. **Trends in Cell Biology**, v. 4, n. 9, p. 334-338, 1994.

DIAZ, Santiago et al. Genetic mapping for agronomic traits in a MAGIC population of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under drought conditions. **BMC genomics**, v. 21, n. 1, p. 1-20, 2020.

DRAMADRI, Isaac Onziga et al. Genome-wide association analysis of resistance to *Pythium ultimum* in common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Plant Breeding**, v. 139, n. 6, p. 1168-1180, 2020.

EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO. Dados de conjuntura da produção de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **EMBRAPA**, 2023. Disponível em: <https://www.cnpaf.embrapa.br/socioeconomia/index.htm>. Acesso em: 25 de set. de 2023.

EMBRAPA. Agricultor consegue produtividade de seis toneladas por hectare em lavoura de feijão. **EMBRAPA**, 2023. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/77084344/agricultor-consegue-produtividade-de-seis-toneladas-por-hectare-em-lavoura-de-feijao> >. Acesso em: 21 de set. de 2023.

FALEIRO, Fabio Gelape et al. Genetic linkage between resistance to rust and anthracnose in the common bean Cv. Ouro Negro. **Ceres**, v. 47, n. 272, 2003.

FAOSTAT. **Food and agriculture organization of the United Nations (FAO)**. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>. Acesso em: 23 de mar. de 2023.

FERREIRA, Daniel Furtado. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs: Sisvar. **Brazilian Journal of Biometrics**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

FERREIRA, Diogo Cardoso et al. Desempenho agrônomo e tecnológico de feijão sob adubação nitrogenada em duas épocas de semeadura. **Agrarian**, v. 14, n. 52, p. 185-193, 2021.

FISCHER-KILBIENSKI, Isabell et al. Nuclear targeted AtS40 modulates senescence associated gene expression in *Arabidopsis thaliana* during natural development and in darkness. **Plant molecular biology**, v. 73, p. 379-390, 2010.

FRITSCHÉ-NETO, Roberto et al. Association mapping in common bean revealed regions associated with anthracnose and angular leaf spot resistance. **Scientia Agricola**, v. 76, p. 321-327, 2019.

GARCIA, R. A. V.; CARNEIRO, M. S.; SARTORATO, A. Phaeoisariopsis griseola virulence pattern and RAPD diversity. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**, v. 49, p. 209, 2006.

GIRMA, Fekede et al. Evaluation of common bean (*Phaseolus vulgaris*) genotypes for resistance to common bacterial blight and angular leaf spot diseases, and agronomic performances. **Heliyon**, v. 8, n. 8, 2022.

GOMES-MESSIAS, Lucas Matias et al. Molecular characterization of parental lines and validation of SNP markers for anthracnose and angular leaf spot in common bean. **Euphytica**, v. 218, n. 5, p. 49, 2022.

GONÇALVES-VIDIGAL, M. C. et al. Co-segregation analysis and mapping of the anthracnose Co-10 and angular leaf spot Phg-ON disease-resistance genes in the common bean cultivar Ouro Negro. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 126, p. 2245-2255, 2013.

GONÇALVES-VIDIGAL, Maria Celeste et al. Linkage mapping of the Phg-1 and Co-1 4 genes for resistance to angular leaf spot and anthracnose in the common bean cultivar AND 277. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 122, p. 893-903, 2011.

GUPTA, Chainika; SALGOTRA, Romesh Kumar; VENEGAS, Raul A. Development of SNP based functional marker for anthracnose resistant Co-2 gene in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). 2022.

GUPTA, Pushpendra K.; RUSTGI, Sachin; KULWAL, Pawan L. Linkage disequilibrium and association studies in higher plants: present status and future prospects. **Plant molecular biology**, v. 57, p. 461-485, 2005.

HABGOOD, R. M. Designation of physiological races of plant pathogens. **Nature**, v. 227, n. 5264, p. 1268-1269, 1970.

HÉBRARD, Eugénie et al. Direct interaction between the Rice yellow mottle virus (RYMV) VPg and the central domain of the rice eIF (iso) 4G1 factor correlates with rice susceptibility and RYMV virulence. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 23, n. 11, p. 1506-1513, 2010.

HENG, Titnarong et al. Two tightly linked genes coding for NAD-dependent malic enzyme and dynamin-related protein are associated with resistance to *Cercospora* leaf spot disease in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 133, p. 395-407, 2020.

HUSTER, Abigail R.; WALLACE, Lyle T.; MYERS, James R. Associated SNPs, heritabilities, trait correlations, and genomic breeding values for resistance in snap beans (*Phaseolus vulgaris* L.) to root rot caused by *Fusarium solani* (Mart.) f. sp. *phaseoli* (Burkholder). **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 697615, 2021.

INGVARSSON, Pär K.; STREET, Nathaniel R. Association genetics of complex traits in plants. **New Phytologist**, v. 189, n. 4, p. 909-922, 2011.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA DO BRASIL – INMET. **Normais Climatológicas** (1961/1990). Brasília - DF, 2023. Disponível em: < <https://tempo.inmet.gov.br/TabelaEstacoes/A001> >. Acesso em: 28 de set. de 2023.

JACCOUD, Damian et al. Diversity arrays: a solid state technology for sequence information independent genotyping. **Nucleic acids research**, v. 29, n. 4, p. e25-e25, 2001.

JUNIOR, Murillo Lobo; FERREIRA, Adriane Wendland. Mancha angular do feijoeiro comum, p. 390-401, 2023.

KELLER, Beat et al. Fine-mapping of a major QTL controlling angular leaf spot resistance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 128, p. 813-826, 2015.

KERR, Bill. Angular leaf spot in beans. **Farmer's Weekly**, v. 2019, n. 19044, p. 50-50, 2019.

KILIAN, Andrzej et al. Diversity arrays technology: a generic genome profiling technology on open platforms. **Data production and analysis in population genomics: Methods and protocols**, p. 67-89, 2012.

KLÄSENER, Greice Rosana; RIBEIRO, Nerinéia Dalfollo; ARGENTA, Henrique da Silva. Genetic divergence and selection of bean cultivars of different grain types based on physical traits. **Revista Ciência Agronômica**, v. 53, 2022.

KOVER, Paula X. et al. A multiparent advanced generation inter-cross to fine-map quantitative traits in *Arabidopsis thaliana*. **PLoS genetics**, v. 5, n. 7, p. e1000551, 2009.

KUĆKO, Agata et al. Ethylene as a Multitasking Regulator of Abscission Processes. **Ethylene in Plant Biology**, p. 49-81, 2022.

KUNDU, Pritha; SAHU, Ranabir. GIGANTEA confers susceptibility to plants during spot blotch attack by regulating salicylic acid signalling pathway. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 167, p. 349-357, 2021.

LANDERAS, Elena et al. Occurrence of angular leaf spot caused by *Pseudocercospora griseola* in *Phaseolus vulgaris* in Asturias, Spain. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 15, n. 3, p. e10SC03-e10SC03, 2017.

LIBRELON, S. S. et al. Diagrammatic scale to evaluate angular leaf spot severity in primary leaves of common bean. **Australasian Plant Pathology**, v. 44, p. 385-395, 2015.

LIBRELON, Samira Santiago et al. Increasing the efficiency of recurrent selection for angular leaf spot resistance in common bean. **Crop Science**, v. 60, n. 2, p. 751-758, 2020.

LIBRELON, Samira Santiago et al. *Pseudocercospora griseola*, the causal agent of common bean angular leaf spot: Strain characterization and sensitivity to fungicides. **Plant Pathology**, v. 71, n. 6, p. 1431-1439, 2022.

LIU, Xiaolei et al. Iterative usage of fixed and random effect models for powerful and efficient genome-wide association studies. **PLoS genetics**, v. 12, n. 2, p. e1005767, 2016.

LÓPEZ, Camilo E. et al. Identifying resistance gene analogs associated with resistances to different pathogens in common bean. **Phytopathology**, v. 93, n. 1, p. 88-95, 2003.

LYONS, Rebecca et al. Investigating the association between flowering time and defense in the *Arabidopsis thaliana*-*Fusarium oxysporum* interaction. **PloS one**, v. 10, n. 6, p. e0127699, 2015.

MACE, Emma S. et al. A consensus genetic map of sorghum that integrates multiple component maps and high-throughput Diversity Array Technology (DART) markers. **BMC plant biology**, v. 9, n. 1, p. 1-14, 2009.

MAHAJAN, Reetika et al. Genomics-Assisted Breeding for Abiotic Stress in Pisum Crop. **Smart Plant Breeding for Vegetable Crops in Post-genomics Era**. Singapore: Springer Nature Singapore, 2023. p. 409-426.

MAHUKU, George S.; IGLESIAS, Ángela Maria; JARA, Carlos. Genetics of angular leaf spot resistance in the Andean common bean accession G5686 and identification of markers linked to the resistance genes. **Euphytica**, v. 167, p. 381-396, 2009.

MAYER, Alfred M.; STAPLES, Richard C. Laccase: new functions for an old enzyme. **Phytochemistry**, v. 60, n. 6, p. 551-565, 2002.

MEZIADI, Chouaïb et al. Development of molecular markers linked to disease resistance genes in common bean based on whole genome sequence. **Plant Science**, v. 242, p. 351-357, 2016.

MIKLAS, P. et al. QTL for resistance to angular leaf spot and rust in Tanzania vs South Africa for the Andean panel & Rojo/Cal 143 RIL population. **Annu. Rep. Bean Improv. Coop.**, v. 63, p. 83-84, 2020.

MILLER, Tamara et al. Alternative markers linked to the Phg-2 angular leaf spot resistance locus in common bean using the Phaseolus genes marker database. **African Journal of Biotechnology**, v. 17, n. 26, p. 818-828, 2018.

MISHRA, Priyanka; PANIGRAHI, Kishore C. GIGANTEA—an emerging story. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 8, 2015.

MONGI, Rose et al. Appraisal of common bean farming systems under angular leaf spot disease prone environments of the Southern Highlands of Tanzania. **Indian Journal of Agricultural Research**, v. 50, n. 5, p. 428-433, 2016.

MONTEIRO, Ana Leticia R. et al. Genome-wide association study (GWAS) of Phaseolus vulgaris resistance to Xanthomonas citri pv. fuscans. **Plant Pathology**, v. 70, n. 7, p. 1733-1744, 2021.

MYLES, Sean et al. Association mapping: critical considerations shift from genotyping to experimental design. **The Plant Cell**, v. 21, n. 8, p. 2194-2202, 2009.

NADEEM, Muhammad Azhar et al. Common bean as a potential crop for future food security: an overview of past, current and future contributions in genomics, transcriptomics, transgenics and proteomics. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 35, n. 1, p. 759-787, 2021.

NAY, Michelle M. et al. A review of angular leaf spot resistance in common bean. **Crop science**, v. 59, n. 4, p. 1376-1391, 2019.

NIETSCHKE, Silvia et al. Variabilidade genética da patogenicidade de *Phaeoisariopsis griseola* no Brasil. **Summa Phytopathol**, v. 28, p. 331-335, 2002.

OBLESSUC, Paula Rodrigues et al. Increasing the density of markers around a major QTL controlling resistance to angular leaf spot in common bean. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 126, p. 2451-2465, 2013.

OBLESSUC, Paula Rodrigues et al. Mapping of angular leaf spot resistance QTL in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under different environments. **BMC genetics**, v. 13, p. 1-9, 2012.

OBLESSUC, Paula Rodrigues; BRIDGES, David F.; MELOTTO, Maeli. *Pseudomonas phaseolicola* preferentially modulates genes encoding leucine-rich repeat and malectin domains in the bean landrace G2333. **Planta**, v. 256, n. 2, p. 25, 2022.

OMRANI, Mariem et al. Genome-wide association multi-locus and multi-variate linear mixed models reveal two linked loci with major effects on partial resistance of apricot to bacterial canker. **BMC plant biology**, v. 19, n. 1, p. 1-18, 2019.

PÁDUA, P. F. de. Identificação de regiões genômicas associadas à resistência à *Pseudocercospora griseola* na linhagem MAIII - 16.159 de feijoeiro. 2022. 64 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2022.

PÁDUA, Paula Furtado de et al. Efficiency of a recurrent selection method to achieve resistance of common beans to *Pseudocercospora griseola* in a short period. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 45, 2021.

PÁDUA, Paula Furtado et al. Identification of sources of resistance to race 63-63 of *Pseudocercospora griseola* in common bean lines. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 22, p. e36982215, 2022.

PASTOR-CORRALES, Marcial Antonio; JARA, Carlos E. La evolución de *Phaeoisariopsis griseola* con el frijol común en América Latina. **Fitopatología Colombiana**, v. 19, n. 1, p. 15-24, 1995.

PASTOR-CORRALES, M. A.; PAULA-JR, T. J. Estudo da diversidade genética de *Phaeoisariopsis griseola* no Brasil. **Proceedings of the Reuniao Nacional de Pesquisa de Feijao**, v. 5, p. 23-41, 1996.

PATNAIK, Alena et al. GIGANTEA suppresses wilt disease resistance by down-regulating the jasmonate signaling in *Arabidopsis thaliana*. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1091644, 2023.

PAULINO, Jean Fausto de Carvalho et al. Genome-wide association study reveals genomic regions associated with fusarium wilt resistance in common bean. **Genes**, v. 12, n. 5, p. 765, 2021.

PEREIRA, Laís Andrade et al. Variability for angular leaf spot and anthracnose resistance among common bean progenies with different levels of endogamy. **Tropical Plant Pathology**, v. 44, p. 275-283, 2019.

- PEREIRA, R. et al. Aggressiveness of *Pseudocercospora griseola* strains in common bean genotypes and implications for genetic improvement. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 2, p. 5044-5053, 2015.
- PEREIRA, Rafael et al. Phenotyping for angular leaf spot severity and its implication in breeding common bean for resistance. **Scientia Agricola**, v. 76, p. 415-423, 2019.
- PEREIRA, Rafael; ABREU, M. J.; SOUZA, E. A. Alternative method to assess the reaction of common bean lines to *Pseudocercospora griseola*. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 54, p. 104-105, 2011.
- PERSEGUINI, Juliana Morini Küpper Cardoso et al. Genome-wide association studies of anthracnose and angular leaf spot resistance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **PLoS One**, v. 11, n. 3, p. e0150506, 2016.
- POLLARD, Daniel A. Design and construction of recombinant inbred lines. **Quantitative Trait Loci (QTL) Methods and Protocols**, p. 31-39, 2012.
- PURRINGTON, Colin B. Costs of resistance. **Current opinion in plant biology**, v. 3, n. 4, p. 305-308, 2000.
- RAFALSKI, J. Antoni. Association genetics in crop improvement. **Current opinion in plant biology**, v. 13, n. 2, p. 174-180, 2010.
- REZENDE, Amanda Alves et al. Nutritional and protein quality of dry Brazilian beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Science and Technology**, v. 38, p. 421-427, 2017.
- REZENE, Yayis; MEKONIN, Shiferw. Screening common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm for resistance against angular leaf spot (*Pseudocercospora griseola*) disease under field condition. **Journal of Plant Studies**; Vol, v. 8, n. 1, 2019.
- RIBEIRO, Nerinéia Dalfollo; MAZIERO, Sandra Maria. Number of experiments necessary to more accurately differentiate common bean genotypes for grain physical traits and minerals in cluster analysis. **Revista Ceres**, v. 70, p. 114-123, 2023.
- RODRIGUES, Ludivina L. et al. Genetic control of seed coat darkening in common bean cultivars from three market classes. **Crop Science**, v. 59, n. 5, p. 2046-2054, 2019.
- RODRÍGUEZ, Diego et al. Identification of resistance sources of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to angular leaf spot (*Pseudocercospora griseola*). **Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín**, v. 72, n. 2, p. 8785-8791, 2019.
- RYALS, John et al. Signal transduction in systemic acquired resistance. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 92, n. 10, p. 4202-4205, 1995.
- SARTORATO, Aloísio; ALZATE-MARIN, Ana Lilia. Analysis of the pathogenic variability of *Phaeoisariopsis griseola* in Brazil. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**, v. 47, p. 235-236, 2004.

SARTORATO, ALOISIO. Identification of *Phaeoisariopsis griseola* pathotypes from five States in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p. 78-81, 2002.

SARTORATO, A. Pathogenic variability and genetic diversity of *Phaeoisariopsis griseola* isolates from two counties in the state of Goiás, Brazil. **Journal of Phytopathology**, v. 152, n. 7, p. 385-390, 2004.

SARTORATO, Aloísio et al. Inheritance of angular leaf spot resistance and RAPD markers linked to disease resistance gene in common beans. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**, v. 42, p. 21-22, 1999.

SARTORATO, ALOÍSIO et al. RAPD and SCAR markers linked to resistance gene to angular leaf spot in common beans. **Fitopatologia Brasileira**, v. 25, n. 4, p. 637-642, 2000.

SCHMUTZ, Jeremy et al. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. **Nature genetics**, v. 46, n. 7, p. 707-713, 2014.

SCHOONHOVEN, Aart Van; PASTOR CORRALES, Marcial A. Sistema estándar para la evaluación de germoplasma de frijol. 1987.

SCHROEDER, Hilke; FLADUNG, M. SSR and SNP markers for the identification of clones, hybrids and species within the genus *Populus*. **Silvae Genetica**, v. 59, n. 1-6, p. 257-263, 2010.

SCHWARTZ, H. F. et al. Dry bean yield losses caused by *Ascochyta*, angular, and white leaf spots in Colombia. **Plant Dis.**, v. 65, p. 494, 1981.

SEIJAS, C. A. R.; SARTORATO, A. Yield losses in dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) caused by angular leaf spot (*Isariopsis griseola* Sacc.). **Annu. Rep. Bean Improv. Coop.**, v. 28, p. 5-6, 1985.

SERRATO-DIAZ, Luz M. et al. Phylogeny of *Pseudocercospora griseola* from Puerto Rico, Central America and Tanzania confirms the existence of an Afro-Andean clade. **European Journal of Plant Pathology**, v. 157, p. 533-547, 2020.

SILVA, Kaesel Jackson Damasceno et al. Pathogenic variability of isolates of *Pseudocercospora griseola*, the cause of common bean angular leaf spot, and its implications for resistance breeding. **Journal of Phytopathology**, v. 156, n. 10, p. 602-606, 2008.

SILVA, L. da C.; CRUZ, C. D.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. De. Simulation of population size and genome saturation level for genetic mapping of recombinant inbred lines (RILs). **Genetics and Molecular Biology**, v. 1108, p. 1101-1108, 2007.

SIMONS, Kristin J. et al. Using breeding populations with a dual purpose: Cultivar development and gene mapping—A case study using resistance to common Bacterial Blight in dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 621097, 2021.

SINGH, Anamika. GIGANTEA regulates PAD4 transcription to promote pathogen defense against *Hyaloperonospora arabidopsidis* in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Signaling & Behavior**, v. 17, n. 1, p. 2058719, 2022.

SINHA, Sweta; KUSHWAHA, Brij Kishore; DESHMUKH, Rupesh K. QTL Mapping Using Advanced Mapping Populations and High-throughput Genotyping. **Genotyping by Sequencing for Crop Improvement**, p. 52-79, 2022.

SONG, Qijian et al. SNP assay development for linkage map construction, anchoring whole-genome sequence, and other genetic and genomic applications in common bean. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, v. 5, n. 11, p. 2285-2290, 2015.

SOUZA, T. L. P. O. et al. Major angular leaf spot resistance loci in common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Ann Rep Bean Improv Coop**, v. 59, p. 15-16, 2016.

STENGLEIN, Sebastian A.; BALATTI, Pedro A. Genetic diversity of *Phaeoisariopsis griseola* in Argentina as revealed by pathogenic and molecular markers. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 68, n. 4-6, p. 158-167, 2006.

TABERMAN, Helena; PARKKINEN, Tarja; ROUVINEN, Juha. Structural and functional features of the NAD (P) dependent Gfo/Idh/MocA protein family oxidoreductases. **Protein Science**, v. 25, n. 4, p. 778-786, 2016.

TALBERT, Paul B.; HENIKOFF, Steven. Spreading of silent chromatin: inaction at a distance. **Nature Reviews Genetics**, v. 7, n. 10, p. 793-803, 2006.

TANG, You et al. GAPIT version 2: an enhanced integrated tool for genomic association and prediction. **The plant genome**, v. 9, n. 2, p. plantgenome2015.11.0120, 2016.

TENHAKEN, Raimund et al. Function of the oxidative burst in hypersensitive disease resistance. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 92, n. 10, p. 4158-4163, 1995.

THODEN, James B. et al. Structural analysis of UDP-sugar binding to UDP-galactose 4-epimerase from *Escherichia coli*. **Biochemistry**, v. 36, n. 21, p. 6294-6304, 1997.

TIAN, D. et al. Fitness costs of R-gene-mediated resistance in *Arabidopsis thaliana*. **Nature**, v. 423, n. 6935, p. 74-77, 2003.

TIGIST, Shiferaw G. et al. Population structure and genome-wide association analysis of bruchid resistance in Ethiopian common bean genotypes. **Crop Science**, v. 59, n. 4, p. 1504-1515, 2019.

TURNER, S. **Package qqman: QQ and manhattan plots for GWAS data**. 2014.

VALDISSER, Paula Arielle Mendes Ribeiro et al. Genome-wide association studies detect multiple QTLs for productivity in Mesoamerican diversity panel of common bean under drought stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 574674, 2020.

VALENTINI, Giseli et al. High-resolution mapping reveals linkage between genes in common bean cultivar Ouro Negro conferring resistance to the rust, anthracnose, and angular leaf spot diseases. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 130, p. 1705-1722, 2017.



VAN GESTELEN, Peter; ASARD, Han; CAUBERGS, Roland J. Solubilization and separation of a plant plasma membrane NADPH-O<sub>2</sub>-synthase from other NAD (P) H oxidoreductases. **Plant Physiology**, v. 115, n. 2, p. 543-550, 1997.

VIEIRA, Ariadna Faria et al. Selection of resistance sources to common bean anthracnose by field phenotyping and DNA marker-assisted screening. **Genetics and Molecular Research**, 2018.

VITTE, Clémentine et al. The bright side of transposons in crop evolution. **Briefings in Functional Genomics**, v. 13, n. 4, p. 276-295, 2014.

VLASOVA, Anna et al. Genome and transcriptome analysis of the Mesoamerican common bean and the role of gene duplications in establishing tissue and temporal specialization of genes. **Genome biology**, v. 17, n. 1, p. 1-18, 2016.

WAGARA, I. N. et al. Genetic diversity of *Phaeoisariopsis griseola* in Kenya as revealed by AFLP and group-specific primers. **Journal of Phytopathology**, v. 152, n. 4, p. 235-242, 2004.

WANDER, Alcido Elenor; DA SILVA, Osmira Fátima; FERREIRA, Carlos Magri. O arroz e o feijão no Brasil e no mundo. **Arroz e feijão**, p. 81, 2021.

WANG, Jiabo; ZHANG, Zhiwu. GAPIT version 3: boosting power and accuracy for genomic association and prediction. **Genomics, proteomics & bioinformatics**, v. 19, n. 4, p. 629-640, 2021.

WANG, Yating et al. AtS40-1, a group I DUF584 protein positively regulates ABA response and salt tolerance in *Arabidopsis*. **Gene**, v. 846, p. 146846, 2022.

WU, Xinyi et al. Unravelling the genetic architecture of rust resistance in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by combining QTL-seq and GWAS analysis. **Plants**, v. 11, n. 7, p. 953, 2022.

XU, Yunbi. **Molecular plant breeding**. Cabi, 2010.

YANG, Tianrui et al. The S40 family members delay leaf senescence by promoting cytokinin synthesis. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 191, p. 99-109, 2022.

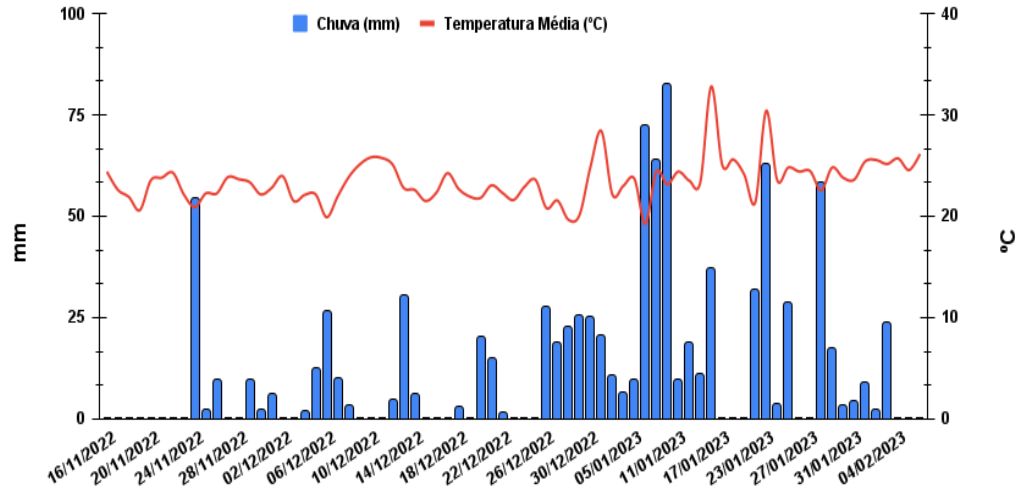
YU, Jianming et al. A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. **Nature genetics**, v. 38, n. 2, p. 203-208, 2006.

ZITNICK-ANDERSON, Kimberly et al. Associations among the communities of soil-borne pathogens, soil edaphic properties and disease incidence in the field pea root rot complex. **Plant and Soil**, v. 457, p. 339-354, 2020.

ZUIDERVEEN, Grady H. et al. Genome-wide association study of anthracnose resistance in Andean beans (*Phaseolus vulgaris*). **PLoS one**, v. 11, n. 6, p. e0156391, 2016.

## ANEXO A

Figura 7 - Temperatura e precipitação na área experimental durante a safra das águas de 2022/2023.



Fonte: INMET (2023).

## ANEXO B

Tabela 8 – Médias da severidade de incidência de mancha angular nas 180 linhagens de feijão-comum avaliadas.

Linhagens	Médias
RIL 141	3,0000 a
RIL 139	3,0000 a
RIL 54	3,0000 a
RIL 150	3,0000 a
RIL 49	3,0000 a
RIL 138	3,0000 a
RIL 77	3,0000 a
RIL 79	3,0000 a
RIL 60	3,0000 a
RIL 57	3,0000 a
RIL 59	3,0000 a
RIL 43	3,0000 a
RIL 22	3,0000 a
RIL 25	3,0000 a
RIL 185	3,0000 a
RIL 189	3,0000 a
RIL 210	3,0000 a
RIL 28	3,0000 a
RIL 157	3,0000 a
RIL 40	3,0000 a
RIL 38	3,0000 a
RIL 164	3,0000 a
RIL 36	3,0000 a
RIL 12	3,0000 a
RIL 85	3,0000 a
RIL 114	3,0000 a
RIL 91	3,0000 a
RIL 158	4,0000 a
RIL 159	4,0000 a
RIL 37	4,0000 a
RIL 161	4,0000 a
RIL 92	4,0000 a
RIL 108	4,0000 a
RIL 109	4,0000 a
RIL 48	4,0000 a
RIL 4	4,0000 a
RIL 107	4,0000 a
RIL 154	4,0000 a
RIL 102	4,0000 a
RIL 184	4,0000 a
RIL 23	4,0000 a
RIL 181	4,0000 a
RIL 19	4,0000 a
RIL 98	4,0000 a

Linhagens	Médias
RIL 1	4,0000 a
RIL 100	4,0000 a
RIL 169	4,0000 a
RIL 168	4,0000 a
RIL 167	4,0000 a
RIL 101	4,0000 a
RIL 32	4,0000 a
RIL 171	4,0000 a
RIL 148	4,0000 a
RIL 9	4,0000 a
RIL 128	4,0000 a
RIL 4	4,0000 a
RIL 112	4,0000 a
RIL 62	4,0000 a
RIL 63	4,0000 a
RIL 134	4,0000 a
RIL 13	4,0000 a
RIL 123	4,0000 a
RIL 69	4,0000 a
RIL 145	4,0000 a
RIL 81	4,0000 a
RIL 70	4,0000 a
RIL 55	4,0000 a
RIL 142	4,0000 a
RIL 126	4,5000 b
RIL 68	4,5000 b
RIL 30	4,5000 b
RIL 27	4,5000 b
RIL 173	4,5000 b
RIL 35	4,5000 b
RIL 165	4,5000 b
RIL 105	4,5000 b
RIL 110	4,5000 b
RIL 56	4,5000 b
RIL 45	5,0000 b
RIL 97	5,0000 b
RIL 82	5,0000 b
RIL 52	5,0000 b
RIL 207	5,0000 b
RIL 53	5,0000 b
RIL 21	5,0000 b
RIL 90	5,0000 b
RIL 66	5,0000 b
RIL 94	5,0000 b
RIL 34	5,0000 b
RIL 6	5,0000 b
RIL 67	5,0000 b
RIL 24	5,0000 b
RIL 29	5,0000 b

Linhagens	Médias
RIL 89	5,0000 b
RIL 193	5,0000 b
RIL 136	5,0000 b
RIL 132	5,0000 b
RIL 130	5,0000 b
RIL 137	5,0000 b
RIL 172	5,0000 b
RIL 162	5,0000 b
RIL 156	5,0000 b
RIL 116	5,0000 b
RIL 111	5,0000 b
RIL 103	5,0000 b
RIL 117	5,0000 b
RIL 127	5,0000 b
RIL 122	5,0000 b
RIL 120	5,0000 b
RIL 174	5,0000 b
RIL 186	5,0000 b
RIL 182	5,0000 b
RIL 176	5,0000 b
RIL 175	5,5000 c
RIL 5	5,5000 c
RIL 75	5,5000 c
RIL 180	5,5000 c
RIL 152	5,5000 c
RIL 87	5,5000 c
RIL 78	5,5000 c
RIL 121	6,0000 c
RIL 64	6,0000 c
RIL 133	6,0000 c
RIL 125	6,0000 c
RIL 72	6,0000 c
RIL 124	6,0000 c
RIL 8	6,0000 c
RIL 106	6,0000 c
RIL 11	6,0000 c
RIL 20	6,0000 c
RIL 99	6,0000 c
RIL 10	6,0000 c
RIL 93	6,0000 c
RIL 118	6,0000 c
RIL 119	6,0000 c
RIL 80	6,0000 c
RIL 115	6,0000 c
RIL 88	6,0000 c
RIL 187	6,0000 c
RIL 42	6,0000 c
RIL 155	6,0000 c
RIL 44	6,0000 c

Linhagens	Médias
RIL 50	6,0000 c
RIL 47	6,0000 c
RIL 39	6,0000 c
RIL 33	6,0000 c
RIL 3	6,0000 c
RIL 170	6,0000 c
RIL 16	6,0000 c
RIL 17	6,0000 c
RIL 146	6,0000 c
RIL 178	6,0000 c
RIL 61	6,5000 c
RIL 15	6,5000 c
RIL 135	6,5000 c
RIL 96	6,5000 c
RIL 147	6,5000 c
RIL 71	6,5000 c
RIL 183	6,5000 c
RIL 51	6,5000 c
RIL 73	6,5000 c
RIL 41	7,0000 d
RIL 26	7,0000 d
RIL 18	7,0000 d
RIL 140	7,0000 d
RIL 46	7,0000 d
RIL 149	7,0000 d
RIL 7	7,0000 d
RIL 144	7,0000 d
RIL 129	7,0000 d
RIL 153	7,0000 d
RIL 31	8,0000 d
RIL 95	8,0000 d
RIL 2	8,0000 d
RIL 84	8,0000 d
RIL 83	8,0000 d
RIL 74	8,0000 d
RIL 163	8,0000 d
RIL 131	8,0000 d
RIL 188	8,0000 d

Linhagens com média não ligadas por mesma letra diferem pelo teste de Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade de erro. Fonte: Dados do autor (2023).