



**MONIK EVELIN LEITE**

**SELEÇÃO RECORRENTE EM FEIJOEIRO  
VISANDO RESISTÊNCIA À *Sclerotinia  
sclerotiorum* E RESPOSTAS BIOQUÍMICAS  
ASSOCIADAS À DEFESA CONTRA O  
PATÓGENO**

**LAVRAS - MG**

**2014**

**MONIK EVELIN LEITE**

**SELEÇÃO RECORRENTE EM FEIJOEIRO VISANDO  
RESISTÊNCIA À *Sclerotinia sclerotiorum* E RESPOSTAS BIOQUÍMICAS  
ASSOCIADAS À DEFESA CONTRA O PATÓGENO**

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

Orientador

Dr. João Bosco dos Santos

**LAVRAS - MG**

**2014**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e  
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Leite, Monik Evelin.

Seleção recorrente em feijoeiro visando resistência à *Sclerotinia sclerotiorum* e respostas bioquímicas associadas à defesa contra o patógeno / Monik Evelin Leite. – Lavras : UFLA, 2014.

153 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: João Bosco dos Santos.

Bibliografia.

1. Mofo branco. 2. Resistência genética. 3. *Phaseolus vulgaris*. 4. Compostos fenólicos. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 635.6523

**MONIK EVELIN LEITE**

**SELEÇÃO RECORRENTE EM FEIJOEIRO VISANDO  
RESISTÊNCIA À *Sclerotinia sclerotiorum* E RESPOSTAS BIOQUÍMICAS  
ASSOCIADAS À DEFESA CONTRA O PATÓGENO**

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

APROVADA em 7 de fevereiro de 2014.

Dra. Ângela de Fátima Barbosa Abreu UFLA

Dr. César Augusto Brasil Pereira Pinto UFLA

Dr. Adriano Teodoro Bruzi UFLA

Dr. Helton Santos Pereira EMBRAPA

Dr. João Bosco dos Santos

**LAVRAS - MG**

**2014**

*Aos meus pais, Elaine e Beto, ao meu marido Miguel e  
à minha filha Ana Clara*

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por sua presença incessante em minha vida em todos os momentos...

À Universidade Federal de Lavras, por me proporcionar essa oportunidade de aprimorar meus conhecimentos em Genética e Melhoramento de Plantas e obter o título de Doutora;

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade de cursar o doutorado e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa durante o doutorado;

Ao professor João Bosco dos Santos; pela orientação, paciência, ensinamentos, confiança, disponibilidade e carinho transmitidos durante o curso;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, por todos os ensinamentos. A doutora Ângela, pela colaboração nos experimentos realizados em Lambari. Ao Dr. Pedro pela disponibilidade e valiosas sugestões apresentadas para a melhoria do trabalho.

Aos funcionários do Departamento: Lílian, Zélia, Rafaela, Iron e Du, pelo carinho prazerosa convivência;

Aos Amigos do laboratório de genética molecular; Danuza, Letícia, Igor, Filipe, Juliana, Paulo Baiano, Paulinho, Camila, Dyanna, Chadreque, Izabel e Gabrielle que tornaram meus dias de trabalho mais alegres e que sempre estiveram disponíveis para ajudar, participando diretamente na condução desse trabalho;

Ao Lamartine, pela disposição, competência e por tornar as atividades de laboratório mais fáceis e prazerosas;

A todos os amigos do GEN, pelo convívio e amizade.

Aos membros da banca avaliadora; Dr. Ângela, Dr. Helton, Professor Adriano Bruzi e Professor Cesar Brasil..

Aos meus pais, Beto e Elaine e meus irmãos, Rafael, Yasmin e Igor pelo apoio incondicional, e amor em todos os momentos de minha vida;

Ao meu marido Miguel e a minha filha Ana Clara, pela presença constante, compreensão, carinho, amor, amizade e paciência.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a concretização deste trabalho.

**Muito obrigada!**

## RESUMO GERAL

Os objetivos deste trabalho foram obter progênies de feijoeiro com maiores níveis de resistência fisiológica ao mofo branco, grãos do tipo “Carioca” e porte arbustivo, por meio da seleção recorrente; verificar a eficiência na seleção destes caracteres e se os níveis de resistência obtidos são equivalentes aos das fontes de resistência relatadas na literatura; e avaliar mecanismos bioquímicos envolvidos na resposta de defesa de genótipos de feijoeiro a esta doença. Foram inter cruzadas 13 linhagens de feijoeiro com resistência parcial ao mofo branco, por meio de um dialélio no esquema cônico e foram obtidos sete ciclos de seleção recorrente. Destes ciclos, progênies das gerações  $S_{0:1}$ ,  $S_{0:2}$  e  $S_{0:3}$  dos ciclos III, IV, V, VI foram avaliadas. Também foram avaliadas de 8 a 10 melhores progênies dos sete ciclos, em dois experimentos em casa de vegetação e campo. Os caracteres avaliados foram resistência ao mofo branco pelo método do *Straw test*, porte, tipo de grãos e produção. A seleção recorrente possibilitou ganho na resistência ao mofo branco de aproximadamente 11% ao ano e para o caráter porte o ganho foi de 15 % ao ano. Ganho significativo também foi obtido na seleção de progênies para porte e tipo de grãos dentro de cada ciclo. A seleção recorrente foi eficiente para obtenção de progênies com alto nível de resistência ao mofo branco com grãos do tipo carioca, porte ereto e com produtividade considerável. Para avaliação bioquímica foram utilizadas quatro linhagens com diferentes níveis de resistência ao mofo branco, CNFP10772, Talismã, CNFC9506, e CNFRJ10564. Foram avaliadas atividades de enzimas de defesa e teores de fenóis solúveis totais e lignina em plantas inoculadas com o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* pelo método *Straw test* e não inoculadas. As amostras foram coletadas em duas posições na planta e em seis tempos após a inoculação. Maiores teores de lignina e fenóis solúveis totais e maior indução da atividade da peroxidase e superóxido dismutase em plantas inoculadas na região próxima à inoculação (Posição um) indicam ativação local com posterior sinalização de mecanismos de defesa em outras regiões da planta. O genótipo com maior nível de resistência foi superior ao suscetível quanto à produção de lignina e às atividades das enzimas de defesa peroxidase, ascorbato peroxidase e superóxido dismutase. Estes resultados sugerem que a combinação destas respostas de defesa no feijoeiro pode contribuir para maior resistência da planta ao patógeno e que estas enzimas possuem potencial para uso na seleção de genótipos de feijoeiro.

Palavras – chave: Mofo branco. Resistência genética. *Phaseolus vulgaris*. Proteínas relacionadas à patogênese. Compostos fenólicos.



## ABSTRACT

The objectives of this study were to obtain common bean progenies with higher levels of physiological resistance to white mold, carioca grain type and upright habit, using recurrent selection; verify efficiency in the selection of these characters and check if the resistance levels obtained are equivalent to the sources of resistance reported in the literature; and evaluate biochemical mechanisms involved in the defense response of bean genotypes to this disease. Twelve common bean lines with partial resistance to white mold were intercrossed using a diallel in conic scheme and seven recurrent selection cycles were obtained. Of these cycles, progenies of the  $S_{0.1}$ ,  $S_{0.2}$  and  $S_{0.3}$  generations of cycles III, IV, V and VI were evaluated. From 8 to 10 of the best progenies of the seven cycles were also evaluated, in two experiments in a greenhouse and in the field. The traits evaluated were white mold resistance using *Straw test* method, plant architecture, grain type and grain yield. Recurrent selection allowed a selection progress of about 11 % per year to white mold resistance and of about 15 % per year to the plant architecture. Significant gain was also obtained in the selection process within each cycle. The progenies selection and recurrent selection were efficient to obtain progenies with high-level of resistance to white mold, “Carioca” grain type, upright plant and with considerable grain yield. Some biochemical mechanisms were evaluated in four genotypes with different levels of white mold resistance, CNFP10772, Talismã, CNFC9506 and CNFRJ10564. It was evaluated the activities of defense enzymes, total soluble phenols and lignin in plants inoculated and not inoculated with the fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. Samples were collected at two locations in the plant and in six times after inoculation. Higher levels of lignin and total soluble phenols, and greater induction of the peroxidase and superoxide dismutase activity were detected in the region close to the inoculation (position one), indicating local activation and subsequent signaling of defense mechanisms in other regions of the plant. The genotype with the highest level of resistance was higher than susceptible for the production of lignin and activities of defense enzymes peroxidase, ascorbate peroxidase and superoxide dismutase. These results suggest that a combination of defense responses in common bean can contribute to increased plant resistance to the pathogen, and these enzymes have potential for using in selection of resistant bean genotypes.

Keywords: White mold. Genetic resistance, *Phaseolus vulgaris*. Pathogenesis – related proteins. Phenolic compounds.

## SUMÁRIO

	<b>PRIMEIRA PARTE.....</b>	<b>10</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>13</b>
<b>2.1</b>	<b>Mofa branco.....</b>	<b>13</b>
<b>2.2</b>	<b>Mecanismos de defesa das plantas contra patógenos.....</b>	<b>19</b>
<b>2.3</b>	<b>Métodos de avaliação de resistência ao mofa branco.....</b>	<b>22</b>
<b>2.4</b>	<b>Outros caracteres utilizados na seleção de linhagens de feijoeiro.....</b>	<b>24</b>
<b>2.4.1</b>	<b>Arquitetura da planta.....</b>	<b>26</b>
<b>2.4.2</b>	<b>Tipos de grãos.....</b>	<b>30</b>
<b>2.5</b>	<b>Seleção recorrente.....</b>	<b>30</b>
<b>2.5.1</b>	<b>Progresso Genético.....</b>	<b>35</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>38</b>
	<b>SEGUNDA PARTE – ARTIGOS.....</b>	<b>51</b>
	<b>ARTIGO 1 Seleção Recorrente Para O Incremento Da Resistência Do Feijoeiro Comum Ao Mofa Branco.....</b>	<b>51</b>
	<b>ARTIGO 2 Respostas Bioquímicas Associadas À Defesa Do Feijoeiro Contra <i>Sclerotinia Sclerotiorum</i> .....</b>	<b>106</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>146</b>

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO GERAL

O mofo branco causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* é uma doença que afeta mais de 500 espécies de plantas, sendo uma das principais responsáveis pela redução na produtividade em diversas culturas, incluindo o feijoeiro (SAHARAN; MEHTA, 2008). O fungo sobrevive no solo na forma de escleródio e também como micélios dormentes contaminando tegumento e cotilédones de sementes, o que contribui para a disseminação do patógeno e epidemias em campos de produção. Esse patógeno tem se destacado principalmente em áreas de cultivo sob pivô central onde, geralmente, são realizados plantios sucessivos de feijão e têm-se condições ideais de temperatura e umidade para o seu desenvolvimento. A doença pode levar a perdas de 30% ou mais nas lavouras de feijão, e em períodos chuvosos essa perda pode chegar a 100%, quando se utilizam cultivares suscetíveis e medidas preventivas não são tomadas (SCHWARTZ; SINGH; TERAN, 2013).

O controle recomendado para a doença é a aplicação de fungicidas, que além de causarem danos ao ambiente e representarem um acréscimo de 10% no custo da produção (LOBO JÚNIOR; NASSER, 2007), não tem sido muito eficiente, especialmente quando se utilizam cultivares de feijão suscetíveis, prostradas e de hábito indeterminado tipo III (STEADMAN; BOLAND, 2005). O uso de medidas integradas, incluindo fungicidas, aração profunda e antecipada, rotação de culturas com plantas não hospedeiras, maior espaçamento entre linhas, baixa população, uso de fertilizantes, irrigação reduzida, e uso de cultivares de porte ereto, podem reduzir a incidência da doença (ANDO et al., 2007; KOLKMAN; KELLY, 2002). Contudo, o uso de tais medidas integradas podem reduzir a produtividade e o retorno econômico (SCHWARTZ; SINGH; TERAN,

2013), apesar de alguns estudos indicarem aumento de produção associado ao aumento de espaçamento (PAULA- JUNIOR et al., 2009; VIEIRA et al., 2010).

Mesmo com tais mecanismos de controle da doença, o emprego de cultivares resistentes é a medida de menor custo, que exige um manejo menos intensivo do agricultor e causa menor impacto ambiental. Uma das principais dificuldades no uso da resistência para o controle deste patógeno é a ocorrência de apenas níveis moderados de resistência e poucos genótipos mesoamericanos e andinos com potencial de uso nos programas de melhoramento. Contudo, altos níveis de resistência estão presentes em fontes exóticas como em *P. coccineus* L. e outras espécies relacionadas e não adaptadas (MYERS; GILMORE; HAGGARD, 2008; SINGH et al., 2009a). Tais espécies têm sido utilizadas na tentativa de transferência de alelos de resistência, contudo, os níveis de resistência obtidos têm sido intermediários (MIKLAS et al., 1998; MIKLAS et al., 2006; SINGH et al., 2009a, b). Há evidências de que entre as cultivares/linhagens com grãos do tipo carioca e adaptadas às condições do centro sul do Brasil, há algumas que apresentam certo nível de resistência (GONÇALVES; SANTOS, 2010).

Plantas com maiores níveis de resistência podem apresentar diversos mecanismos que as permitam se defender das agressões deste inimigo natural. Dentre estes mecanismos estão: a resistência fisiológica e os mecanismos de escape. A resistência fisiológica é determinada pela capacidade da planta se defender impedindo, restringindo ou retardando a penetração do patógeno em seus tecidos e diminuindo os danos potenciais. Já os mecanismos de escape são determinados por características morfológicas da planta que propiciam ambiente desfavorável para proliferação do patógeno, como estrutura ereta das plantas, dossel aberto, hospedagem reduzida e maturidade precoce (KOLKMAN; KELLY, 2002).

A resistência fisiológica e os mecanismos de escape são de herança quantitativa e já foram identificados 26 QTLs relacionados a resistência fisiológica

e 36 relacionados a mecanismos de escape (MIKLAS et al., 2013). Segundo Yang et al. (2007) mais de 300 genes alteram sua expressão na presença do patógeno, dentre estes genes, estão incluídos aqueles relacionados a mecanismos gerais de resistência. Algumas respostas bioquímicas têm sido identificadas e induzidas pela presença do patógeno. A ativação de genes que codificam enzimas como as superóxidos dismutases, polifenoloxidasas e peroxidases, bem como o acúmulo de compostos fenólicos e lignina na presença de *S. sclerotiorum*, tem sido relatado na literatura em algumas culturas como em soja (MALENCIC et al., 2010), canola (RIETZ; BERNSDORFF; CAI, 2012), alface (RODRIGUES et al., 2007) e melão (BUZI et al., 2004). Esses genes podem ligar importantes rotas de resposta de defesa da planta a infecção do patógeno.

Como a resistência ao mofo branco é de herança complexa e altamente influenciada pelo ambiente, e altos níveis são encontrados apenas em fontes não adaptadas, a transferência de alelos favoráveis relacionados a esta característica para cultivares adaptadas é indispensável. A forma mais eficiente de aumentar a frequência de alelos/QTL favoráveis provenientes de diferentes genitores é a seleção recorrente (RAMALHO et al., 2012).

A seleção recorrente permite utilizar vários parentais resistentes ao mofo branco em sucessivos ciclos de intercruzamento, seleção e avaliação. Ela permite melhorar um ou mais caracteres ao mesmo tempo, especialmente quando alelos/QTL dos diferentes caracteres forem encontrados em diferentes genitores, uma vez que o processo é cíclico e dinâmico (GERALDI, 2005). A associação da resistência fisiológica a mecanismos de escape, como o porte ereto, permite uma maior resistência das plantas ao patógeno (ENDER; KELLY, 2005) e a seleção recorrente permite essa associação, se nos genitores a serem cruzados existirem alelos favoráveis para ambos os caracteres. Assim pode-se ainda realizar o melhoramento simultâneo para outros caracteres de importância agrônômica como tipo de grãos e produção.

Diante do exposto, os objetivos deste trabalho foram: selecionar progênies com maiores níveis de resistência fisiológica ao mofo branco, com grãos do tipo carioca e porte arbustivo, utilizando a seleção recorrente; Verificar se a seleção recorrente foi eficiente na obtenção de progênies com alto nível de resistência ao mofo branco, pelo menos equivalente ao das fontes de resistência relatadas na literatura; Investigar alterações em compostos de defesa de cultivares de feijoeiro com diferentes níveis de resistência ao fungo *S. sclerotiorum* e determinar se estes compostos são importantes na resistência ao patógeno e se estes têm potencial de uso como marcadores biológicos.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Mofo branco**

O mofo branco, causado por *Sclerotinia sclerotiorum*, também conhecido por murcha-de-esclerotinia ou podridão aquosa, é uma das doenças de plantas de maior importância mundial e, uma das mais destrutivas no feijoeiro, especialmente nas áreas irrigadas do Brasil, nos plantios realizados nas safras de outono-inverno-primavera (PAULA-JUNIOR; ZAMBOLIM, 2006).

O fungo infecta mais de 500 espécies de plantas no mundo incluindo espécies cultivadas de grande importância econômica (SAHARAN; MEHTA, 2008). A maioria das espécies afetadas pelo fungo são dicotiledôneas como amendoim, girassol, soja, feijão, ervilha, grão de bico, lentilhas, batata e vários outros vegetais, contudo, espécies monocotiledôneas também o são como cebolas e tulipas (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006). No Brasil, a ocorrência de *S. sclerotiorum* foi observada pela primeira vez em 1921, por Saccá, que verificou o

fungo sobre *Solanum tuberosum* L., no estado de São Paulo. Nos anos seguintes, o patógeno foi identificado em diferentes hospedeiros em outros estados do país.

*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary é um fungo pertencente à subdivisão Ascomycotina, Filo Ascomycota, classe Discomycetes, ordem Helotiales, família Sclerotiniaceae. Este patógeno é um fungo necrotrófico que infecta, geralmente, na junção do pecíolo com a haste da planta de feijão, aproximadamente 10 a 15 cm acima da linha do solo, onde flores, pétalas e folhas desprendidas geralmente ficam retidas (SCHWARTZ; SINGH; TERAN, 2013). O fungo usualmente causa lesões aquosas que expandem rapidamente nos tecidos dos hospedeiros. O patógeno causa necrose foliar invadindo os pecíolos e posteriormente a haste da planta. As hastes desenvolvem uma lesão escura e úmida e posteriormente pode ocorrer formação de aglomerados de hifas com aspecto cotonoso que é um dos sinais mais característicos da infecção pelo *S. sclerotiorum* (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006). Logo após a infecção as plantas podem não aparentar estarem infectadas pelo fungo, contudo, como o fungo progride dentro da haste principal pode ocorrer murcha da planta sem escurecimento da haste e sem aparecimento de micélio externo. O patógeno cresce dentro do tecido infectado, com desenvolvimento de ramificações de hifas inter e intracelular, frequentemente na haste, mas pode aparecer na superfície do tecido em condições de alta umidade. Uma vez que a doença inicia no hospedeiro ela pode espalhar em uma plantação através do contato planta a planta (OLIVEIRA, 2005).

O fungo consegue seu ótimo desenvolvimento em condições de alta umidade e temperaturas amenas, variando de 15°C a 20°C. Nessa situação, uma lavoura de feijão pode sofrer, em média, perdas de 30% ou mais, podendo em períodos chuvosos chegar a 100%, quando medidas preventivas não são tomadas (OLIVEIRA, 2005; RAVA, 2013). No Brasil, esta doença tem tido maior importância nas safras de outono/inverno sob irrigação por aspersão. Período em

que ocorrem as condições ideais para o desenvolvimento da doença (CARDOSO, 1994, NAPOLEÃO et al., 2005, OLIVEIRA, 2005).

Na ausência de hospedeiro suscetível, o fungo pode persistir por um longo período no solo, sobrevivendo por até 15 anos por meio de estruturas de resistência, de coloração escura, conhecidas como escleródios. Estas estruturas variam drasticamente em tamanho e forma, dependendo da cultura. Os escleródios são formados por agrupamento de hifas, que a princípio apresentam coloração branca e, posteriormente ocorre a formação de um revestimento exterior preto com células espessas que contêm melanina. Acredita-se que este revestimento tem função de proteger os escleródios tornando-os altamente resistentes a fungos parasitas (HENSON; BUTLER; DAY, 1999) a substâncias químicas, calor seco até 600 graus Celsius e congelamento (CARDOSO, 1994; OLIVEIRA, 2005; LOBO JÚNIOR; NASSER, 2007).

Os escleródios podem germinar carpogênica ou miceliogênicamente, dependendo das condições ambientais, o que resulta em duas categorias da doença. Na germinação miceliogênica ocorre à produção de micélio hialino e septado, que penetra através da cutícula da planta utilizando enzimas, mecanismos de força via apressórios ou através dos estômatos (LUMSDEN; DOW, 1973; LUMSDEN, 1979; PHILIPS, 1987). Na germinação carpogênica o fungo produz apotécios e subsequentemente ascósporos, os principais propágulos infectivos desse patógeno (HARIKRISHMAN; DEL RIO, 2006). Estes infectam a planta hospedeira nas porções acima do solo. Já no hospedeiro os ascósporos germinam formando o micélio que invade o tecido rapidamente. Na germinação carpogênica, o escleródio pode produzir um ou mais apotécios. O apotécio libera ascósporos continuamente por 2 a 17 dias, com média de 9 dias. A produção máxima de ascósporos ocorre num intervalo de 2 a 3 dias entre o quarto e nono dia de vida ativa do apotécio. O total de ascósporos produzidos por um apotécio atinge ao redor de dois milhões.



Os ascósporos podem germinar na superfície de um tecido saudável, mas não podem infectar a planta sem uma fonte exógena de nutrientes e um filme de água. Tecidos senescentes, necrosados ou flores geralmente servem como fonte de nutrientes para iniciar sua germinação, dando início à infecção micelial da planta hospedeira (ABAWI; GROGAN, 1979; LUMSDEN, 1979; MCLEAN, 1958). Depois da colonização dos tecidos senescentes, o fungo invade tecidos verdes vivos em contato com as flores e espalham para outras partes da planta (HARIKRISHMAN; DEL RIO, 2006). Em alguns vegetais, como no feijão e na cenoura, o micélio pode continuar desenvolvendo mesmo após a colheita e pode levar ao apodrecimento do tecido infectado (LUMSDEN, 1979). Os esporos germinados dos escleródios são dispersos pelo vento e/ou pela água. A disseminação do fungo pode também ocorrer pelas próprias estruturas de resistência aderidas aos implementos agrícolas, em restos culturais ou em mistura com as sementes (RAVA, 2013).

São vários os fatores que influenciam na germinação dos escleródios desse fungo, tais como: os nutrientes do substrato no qual o escleródio é formado, a idade e tamanho dos escleródios, os fatores ambientais, como umidade, temperatura, luz, pH do solo, aeração, a profundidade na qual o escleródio se encontra no solo e o tipo de solo. Segundo Bardin e Huang (2001) essa germinação ocorre em baixas temperaturas, em uma combinação de umidade e eventos secos, sendo que a iniciação dos ascósporos nas plantas está sempre associada a eventos de irrigação ou períodos chuvosos. A influência do solo não cultivado na germinação se dá por meio de características supressivas evidenciadas por retardamento do aparecimento de estipes e formação mais lenta dos apotécios, em relação ao solo cultivado (COSTA; COSTA, 2006, BRANDÃO; PRADO; LOBO, 2008).

Nos experimentos de Ferraz et al. (1999) foi comprovada a influência da umidade do solo, matéria orgânica e a presença de cobertura vegetal na germinação

carpogênica de *S. sclerotiorum*, sendo que a matéria orgânica e a umidade do solo favoreceram a germinação e a presença de cobertura vegetal (palhada) prejudicou. Segundo esses mesmos autores, a germinação carpogênica, a intensidade da doença, e a quantidade de inóculo (na forma de escleródios) para as safras posteriores são muito dependentes das práticas culturais adotadas. Assim, a adoção do plantio convencional e de maiores lâminas de irrigação favorece substancialmente o número observado de apotécios na cultura, a severidade do mofo-branco e o número de escleródios produzidos. Em plantio direto com menores lâminas de irrigação todas essas variáveis foram consistentemente menores (NAPOLEÃO et al., 2005). Outros estudos também confirmaram a influência da umidade no número de escleródios germinados e de apotécios viáveis com resultados consistentes tanto para solos mais úmidos quanto para solos mais secos (NAPOLEÃO et al., 2007). O conhecimento da epidemiologia da doença e da biologia do patógeno permite formular hipóteses e testar práticas culturais para o controle de diversas doenças de solo.

O controle da doença pode ser realizado através de medidas como: uso de sementes livres de patógeno; evitar o tráfego de pessoas e equipamentos provenientes de áreas infestadas; rotação de cultura com gramíneas; plantio direto; eliminação de resíduos culturais infectados; solarização do solo; controle da água de irrigação; uso de fertilizantes nitrogenados com moderação, redução da densidade de semeadura e aplicação foliar de fungicidas (BIANCHINI; MARIGONI; CARNEIRO, 2005; VIEIRA et al., 2005). O controle químico em geral não é eficaz, no entanto, a densidade de inóculo no solo determina a eficiência do controle químico da doença (PAULA-JUNIOR; ZAMBOLIM, 2006). Além dos mecanismos de controle citados, a obtenção de cultivares com resistência é de grande importância para o controle integrado da doença no Brasil, especialmente considerando que as cultivares brasileiras possuem níveis relativamente baixos de resistência a esse fitopatógeno.

Há dois mecanismos envolvidos na resistência do feijoeiro a este patógeno: a resistência fisiológica e os mecanismos de escape. Os mecanismos de escape têm sido estudados como complementares a resistência fisiológica uma vez que evitam ou reduzem a doença no campo, por meio da limitação do inóculo inicial e da subsequente infecção do mofo branco. Dentre os caracteres relacionados à resistência ao mofo branco, o porte ereto da planta e a porosidade do dossel têm sido relatados em alguns trabalhos (KOLKMAN; KELLY, 2002; ENDER; KELLY, 2005; SOULE et al., 2011; MIKLAS et al., 2013). Esses autores também estudaram dias para florescimento e maturidade, que também são caracteres importantes. A arquitetura da planta tem grande influência devido às condições microclimáticas dentro do dossel da planta que pode limitar o estabelecimento e desenvolvimento de fungos. Genótipos mais eretos têm maior capacidade de escapar da infecção inicial e a porosidade da copa tende a minimizar o desenvolvimento da doença. Contudo, apesar de tais caracteres influenciarem na resistência ao mofo branco, não levam a resistência fisiológica e são considerados apenas mecanismos de escape, sendo que cultivares resistentes e suscetíveis podem possuir porte ereto ou prostrado.

Miklas et al. (2006) identificaram uma cultivar de feijão de hábito de crescimento indeterminado do tipo II, com copa aberta e porosa, arquitetura da planta semidecumbente e com baixos níveis de infecção do mofo branco, enquanto que Kolkman e Kelly (2002) identificaram cultivares com hábito de crescimento determinado que foram altamente suscetíveis ao mofo branco. Já nos trabalhos de Miklas et al. (2001) foram identificados genótipos resistentes de feijão andino com hábito de crescimento determinado e dossel mais aberto e poroso. O aumento na altura das plantas tem sido associado com reduzidos níveis de doença (MIKLAS et al., 2001; SCHWARTZ; SINGH., 2013)

## 2.2 Mecanismos de defesa das plantas contra patógenos

As plantas não aceitam passivamente as agressões sofridas por parte de seus inimigos naturais, por isso elas apresentam uma série de mecanismos de defesa que podem ser passivos ou ativos. Os mecanismos passivos ou pré-formados envolvem barreiras estruturais ou compostos antimicrobianos que se apresentam estrategicamente posicionados para prevenir a colonização dos tecidos. E os mecanismos ativos ou pós-formados são aqueles que se manifestam a partir do contato com o patógeno (CARVALHO, 2012) .

Estes mecanismos podem ser estruturais e bioquímicos. Os mecanismos estruturais constituem-se em barreiras físicas à penetração e/ou colonização do patógeno, enquanto que os mecanismos bioquímicos englobam substâncias capazes de inibir o desenvolvimento ou gerar condições adversas para a sobrevivência do patógeno nos tecidos do hospedeiro. Estes devem estar presentes em concentração adequada nas partes invadidas e de forma acessível ao patógeno, de tal maneira que mudanças na concentração da(s) substância(s) implique em mudanças na expressão da doença (SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; PASCHOLATI, 2008).

Nos mecanismos bioquímicos pré-formados, as substâncias estão presentes na planta em altas concentrações nos tecidos sadios antes do contato com o patógeno ou podem se converter em substâncias altamente tóxicas com o início da infecção. Dentre as respostas de defesa pré-formadas pode-se destacar a síntese de fenóis, alcalóides glicosídicos, lactonas insaturadas, glicosídeos fenólicos e cianogênicos, inibidores proteicos, quitinases e  $\beta$ -1,3 glucanases. Bem como a presença de estruturas como a cutícula, tricomas, estômatos e fibras/vasos condutores.

Os mecanismos pós-formados ou respostas de defesa induzidas são aqueles que se manifestam após a infecção com o patógeno. Este tipo de defesa pode ocorrer nos tecidos próximos à reação de necrose, causada pela infecção do

patógeno ou tratamento químico, sendo chamada de resistência local adquirida (BIANCHINI; MARIGONI; CARNEIRO, 2005). Após este processo, por meio da transmissão de sinais bioquímicos, outras partes da planta são induzidas a produzir substâncias de defesa, caracterizando a resistência sistêmica adquirida (CARVALHO, 2012). Dentre as respostas de defesa pós-formadas estão: as explosões oxidativas, reação de hipersensibilidade (RH), produção de fitoalexinas e proteínas relacionadas a patogêneses, síntese de inibidores de proteases, enzimas da rota de fenilpropanoides, como a fenilalanina amônio liases, chalconas, polifenoloxidasas, enzimas envolvidas na peroxidação de lipídios, como as lipoxigenases, acúmulo de compostos fenólicos, lignificação, formação de papilas, halos, formação de camadas de cortiça, tiloses e deposição de gomas.

Uma das primeiras mudanças bioquímicas na resposta de resistência observada após o reconhecimento do patógeno é a explosão oxidativa, que é a liberação controlada de superóxidos ( $O_2^-$ ) e peróxido de oxigênio ( $H_2O_2$ ) no local de ingresso do patógeno. A explosão oxidativa é requerida para várias respostas de defesa e é expressa na maioria se não em todas as espécies (CESSNA et al., 2000). É comum a indução da morte celular no local de penetração do patógeno e a resposta de hipersensibilidade (RH). Esta resposta ocorre quando uma planta reconhece especificamente o patógeno, durante uma interação incompatível. A morte celular é manifestada como um rápido colapso do tecido e representa uma forma eficiente de defesa para muitos patógenos biotróficos. Contudo, aparentemente não parece proteger plantas contra o ataque de patógenos necrotróficos como o fungo *S. sclerotiorum* que pode utilizar células mortas como fonte de nutrientes (MALENCIC et al., 2010).

O metabolismo oxidativo em células normais em diferentes situações de estresse gera espécies reativas de oxigênio (ROS). As ROS tais como os radicais superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radical hidroxil ( $\cdot OH$ ), e oxigênio SINGLET ( $^1O_2$ ) têm implicado em um grande número de desordens fisiológicas

em plantas (SCANDALIOS, 1993). As ROS inibem o desenvolvimento de cloroplastos, reduzem a viabilidade de sementes e crescimento das raízes, estimulam a abscisão das folhas, causam peroxidação de membranas lipídicas essenciais e danos em proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos e pigmentos tais como cloroplastos ou carotenóides (PHILOSOPH-HADAS et al., 1994). A invasão de patógenos induz a formação de ROS e como resposta de defesa as plantas utilizam seus sistemas antioxidantes (MALENCIC et al., 2004). Sistemas de defesa antioxidantes têm coevoluído com o metabolismo aeróbico contra-atacando o dano oxidativo causado pelas ROS. Isto inclui as enzimas antioxidantes pré-formadas que podem aumentar a sua produção após a infecção e as enzimas pós-formadas. Algumas destas enzimas como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathiona redutase (GR), glutathiona-S-transferase (GST) e diferentes tipos de peroxidases (POX), polifenoloxidases (PPO) e alguns sistemas antioxidantes não enzimáticos tais como, glutathiona, tocoferol, carotenóides, ascorbato, flavonóides e outros compostos fenólicos, têm sido constantemente relacionadas ao aumento de resistência do hospedeiro ao invasor (MALENCIC et al., 2010; KANG; SALTVEIT, 2001).

Deve-se considerar que a reação da planta à infecção pode variar de acordo com o modo de colonização do patógeno, uma vez que microrganismos biotróficos agem buscando impedir o desencadeamento dos mecanismos de defesa da planta, enquanto que os necrotróficos agem suprimindo tais mecanismos. Diante disso, duas estratégias podem ser utilizadas pelas plantas: contra os biotróficos, os genes de defesa asseguram o desencadeamento, em dado momento, de mecanismos que mantêm a resistência ao patógeno, ao passo que, contra os necrotróficos, os genes de resistência buscam anular os mecanismos de patogenicidade do invasor (MALENCIC et al., 2010).

Vários estudos têm comprovado que esses mecanismos de defesa podem aumentar a resistência à *S. sclerotiorum*. Yang et al. (2007), em seus estudos com

canola, mostram que genes codificadores de enzimas como peroxidase, ascorbato peroxidase, glutatona peroxidase e outros relacionados ao metabolismo de espécies reativas de oxigênio e a estrutura e função da parede celular apresentam expressão alterada na presença de *S. sclerotiorum*. O metabolismo de espécies reativas de oxigênio também tem se mostrado relevante nos estudos relacionados aos níveis de resistência de plantas à *S. sclerotiorum*, em soja (MALENCIC et al., 2010), canola (RIETZ; BERNSDORFF; CAI, 2012), alface (RODRIGUES et al., 2007) e melão (BUZI et al., 2004). Todos estes trabalhos mostram que há genes que podem ligar importantes rotas de resposta de defesa da planta a infecção do patógeno.

### **2.3 Métodos de avaliação de resistência ao mofo branco**

Há vários métodos para identificar a resistência fisiológica do feijão ao mofo branco, como: (i) utilização de campos com histórico da doença (ii) métodos de inoculação direta em planta intacta. (iii) métodos de inoculação direta em órgãos isolados da planta e (iv) métodos indiretos.

Alguns melhoristas optam pela avaliação da doença em campos com histórico de incidência do patógeno. Contudo, problemas como infecção não homogênea nos campos de avaliação, dependência das condições ambientais para o desenvolvimento da doença e presença de isolados com diferentes graus de agressividade, têm dificultado as avaliações por incidência natural (LEHNER et al., 2008). Além das diferenças morfológicas como porte prostrado ou arbustivo que podem mascarar a resistência fisiológica (ENDER; KELLY, 2005; MIKLAS et al., 2013).

O método direto em planta intacta consiste em infectar a planta inteira com o fungo. Neste método está incluído o *Straw test* ou teste do canudo, que é considerado o mais eficiente para a avaliação da resistência fisiológica e ainda apresenta a vantagem de não ser destrutivo, o que permite o avanço de programas

de melhoramento para obtenção de progênies resistentes. Neste método, um disco de Agar com micélio do fungo crescido é inserido na haste cortada da planta, de três a cinco semanas após a semeadura, com auxílio de ponteiros plásticos de micropipetas para que o fungo infecte a planta e após um período de seis a oito dias realiza-se a avaliação (PETZOLDT; DICKSON 1996, SINGH; TERÁN, 2008).

Esse método foi utilizado por Carneiro et al. (2011) no estudo do controle genético da resistência ao mofo branco. Neste estudo os autores realizaram o cruzamento entre uma fonte exótica de resistência, G122 e uma linhagem elite com grãos do tipo carioca e altamente suscetível ao patógeno, M20 e constatou -se que o controle genético é devido principalmente ao efeito aditivo e as possibilidades de ganho com a seleção são semelhantes as obtidas com o uso do ácido oxálico.

Outro método direto que também tem sido utilizado é a inoculação direta de esporos em suspensão ou micélio de *S. sclerotiorum* em partes excisadas do feijoeiro, e podem ser utilizadas flores, folhas e hastes da planta (OLIVIER; GOSSSEN; SEGUIN-SWARTZ, 2008; MIKLAS et al., 1992).

Quanto aos métodos indiretos de avaliação destaca-se o filtrado do patógeno para detectar resistência fisiológica (MIKLAS; GRAFTON; NELSON, 1992), o teste do ácido oxálico (KOLKMAN; KELLY, 2000) e avaliação da produção de pigmento solúvel na haste em ácido oxálico (WEGULO; YANG; MARTINSON, 1998). Além destes métodos, tem sido utilizada resistência ligada a marcadores moleculares para detectar presença de QTLs de resistência ao mofo branco (MIKLAS et al., 2001; ENDER; KELLY, 2005, SOULE et al., 2011; MIKLAS et al., 2013) e ainda avaliação de enzimas relacionadas a mecanismos gerais de defesa que também podem conferir resistência ao mofo branco (YANG et al., 2007; MALENCIC et al., 2010; RIETZ; BERNSDORFF; CAI, 2012; RODRIGUES et al., 2007; BUZI et al., 2004).

O método de absorção do ácido oxálico é um dos métodos mais utilizados na avaliação de resistência a *S. Sclerotiorum* (KOLKMAN; KELLY, 2000). Este



método se baseia na secreção de ácido oxálico pelas hifas do fungo no momento da invasão do tecido da planta, ou seja, identifica genótipos com resistência fisiológica via resistência ao oxalato. As vantagens desse procedimento são: avaliação de plantas com cerca de duas a três semanas, podendo-se medir a reação de um grande número de genótipos em um curto período; não depende de manuseio do patógeno e dos erros devidos à variabilidade patogênica de diferentes isolados ou mesmo dentro de um mesmo isolado (MIKLAS; GRAFTON; NELSON, 1992, GONÇALVES; SANTOS, 2010); reduz-se a variabilidade das condições ambientais em que as plantas são expostas, uma vez que o tempo para avaliação é menor e as plantas são semeadas em casa de vegetação, onde há maior controle do ambiente.

Além desses procedimentos de avaliação, mais de 300 genes que alteram sua expressão na presença do patógeno já foram identificados (YANG et al., 2007). Alguns marcadores já foram utilizados em estudos para a identificação de QTLs que explicam parcela significativa da variação fenotípica do caráter (MIKLAS et al., 2001; KOLKMAN; KELLY, 2003; ENDER; KELLY et al., 2006; MIKLAS, 2007; ANTÔNIO, 2013; SOULE et al., 2011, MIKLAS et al., 2013). 26 QTLs que conferem resistência fisiológica ao mofo branco do feijoeiro e 36 relacionados a mecanismos de escape, que mesmo não correspondendo à resistência fisiológica, têm grande influência no progresso da doença (MIKLAS et al., 2013). Já existem também alguns relatados de QTLs identificados nas condições brasileiras (ANTÔNIO, 2013; LARA, 2013).

## **2.4 Outros caracteres utilizados na seleção de linhagens de feijoeiro**

Na seleção de linhagens de feijoeiro, pode-se trabalhar com características isoladas, ou com um conjunto de características desejáveis. A opção por trabalhar com características isoladas tem como vantagem a possibilidade de um ganho mais

rápido para o caráter em questão, contudo, os genótipos obtidos serão apenas intermediários no processo de melhoramento, e necessitará de novas etapas de intercruzamento, avaliação e seleção para que este seja aceito pelo mercado consumidor. A opção por trabalhar com vários caracteres ao mesmo tempo, pode dificultar a obtenção de genótipos favoráveis para as várias características avaliadas, reduzindo o ganho com a seleção, mas o sucesso na seleção pode resultar em um material com características desejáveis ao mercado consumidor. Couto, Santos e Ferreira (2008) realizaram melhoramento para o feijoeiro comum, visando obter grãos do tipo “carioca”, porte ereto, resistência a antracnose e a mancha angular. Os autores observaram redução no ganho nas avaliações simultâneas dos quatro caracteres, contudo, obteve-se quatro linhagens com porte ereto, grãos carioca e resistentes a mancha angular, sendo que uma delas possuía o alelo Co-4 de resistência a antracnose e outras duas o alelo Co-7.

A deficiência em apenas um dos caracteres de importância agrônoma em uma cultivar pode levar a não aceitação do mercado consumidor, como ocorreu com a cultivar “Carioca MG” lançada pela Universidade Federal de Lavras. Ela possuía o diferencial de ser portadora de alelos de resistência à antracnose, porte arbustivo e alta produtividade de grãos, contudo, possuía grãos pequenos e tegumento ligeiramente escuro. A baixa aceitação ocorreu devido à associação do tegumento escuro a grãos velhos, e também aos grãos de tamanho fora do padrão comercial.

Assim, na seleção simultânea, caracteres agronomicamente importantes como tipo de grãos, arquitetura da planta e produtividade de grãos podem ser considerados juntamente a resistência a doenças, desde que os genitores apresentem variabilidade para estes caracteres.

### 2.4.1 Arquitetura da planta

O porte é considerado um dos caracteres mais importantes da planta, pois ele é essencial na descrição das cultivares e na escolha da forma mais adequada para o plantio nas mais variadas condições de cultivo (SANTOS; GAVILANES, 2006). O porte mais ereto das plantas apresenta uma série de vantagens, tendo por isso recebido grande atenção dos melhoristas. Dentre as vantagens destaca-se: pode apresentar menor acamamento que propicia facilidade nos tratos culturais, possibilidade de colheita mecânica, redução das perdas na colheita devido ao menor contato com o solo, propiciando também maior qualidade dos grãos e menor incidência de doenças, destacando o mofo branco, pois o ambiente se torna menos propício para a ocorrência de patógenos, uma vez que ocorre maior circulação do ar na planta (KOLKMAN; KELLY, 2002, ENDER; KELLY, 2005).

A arquitetura da planta é um caráter complexo e um conjunto de características contribui para que a planta seja ereta ou prostrada. Dentre estas características estão altura da planta, hábito de florescimento, comprimento da haste principal, número e comprimento dos entrenós na haste principal, número e ângulo de ramificações que se iniciam na haste principal, distribuição das vagens na planta, tamanho dos grãos, diâmetro do hipocótilo, *Stay Green* e hábito de crescimento (SANTOS; GAVILANES, 2006).

O hábito de crescimento é uma das características mais importantes na determinação da arquitetura da planta, e pode ser determinado ou indeterminado. O hábito de crescimento determinado caracteriza-se por apresentar os caules e ramos laterais terminando na inflorescência terminal, possuir número limitado de nós e a floração inicia-se do ápice para a base da planta. O hábito de crescimento indeterminado é caracterizado por possuir um caule principal com crescimento contínuo, numa sucessão de nós e entrenós, as inflorescências se desenvolvem nas axilas das flores e a floração se inicia da base para o ápice.

O tipo de planta do feijoeiro depende principalmente do hábito de crescimento, do comprimento dos internódios e da capacidade ou não de emitir guias. E as plantas são classificadas em quatro tipos, que são plantas do tipo I, II, III e IV. Plantas do tipo I caracterizam-se pelo hábito de crescimento determinado, arbustivo, com ramificações eretas e fechadas e possuem internódios mais curtos; tipo II, hábito de crescimento indeterminado, arbustivo, o caule é ereto, as ramificações são mais fechadas e em menor número e apresentam guia curta; tipo III, hábito de crescimento indeterminado, prostrado ou semiprostrado com ramificações bem desenvolvidas abertas e guia longa; e tipo IV, hábito de crescimento indeterminado e com grande capacidade trepadora e forte dominância apical (VIEIRA et al., 2005).

Um grande entrave nos estudos da arquitetura da planta é a forte influência do ambiente nesse caráter. Alta umidade, temperaturas elevadas e fertilidade abundante são condições que levam as plantas a apresentarem um maior desenvolvimento vegetativo, fazendo com que até mesmo linhagens que se mostraram bem eretas em algumas condições de cultivo tornem-se prostradas em outras. Collicchio, Ramalho e Abreu (1997), avaliando porte em três safras verificou que na safra das águas as notas de porte foram maiores, ou seja, as plantas apresentaram maior desenvolvimento. Então seria indicado avaliar plantas em condições desfavoráveis, de forma que aquelas que se mantiverem eretas nessas condições também serão em condições favoráveis de cultivo.

Visando obter maiores informações sobre os caracteres relacionados ao porte das plantas, Koinange, Singh e Gepts (1996) verificaram que o controle genético do hábito de crescimento é realizado por um único gene, denominado *fin*, sendo o alelo dominante responsável pelo hábito indeterminado e o recessivo pelo determinado. Chavarro e Blair (2010) confirmaram a eficiência deste gene após identificação de QTLs relacionados ao crescimento ereto do feijão próximos ao gene *fin*. Observa-se ainda que esse gene apresenta efeito pleiotrópico para hábito

de crescimento, precocidade no florescimento, redução do número de nós e entrenós, e redução no número de vagens. Esse gene também está ligado ou é pleiotrópico para tamanho de grãos e das folhas. Outro gene está relacionado à presença de guia, o gene *ton*, e o alelo de dominância condiciona a sua formação (KRETCHMER; LAIN; WALLACE, 1979).

Santos e Vencovsky (1986) e Teixeira, Ramalho e Abreu (1999) trabalhando com caracteres morfológicos associados a arquitetura da planta, verificaram que, o comprimento dos entrenós foi o caráter que explicou a maior parte da variação na arquitetura e ainda que o controle genético foi predominantemente de efeito aditivo. Aguiar, Ramalho e Marques-Junior (2000) avaliando famílias resultantes do cruzamento de cultivares contrastantes para *stay green*, ou seja, senescência tardia do caule e das folhas em relação às vagens, verificaram que plantas mais eretas apresentaram senescência mais tardia e constataram que a herança deve ser oligogênica com predominância dos efeitos de dominância. Carmo et al. (2007) realizaram a seleção fenotípica entre linhagens considerando a arquitetura da planta e obtiveram herdabilidade entre 60% e 70%, entretanto, os ganhos não foram elevados principalmente devido a acentuada interação de genótipos por ambientes.

Apesar da dificuldade de se obter plantas eretas, linhagens de feijão carioca com bom porte têm sido obtidas. Entretanto, muitas dessas linhagens possuem grãos pequenos, o que dificulta a aceitação no mercado (RAMALHO; ABREU, 2006). Segundo (KELLY; ADAMS, 1987) esses grãos pequenos estão relacionados às folhas pequenas, ou seja, plantas com folhas menores têm maior probabilidade de serem eretas e tem sido difícil associar as características grãos de tamanho comercial e o porte ereto em uma mesma planta. No entanto, os genes que controlam tais caracteres não são ligados, podendo-se obter cultivares com grãos de tamanho comercial e porte ereto em um mesmo indivíduo (COLLICCHIO; RAMALHO; ABREU, 1997).

Outra importante característica que está associada à arquitetura da planta é a produção de grãos e em geral plantas eretas também são menos produtivas que cultivares prostradas, sendo recomendado para contornar este problema, o plantio mais adensado das cultivares eretas (BEZERRA et al., 2001). Contudo, com essa prática, é perdida uma das principais vantagens do porte ereto que é a redução da severidade de doenças, especialmente o mofo branco (MIKLAS et al., 2013). Então a melhor alternativa é a obtenção de cultivares eretas e produtivas e segundo Teixeira, Ramalho e Abreu (1999) e Collicchio, Ramalho e Abreu (1997) a maioria das correlações realizadas entre porte e produção de grãos é de baixa magnitude e também constataram ser possível obter cultivares eretas e produtivas.

Nos estudos de Mendes (2009), utilizando o sistema de nove covas observou que o controle genético do porte da planta do feijoeiro apresenta efeito principalmente aditivo e a herdabilidade ao nível de planta foi elevada, indicado viabilidade de ganho com a seleção mesmo na geração  $F_2$ . E mostrou ainda que a seleção visando obter plantas eretas e produtivas foi promissora. Cunha, Ramalho e Abreu (2005), utilizando da seleção recorrente também obteve sucesso na seleção para porte ereto, tipo de grãos e capacidade produtiva.

Os resultados de todos esses autores indicam que é possível incluir os três caracteres desejáveis em uma mesma planta, ou seja, se obter plantas eretas com grãos de tamanho comercial e produtivas, desde que a população base seja formada por genitores com diferentes alelos para tais caracteres. Deve-se considerar ainda que a arquitetura da planta é de grande importância para complementar à resistência fisiológica ao mofo branco, uma vez que plantas eretas desfavorecem o desenvolvimento do patógeno, devido a maior aeração ou circulação do ar na planta, sendo um importante mecanismo de escape, como comentado no tópico 2.1 (ENDER; KELLY, 2005).

#### **2.4.2 Tipos de grãos**

O tipo dos grãos tem sido alvo de grande atenção nos programas de melhoramento do feijoeiro, uma vez que é um dos principais limitantes na recomendação de uma nova cultivar, pois o mercado consumidor é muito exigente e rejeita qualquer tipo de grão que esteja fora dos padrões comerciais. O feijão carioca representa cerca de 70% do mercado consumidor brasileiro (DEL PELOSO; MELO, 2005) e em função de sua grande aceitação, os programas de melhoramento passaram a dar ênfase a esse tipo de grão. Os grãos do tipo carioca são grãos com 23g a 25g, de fundo bege claro com listras marrons claras (RAMALHO; ABREU; SANTOS, 2005).

O feijoeiro apresenta grande variabilidade para cor do grão. Tal variabilidade deve-se a herança do caráter ser complexa e segundo Bassett (2004), existem mais de 20 genes envolvidos na cor do tegumento.

Apesar da herança do caráter ser complexa, a herdabilidade em geral é elevada e normalmente não se observa interações por ambientes, o que facilita o trabalho do melhorista (RAMALHO; ABREU; SANTOS, 2005). Por essas razões a seleção do caráter em geral é praticada na fase inicial do programa de melhoramento, eliminando-se assim os tipos indesejáveis e reduzindo o excesso de genótipos a serem avaliados em gerações futuras.

#### **2.5 Seleção recorrente**

Grande parte das características de importância no melhoramento de plantas é controlada por muitos genes e a probabilidade de se obter após um único ciclo seletivo todos os alelos favoráveis, quando se utiliza as metodologias tradicionais de melhoramento, é muito baixa. Além disso, os alelos favoráveis de um caráter quantitativo qualquer sempre ocorrem distribuídos em diferentes

genótipos, sendo necessário utilizar o maior número de genitores possível, para se ter a chance de reunir o máximo de alelos favoráveis em um único genótipo descendente. Dessa forma, o modo de reunir o maior número de alelos favoráveis em uma linhagem é por meio de sucessivos ciclos de seleção e recombinação, ou seja, seleção recorrente (RAMALHO et al., 2012).

A seleção recorrente é um método de grande eficiência no melhoramento de caracteres quantitativo e permite utilizar vários genitores com alelos favoráveis distintos em um processo dinâmico e contínuo, que aumenta a frequência destes alelos a cada ciclo (BERNARDO, 2010). Este processo envolve a obtenção de indivíduos e/ou progênes por meio de ciclos sucessivos de avaliação, seleção e recombinação das melhores famílias (GERALDI, 2005). Quanto maior a frequência de alelos favoráveis na população base, maior é a probabilidade de se obter plantas com fenótipo mais próximo do desejável (RAMALHO et al., 2012). Esta metodologia permite ainda melhorar um ou mais caracteres simultaneamente, quando os genitores possuem diferentes alelos/ QTLs favoráveis aos diferentes caracteres.

As principais vantagens da seleção recorrente são: obtenção de maior variabilidade genética uma vez que ocorrem cruzamentos entre múltiplos genitores, maior oportunidade de recombinação genética, devido a sucessivos ciclos de cruzamentos, maior eficiência no acúmulo de alelos favoráveis devido às seleções em cada ciclo e a possibilidade de incorporação de germoplasma exótico na população base. Além da possibilidade de inclusão de novas cultivares na recombinação, mesmo que o processo já esteja em andamento, e a obtenção de linhagens superiores em cada ciclo (RAMALHO et al., 2012 e GERALDI, 2005). Deve-se considerar também que os ciclos sucessivos de seleção recorrente com cruzamentos repetitivos possibilitam a quebra de ligação entre blocos gênicos o que permite separar alelos responsáveis por características desejáveis daqueles indesejáveis (BERNARDO, 2010).



Na seleção recorrente, deve-se considerar que um grande número de genitores implica em uma contribuição muito pequena dos alelos de cada parental e que a maioria será perdida com os ciclos seletivos. Se o número for muito pequeno, a probabilidade de associar a maioria dos alelos favoráveis para o caráter em questão, é também pequena. Desta forma, recomenda-se utilizar 10 a 20 genitores para se construir a população base (VIEIRA et al., 2005). Os genitores selecionados devem apresentar média alta para o caráter em questão e estes devem se complementar. As hibridizações podem ser realizadas utilizando a macho-esterilidade ou manualmente, sendo a segunda opção mais eficiente, pois podem ser direcionadas e no caso do feijoeiro, a utilização da macho-esterilidade, apesar de possível, encontra algumas dificuldades como a não dispersão do pólen e a dificuldade de manutenção das plantas macho estéreis.

Utilizando-se hibridizações manuais podem-se realizar cruzamentos múltiplos e direcionados, como os dialelos com  $n$  genitores combinados 2 a 2. Um procedimento de intercruzamento foi proposto por Bearzoti (1997) e descrito por Ramalho, Abreu e Santos (2001), sendo nomeado de dialelo circulante. Nesse caso sempre um dos pais é cruzado com dois outros. As populações híbridas são obtidas e as melhores são identificadas e recombinadas para se obter o ciclo seguinte, sempre priorizando genitores não comuns. Este processo é repetido até que todos os genitores sejam representados em cada população e cada genitor contribuirá igualmente com o número de alelos.

A seleção recorrente pode ser realizada de duas maneiras: seleção de indivíduos que também pode ser denominada seleção fenotípica ou massal e seleção baseada na avaliação de famílias, na qual utiliza-se populações estruturadas em famílias de irmãos germanos, meios-irmãos ou endógamas ( $S_1$ ,  $S_2$ , etc.) (RAMALHO et al., 2012).

A seleção individual é aconselhável para caracteres de alta herdabilidade. Nesse método a população é avaliada fenotipicamente e os melhores indivíduos são

selecionados e intercruzados. São colhidas as sementes dos indivíduos selecionados e um mesmo número de sementes de cada indivíduo é utilizado para formar a população que será submetida a um novo ciclo de seleção. Os ciclos são repetidos até que se obtenha um comportamento desejado.

Como a seleção recorrente fenotípica baseia-se apenas no fenótipo, indivíduos com genótipos não desejáveis podem ser selecionados, reduzindo a eficiência da seleção. Desta forma esse tipo de seleção deve ser realizado apenas para caracteres de alta herdabilidade, onde a seleção fenotípica é mais eficaz. Ela pode ser eficiente em caracteres quantitativos, desde que estes também apresentem alta herdabilidade.

A seleção recorrente fenotípica, apesar das limitações, tem se mostrado eficiente para alguns caracteres como observado no trabalho de Bleicher e Balmer (1993) com *Exserohilum turcicum* em milho, para resistência a mancha angular no feijoeiro (AMARO et al., 2007) e para florescimento precoce no feijoeiro (SILVA; RAMALHO; ABREU, 2007). Entretanto, para rendimento de grãos e outros caracteres poligênicos, ela não tem sido muito eficiente, como observado no estudo de Moya et al. (2002), na qual após sete ciclos de seleção fenotípica houve ganho de apenas 0.94% para rendimento de grãos em milho, no entanto, para caracteres como altura da planta e número de espigas, que possuem alta herdabilidade, foram obtidos ganhos consideráveis.

A seleção para caracteres quantitativos é mais eficiente quando a avaliação se baseia no desempenho das progênies. Uma vez que permite aos melhoristas realizarem ensaios com repetições e ainda ensaios em diferentes ambientes. Nesse caso avalia-se o desempenho médio das progênies com estimativas dos valores genotípicos mais precisos uma vez que os efeitos ambientais, residuais e de interação genótipos x ambientes são reduzidos. Com esse procedimento ocorre menor variância fenotípica e maior acurácia do que em avaliações de plantas individuais o que contribui para um maior ganho

genético esperado. O número de famílias avaliadas deve variar de 100 a 200, com 20 a 30 famílias selecionadas para formar o próximo ciclo de seleção (HALLAUER; CARENA; MIRANDA FILHO, 2010; HALLAUER; MIRANDA, 1988). A seleção não é muito rigorosa na maioria dos programas de seleção recorrente, com a proporção de famílias selecionadas variando de 10 a 30% (BERNARDO, 2010).

A eficiência da seleção de famílias tem sido comprovada em vários trabalhos em plantas autógamas. Em trigo para caracteres da espiga (GIL et al., 2003), em arroz para produção de grãos (RANGEL; MORAIS; ZIMMERMAN, 2002), em soja para proteína da semente (WILCOX, 1998) e feijão para produção de grãos (RAMALHO; ABREU; SANTOS, 2005) e ainda trabalhos de feijão com mofo branco (TERAN; SINGH, 2010; CARNEIRO, 2013). Todos com resultados satisfatórios, mesmo considerando que em cada um utilizou-se número de famílias avaliadas, número de locais, número de ciclos, geração e metodologias diferentes.

A seleção recorrente para mofo branco, tem se mostrado bem sucedida por alguns autores (LYON; DICKSON; HUNTER, 1987; TERÁN; SINGH, 2009; TERÁN; SINGH, 2010; CARNEIRO, 2013). Lyon, Dickson e Hunter (1987), utilizando 20 linhagens/ cultivares de espécies *Phaseolus vulgaris* e *Phaseolus coccineus*, obtiveram ganho de 31% do primeiro ao segundo ciclo de seleção. Terán e Singh (2010) utilizando duas populações de híbridos duplos, utilizando menor número de genitores obtiveram ganho inferior, de 5 e 12% com a seleção dos ciclos zero, um e dois. Terán e Singh (2009) estudaram o efeito da seleção gamética na introgressão de resistência fisiológica ao mofo branco e obtiveram um ganho de 20,5% em duas populações de avaliação. Já no trabalho de Carneiro (2013) esses ganhos foram de 2,9% por ciclo, ou de 5,8% do ciclo zero ao ciclo dois, contudo, neste trabalho, também foi realizada seleção para tipo de grãos, o que deve ter influenciado na seleção para resistência e reduzido o ganho. Todos esses autores também obtiveram linhagens com níveis de

resistência semelhantes e /ou superiores aos genitores utilizados para a obtenção da população base, o que indica eficiência da seleção recorrente.

### **2.5.1 Progresso Genético**

A estimativa do progresso genético alcançado pelo melhoramento permite quantificar a eficiência dos trabalhos executados, orientar os melhoristas sobre as estratégias seletivas adotadas e buscar alternativas que aumentem a eficiência da seleção. Segundo Ramalho, Abreu e Santos (2001), as estimativas do progresso genético com o uso da seleção recorrente são facilmente obtidas se for realizada uma avaliação das populações nos diferentes ciclos, uma vez que após cada etapa de recombinação, o material volta a condição de equilíbrio genético. Assim basta armazenar o material selecionado de cada ciclo em câmara fria. Já no caso de autógamas esse equilíbrio não é restabelecido após cada recombinação, devido à endogamia. Assim as médias são alteradas em virtude das frequências alélicas e presença de dominância, não permitindo uma comparação confiável dos diferentes ciclos seletivos, não refletindo, portanto, o resultado da seleção recorrente.

Por essa razão outros procedimentos têm sido utilizados. Um deles compara as progênies de cada ciclo na mesma geração de endogamia. Terán e Singh (2010) avaliando duas populações de feijão para piramidação de genes de resistência ao mofo branco utilizaram famílias  $S_2$  para comparação dos três ciclos seletivos avaliados e estimaram ganho médio de 12% para a população I e de 5% para a população II. Singh et al. (1999) trabalhando com produtividade de grãos em feijão também utilizaram famílias  $S_2$  para comparar três ciclos seletivos e estimaram ganho médio de 15% para produtividade de grãos.

Outro procedimento avalia as progênies dos diferentes ciclos utilizando testemunhas comuns. A utilização das testemunhas comuns permite atenuar o efeito ambiental, uma vez que os ciclos são obtidos em épocas diferentes,

permitindo, desta forma, obter estimativas mais confiáveis. Assim procedendo, pode-se realizar a análise de variância combinada, utilizando as testemunhas comuns como medida de ajuste experimental. A comparação das médias ajustadas das progênies dos diferentes ciclos possibilita estimar o progresso.

Menezes Júnior, Ramalho e Abreu (2008) utilizaram linhagens comuns em três ciclos de seleção recorrente do feijoeiro para produção de grão, tipo de grãos e porte da planta, e observaram progresso genético para os três caracteres simultaneamente de 3,10% , 3,13% para produção de grão, 11,24% para tipo de grãos e -5,11% para porte. Ganho negativo para porte ocorreu devido à seleção simultânea para os três caracteres e tem sido difícil associar caracteres como porte e produção de grãos.

Amaro et al. (2007) também utilizando testemunhas tolerantes e resistentes nos cinco ciclos avaliados de seleção recorrente em feijoeiro para mancha angular, obtiveram ganho na resistência ao fungo de 6,4% por ciclo e ainda observaram ganho indireto na produção de grão de 8,9% por ciclo e que havia variabilidade para seleção mesmo depois dos 5 ciclos, confirmando que a seleção recorrente é um processo dinâmico.

Uma terceira opção seria avançar as progênies sob seleção com endogamia até a obtenção de linhagens. Assim, a cada ciclo seletivo seriam obtidas algumas linhagens que seriam avaliadas em experimentos com repetição para se obter a estimativa do progresso genético. Esse procedimento foi utilizado por Ramalho, Abreu e Santos (2005) para estimar o ganho genético em quatro ciclos de seleção recorrente no melhoramento do feijoeiro para os caracteres produtividade e tipo de grãos. As cinco melhores linhagens  $S_{0,3}$  de cada ciclo foram avaliadas em duas safras. O ganho médio anual em quatro ciclos de seleção foi de 10% para o tipo de grãos e de 5,7% para produtividade.

Pode-se também utilizar o método dos modelos mistos, em especial o BLUP para realizar análise sequencial (BRUZI, 2008). Esse autor utilizou dados de

dois ciclos de seleção recorrente, denominados de A e B. Adotou três estratégias para a análise da produtividade de grãos: a) análise sequencial, considerando a combinação das gerações  $S_{0:1}$  a  $S_{0:3}$ ;  $S_{0:1}$  a  $S_{0:4}$  e  $S_{0:1}$  a  $S_{0:5}$  e considerando todas as progênies; b) análise sequencial envolvendo 23 progênies comuns às gerações do ciclo A e 34 do ciclo B; c) análise sequencial envolvendo as 10 progênies comuns nas gerações  $S_{0:1}$  a  $S_{0:10}$  (ciclo A) ou as sete comuns nas gerações  $S_{0:1}$  a  $S_{0:8}$  (ciclo B). Todas essas estratégias foram comparadas com a análise de variância tradicionalmente utilizada no programa de seleção recorrente. Constatou-se que a análise realizada tradicionalmente considerando apenas a média da geração anterior é de baixa eficiência. Essa perda é mais acentuada nas gerações iniciais até  $S_{0:5}$  pois não se considera a interação progênies x safras.

O progresso genético obtido com a seleção recorrente pode ser estimado por meio da regressão linear, onde o número de ciclos de seleção é a variável independente (x) e a variável resposta é a variável dependente (y). A magnitude do coeficiente de regressão angular obtido é a estimativa do progresso genético com o ciclo de seleção. Se esse valor for dividido pela média da população original ou pela estimativa do intercepto da equação de regressão linear, tem-se o valor do progresso em porcentagem da média original (RAMALHO et al., 2012).

## REFERÊNCIAS

ABAWI, G. S.; GROGAN, R. G. Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 69, n. 8, p. 899-904, 1979.

ABREU, A. F. B. et al. Utilização da produtividade de grãos na seleção para resistência ao *Colletotrichum lindemuthianum* no feijoeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 356-362, mar./abr. 2003.

AGUIAR, A. M.; RAMALHO, M. A. P.; MARQUES-JUNIOR, O. G. Controle genético do stay green no feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 47, n. 270, p. 155-167, mar./abr. 2000.

AMARO, G. B. et al. Phenotypic recurrent selection in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) with carioca-type grains for resistance to the fungus *Phaeoisariopsis griseola*. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 30, n. 3, 584-588, 2007.

ANDO, K. et al. Manipulation of plant architecture to enhance crop disease control. **Natural Resources**, New York, v. 2, n. 26, p. 1-8, June 2007.

ANTÔNIO, R. P. **Identificação de qtls de resistência ao mofo branco e de mecanismos bioquímicos envolvidos na resposta de defesa do feijoeiro**. 2013. 155 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

BARDIN, S. D.; HUANG, H. C. Research on biology and control of *Sclerotinia* diseases in Canada. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v. 23, n. 1, p. 88-98, 2001.

BASSET, M. J. List of genes - *Phaseolus vulgaris* L. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 47, p. 1-24, 2004.

BEARZOTI, E. **Simulação de seleção recorrente assistida por marcadores moleculares em espécies autógamas**. 1997. 230 p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, São Paulo.

BERNARDO, R. **Breeding for quantitative traits in plants**. 2<sup>nd</sup> ed. Minnesota: Stemma, 2010.

BEZERRA, A. A. de C. et al. Inter-relação entre caracteres de caupi de porte ereto e crescimento determinado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 1, p. 137-142, 2001.

BIANCHINI, A.; MARIGONI, A. C.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 333-350.

BLEICHER, J.; BALMER, E. Efeitos da seleção recorrente fenotípica sobre a resistência a *Exserohilum turcicum* (Pass) Leonarde & Suggs em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 11, p. 1291-1295, 1993.

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

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

BRUZI, A. T. **Aplicações da análise de modelos mistos em programa de seleção recorrente do feijoeiro comum**. 2008. 83 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

BUZI, A. et al. Induction of resistance in melon to *Didymella bryoniae* and *Sclerotinia sclerotiorum* by seed treatments with acibenzolar-S-methyl and methyl



jasmonate but not whit salicylic acid. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 152, n. 1, p. 34-42, Jan. 2004.

CARDOSO, J. E. Mofo branco. In: SARTORATO, A.; RAVA, C. A. **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília: Embrapa, 1994. p. 111-122.  
CARMO, S. L. M. do et al. Avaliação do stay green em famílias segregantes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 953-957, 2007.

CARNEIRO, F. F. **Estratégias visando à seleção de linhagens de feijão resistentes ao mofo branco**. 2013. 148 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CARNEIRO, F. F. et al. Genetics of common bean resistance to white mold. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 11, n. 2, p. 165-173, Feb. 2011.

CARVALHO, N. L. Resistência genética induzida em plantas cultivadas. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, Santa Maria, v. 7, n. 7, p. 1379-1390, mar./ago. 2012.

CESSNA, S. G. et al. Oxalic acid, a pathogenicity factor for *Sclerotinia sclerotiorum*, supresses the oxidative burst of the host plant. **The Plant Cell**, Rockville, v. 12, n. 11, p. 2191-2199, Nov. 2000.

CHAVARRO, M. C.; BLAIR, M. W. QTL Analysis and effect of the fin locus on tropical adaptation in an inter-gene pool common bean population. **Tropical Plant Biology**, Oxford, v. 3, n. 4, p. 204-218, Dec. 2010.

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

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

COUTO, M. A.; SANTOS, J. B. dos; FERREIRA, J. L. Melhoramento do feijoeiro comum com grão tipo carioca, visando resistência à antracnose e à mancha angular. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1643-1648, set./out. 2008.

CUNHA, W. G.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Selection aiming at upright growth habit of common bean with carioca type grain. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 5, p. 379-386, 2005.

DEL PELOSO, M. J.; MELO, L. C. **Potencial de rendimento da cultura do feijoeiro comum**. Santo Antônio do Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005.

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

FERRAZ, L. C. L. et al. Effects of soil moisture, organic matter and grass mulching on the carpogenic germination of sclerotia and infection of bean by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 48, n. 1, p. 77-82, 1999.

GERALDI, I. O. Por que realizar seleção recorrente? In: SIMPÓSIO DE ATUALIZAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 9., 2005, Lavras. **Anais...** Lavras: Editora da UFLA, 2005. p. 1-8.

GIL, S. P. et al. Spike changes associated to six cycles of recurrent selection in bread wheat (*triticum aestivum* L. **Agriscientia**, Córdoba, v. 10, p. 95-98, 2003.

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

GRIFFITHS, P. D.; JAHN, M. M.; DICKSON, M. H. Cornell 501: a white mold tolerant snap bean breeding line. **HortScience**, Alexandria v. 39, p. 1507–1508, 2004.

HALLAUER, A. R.; CARENA, M. J.; MIRANDA FILHO, J. B. Quantitative genetics in maize breeding. **Plant Breeding**, New York, v. 6, p. 577-653, 2010.

HALLAUER, A. R.; MIRANDA, J. B. **Quantitative genetics in maize breeding**. 2<sup>nd</sup> ed. Ames: Iowa State University, 1988.

HARIKRISHMAN, R.; DEL RIO, L. E. Influence of temperature, relative humidity, ascospore concentration, and length of drying of colonized dry bean flowers on white mold development. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 90, n. 7, p. 946-950, July 2006.

HENSON, J. M.; BUTLER, M. J.; DAY, A. W. The dark side of mycelium: melanins of phytopathogenic fungi. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 37, p. 447-471, 1999.

KANG, H.-M.; SALTVEIT, M. E. Activity of enzymatic antioxidant defense systems in chilled and heat shocked cucumber seedlings radicles. **Physiologia Plantarum**, Palo Alto, v. 113, p. 548–556, 2001.

KELLY, J. D.; ADAMS, M. W. Phenotypic recurrent selection in ideotype breeding of plant beans. **Euphytica**, Wageningen, v. 36, n. 1, p. 69-80, Jan. 1987.

KOINANGE, E. M. K.; SINGH, S. P.; GEPTS, P. Genetic control of the domestication syndrome in common bean. **Crop Science**, Madison, v. 36, n. 4, p. 1037-1045, Jul./Aug. 1996.

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

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

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

KRETCHMER, P. J.; LAIN, D. R.; WALLACE, D. H. Inheritance and morphological traits of a phytochrome-controlled single gene in bean. **Crop Science**, Madison, v. 19, n. 5, p. 605-607, Sep./Oct. 1979.

LARA, L. A. C. **QTLs de feijão para resistência ao mofo-branco de cultivares adaptadas**. 2013. 91 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

LEHNER, M. S. et al. Controle do mofo branco do feijoeiro com aplicação de gesso via água de irrigação. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 85., 2008, Campinas. **Anais...** Campinas: IAC, 2008. p. 936-938.

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

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

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

LYON, M. E.; DICKSON, M. H.; HUNTER, J. E. Recurrent selection for resistance to white mold in *Phaseolus* species. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 112, n. 1, p. 149-152, Jan. 1987.

MALENCIC, D. J. et al. Antioxidant systems in sunflower as affected by oxalic acid. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 48, n. 2, p. 243-247, 2004.

MALENCIC, D. J. et al. Changes in antioxidant systems in soybean as affected by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v.48, n. 10-11, p. 903-908, Oct./Nov. 2010.

MCLEAN, D. M. Role of dead flower parts in infection of certain crucifers by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. **Plant Disease Report**, Saint Paul, v. 42, p. 663-666, 1958.

MENDES, F. F. **Estratégia de seleção de plantas eretas de feijão tipo carioca**. 2009. 92 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MENEZES JÚNIOR, J. A. N.de; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Seleção recorrente para três caracteres do feijoeiro. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 4, p. 833-838, 2008.

MIKLAS, P. N. et al. Characterization of white mold disease avoidance in common bean. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 135, n. 3, p. 525–543, Jan. 2013.

MIKLAS, P. N. et al. Inheritance and QTL analysis of physiological resistance to white mold in common bean G122. **Crop Science**, Madison, v. 41, p. 309-315, 2001.

MIKLAS, P. N. et al. Registration of four white mold resistant dry bean germplasm lines: I9365-3, I9365-5, I9365-31, and 92BG-7. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 6, p. 1728-1732, Nov. 1998.

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

MIKLAS, P. N. Marker-assisted backcrossing QTL for partial resistance to *Sclerotinia* white mold in dry bean. **Crop Science**, Madison, v. 47, n. 3, p. 935-942, May 2007.

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

MOYA, E. S. et al. Selection masal visual recorrente para rendimento de grano em uma poblacion androestéril de trigo harinero. **Agrosciencia**, Córmoda, v. 36, p. 191-200, 2002.

MYERS, J. R.; GILMORE, B. S.; HAGGARD, J. E. Progress in characterization and transfer of white mold resistance from runner to common bean. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 51, p. 80-81, 2008.

NAPOLEÃO, R. et al. Efeito da frequência de rega e da umidade do solo sobre a germinação carpopogênica de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 1, p. 80-82, 2007.

NAPOLEÃO, R. et al. Intensidade do mofo branco do feijoeiro em plantio convencional e direto sob diferentes lâminas d'água. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 4, p. 374-379, jul./ago. 2005.

OLIVEIRA, S. H. F. Manejo do mofo branco. **Revista DBO Agrotecnologia**, São Paulo, v. 2, n. 4, p. 8-13, maio/jun. 2005. Disponível em: <[www.revistadbo.com.br/agrotecnologia](http://www.revistadbo.com.br/agrotecnologia)>. Acesso em: 15 out. 2013.

OLIVIER, C. Y.; GOSSEN, B. D.; SEGUIN-SWARTZ, G. Impact of flower age and colour on infection of bean and alfalfa by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v. 30, n. 1, p. 58–65, 2008.

PAULA JUNIOR, T. J. et al. White mold intensity on common bean in response to plant density, irrigation frequency, grass mulching, *Trichoderma* spp., and fungicide. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 35, n. 1, p. 44-48, Jan/Fev. 2009.

PAULA-JÚNIOR, T. J.; ZAMBOLIM, L. Doenças. In: VIEIRA, C.; PAULA-JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão**: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas. 2. ed. Viçosa: Editora da UFV, 2006. p. 359-414.

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

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

PHILOSOPH-HADAS, S. et al. Oxidative defense systems in leaves of three edible herb species in relation to their senescence rate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 42, n. 11, p. 2376–2381, Nov. 1994.

RAMALHO, M. A. P. et al. **Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. Lavras: Editora da UFLA, 2012.

RAMALHO, M. A. P. Melhoramento do feijoeiro. In: SIMPÓSIO SOBRE ATUALIZAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 1997, Lavras. **Anais...** Lavras: Editora da UFLA, 1997. p. 169-196.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Cultivares. In: VIEIRA, C.; PAULA-JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Ed). **Feijão**. 2. ed. Viçosa: Editora da UFV, 2006. p. 415-436.

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

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SANTOS, J. B. Melhoramento de espécies autógamas. In: NASS, L. L. et al. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento**: plantas. Rondonópolis: Editora da Fundação MT, 2001. p. 201-230.

RANGEL, P. H. N.; MORIAS, O. P.; ZIMMERMANN, F. J. P. Grain yield in three recurrent selection cycles in the CAN-IRAT 4 irrigated rice population. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 2, n. 2, p. 369-374, 2002.

RANGEL, P. H. N.; ZIMMERMANN, F. J. P.; NEVES, P. C. F. Estimativas de parâmetros genéticos e resposta à seleção nas populações de arroz irrigado CNA – IRAT 4 PR e CNA – IRAT 4 ME. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 5, p. 905-912, maio 1998.

RAVA, C. A. **Doenças causadas por fungos do solo**. Brasília: Embrapa, 2013. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/>>. Acesso em: 10 out. 2013.

RIETZ, S.; BERNSDORFF, F. E. M.; CAI, D. Members of the germin-like protein family in *Brassica napus* are candidates for the initiation of an oxidative burst that impedes pathogenesis of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 63, n. 15, p. 5507–5519, Sept. 2012.



RODRIGUES, E. et al. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de alface em sistema de cultivo orgânico contra *Sclerotinia sclerotiorum* pelo extrato de gengibre. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 2, p. 124-128, 2007.

SAHARAN, G. S.; MEHTA, N. **Sclerotinia diseases of crop plants: biology, ecology and disease management**. Heidelberg: Springer-Verlag, 2008.

SANTOS, J. B.; GAVILANES, M. L. Botânica. In: VIEIRA, C.; PAULA-JÚNIOR, T. J.; BOREM, A. (Ed.). **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. Viçosa: Editora da UFV, 2006. p. 41-66.

SANTOS, J. B.; VENCOSKY, R. Controle genético de alguns componentes do porte da planta em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 9, p. 957-963, set. 1986.

SCANDALIOS, J. G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant Physiology**, Washington, v. 101, n. 1, p. 7-12, Jan. 1993.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. In: PASCHOLATI, S. F. et al. (Org.). **Interação planta-patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. Piracicaba: Fealq, 2008. Cap. 6, p. 227-248.

SCHWARTZ, H. F.; SINGH, S. P.; TERAN, H. Breeding common bean for resistanceto white mold: a review. **Crop Science**, Madison, v. 53, p. 1832-1844, Sept./Oct. 2013.

SILVA, H. D. et al. A. Efeitos da seleção visual para produtividade de grãos em populações segregantes do feijoeiro. II Seleção entre famílias. **Ciência e Prática**, Lavras, v. 18, v. 2, p. 181-185, abr./jun. 1994.

SILVA, H. D.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Seleção recorrente fenotípica para florescimento precoce de feijoeiro 'Carioca'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 10, p. 1437-1442, 2007.

SINGH, P. S.; TERÁN, H. Evolution of screening methods for detection of physiological resistance to white mold in common bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 51, p. 40-41, 2008.

SINGH, S. P. et al. Biochemical and molecular basis of pesticide degradation by microorganisms read more: **Critical Reviews in Biotechnonology**, Oxford, v. 19, n. 3, p. 197-225, 1999.

SINGH, S. P. et al. Development of white mold resistant interspecific common bean germplasm lines VCW 54 and VCW 55. **Journal of Plant Registration**, Washington, v. 3, p. 191-197, 2009a.

SINGH, S. P. et al. Introgressing white mold resistance from Phaseolus species of the secondary gene pool into common bean. **Crop Science**, Madison v. 49, n. 5, p. 1629-1637, Sept. 2009b.

SOULE, M. et al. Comparative QTL map for white mold resistance in common bean, and characterization of partial resistance in dry bean lines VA19 and I9365-31. **Crop Science**, Madison, v. 51, n. 1, p. 123-139, Jan. 2011.

STEADMAN, J.; BOLAND, G. White mold. In: SCHWARTZ, H. F. et al. Compendium of bean diseases. 2. ed. **American phytopathology society**. Saint Paul: Editora MN, 2005. p. 44-46.

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

TERÁN, H.; SINGH, S. P. Gamete selection for improving physiological resistance to white mold in common bean. **Euphytica**, Wageningen, v. 167, n. 3, p. 271-280, June 2009.

TERÁN, H.; SINGH, S. P. Recurrent selection for physiological resistance to white mould in dry bean. **Plant Breeding**, New York, v. 129, n. 3, p. 327-333, 2010.

VIEIRA, C. et al. Melhoramento do feijão. In: BORÉM, A. (Ed). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: Editora da UFV, 2005. p. 301-392.

VIEIRA, R. F. et al. White mold management in common bean by increasing within-row distance between plants. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 94, n. 3, p. 361-367, Mar. 2010.

VIEIRA, R. F. et al. Fungicidas aplicados via água de irrigação no controle do mofo-branco no feijoeiro e incidência do patógeno na semente. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 4, p. 770-773, out./dez. 2005a.

WEGULO, S. N.; YANG, X. B.; MARTINSON, C. A. Soybean cultivar responses to *Sclerotinia sclerotiorum* in field and controlled environment studies. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 82, n. 11, p. 1264–1270, Nov. 1998.

WILCOX, J. R. Increasing seed protein in soybean with eight cycles of recurrent selection. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 6, p. 1536-1540, Nov. 1998.

YANG, B. et al. Transcriptional profiling of canola (*Brassica napus* L.) responses to the fungal pathogen *Sclerotinia Sclerotiorum*. **Plant Science**, Canadá, v. 173, n. 2, p. 156–171, Aug. 2007.

## SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

### ARTIGO 1

#### SELEÇÃO RECORRENTE PARA O INCREMENTO DA RESISTÊNCIA DO FEIJOEIRO COMUM AO MOFO BRANCO

De acordo com as normas da Revista Científica Euphytica

**RESUMO** - Os objetivos deste trabalho foram obter progênies com maiores níveis de resistência fisiológica ao mofo branco, com grãos do tipo carioca e porte arbustivo, por meio da seleção recorrente; verificar se a seleção recorrente foi eficiente na obtenção de progênies com alto nível de resistência ao mofo branco; verificar se os níveis de resistência obtidos são equivalentes aos das fontes de resistência relatadas na literatura. Foram intercruzadas 13 linhagens de feijoeiro: RP-2, MA-IV-18-266, BRS – Cometa, VC-16, Majestoso, Talismã, CNFRJ10564, ESAL 550, RC<sub>2</sub>-G122-67, RC<sub>2</sub>-G122-72, RC<sub>1</sub>-ExRico-26, RC<sub>1</sub>-Ex Rico-97 e A195, com resistência parcial ao mofo branco, por meio do dialelo no esquema cônico e foram obtidos sete ciclos de seleção recorrente. Destes ciclos, progênies das gerações S<sub>0.1</sub>, S<sub>0.2</sub> e S<sub>0.3</sub> dos ciclos III, IV, V e VI foram avaliadas. Também foram avaliadas de 8 a 10 das melhores progênies dos sete ciclos, em dois experimentos em casa de vegetação e campo. Foram utilizados os delineamentos látice ou blocos casualizados. Os caracteres avaliados foram resistência ao mofo branco pelo método do *Straw test*, porte, tipo de grãos e produção de grãos. Foram selecionadas as progênies mais resistentes, com base na nota média de resistência ao mofo branco, posteriormente, elas foram avaliadas quanto ao tipo de grãos, porte e produção na geração S<sub>0.3</sub>. A seleção recorrente possibilitou ganho na resistência ao mofo branco de aproximadamente 11% ao ano e para o caráter porte o ganho foi de 15 % ao ano. Não foi observado ganho para tipo de grãos entre ciclos. A seleção de progênies e a seleção recorrente são eficientes para obtenção de progênies com alto nível de resistência ao mofo branco, grãos do tipo “carioca”, porte ereto e produção de grãos semelhante às cultivares comerciais.

Palavras – chave: *Sclerotinia sclerotiorum*. Resistência genética. *Phaseolus vulgaris*. Progresso genético.

**ABSTRACT** - The objectives of this study were to obtain progenies with higher levels of physiological resistance to white mold with “Carioca” grain type and upright plant, using recurrent selection; verifying whether recurrent selection was efficient in obtaining progenies with high levels of resistance to white mold, and checking whether resistance levels obtained are equivalent to sources of the resistance reported in the literature. Thirteen common bean lines were intercrossed, RP-2, MA-IV-18-266, BRS – Cometa, VC-16, BRSMG – Majestoso, BRSMG – Talismã, CNFRJ10564, ESAL 550, RC<sub>2</sub>-G122-67, RC<sub>2</sub>-G122-72, RC<sub>1</sub>-ExRico-26, RC<sub>1</sub>-Ex Rico-97 and A195, with partial resistance to white mold, by means of diallel in conic scheme, and seven recurrent selection cycles were obtained. Of these cycles, progenies of the S<sub>0.1</sub>, S<sub>0.2</sub> and S<sub>0.3</sub> generations of cycles III, IV, V and VI were evaluated. From 8 to 10 of the best progenies of the seven cycles were also evaluated, in two experiments in a greenhouse and in the field. Lattice and/or randomized block experimental designs were used. The traits evaluated were resistance to white mold by the *Straw test* method, growth habit, grain type and grain yield. The most resistant progenies were selected based on the average score of resistance to white mold. Subsequently, they were evaluated in regard to grain type, growth habit and yield in the S<sub>0.3</sub> generation. Recurrent selection allowed a selection progress of about 11 % per year to white mold resistance and of about 15 % per year to the plant architecture. Gain among cycles was not observed for grain type. Progeny selection and recurrent selection are efficient for obtaining progenies with a high level of resistance to white mold, “Carioca” grain type, upright habit and grain yield similar of the commercial cultivars.

Key words: *Sclerotinia sclerotiorum*. Genetic resistance. *Phaseolus vulgaris*. Genetic progress.

## INTRODUÇÃO

O mofo branco, causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* é uma doença de grande impacto na cultura do feijoeiro, uma vez que limita o potencial de produção, além de reduzir a qualidade das sementes e vagens. Esta doença afeta as principais áreas produtoras de feijão do mundo, abrangendo áreas produtivas da América do Sul e do Norte e com epidemias na Austrália. Em consequência, muitas áreas têm-se tornado inviáveis para a cultura do feijão, porque as perdas em produção vão de 30% a 100% (Schwartz, Singh 2013).

O controle deste patógeno é dificultado pela ampla gama de hospedeiros e pela alta capacidade deste fungo de sobreviver por vários anos na forma de escleródios no solo e ainda na forma de micélios dormente nas sementes (Bianchini, Marigoni; Carneiro 2005; Saharan, Mehta 2008). A medida mais eficiente de controle é a obtenção de cultivares resistentes, porque é de baixo custo, permite maior retorno econômico, devido ao manejo menos intensivo do agricultor, além de causar menor impacto ambiental.

Apenas níveis moderados de resistência fisiológica ao mofo branco têm sido reportados na literatura para feijões mesoamericanos e andinos. Contudo, níveis mais elevados de resistência têm sido observados em *Phaseolus coccineus* e espécies relacionadas e não adaptadas. Vários trabalhos têm sido realizados objetivando transferir alelos de resistência de tais espécies, contudo os níveis de resistência obtidos ainda são considerados baixos ou intermediários (Miklas et al. 2006; Singh et al. 2009a, b). Embora alguns autores considerem que as cultivares utilizadas no Brasil são suscetíveis (Oliveira 2005), na realidade, já foram identificadas linhagens e cultivares com níveis moderados de resistência, equivalente ao das fontes não adaptadas utilizadas em outros países (Antônio et al. 2008, Gonçalves e Santos, 2010).

Além da resistência fisiológica, caracteres como maturidade precoce e outros relacionados à arquitetura, como plantas eretas e dossel aberto, têm sido reportados como mecanismos de escape, porque desfavorecem a proliferação do patógeno (Ender, Kelly, 2005; Kolkman, Kelly, 2002). Mecanismos de escape e de resistência fisiológica são quantitativamente herdados e controlados por genes de pequeno e grande efeito. Foram identificados 27 QTLs relacionados à resistência fisiológica e 36 relacionados à arquitetura da planta (Miklas et al. 2013; Soule et al. 2011), inclusive alguns nas condições ambientais da região (Antônio 2011; Lara et al. 2013).

Os baixos níveis de resistência das linhagens, a herança complexa do caráter e a grande influência ambiental reduzem a herdabilidade e limitam o sucesso com a seleção para resistência ao mofo branco.

A seleção massal, pedigree, retrocruzamentos, seleção assistida e seleção recorrente são métodos que têm sido utilizados para conduzir populações segregantes e melhorar a resistência ao mofo branco em feijoeiro. Griffiths, Jahn, Dickson (2004) desenvolveram a linhagem Cornell 501 com resistência parcial ao mofo branco utilizando o método de pedigree. Singh et al. (2007) desenvolveram a linhagem A195, com resistência parcial utilizando os métodos de bulk e pedigree combinados. Miklas et al. (2006) desenvolveram a linhagem USPT-WM-1, também com resistência parcial ao fungo utilizando uma combinação dos métodos SSD e bulk. Miklas et al. (2007) e Ender et al. (2008) utilizaram a seleção assistida por marcadores para introgressão de QTLs em populações melhoradas de feijão comum. Lyon, Dickson e Hunter. (1987) obtiveram ganho de 31% e Terán e Singh (2010a) obtiveram ganho de 12% e 5% através da seleção recorrente.

O uso de apenas uma ou duas fontes de resistências por melhoristas tem sido ineficiente no melhoramento para o mofo branco, sendo, portanto, indicado o uso de um maior número de fontes de resistência. Portanto, a seleção recorrente tem sido considerada o método mais eficiente no aumento gradual de frequência

dos alelos desejáveis em programas de melhoramento, uma vez que permite o intercruzamento de várias fontes de resistência com sucessivos ciclos de avaliação, seleção, e recombinação das plantas selecionadas. A seleção recorrente permite melhorar um ou mais caracteres ao mesmo tempo, especialmente quando diferentes alelos dos diferentes caracteres forem encontrados em diferentes genitores (Ramalho et al. 2012).

A maioria das fontes de resistência ao mofo branco não é adaptada às condições de cultivo brasileiras, portanto, é de grande importância a transferência dos alelos de resistência para linhagens adaptadas e comercialmente aceitas no Brasil. A obtenção de cultivares resistentes a este patógeno terá um impacto significativo na cadeia produtiva do feijão e permitirá o plantio da cultura em áreas consideradas impróprias devido a elevada ocorrência desta doença (Ender e Kelly 2005; Soule et al. 2011; Miklas et al. 2013).

Diante do exposto os objetivos deste trabalho foram: selecionar progênies com maiores níveis de resistência fisiológica ao mofo branco, com grãos do tipo carioca e porte arbustivo, utilizando a seleção recorrente; verificar se a seleção recorrente foi eficiente na obtenção de progênies com alto nível de resistência ao mofo branco; verificar se há possibilidade de obter ganhos adicionais com a seleção.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Obtenção da população base**

Na safra das águas de 2009/2010 iniciou-se o programa de seleção recorrente para mofo branco na Universidade Federal de Lavras. O programa iniciou-se com o intercruzamento entre 13 linhagens/cultivares com resistência parcial ao mofo branco (Tabela 1). A linhagem A195 é uma fonte exótica de



resistência oriunda do programa de melhoramento do CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) (Singh et al. 2007). Aquelas de número 1 a 8 são adaptadas à região Sul de Minas Gerais. As de número 9 a 12 são progênies derivadas de retrocruzamento em que o doador da resistência ao mofo branco foi a fonte G122 ou Ex Rico 23 e os genitores recorrentes foram as linhagens M20 ou Madrepérola. A linhagem G122 tem grãos grandes tipo pintado e hábito de crescimento tipo I, a Ex Rico 23 tem grãos pequenos e brancos e hábito de crescimento tipo II e ambas têm resistência fisiológica parcial ao mofo branco. A M20 é portadora dos alelos de resistência à antracnose (*Co-5* e *Co-4*<sup>2</sup>), resistência parcial à mancha angular, hábito de crescimento tipo II e grãos tipo carioca (Silva et al. 2006) e a Madrepérola possui o hábito de crescimento tipo III, tem excelente tipo de grãos carioca e alta produtividade.

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

Cultivar/linhagem	Tipo/ peso 100 grãos (g)	Hábito de crescimento
1-RP-2	Carioca/25	II
2-MA-IV-18-266	Carioca/23	II
3-BRS – Cometa	Carioca/23	II
4-VC-16	Carioca/25	III
5-BRSMG - Majestoso	Carioca/25	III
6-CNFRJ10564	Pintado/42	I
7-ESAL 550	Jalo/45	III
8- BRSMG - Talismã	Carioca/22	II
9-RC2-G122-67	Carioca/25	II
10-RC2-G122-72	Carioca/23	II
11-RC1-ExRico-26	Carioca/23	II
12-RC1-ExRico-97	Carioca/20	II
13-A195	Bege/54	I

As linhagens/cultivares foram inter cruzadas no esquema dialelo cônico para gerar os ciclos zero (C0), um (CI), dois (CII), três (CIII), quatro (CIV), cinco (CV) e seis (CVI) de seleção recorrente. Para obtenção do ciclo zero cada genitor

foi cruzado com dois outros. Nas populações  $F_2$  (geração  $S_0$ ) obtidas a partir dos cruzamentos, todas as plantas foram inoculadas, avaliadas e as mais resistentes ao mofo branco foram selecionadas. As plantas selecionadas de cada população foram inter cruzadas com as selecionadas de duas outras populações para a obtenção do ciclo I. Nos ciclos CI, CII, CIII, CIV, CV e CVI as plantas  $F_1$  (geração  $S_0$ ), agora segregantes, foram inoculadas (duas hastes por planta), avaliadas e selecionadas um pouco antes do florescimento e inter cruzadas. Este procedimento permitiu a redução do tempo de obtenção de cada ciclo da seleção recorrente em apenas uma safra, sendo realizados três ciclos por ano. Os cruzamentos foram feitos priorizando-se genitores não comuns e todas as combinações de genitores foram obtidas até o ciclo III e repetidas nos ciclos seguintes, seguindo o esquema de Bearzoti, (1997). As progênies obtidas ao final dos ciclos correspondiam uma mistura do genoma das linhagens inter cruzadas.

Os ciclos C0, CI e CII foram obtidos por Carneiro (2013) e dando continuidade a este trabalho foram obtidos os ciclos III, IV, V e VI.

#### **Obtenção das progênies $S_{0:1}$ , $S_{0:2}$ , $S_{0:3}$ , $S_{0:4}$**

As melhores progênies identificadas dentro de cada ciclo de seleção foram autofecundadas até a geração  $S_{0:4}$  para se estabelecer um maior nível de homozigose. As plantas mais resistentes da população base foram selecionadas para a obtenção das progênies na geração  $S_{0:1}$ , posteriormente, as progênies mais resistentes foram selecionadas para formar a geração  $S_{0:2}$ , as mais resistentes nesta geração originaram a geração  $S_{0:3}$  e da mesma forma originou-se a geração  $S_{0:4}$ .

As progênies  $S_{0:1}$ ,  $S_{0:2}$ ,  $S_{0:3}$ ,  $S_{0:4}$  foram avaliadas considerando alguns caracteres (Tabela 2), e a seleção foi realizada priorizando a resistência ao mofo branco. Dentre as progênies selecionadas para resistência ao mofo branco foi realizada a seleção para tipo de grãos e porte. No caso de tipo de grãos, houve

eliminação das progênies com grãos muito fora do padrão “carioca”, mesmo que elas apresentassem maiores níveis de resistência. Na geração  $S_{0.3}$  também foi avaliada a produtividade de grãos das progênies.

#### **Avaliação das progênies $S_{0.1}$ , $S_{0.2}$ e $S_{0.3}$**

Os experimentos foram conduzidos na cidade de Lavras, em todas as gerações, e também em Lambari na geração  $S_{0.3}$ . Os experimentos realizados em Lambari objetivaram avaliar a incidência natural do patógeno, como esta não aconteceu, foram avaliados apenas porte e produtividade neste local. O método de condução das populações foi o bulk dentro de progênies  $S_0$ . Os delineamentos, época de semeadura, tamanho das parcelas, caracteres avaliados e locais estão apresentados na tabela 2.

Todos os experimentos de campo foram submetidos aos mesmos tratos culturais. Na semeadura, a adubação utilizada foi de 300 kg/ha do formulado 8-28-16 (N- $P_2O_5$ - $K_2O$ , respectivamente) e, em cobertura, aos 20 dias após a emergência, 150 kg/ha de sulfato de amônio. A irrigação foi realizada por aspersão e os demais tratos culturais foram os recomendados para a cultura do feijoeiro na região, com exceção do controle de doenças.

#### **Avaliação das melhores progênies de cada ciclo**

Foram realizados também experimentos com as melhores progênies dos sete ciclos de seleção e estes foram conduzidos em campo e casa de vegetação. Nestes experimentos, foram avaliadas 10 melhores progênies dos ciclos CIV, CV e CVI, oito dos ciclos CI, CII e CIII e sete do ciclo C0. Nestes experimentos as progênies foram avaliadas considerando apenas resistência ao Mofó branco.

No experimento na casa de vegetação oito sementes de feijoeiro, das progênies selecionadas de cada ciclo foram semeadas em vasos plásticos de 2 litros, contendo a mistura terra:areia:esterco bovino (3:1:1). As plantas foram irrigadas periodicamente e adubadas conforme recomendação para a cultura, sendo mantida umidade de cerca de 80%. Após a emergência, cada vaso foi mantido com cinco plantas. Já no experimento de campo, os tratamentos culturais foram semelhantes aos dos experimentos realizados para as progênies de cada geração.

Tabela 2. Delimitação experimental utilizado, época de semeadura, tamanho das parcelas, caracteres avaliados e Locais em cada uma das gerações dos quatro ciclos de seleção recorrente (CIII, CIV, CV e CVI) e dos experimentos com todos os ciclos no campo e casa de vegetação (CsV).

Ciclo	Geração	Delimitação experimental	Semeadura	Tamanho das parcelas	Caracteres avaliados	Locais
CIII	S <sub>0,1</sub>	Látice simples 11 x 11	Secas 2011	Uma linha de um metro	Resistência/porte/grão	Lavras
CIII	S <sub>0,2</sub>	Látice triplo 7 x 7	Águas 2011/2012	Uma linha de um metro	Resistência/porte/grão	Lavras
CIII	S <sub>0,3</sub>	Látice triplo 5 x 5	Secas 2012	Duas linhas de dois metros	Resistência/porte/grão/produção	Lavras
CIV	S <sub>0,1</sub>	Látice simples 14 x 14	Águas 2011/2012	Uma linha de um metro	Resistência/porte/grão	Lavras
CIV	S <sub>0,2</sub>	látice triplo 10 x 10	Secas 2012	Uma linha de um metro	Resistência/porte/grão	Lavras
CIV	S <sub>0,3</sub>	Látice triplo 7 x 7	Inverno 2012	Duas linhas de dois metros	Resistência/porte/grão/produção	Lavras/Lambari
CV	S <sub>0,1</sub>	Látice simples 15 x 15	Secas 2012	Uma linha de um metro	Resistência/porte/grão	Lavras
CV	S <sub>0,2</sub>	Látice triplo 10 x 10	Inverno 2012	Uma linha de um metro	Resistência/porte/grão	Lavras
CV	S <sub>0,3</sub>	Látice triplo 7 x 7	Águas 2012/2013	Duas linhas de dois metros	Resistência/porte/grão/produção	Lavras/Lambari
CVI	S <sub>0,1</sub>	Látice simples 15 x 15	Inverno 2012	Uma linha de um metro	Resistência/porte/grão	Lavras
CVI	S <sub>0,2</sub>	Látice triplo 9 x 9	Águas 2012/2013	Uma linha de um metro	Resistência/porte/grão	Lavras
CVI	S <sub>0,3</sub>	Látice triplo 7 x 7	Secas 2013	Duas linhas de dois metros	Resistência/porte/grão/produção	Lavras/Lambari
C0-CVI	S <sub>0,4</sub> à S <sub>0,6</sub>	DBC – 64 trats	Campo-secas2013	Duas linhas de dois metros	Resistência	Lavras
C0-CVI	S <sub>0,4</sub> à S <sub>0,6</sub>	DBC – 66 trats	Cs V-secas2013	Um vaso com cinco plantas	Resistência	Lavras

### **Avaliação da resistência ao mofo branco**

As plantas foram inoculadas com o micélio do patógeno aos 28 dias após a semeadura, utilizando o método do *Straw test* (Petzoldt, Dickson, 1996; Terán, Singh 2008; Carneiro, 2013). Todas as plantas F<sub>1</sub> (S<sub>0</sub>) dos ciclos CIII, CIV, CV e CVI (cerca de 1300 por ciclo) foram inoculadas em dois ramos principais, como sugerido por Terán e Singh (2010). Nas progênies S<sub>0:1</sub>, S<sub>0:2</sub> e S<sub>0:3</sub> de cada ciclo foi inoculado apenas um ramo principal de dez plantas por parcela.

Nos experimentos com as melhores progênies as plantas também foram inoculadas, sendo que em campo também foi inoculado um ramo principal de dez plantas por parcela e no experimento em casa de vegetação, foram inoculados dois ramos principais de cinco plantas por parcela.

O fungo foi repicado duas vezes em placas de Petri contendo meio de batata dextrose e ágar (BDA) com cloranfenicol (1 µL.mL<sup>-1</sup> de meio BDA) e incubado a 22°C, por três dias e fotoperíodo de 12 horas. Três dias após a segunda multiplicação, foram realizadas as inoculações, pelo método do *Straw test*. O método consiste no corte do ápice caulinar a cerca de 2,5cm do nó, onde se encaixa uma ponteira de micropipeta de 200µl, com disco de meio de cultura BDA contendo o micélio de *S. sclerotiorum*. O isolado utilizado foi o 4 (55-31), proveniente de Goiânia, Goiás, considerado o mais agressivo nas avaliações de Carneiro et al., (2011).

Sete dias após a inoculação realizou-se a avaliação da reação do feijoeiro ao mofo branco por meio de uma escala de diagramática de 1 a 9 (Singh, 2013), em que: 1 - plantas sem sintomas; 2 - invasão do fungo além do sítio de inoculação; 3 - invasão do fungo próximo ao primeiro nó; 4 - quando o fungo atinge o primeiro nó; 5 - invasão do fungo além do primeiro nó; 6 - invasão do fungo próximo ao segundo nó; 7 - quando o fungo atinge o segundo nó; 8 - invasão do fungo além do segundo nó e 9 – invasão do fungo próximo ao terceiro nó ou morte da planta.

A avaliação e seleção de plantas nas populações base de cada ciclo foram feitas antes do florescimento e as progênies foram selecionadas a partir da nota média das duas inoculações por planta. As plantas selecionadas foram inter cruzadas no campo, para acelerar o processo de seleção recorrente, desta forma, cada ciclo foi obtido em uma safra, e como no sul de Minas Gerais há três safras no ano, foi possível avaliar três ciclos no ano.

#### **Avaliação do porte, tipo de grãos e produtividade.**

As avaliações do porte foram realizadas utilizando-se uma escala diagramática de 1 a 9 Mendes et al. (2011). Nesta, a nota 9 - refere-se a plantas de hábito tipo I ou II, eretas, com uma haste e alta inserção das primeiras vagens; 8 – plantas com hábito I ou II, eretas e com guia curta; 7 – plantas com hábito I ou II, eretas e com algumas ramificações; 6 – plantas de hábito I ou II, eretas e com algumas guias longas; 5 – plantas de hábito II ou III, eretas, com muitas ramificações e tendência a prostrar; 4 – plantas de hábito II ou III, semieretas e pouco prostradas; 3 – plantas de hábito III, semieretas e mediamente prostradas; 2 – plantas de hábito III e prostrada; e a nota 1 à planta do tipo III, com entrenós longos e completamente prostrada.

As avaliações para tipo de grãos foram realizadas utilizando-se uma escala diagramática de 1 a 5 (Ramalho et al. (1998). Nesta, a nota 1 refere-se ao grão típico carioca, de cor creme com estrias marrom-claras, fundo claro, halo creme, peso médio de 100 sementes de 22 a 24g e não achatado; nota 2 ao grão tipo carioca com deficiência em uma das características mencionadas no padrão; nota 3 ao grão tipo carioca com deficiência em duas características mencionadas no padrão; nota 4 ao grão tipo carioca com deficiência em características mencionadas no padrão e nota 5, refere-se ao grão de cor creme com estrias marrom-escuras,

fundo escuro, com halo não creme, peso médio de 100 sementes menor que 22g e achatado.

A produtividade de grãos foi avaliada apenas na geração  $S_{0:3}$  de todos os ciclos, em Lavras e Lambari, quando as parcelas dos experimentos foram representadas em duas linhas de dois metros. Os dados foram expressos em  $\text{Kg ha}^{-1}$ .

### **Análises estatísticas**

#### **Avaliação das progênies $S_{0:1}$ , $S_{0:2}$ e $S_{0:3}$**

Foram verificados todos os pressupostos antes da realização da análise dos dados. Os dados de resistência ao mofo branco, porte, tipo de grãos e produtividade, sem transformação, foram submetidos à análise de variância, por geração. O modelo adotado considerando os efeitos de progênies, blocos dentro de repetições e o erro como aleatórios, e os efeitos de repetições e a média como fixos, foi:

$$Y_{ijl} = m + t_i + r_j + b_{l(j)} + e_{ijl}$$

Em que:

$Y_{ijl}$ : refere-se à observação obtida do tratamento  $i$ , no bloco  $l$ , dentro da repetição  $j$ ;

$m$ : média geral do experimento;

$t_i$ : efeito aleatório do tratamento  $i$ , sendo  $i = 1, 2, 3, \dots, n$ , e  $n$  o número de progênies avaliadas em cada geração;

$r_j$ : efeito da repetição  $j$ , sendo  $j = 1$  e  $2$  na geração  $S_{0:1}$  e  $j = 1, 2$  e  $3$  nas gerações  $S_{0:2}$  e  $S_{0:3}$  dos quatro ciclos avaliados;

$b_{l(j)}$ : efeito do bloco  $l$  dentro da repetição  $j$ ;



$e_{ijl}$  : erro experimental associado à observação  $Y_{ijl}$ , assumindo que os erros são independentes e normalmente distribuídos, com média zero e variância  $\sigma_e^2$ .

Nas análises conjunta dos locais, na geração  $S_{0:3}$  para os caracteres porte e produção de grãos, foi utilizado o modelo considerando os efeitos de tratamentos, blocos dentro de repetições dentro de locais, locais, interação progênes x locais e o erro como aleatórios e os efeitos de repetições, e a média como fixos.

$$Y_{ijk} = m + t_i + r_{j(k)} + l_k + b_{l(jk)} + (tq)_{ik} + e_{ijk}$$

em que:

$Y_{ijk}$  : refere-se à observação obtida do tratamento  $i$ , no bloco  $l$ , dentro da repetição  $j$ , dentro do local  $k$ ;

$m$  : média geral do experimento;

$t_i$  : efeito aleatório do tratamento  $i$ , sendo  $i = 1, 2, 3, \dots, n$ .

$r_{j(k)}$  : efeito da repetição  $j$  dentro do local  $k$ , sendo  $j = 1, 2$  e  $3$ ;

$l_k$  : efeito do local  $k$ , sendo  $k = 1, 2$  e  $3$ ;

$b_{l(jk)}$  : efeito aleatório do bloco  $l$ , dentro da repetição  $j$  dentro da geração  $k$ ;

$(tq)_{ik}$  : efeito aleatório da interação entre o tratamento  $i$  e o local  $k$ ;

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

Na análise sequencial das gerações  $S_{0:1}$ ,  $S_{0:2}$  e  $S_{0:3}$  dentro de cada ciclo, o modelo utilizado considerou os efeitos de tratamentos, blocos dentro de repetições dentro de gerações, interação progênes x gerações e o erro como aleatórios e os efeitos de repetições, gerações e a média como fixos. Deve-se considerar que dentro do efeito de gerações está embutido o efeito de safras, já que os experimentos com as diferentes gerações ocorreram em diferentes safras.

$$Y_{ijk} = m + t_i + r_{j(k)} + g_k + b_{l(jk)} + (tg)_{ik} + e_{ijk}$$

em que:

$Y_{ijk}$  : refere-se à observação obtida do tratamento  $i$ , no bloco  $l$ , dentro da repetição  $j$ , dentro da geração  $k$ ;

$m$  : média geral do experimento;

$t_i$  : efeito aleatório do tratamento  $i$ , sendo  $i = 1, 2, 3, \dots, n$ .

$r_{j(k)}$  : efeito da repetição  $j$  dentro da geração  $k$ , sendo  $j = 1, 2$  e  $3$ ;

$g_k$  : efeito da geração  $k$ , sendo  $k = 1, 2$  e  $3$ ;

$b_{l(jk)}$ : efeito aleatório do bloco  $l$ , dentro da repetição  $j$  dentro da geração  $k$ ;

$(tg)_{ik}$  : efeito aleatório da interação entre o tratamento  $i$  e a geração  $k$ ;

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

Para análise dos dados, utilizou-se o PROC MIXED, método TYPE III, do SAS (SAS Institute, 2007).

### **Avaliação das melhores progênies de cada ciclo**

As análises individuais dos experimentos realizados no campo e na casa de vegetação com as melhores progênies de cada ciclo foram realizadas considerando todos os efeitos como fixos, exceto o erro, obedecendo ao seguinte modelo:

$$Y_{ijl} = m + t_i + r_j + e_{ijl}$$

Em que:

$Y_{ijl}$ : refere-se à observação obtida do tratamento  $i$ , no bloco  $l$ , dentro da repetição  $j$ ;

$m$ : média geral do experimento;

$t_i$ : efeito fixo de tratamentos  $i$ , sendo  $i = 1, 2, 3, \dots, n$ , e  $n$  o número de tratamentos avaliadas em cada geração;

$r_j$ : efeito da repetição  $j$ , sendo  $j = 1, 2$  e  $3$ ;

$e_{ijl}$ : erro experimental associado à observação  $Y_{ijl}$ , assumindo que os erros são independentes e normalmente distribuídos, com média zero e variância  $\sigma_e^2$ .

Nas análises conjuntas dos experimentos realizados no campo e na casa de vegetação todos os efeitos foram considerados fixos, exceto a média, obedecendo ao seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = m + t_i + r_{j(k)} + a_k + (ta)_{ik} + e_{ijk}$$

Em que:

$Y_{ijl}$ : refere-se à observação obtida do tratamento  $i$ , na repetição  $j$ , dentro do ambiente  $k$ ;

$m$ : média geral do experimento;

$t_i$ : efeito fixo de tratamentos da progênie  $i$ , sendo  $i = 1, 2, 3, \dots, n$ , e  $n$  o número de progênies avaliadas em cada geração;

$r_j$ : efeito da repetição  $j$ , sendo  $j = 1, 2$  e  $3$ ;

$a_k$ : efeito do ambiente  $k$ , sendo  $k = 1$  e  $2$ ;

$(pa)_{ik}$ : efeito da interação entre o tratamento  $i$  e o ambiente  $k$ ;

$e_{ijl}$ : erro experimental associado à observação  $Y_{ijl}$ , assumindo que os erros são independentes e normalmente distribuídos, com média zero e variância  $\sigma_e^2$ .

### **Estimativa dos parâmetros genéticos e fenotípicos**

A partir das esperanças dos quadrados médios das ANAVA's em cada geração ( $S_{0:1}$ ,  $S_{0:2}$  e  $S_{0:3}$ ) dentro de cada ciclo de seleção recorrente foram estimadas: a variância genética ( $\sigma_p^2$ ), a variância fenotípica ( $\sigma_F^2$ ) e a herdabilidade

no sentido amplo ( $h^2$ ), com seus limites inferiores (LI) e superiores (LS) pelos seguintes estimadores:

$$\sigma_p^2 = (Q_1 - Q_2)/r,$$

$$\sigma_F^2 = Q_1/r$$

$$h^2 = \frac{Q_1 - Q_2}{Q_1} \times 100$$

$$LI = 1 - \left[ \left( \frac{Q_1}{Q_2} \right) F_{(1-\alpha/2)} \right]^{-1} \quad LS = 1 - \left[ \left( \frac{Q_1}{Q_2} \right) F_{(\alpha/2)} \right]^{-1}$$

em que:

$Q_1$  : quadrado médio de progênies

$Q_2$ : quadrado médio do erro

r: número de repetições

F: valor tabelado da distribuição F de Snedecor a partir dos graus de liberdade de tratamentos ( $gl_1$ ) e resíduo ( $gl_2$ ) e do nível de significância ( $\alpha=0,05$ )

Os parâmetros genéticos também foram estimados a partir das esperanças dos quadrados médios das análises de variância conjuntas das progênies nas diferentes gerações dentro de cada ciclo e locais. Foram estimadas a variância genética entre as médias das progênies ( $\sigma_p^2$ ), a variância fenotípica ( $\sigma_F^2$ ), a variância da interação entre as médias das progênies x gerações ( $\sigma_{PxG}^2$ ) e a herdabilidade no sentido amplo ( $h^2$ ), com seus limites inferiores (LI) e superiores (LS) pelos seguintes estimadores:

$$\sigma_p^2 = (Q_3 - Q_4)/l\bar{r}$$

$$\sigma_F^2 = Q_3 / l\bar{r}$$

$$\sigma_{P \times G}^2 = \frac{(Q_4 - Q_5)}{\bar{r}}$$

$$h^2 = \frac{Q_3 - Q_4}{Q_3} \times 100$$

$$LI = 1 - \left[ \left( \frac{Q_3}{Q_4} \right) F_{(1-\alpha/2)} \right]^{-1} \quad LS = 1 - \left[ \left( \frac{Q_3}{Q_4} \right) F_{(\alpha/2)} \right]^{-1},$$

em que:

$Q_3$ : quadrado médio de progênes

$Q_4$ : quadrado médio do interação progênes x gerações

$Q_5$ : quadrado médio do erro

$\bar{r}$ : média harmônica do número de repetições

l: número de gerações

F: valor tabelado da distribuição F de Snedecor a partir dos graus de liberdade de tratamentos ( $gl_3$ ) e resíduo ( $gl_4$ ) e do nível de significância ( $\alpha=0,05$ );

Foi estimada ainda a acurácia seletiva ( $r_{g\hat{g}\%}$ ), para as características avaliadas utilizando a seguinte expressão (Resende e Duarte, 2007):

$$r_{g\hat{g}\%} = \sqrt{1 - \frac{1}{F_p}}$$

Em que:

F: valor do teste  $F_p$  de Snedecor para o efeito de progênes na ANAVA.

### **Progresso genético**

Foi estimado o progresso genético utilizando os seguintes métodos:

#### **Médias das progênies nos ciclos CIII, CIV, CV e CVI**

O progresso genético foi estimado entre os ciclos CIII, CIV, CV e CVI, a partir das médias das análises sequenciais de cada ciclo, em que os dados das progênies das três gerações foram utilizados e todas as progênies  $S_{0:1}$  estão representadas.

Como as gerações e os ciclos ocorreram em safras e anos diferentes, foram utilizadas testemunhas comuns visando minimizar o efeito ambiental. Inicialmente foi obtido o desvio genético das médias das progênies em relação às testemunhas para os três caracteres avaliados. Na estimativa do desvio genético para resistência ao mofo branco utilizou-se a média da linhagem suscetível, “Corujinha”. Para tipo de grãos, utilizou-se a média da linhagem “CNFC9506”. Para porte utilizou-se a média destas duas linhagens. Posteriormente, foi obtida a equação de regressão linear entre o número de ciclos, variável independente ( $x$ ), e o desvio genético, variável dependente ( $y$ ). O Progresso genético (PG) porcentual foi obtido pelo seguinte estimador:

$$PG = \left( \frac{b_1}{\bar{X}_{CIII}} \right) * 100$$

Em que:

$b_1$  é o coeficiente linear estimado ou ganho absoluto e  $\bar{X}_{CI}$  é a resistência média da geração  $S_{0:1}$  de cada ciclo e do ciclo três (CIII).

Também foi estimado o Ganho realizado com a seleção de progênes dentro de cada ciclo utilizando o mesmo estimador.

### **Média das melhores progênes dos ciclos zero ao VI.**

O progresso genético também foi estimado a partir das melhores progênes de cada ciclo, incluindo os ciclos zero, I e II obtidos por Carneiro, (2012). Foram selecionadas sete progênes do ciclo C0, oito progênes dos ciclos CI, CII e CIII e 10 progênes dos ciclos CIV, CV e CVI. Estas foram avaliadas em campo experimental onde foram incluídas três testemunhas (G122, Ex rico e Corujinha) e em experimento em casa de vegetação onde foram incluídas cinco testemunhas (G122, Ex rico, A195, Cornell 605 e Corujinha), ambos utilizando o método de inoculação *Straw test*.

Os dados obtidos nesses experimentos foram submetidos às análises de variância individual e conjunta, utilizando os mesmos modelos descritos anteriormente, considerando o efeito de tratamentos como fixo.

A partir das notas médias de reação ao mofo branco, das progênes selecionadas de cada ciclo de seleção recorrente (C0, CI, CII, CIII, CIV, CV e CVI) em cada experimento e na média dos experimentos, foram obtidas as equações de regressão linear, considerando o número de ciclos como variável independente ( $x$ ) e notas como variável dependente ( $y$ ). O ganho genético porcentual foi obtido pelo estimador:

$$PG (\%) = (b_1/b_0) 100$$

Em que:

$b_1$  é o coeficiente linear estimado ou ganho absoluto e  $b_0$  é o valor fenotípico estimado no ciclo zero (C0).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Avaliação da resistência ao mofo branco nas progênies $S_{0:1}$ , $S_{0:2}$ e $S_{0:3}$

Os experimentos foram conduzidos com boa precisão experimental, uma vez que os valores da acurácia seletiva, para o caráter resistência ao mofo branco foram superiores a 66% na maioria das análises realizadas, tanto individuais quanto conjuntas (Tabelas 3 e 8). Esse parâmetro refere-se à correlação entre o valor genotípico verdadeiro do tratamento genético e aquele estimado ou predito a partir das informações dos experimentos. Os valores acima de 70% indicam que os experimentos apresentaram alta precisão (Resende e Duarte, 2007).

Constatou-se em todas as análises de variâncias, por geração ou conjuntas que houve diferença significativa entre as médias das progênies e entre gerações para severidade do mofo branco ( $P \leq 0,05$ ) (tabela 3 e 1A). Esses resultados indicam que as progênies possuem diferentes níveis de resistência ao mofo branco, e provavelmente possuem diferentes alelos de resistência. Isso evidencia a variabilidade genética entre os genitores e as progênies o que é indispensável para se obter ganho com a seleção.

Não houve interação progênies x gerações para três dos quatro ciclos avaliados (Tabela 3), e a razão entre variância da interação pela variância genética ( $\sigma^2_{GXP} / \sigma^2_G$ )\*100 foi inferior a 7,5% nestes três ciclos (Tabela 4). Isso indica que o comportamento das progênies foi consistente ao longo das gerações, e que as progênies selecionadas com maior nível de resistência na geração  $S_{0:1}$  destes ciclos se mantiveram superiores nas gerações seguintes. Desta forma, a seleção na geração  $S_{0:1}$  já seria eficiente. Contudo, para o ciclo CV nota-se que houve interação progênies x gerações, com uma razão entre variância da interação pela variância genética ( $\sigma^2_{GXP} / \sigma^2_G$ )\*100 superior a 50% (Tabela 4). A interação foi acompanhada por um baixo erro experimental, o que pode justificar a sua



significância. Outro fator que pode justificar a presença da interação é a sensibilidade dos genótipos às variações ambientais para o caráter, especialmente variações relacionadas à umidade e temperatura (Antônio, 2011; Terán e Singh, 2009).

Tabela 3. Análises de variância conjunta das gerações S<sub>0,1</sub>, S<sub>0,2</sub> e S<sub>0,3</sub> considerando todas as progênies avaliadas em cada ciclo, para o caráter nota de severidade do mofo branco ( 1 a 9) nos ciclos CIII, CIV, CV e CVI de seleção recorrente, valores da acurácia seletiva e a média geral de cada ciclo.

Fonte de variação	CIII			CIV			CV			CVI		
	GL	QM	r <sup>2</sup> g%	GL	QM	r <sup>2</sup> g%	GL	QM	r <sup>2</sup> g%	DF	QM	r <sup>2</sup> g
Geração (Ge)	2	24,529**		2	76,622**		2	15,764**		2	20,121**	
Rep(Geração)	5	0,732 <sup>NS</sup>		5	0,946**		5	0,811**		5	1,240 <sup>NS</sup>	
Bloco(Ge*Rep)	50	0,356 <sup>NS</sup>		71	0,377**		73	0,518**		70	0,437**	
TRAT	120	1,11**	82,14	195	2,101**	92,69	224	0,624**	79,36	224	0,889**	86,22
Testemunha (Test)	1	5,164**		1	4,950**		1	8,44**		1	14,554	
Progênie	118	1,06**	80,45	193	2,095**	92,79	222	0,561**	77,04	222	0,827	84,89
Test, vs prog	1	2,921**		1	0,344 <sup>NS</sup>		1	6,758**		1	1,695	
Ge*Trat	72	0,361 <sup>NS</sup>		147	0,296 <sup>NS</sup>		147	0,231**		128	0,228 <sup>NS</sup>	
Ge*prog	68	0,374 <sup>NS</sup>		143	0,291 <sup>NS</sup>		143	0,228**		124	0,231 <sup>NS</sup>	
Ge*Test	2	0,053 <sup>NS</sup>		2	0,251 <sup>NS</sup>		2	0,321 <sup>NS</sup>		2	0,151 <sup>NS</sup>	
Ge*prog vs Test	2	0,233 <sup>NS</sup>		2	0,675 <sup>NS</sup>		2	0,341 <sup>NS</sup>		2	0,110 <sup>NS</sup>	
Erro	214	0,368		416	0,248		444	0,163		402	0,188	
Média			4,104			3,830			3,235			3,218

\*, \*\*, <sup>NS</sup>, : significativo a 5% e a 1% de probabilidade; <sup>NS</sup> não significativo, respectivamente, pelo teste F.

### **Estimativa dos parâmetros genéticos para resistência ao mofo branco em cada ciclo de seleção**

A herdabilidade é um dos parâmetros genéticos mais importantes para o trabalho do melhorista, ela expressa a confiança do valor fenotípico como um indicador do valor reprodutivo, ou seja, ela representa o quanto da variação fenotípica pode ser perpetuada via seleção (Bernardo 2010). As estimativas das herdabilidades para mofo branco variaram de 43% a 91%, nos 12 experimentos realizados em campo (Tabela 6A). Na maioria das situações as estimativas de herdabilidade foram iguais ou superiores a 60%, com estimativas de limites inferiores sempre positivas, o que indica que, com uma probabilidade de 95%, os valores de herdabilidade devem ser diferentes de zero. A grande variação nos valores de herdabilidade neste trabalho deve ter ocorrido especialmente devido à grande influência do ambiente na intensidade da doença e também a interação genótipos x ambientes (Terán e Singh, 2009). Por esta razão, foi realizada a avaliação da herdabilidade nas análises conjuntas, e nestas, a herdabilidade variou de 60 a 86%, sendo que a menor herdabilidade ocorreu no ciclo CV, onde a variância da interação progênies x geração foi maior (Tabela 4). Pela magnitude destas estimativas infere-se a possibilidade de ganhos adicionais com a seleção em ciclos futuros.

Tabela 4. Estimativa da variância genética entre as médias das progênes, variância fenotípica na média das progênes ( $\sigma^2_F$ ), variância da interação progênes x gerações ( $\sigma^2_{GXP}$ ), relação entre a variância da interação progênes\*geração ( $\sigma^2_{GXP} / \sigma^2_G$ )\*100, herdabilidade no sentido amplo e seus limites inferiores e superiores na média das progênes obtidas para severidade da doença.

Ciclo	$\sigma^2_G$	$\sigma^2_F$	$\sigma^2_{GXP}$	$(\sigma^2_{GXP} / \sigma^2_G)*100$	$h^2$	LI	LS
III	0.089	0.137	0.002	2.624	64.72	51.09	74.16
IV	0.234	0.272	0.017	7.151	86.11	82.21	89.04
V	0.043	0.073	0.025	58.559	59.36	48.71	67.51
VI	0.077	0.107	0.017	21.644	72.07	64.63	77.77

A maioria dos valores de herdabilidade obtidos neste trabalho foram coerentes com aqueles obtidos por Antônio (2011), Miklas et al. (2001), Miklas, Delorme e Riley (2003), em trabalhos com este mesmo patógeno. Estes autores obtiveram estimativas de herdabilidades superiores a 56% em avaliações utilizando o método do *Straw test* para inoculação no campo e/ ou em casa de vegetação.

Trabalhos como o de Park et. al (2001), observaram herdabilidade relativamente baixas, com valores de 23% e 24%, trabalhando com *Straw test* em feijoeiro. Carneiro et al. (2011) observaram herdabilidades de 39% e 47% em experimentos em casa de vegetação. Já Miklas, Delorme e Riley (2003) obtiveram herdabilidades de 62% e 73% em avaliações para resistência fisiológica ao mofo branco em feijoeiro pelo método do *Straw test* em casa de vegetação e em campo, sendo esses valores considerados moderados. Valores semelhantes foram observados por Antônio (2011) de 56% e 72% e Miklas et al. (2001) que obtiveram valores de 75% e 76% em avaliações pelo *Straw test*. A grande variação nas estimativas de herdabilidade da resistência ao mofo branco ocorre devido aos diferentes genótipo parentais nos experimentos dos diferentes autores, aos métodos de avaliação utilizados e especialmente devido à influência do ambiente no

desenvolvimento da doença e da interação genótipos x ambiente (Terán e Singh, 2009).

### **Avaliação da resistência ao mofo branco nas melhores progênes de cada ciclo**

Os experimentos para resistência ao mofo branco nas melhores progênes de cada ciclo também foram conduzidos com boa precisão, com valor da acurácia seletiva superior a 70% na análise conjunta (Tabela 5). Ou seja, há uma elevada correlação entre o valor fenotípico verdadeiro e o estimado a partir das informações dos experimentos.

Nas análises de variância, houve diferença entre os efeitos de ciclos e de progênes dentro dos ciclos C0, CI, CIV, CV e CV também foram significativas (Tabela 5 e 4A). Portanto, a variabilidade genética para o caráter, se manteve mesmo após a seleção ocorrida ao longo das gerações e dos ciclos, o que é de suma importância para se obter contínuo progresso genético com a seleção ao longo das gerações e dos ciclos de seleção. Houve diferença significativa entre experimentos de campo e casa de vegetação e não se observou interação entre tratamentos dentro dos grupos (representados pelas testemunhas e progênes dentro de ciclos) e experimentos (casa de vegetação e campo), contudo, houve interação entre ciclos e experimentos (Tabela 6). A diferença entre experimentos e a interação deve ter ocorrido devido à variação nas condições ambientais na casa de vegetação e no campo experimental, sendo que a intensidade da doença em casa de vegetação foi maior que no campo onde os fatores temperatura e umidade são mais difíceis de serem controlados. Contudo, deve-se destacar que apesar de ter havido interação experimentos \*ciclos a correlação genética para as notas de resistência ao mofo branco entre os experimentos realizados na casa de vegetação e campo foi relativamente alta, de 0.80 (Tabela 5) e as melhores e piores progênes mantiveram suas classificações nos dois experimentos.

Tabela 5. Análise de variância conjunta para o caráter nota de severidade do mofo branco para os experimentos realizados em campo e em casa de vegetação, acurácia seletiva ( $r\hat{g}g\%$ ) e correlação genética (CG) entre as médias das progênies avaliadas no campo e na casa de vegetação.

Fonte de variação	GL	QM	$r\hat{g}g\%$
Exp	1	140,331**	
Rep(exp)	4	1,124 <sup>NS</sup>	
Tratamentos	65	1,866**	
Tratamentos (grupos)	58	1,385**	0,754
Progênies (Prog.)	54	1,320**	0,740
Prog dentro de C0	6	1,509*	
Prog dentro de C1	7	2,911**	
Prog dentro de C2	7	0,591 <sup>NS</sup>	
Prog dentro de C3	7	0,872 <sup>NS</sup>	
Prog dentro de C4	9	1,139*	
Prog dentro de C5	9	1,180*	
Prog dentro de C6	9	1,193*	
Testemunhas (Test)	4	2,987**	
Grupos	7	5,851**	
Test vs ciclos	1	1,349 <sup>NS</sup>	
entre ciclos	6	6,454**	
exp * tratamentos	56	0,944*	
exp*ciclos	6	1,833**	
exp*Tratamentos(grupos)	50	0,837 <sup>NS</sup>	
Erro	240	0,598	
CG			0,80

\*, \*\*, <sup>NS</sup>: significativo a 5% e a 1% de probabilidade; <sup>NS</sup> não significativo, respectivamente, pelo teste F.

### Ganho realizado com a seleção de progênies dentro dos ciclos

Para verificar se a seleção de progênies dentro dos ciclos foi eficiente, foi estimado o ganho realizado com a seleção. O grande problema na avaliação

comparativa de experimentos realizados em safras e anos diferentes é o efeito ambiental e o uso de testemunhas pode atenuar este efeito. No caso de severidade de ocorrência de patógenos, o uso de cultivar suscetível tem sido empregado por diferentes autores como alternativa a este problema (Arantes et al. 2010; Amaro et al. 2007).

Nota-se que o ganho realizado com a seleção de progênies dentro dos ciclos foi positivo em todos os quatro ciclos, mas pequeno nas avaliações das três gerações, variando de 1,5% no ciclo CV a 5,19% no ciclo CVI. Isso ocorreu principalmente devido à redução do desvio genético da geração  $S_{0.2}$  para  $S_{0.3}$  dos ciclos CIII e CV, mesmo que esta redução tenha sido não significativa. Nota-se também que os maiores ganhos na seleção de progênies foram observados de  $S_{0.1}$  para  $S_{0.2}$  nos ciclos CIII, CIV e CV, indicando maior eficiência da seleção nesta geração (tabela 6). A razão para esses ganhos é que na geração  $S_{0.1}$  as populações a serem selecionadas foram maiores, com 121 a 225 progênies e na primeira seleção foram eliminadas progênies com maior suscetibilidade (Tabela 2). É possível observar forte influência do ambiente na agressividade do patógeno e em vários momentos, a nota média da agressividade aumenta (da  $S_{0.1}$  para  $S_{0.2}$  dos ciclos CIII e CV, de  $S_{0.2}$  para  $S_{0.3}$  dos ciclos CIV e CVI), o que indicaria redução na resistência. Contudo, observa-se também aumento na nota média da testemunha suscetível, o que nestes casos, influenciou no aumento do desvio genético e o ganho com a seleção se torna positivo. Isso confirma a importância da testemunha na redução do efeito ambiental.

A partir do intervalo de confiança das notas médias (tabela 6) nota-se que o limite inferior é constituído por progênies com níveis de resistência mais elevados, com valores inferiores a três e DG maiores que dois em várias situações. Adicionalmente, o desvio genético do limite superior das notas médias aumentou de geração para geração dentro dos quatro ciclos, com exceção apenas de  $S_{0.2}$  para  $S_{0.3}$  do ciclo CV. Esses resultados indicam que foi possível eliminar as progênies

mais suscetíveis ao longo das gerações, o que deve ter contribuído para aumentar o ganho. Assim, nota-se que uma avaliação precisa possibilita aumentar os níveis de resistência das progênes e o ganho com a seleção.

Nota-se que o ganho obtido com a seleção de progênes foi inferior ao obtido por Terán e Singh (2009), que obtiveram ganho de cerca de 20% na seleção de progênie, contudo, deve-se considerar que neste trabalho, objetivou-se selecionar progênes com grãos do tipo “Carioca” resistentes, e que as progênes com grãos muito fora do padrão foram eliminadas, mesmo que apresentassem maiores níveis de resistência. Deve-se considerar ainda que na seleção em campo as condições ambientais são mais difíceis de serem controladas, enquanto que em casa de vegetação consegue-se impor condições mais favoráveis para o desenvolvimento do patógeno e desta forma, realizar uma maior discriminação das progênes para a seleção. Contudo, não se pode esquecer que os experimentos em campo são importantes, uma vez que representam o ambiente real de cultivo do feijoeiro e ainda permitem avaliar caracteres auxiliares no controle do mofo branco como a arquitetura das progênes (Soule et al. 2011).



Tabela 6. Nota média da severidade do mofo branco nas progênies e seus limites de confiança (LC) obtidos nas gerações  $S_{0,1}$ ,  $S_{0,2}$  e  $S_{0,3}$  nos ciclos III, IV, V e VI, média da testemunha suscetível, Corujinha, desvio genético(DG), ganho realizado com a seleção (GS), teste de significância (LSD), entre os desvios genéticos das médias das gerações dentro de cada ciclo e o valor da acurácia seletiva em cada geração.

Ciclo	Geração	Média das progênies e LC	Corujinha	DG e LC	GS	Diferença entre DGs com relação à $S_{0,1}$ ; $S_{0,2}$	$r\hat{g}\%$
III	$S_{0,1}$	4,02(2,54/5,55)	5,04	1,01(2,5/-0,51)			0,76
	$S_{0,2}$	4,53(3,42/6,33)	6,01	1,49(2,59/-0,32)	11,98	0,48**	0,87
	$S_{0,3}$	3,51(2,88/4,81)	4,81	1,29(1,93/0,00)	3,50	0,28**, -0,20*	0,76
IV	$S_{0,1}$	4,69(3,20/6,15)	5,73	1,04(2,57/-0,42)			0,78
	$S_{0,2}$	3,21(2,46/4,24)	4,57	1,35(2,11/0,33)	6,53	0,31**	0,87
	$S_{0,3}$	3,60(2,6/4,53)	5,02	1,42(2,42/0,49)	4,05	0,38**, 0,07 <sup>NS</sup>	0,80
V	$S_{0,1}$	3,24(2,16/4,53)	4,56	1,32(2,40/-0,03)			0,66
	$S_{0,2}$	3,46(2,70/4,47)	5,01	1,54(2,31/0,54)	6,81	0,22**	0,79
	$S_{0,3}$	2,87(2,11/3,81)	4,29	1,42(2,18/0,48)	1,50	0,10 <sup>NS</sup> , -0,12 <sup>NS</sup>	0,96
VI	$S_{0,1}$	3,46(2,41/5,20)	4,74	1,27(2,33/-0,46)			0,86
	$S_{0,2}$	2,78(2,12/4,24)	4,10	1,32(1,98/-0,14)	1,39	0,05 <sup>NS</sup>	0,92
	$S_{0,3}$	3,51(2,72/4,30)	5,14	1,63(2,42/0,84)	5,19	0,36**, 0,31**	0,71

DG= Testemunha suscetível – média das progênies;  
 \*\*, \*, significativo a 1% e 5% respectivamente

### **Progresso genético ao longo dos ciclos de seleção recorrente para resistência ao mofo branco**

Em um programa de seleção recorrente, é indispensável avaliar a eficiência do processo periodicamente. Para isso é necessário estimar o progresso genético (PG) obtido. Várias estratégias têm sido utilizadas para se estimar o progresso genético em autógamias, e neste trabalho foram realizadas: a comparação entre ciclos utilizando a média geral das progênies de cada ciclo e comparação entre as melhores progênies de cada ciclo em experimento único, para excluir o efeito de safras.

### **Progresso genético para a média das progênies obtidas em cada ciclo para resistência ao mofo branco**

Na comparação da média de todas as progênies dos diferentes ciclos, se o progresso genético fosse calculado a partir da média direta das progênies ele seria de -7,8% por ciclo (valor negativo por corresponder à redução da severidade da doença). Contudo, o efeito do ambiente torna necessária a utilização do desvio genético, e o progresso calculado a partir deste desvio foi de 3,7% por ciclo de seleção (valor positivo, uma vez que o desvio genético é calculado por  $DG = \text{média da testemunha suscetível} - \text{média do ciclo}$ , a nota da testemunha suscetível tende a ser maior que a média dos ciclos) (Tabela 7). A princípio este progresso parece pequeno, porém, como foram realizados três ciclos por ano ele se torna pronunciado, de 11,1% ao ano. Deve-se considerar que a seleção das plantas que foram intercruzadas para a obtenção dos diferentes ciclos, baseou-se apenas na reação média das duas inoculações, ou seja, a seleção foi massal, e que apesar disso e do ambiente ter grande influência sobre este caráter, o ganho foi significativo.

Tabela 7. Médias gerais das progênies, considerando os dados de todas as gerações avaliadas em cada ciclo de seleção, médias das testemunhas, desvios genéticos (DG) e o progresso genético (PG) para a severidade do mofo branco

Ciclo	Severidade da doença		
	Media das Progênies	Corujinha	DG
CIII	4,104	5,180	1,076
CIV	3,830	5,039	1,209
CV	3,235	4,705	1,470
CVI	3,231	4,728	1,497
b0	4,449		0,931
b1	-0,319		0,1524
PG(%)	-7,8		3,7
R <sup>2</sup>	0,844		0,8881

**Progresso genético considerando as melhores progênies de cada ciclo para resistência ao mofo branco**

Os experimentos com as Melhores progênies de cada um dos sete ciclos mostraram progresso genético semelhante ao obtido nas avaliações com todas as progênies obtidas em cada ciclo e avaliadas apenas no campo. Nas avaliações das progênies selecionadas em campo, observou-se um ganho de -3,17% por ciclo, e nas avaliações em casa de vegetação obteve-se um ganho de -3,8%, sendo que na análise conjunta, este ganho foi de -3,82% (Tabela 8).

Tabela 8. Média das progênies dentro de cada ciclo com seus limites superiores e inferiores e o progresso genético (PG) obtido com a seleção recorrente nas avaliações realizadas em campo, em casa de vegetação e na análise conjunta para severidade do mofo branco.

Ciclo e testemunhas	Campo		Casa de vegetação		Conjunta	
	Variação do ciclo	Média	Variação do ciclo	Média	Variação do ciclo	Média
C0	-	-	(4,75-6,75)	5,55	(3,84-5,29)	4,87*
CI	(3,22-4,60)	3,89	(3,75-6,28)	5,36	(3,54-5,43)	4,62
CII	(3,26-4,28)	3,72	(3,33-5,67)	4,92	(3,64-4,64)	4,33
CIII	(2,81-4,38)	3,31	(4,36-6,00)	5,23	(3,64-4,70)	4,27
CIV	(2,92-3,87)	3,19	(3,63-6,15)	4,93	(3,31-5,01)	4,06
CV	(2,96-4,08)	3,46	(3,58-6,00)	4,56	(3,32-4,78)	4,01
CVI	(2,65-4,40)	3,21	(3,5-4,95)	4,10	(3,07-4,49)	3,65
G122	-	3,95	-	5,00	-	4,47
Ex Rico	-	4,20	-	5,97	-	5,08
A195	-	-	-	4,21	-	3,48*
Cornell 605	-	-	-	4,58	-	3,85*
Corujinha	-	5,28	-	5,92	-	5,60
b <sub>0</sub>		3,89		5,59		4,81
b <sub>i</sub>		-0,12		-0,21		-0,18
PG(%)		-3,17		-3,80		-3,82
R <sup>2</sup> (%)		64,40		81,80		95,90

\*médias estimadas

O pequeno progresso genético ao longo das gerações e ao longo dos ciclos se deve ao fato do caráter quantitativo ser controlado por vários genes de pequeno e médio efeito e também devido ao efeito do ambiente na expressão da resistência. Segundo Miklas et al.(2013), já foram identificados 27 QTLs para resistência fisiológica ao mofo branco e 36 QTLs para caracteres relacionados aos mecanismos de escape. Caso nas populações iniciais ocorram genes de maior efeito, o ganho esperado nas gerações iniciais é maior, mas se os genes envolvidos

são de pequeno efeito, o ganho será menor, mas progressivo ao longo das gerações e ciclos, como observado neste trabalho. O trabalho de Lion et al. (1987) com o mesmo patógeno mostrou um ganho de 31% após três ciclos de seleção recorrente, contudo, este ganho só foi possível porque os autores realizaram cruzamentos interespecíficos utilizando pool gênico secundário onde existe altos níveis de resistência. Já os trabalhos de Terán e Singh (2010a) e Terán e Singh (2010b) avaliando duas populações de híbridos duplos os ganhos foram menores e semelhantes aos obtido neste trabalho.

Outra observação importante é que na seleção foram obtidas progênes adaptadas com níveis de resistência superior ao de fontes de resistência não adaptadas como Ex Rico23, G122, Cornell 605, e A195. Dentre essas fontes de resistência a A195 foi a que apresentou menor intensidade da doença. Considerando a média das progênes na análise conjunta, nota-se que nos ciclos CIV, CV e CVI apareceram progênes superiores a A195 (tabela 6). Terán e Singh et al. (2009) também obtiveram linhagens superiores às fontes de resistência utilizadas como genitores.

#### **Avaliação do tipo de grãos, porte, e produtividade das progênes $S_{0:1}$ , $S_{0:2}$ e $S_{0:3}$**

Os experimentos de avaliação para tipo de grãos e para produtividade apresentaram boa precisão experimental, com valores da acurácia seletiva superiores a 66% em todas as gerações e nas análises conjuntas (Tabelas 9, 11 e 12).

Já para o porte, esses valores apresentaram menores magnitudes (Tabelas 10 e 13), o que se deve ao fato de os genitores utilizados no início do programa serem pouco contrastantes para o caráter. Dentre os 13 genitores utilizados, o hábito de crescimento de dois deles foi do tipo I, de sete deles do tipo II e de três deles do tipo III. Além disso, nos ciclos iniciais deu-se ênfase na seleção de plantas

com hábito de crescimento III e principalmente II. Esse procedimento provavelmente resultou em uma variabilidade menor que a obtida para os demais caracteres. Isso pode ter contribuído para reduzir o valor de F-Snedecor utilizado para estimar a acurácia seletiva, mesmo que tenha sido significativo. Para o caráter produção de grãos os valores da acurácia seletiva foram superiores a 70% (Tabela 11).

Para os caracteres tipo de grãos e porte, dos quatorze experimentos conduzidos em Lavras e Lambari nas avaliações das três gerações dos quatro ciclos, e nas análises conjuntas para cada ciclo, houve diferença significativa para os efeitos de progênies e gerações na grande maioria delas (Tabela 1A, 2A, 9 e 10). Para o caráter produtividade de grãos houve diferença significativa em 5 dos 6 experimentos avaliados, não houve diferença significativa apenas para as progênies do ciclo CIV avaliadas em Lavras (Tabelas 11 e 2A). Esses resultados indicam viabilidade de se realizar a seleção para os três caracteres avaliados, já que houve variabilidade genética das progênies na maioria dos experimentos.

Para tipo de grãos, apesar de 75% dos genitores serem do tipo Carioca, a variação era esperada, pois esse caráter depende da expressão de vários genes (Basset, 2004). Da mesma forma, para o porte também era esperada diferença entre progênies, mesmo que a variação entre os genitores seja pequena, já que existem vários genes que afetam a arquitetura da planta e os genitores, assim como as progênies podem apresentar diferentes alelos para este caráter. Segundo Miklas et al. (2013) e Soule et al. (2011), já foram identificados mais de 36 QTLs relacionados ao caráter. No caso da produtividade de grãos, a existência de variação também era esperada, uma vez que no início do programa de seleção recorrente os genitores envolvidos apresentavam diferentes potenciais produtivos.

No caso do experimento com as progênies selecionadas dos sete ciclos, como o número de progênies selecionadas foi pequeno, de 7 a 10, praticamente não houve variabilidade entre progênies dentro de ciclos tanto para tipo de grãos quanto

para o porte. Para porte, nota-se diferença significativa para o efeito de ciclos, o que não se observa para tipo de grãos (Tabela 3A). Para tipo de grãos, como a seleção vem sendo feita ao longo das gerações, desde o ciclo zero, e a herdabilidade do caráter é alta, as progênies selecionadas praticamente não apresentam variabilidade.

Tabela 9. Análises de variância conjunta das gerações S<sub>0,1</sub>, S<sub>0,2</sub> e S<sub>0,3</sub> considerando todas as progênes avaliadas em cada ciclo, para o caráter tipo de grãos nos ciclos CIII, CIV, CV e CVI de seleção recorrente, valores da acurácia seletiva e a média geral de cada ciclo.

Fonte de variação	CIII			CIV			CV			CVI		
	GL	QM	r $\hat{g}$ %	GL	QM	r $\hat{g}$ %	GL	QM	r $\hat{g}$ %	GL	QM	r $\hat{g}$ %
Geracao (Ge)	2	3,459**		2	0,745**		2	0,151 <sup>NS</sup>		2	1,015**	
Rep(Ge)	5	0,289*		71	0,112 <sup>NS</sup>		5	0,261**		70	0,108 <sup>NS</sup>	
Bloco(Ge*Rep)	50	0,110 <sup>NS</sup>		5	0,618**		73	0,111*		5	0,117 <sup>NS</sup>	
TRAT	120	1,438**	96,49	195	0,496**	83,64	224	0,534**	91,38	224	0,760**	90,53
Testemunha (Test)	1	0,390*		1	2,25**		1	8,266**		1	16**	
Progênie (Prog)	118	1,387**	97,14	193	0,489**	85,56	222	0,502**	91,46	222	0,691**	91,77
Test vs prog	1	8,506**		1	0,212**		1	0,0178 <sup>NS</sup>		1	0,834**	
Geracao*Trat	72	0,099 <sup>NS</sup>		147	0,149**		147	0,088 <sup>NS</sup>		128	0,137*	
Ge*prog	68	0,078 <sup>NS</sup>		143	0,131*		143	0,082 <sup>NS</sup>		124	0,109 <sup>NS</sup>	
Ge*Test	2	0,586**		2	0,927**		2	0,138 <sup>NS</sup>		2	1,208**	
Ge*prog vs test	2	0,332 <sup>NS</sup>		2	0,666**		2	0,494**		2	0,772**	
Error	207	0,095		409	0,100		443	0,076		386	0,101	
Média			2,803			2,760			2,691			2,765
CV			10,994			11,464			10,233			11,524

\*, \*\*, <sup>NS</sup>: significativo a 5% e a 1% de probabilidade; <sup>NS</sup> não significativo, respectivamente, pelo teste F.



Tabela 10. Análises de variância conjunta das gerações  $S_{0.1}$ ,  $S_{0.2}$  e  $S_{0.3}$  considerando todas as progênes avaliadas em cada ciclo, para o caráter porte nos ciclos CIII, CIV, CV e CVI de seleção recorrente, valores da acurácia seletiva e a média geral de cada ciclo.

Fonte de variação	CIII			CIV			CV			CVI		
	GL	QM	$r\hat{g}\%$	GL	QM	$r\hat{g}\%$	GL	QM	$r\hat{g}\%$	GL	QM	$r\hat{g}\%$
Geração (Ge)	2	6,4157**		2	3,461**		2	12,284**		2	30,465**	
Rep(Ge)	5	0,625 <sup>NS</sup>		5	2,132*		5	2,019**		5	0,547 <sup>NS</sup>	
Bloco(Ge*Rep)	50	1,268**		71	0,911**		73	1,004**		70	0,982**	
TRAT	120	1,638**	73,23	195	1,062**	58,94	224	1,157**	63,94	224	1,239**	71,64
Testemunha (Test)	1	0,062 <sup>NS</sup>		1	0,063 <sup>NS</sup>		1	3,062**		1	0,562 <sup>NS</sup>	
Progênie (prog)	118	1,627**	71,47	193	1,051**	59,25	222	1,151**	68,75	222	1,191**	70,62
Test vs prog	1	4,5509**		1	4,194**		1	0,708 <sup>NS</sup>		1	12,672**	
Geracao*trat	72	0,7596 <sup>NS</sup>		147	0,693 <sup>NS</sup>		147	0,684**		128	0,603*	
Ge*prog	68	0,796 <sup>NS</sup>		143	0,682 <sup>NS</sup>		143	0,607*		124	0,597 <sup>NS</sup>	
Ge*Test	2	0,2604 <sup>NS</sup>		2	1,052 <sup>NS</sup>		2	5,260**		2	0,010 <sup>NS</sup>	
Ge*prog vs Test	2	0,056 <sup>NS</sup>		2	1,085 <sup>NS</sup>		2	1,606*		2	1,563*	
Error	214	0,548		418	0,593		445	0,495		404	0,476	
Média			6,282			6,644			6,516			6,284

\*, \*\*, <sup>NS</sup>, : significativo a 5% e a 1% de probabilidade; <sup>NS</sup> não significativo, respectivamente, pelo teste F.

Para o caráter tipo de grãos, nota-se que houve interação nos ciclos CIV e CVI (Tabela 9) assim como observado no trabalho de Menezes et, al (2008). Contudo, esta interação foi de pequena magnitude em todos os ciclos, sendo que a variância da interação foi menor que 5% da variância genética nos ciclos CIII, CV e CVI e de 22% da variância genética no ciclo CIV, indicando que a interferência na classificação das progênes foi pequena (tabela 11).

As interações progênes x gerações para o caráter porte foram não significativas nos ciclos CIII, CIV e CVI, sendo significativa apenas no ciclo CV (Tabela 10). O que indica que para três dos quatro ciclos o comportamento das progênes foi consistente ao longo das gerações. Contudo, os valores da variância da interação progênes x gerações para porte foi superior a 40% da variância genética em todos os ciclos, uma proporção relativamente alta (Tabela 11).

No caso do porte e produção de grãos, nas análises conjuntas para locais dos ciclos CIV e CV na geração  $S_{0.3}$  realizados em Lavras e Lambari, também não se observou interação progênes x locais, além da variância da interação ter sido de baixa magnitude o que também determinou maior consistência dos dados desta geração para estes ciclos (tabela 3A). A ocorrência de interação progênes x safras/gerações para o caráter porte tem sido relatada na literatura por outros autores (Menezes et, al 2008, Mendes et al., 2009, Cunha et al., 2005) . Como os experimentos foram conduzidos nas safras das águas, secas e inverno esta interação já era esperada, uma vez que na safra das águas as plantas vegetam muito e plantas que apresentam porte arbustivo na seca e no inverno podem acamar nas águas e influenciar na interação.

As estimativas da herdabilidade para porte variaram muito nas gerações e nos ciclos, de 20% a 88% (Tabela 11 e 7A). Nas análises conjuntas para os ciclos, nota-se que a herdabilidade dos ciclos CIV, CV e CVI foram próximas às obtidos por Mendes et al. (2011) e Menezes et. al (2008) que obtiveram valores de 41 a 71%. No ciclo CIII a herdabilidade foi superior à obtida pelos mesmos autores, de

88%. Deve-se considerar que assim como ocorre para resistência ao patógeno, o porte também é muito afetado pelo ambiente, o que pode ter causado esta variação nas estimativas de herdabilidade. Nota-se ainda que na grande maioria dos casos, o limite inferior da herdabilidade foi positivo, ou seja, foi diferente de zero, evidenciando a presença de variabilidade e a possibilidade de sucesso com a seleção.

Para tipo de grãos, as estimativas de herdabilidade, também variaram muito nas avaliações por geração, de 23% a 79% (Tabela 6A), mas nas análises conjuntas para os ciclos, a amplitude de variação foi menor, 73 a 94% (Tabela 11). Essa grande variação na herdabilidade para o caráter também tem sido observada por outros autores, como Menezes et. al (2008) cujas estimativas variaram de 34% a 86%. Apesar desta amplitude de variação, os limites inferiores foram positivos em 11 dos 12 experimentos, indicando possibilidade de sucesso na seleção.

Nas avaliações para produção de grãos os valores da herdabilidade foram superiores a 50% e com limites inferiores positivos na maioria dos experimentos realizados (Tabela 3A e 8A). O único experimento que apresentou menor herdabilidade, 31%, e limite inferior negativo foi o do ciclo CIV realizado em Lavras. Neste também não houve diferença significativa para o efeito de progênies.

Os valores da herdabilidade assim como os limites inferiores positivos, obtida para os três caracteres, confirmam a existência de variabilidade e a confiabilidade dos valores fenotípicos obtidos neste trabalho.

Tabela 11. Estimativa da variância genética entre as médias das progênies ( $\sigma^2_G$ ), variância fenotípica ( $\sigma^2_F$ ), variância da interação progênies x gerações ( $\sigma^2_{GXP}$ ) razão entre a variância da interação progênies\*geração e a variância genética ( $\sigma^2_{GXP} / \sigma^2_G$ )\*100, herdabilidade e seus limites inferiores e superiores obtidas para porte, tipo de grãos e produção.

Porte							
Ciclo	QMP <sup>1</sup>	QME	Acurácia	( $\sigma^2_{GXP} / \sigma^2_G$ )*100	h <sup>2</sup>	LI	LS
III	1,627**	0,548	73,23	44,44	87,95	86,94	93,10
IV	1,051**	0,593	58,99	62,09	35,11	16,91	48,77
V	1,151**	0,495	63,93	52,96	47,22	33,44	57,83
VI	1,191**	0,476	71,65	52,38	49,87	36,53	60,10
Tipo de grãos							
III	1,387**	0,093	96,60	-1,30	94,38	92,19	95,89
IV	0,489**	0,100	83,61	22,27	73,21	65,67	78,87
V	0,502**	0,076	91,40	1,47	83,67	79,51	87,02
VI	0,691**	0,101	90,50	3,61	84,23	79,99	87,47
Produtividade							
III ind	32643**	11286	80,89	-	65,42	22,87	83,35
IVconj	18488**	6839	73,20	1,49	63,28	39,29	76,21
Vconj	61883**	14565	86,57	0,02	76,46	61,57	84,74
VI ind	22234**	7345,55	81,83	-	67,01	43,42	80,05

<sup>1</sup>\*\* significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

Para produtividade os valores obtidos consideraram análises individuais para os ciclos CIII e CVI e conjunta para os ciclos CIV e CV

### **Ganho realizado com a seleção de progênies dentro dos ciclos CIII, CIV, CV e CVI para os caracteres tipo de grãos e porte**

Assim como realizado para severidade da doença, para os caracteres tipo de grãos e porte, o efeito do ambiente também foi minimizado utilizando testemunhas comuns a todos os experimentos. Para tipo de grãos apenas a linhagem CNFC9506 foi utilizada como testemunha, já que a cultivar corujinha possui grão fora do padrão carioca. Nesse caso, quanto menor o desvio genético das progênies em relação à testemunha CNFC9506 melhor a progênie, neste caso considera-se o

valor absoluto, já que no geral, as notas médias das progênes são maiores que a da testemunha, que apresenta grão carioca comercial. Não se pode esquecer que quanto menor a nota, melhor o grão.

Para este caráter nota-se progresso genético após a seleção, com uma redução da nota média das progênes em relação à testemunha ao longo das gerações, especialmente nos ciclos CIII, CIV e CV, nas quais se observa um progresso de 3,2%, 8,6%, e 7,0% por geração (tabela 12). No ciclo CVI, mesmo tendo havido diferença significativa entre as médias, não houve progresso genético, já que não houve diferença significativa entre os desvios genéticos das médias. Nota-se uma redução, em valor absoluto, do limite superior do DG ao longo das gerações nos quatro ciclos, ou seja, a eliminação dos grãos fora do padrão “Carioca” foi eficiente. Na média das progênes os tipos de grãos foram inferiores à testemunha, com notas maiores para o caráter, contudo, em todas as gerações nos quatro ciclos, há progênes melhores que a testemunha, com grãos dentro dos padrões comerciais.

Na seleção de progênes, apesar da prioridade de seleção para o caráter severidade da doença, àquelas com grãos muito fora do padrão “Carioca” foram eliminadas, mesmo que estivessem entre progênes com maiores níveis de resistência. Esse critério foi adotado porque um dos objetivos deste trabalho é a obtenção de progênes adaptadas, com grãos do tipo “Carioca” e com maiores níveis de resistência ao mofo branco. O trabalho de Menezes et al. (2008) mostrou um ganho maior para o caráter, de 11,24%, em avaliações para porte, tipo de grãos e produção de grãos, mas ao contrário deste trabalho que priorizou-se a seleção para resistência ao mofo branco, os autores realizaram seleção simultânea para os três caracteres não priorizando nenhum dos três caracteres.

Tabela 12. Média do tipo de grãos das progênes e seus limites de confiança (LC) obtidos nas gerações S<sub>0,1</sub>, S<sub>0,2</sub> e S<sub>0,3</sub> nos ciclos III, IV, V e VI, média da testemunha CNFC9506, desvio genético(DG), progresso genético(PG), teste de significância (LSD) entre as gerações dentro de cada ciclo e o valor da acurácia seletiva  $r\hat{g}g\%$  em cada geração.

Ciclo	Geração	Média das progênes e LC	CNFC9506	DG e LC	PG	Diferença entre DGs	
						com relação à S <sub>0,1</sub> ;	r $\hat{g}g\%$
CIII	S0:1	3,15 (1,92\5,11)	2,56	-0,59 (0,64\ -2,55)			0,781
	S0:2	2,4 (1,89\3,07)	1,99	-0,41 (0,10\ -1,08)	5,7	0,18*	0,705
	S0:3	2,47 (2,03\3,06)	2,08	-0,39 (0,05\ -0,98)	3,2	0,20**, 0,02 <sup>NS</sup>	0,721
CIV	S0:1	2,84 (1,95\4,08)	2,14	-0,7 (0,19\ -1,94)			0,730
	S0:2	2,69 (1,97\3,42)	2,3	-0,39 (0,33\ -1,12)	10,9	0,31**	0,752
	S0:3	2,67(1,86 \ 3,20)	2,46	-0,21(0,60\ -0,74)	8,6	0,49**, 0,18*	0,770
CV	S0:1	2,80 (1,82\ 4,12)	1,96	-0,84 (0,14\ -2,16)			0,700
	S0:2	2,62(2,11\ 3,36)	2,15	-0,47 (0,04\ -1,21)	13,2	0,37**	0,731
	S0:3	2,49 (1,94\3,08)	2,04	-0,45 (0,1\ -1,04)	7,0	0,39**, 0,02 <sup>NS</sup>	0,714
CVI	S0:1	2,99 (2,07\ 5,18)	2,56	-0,43 (0,49\ -2,62)			0,781
	S0:2	2,53 (1,86 \ 3,01)	2,14	-0,39 (0,28\ -0,87)	1,3	0,04 <sup>NS</sup>	0,730
	S0:3	2,48 (2,00 \ 2,83)	2,06	-0,42 (0,06\ -0,77)	0,2	0,01 <sup>NS</sup> , -0,03 <sup>NS</sup>	0,717

\*, \*\*, <sup>NS</sup>: significativo a 5% e a 1% de probabilidade; <sup>NS</sup> não significativo,

Para porte as testemunhas utilizadas foram as cultivares CNFC9506 e Corujinha, ambas com porte arbustivo e neste caso quanto menor o desvio genético melhor o porte da progênie.

Os desvios genéticos para porte obtidos em relação à média das testemunhas sofreram uma redução ao longo das gerações nos ciclos CIII, CIV e CVI o que já indica certo progresso genético, progresso este que não foi observado no ciclo CV (Tabela 13). No ciclo CIII considerando as três gerações, o ganho de 3,75% por geração, apesar de pequeno foi significativo. No ciclo CIV o ganho considerando as três gerações foi de 7,93% por geração e no ciclo CVI o ganho foi de 8,4% por geração. Outra observação importante é que em todas as gerações e em todos os ciclos, obteve-se progênies com média superior a média das testemunhas.

O progresso genético para o caráter porte aconteceu mesmo realizando-se a seleção principalmente para resistência fisiológica ao mofo branco. Por isso, algumas plantas com porte ruim e maiores níveis de resistência fisiológica permaneceram no programa. Desta forma a seleção para porte não influenciou na classificação das progênies quanto à resistência ao mofo branco.

Tabela 13. Porte médio das progênie e seus limites de confiança (LC) obtidos nas gerações S<sub>0:1</sub>, S<sub>0:2</sub> e S<sub>0:3</sub> nos ciclos III, IV, V e VI, média da testemunhas Corujinha e CNFC9506, desvio genético (DG), progresso genético (PG), teste de significância (LSD) entre as gerações dentro de cada ciclo e o valor da acurácia seletiva  $r\hat{g}_{g\%}$  em cada geração.

Ciclo	Geração	Média das progênie e LC	Média Corujinha/ CNFC9506	DG e LC	PG (%)	Diferença entre	
						DGs com relação à S <sub>0:1</sub> , S <sub>0:2</sub>	$r\hat{g}_{g\%}$
CIII	S0:1	6,13 (4,45 \ 7,78)	6,75	0,62 (2,30 \ -1,03)			0,649
	S0:2	6,50 (5,52 \ 7,95)	6,83	0,33 (1,31 \ -1,12)	-4,73	-0,29**	0,500
	S0:3 (Lavras)	6,33 (5,43 \ 7,27)	6,49	0,16 (1,06 \ -0,78)	-3,75	-0,46**, -0,27	0,721
CIV	S0:1	6,74 (5,10 \ 8,53)	7,87	1,13 (2,77 \ -0,65)			0,492
	S0:2	6,51 (4,93 \ 7,88)	6,34	-0,17 (1,41 \ -1,54)	-19,28	-1,31**	0,601
	S0:3 (Lavras, Lambari)	6,89 (5,61 \ 7,61)	6,95	0,06 (1,46 \ -0,61)	-7,93	-1,07**, 0,23**	0,849
CV	S0:1	6,56 (4,73 \ 8,16)	5,83	-0,73 (1,1 \ -2,33)			0,575
	S0:2	6,61 (5,51 \ 7,90)	7,11	0,505 (1,6 \ -0,78)	18,8	1,24**	0,691
	S0:3 (Lavras, Lambari)	6,09 (4,92 \ 8,00)	6,25	0,16 (1,23 \ -1,75)	6,8	0,89**, -0,34**	0,896
CVI	S0:1	6,63 (5,10 \ 8,04)	6,8	0,17 (1,7 \ -1,24)			0,551
	S0:2	5,97 (4,16 \ 8,09)	5,81	-0,15 (1,65 \ -2,27)	-4,9	-0,325**	0,742
	S0:3 (Lavras)	5,71 (4,66 \ 6,95)	4,76	-0,94 (0,1 \ -2,18)	-8,4	-1,12**, -0,79**	0,640

DG = média das testemunhas – média da progênie



### **Progresso genético entre ciclos de seleção recorrente para os caracteres tipo de grãos e porte.**

Na comparação entre ciclos para tipo de grãos, ao contrário do que foi observado na seleção entre gerações dentro de ciclos, não houve redução da média das progênes em relação à testemunha CNFC9506, ao longo dos ciclos. Na análise de regressão houve redução do desvio genético de 2,4% por ciclo, contudo, os valores de  $R^2$  mostraram não haver ajuste das médias ao modelo linear (Tabela 14). Desta forma, para este caráter não houve progresso genético entre ciclos, o que também já era esperado, uma vez que não houve seleção para tipo de grãos nas progênes da população base antes do inter cruzamento. A seleção para tipo de grãos iniciou apenas na geração  $S_{0:1}$ , o que justifica o ganho apenas dentro dos ciclos. Além disso, a seleção para grãos superiores foi feita desde o ciclo zero e a herdabilidade do caráter, em geral, é alta.

O caráter tipo de grãos tem sido um dos principais limitantes na recomendação de uma cultivar de feijoeiro, pois o mercado consumidor é exigente e rejeita qualquer tipo de grãos que esteja fora dos padrões comerciais. O melhorista deve dedicar grande atenção a esta característica, que se tornou requisito básico para recomendação de cultivares. Para isso, deve-se considerar que a seleção para o tipo de grão desejado não é uma tarefa muito fácil, pois o feijoeiro apresenta grande variabilidade para este caráter e a sua herança é complexa, com mais de 20 genes influenciando no fenótipo, com efeitos pleiotrópicos, interações epistáticas, alelismo múltiplo e ligações, porém com efeito ambiental reduzido (Basset, 2004).

Na comparação entre ciclos, para o caráter porte houve redução do desvio genético das testemunhas em relação à média das progênes do ciclo CIV ao CVI, indicando melhora na arquitetura da planta em relação às testemunhas. Esta melhora correspondeu a um ganho de 4,6% por ciclo (Tabela 17), ganho expressivo para um caráter que não foi alvo direto de seleção, já que na obtenção dos ciclos, as

plantas S<sub>0</sub> de cada ciclo foram selecionadas das populações base considerando apenas os níveis de resistência. Contudo, durante a realização dos intercruzamentos, dentro das plantas selecionadas com maiores níveis de resistência, priorizaram-se aquelas com porte mais arbustivo, o que contribuiu para o ganho neste caráter. Este ganho foi superior ao obtido por Pires (2013), que apresentou ganho de apenas 1,62% para mesmo caráter.

A avaliação da arquitetura da planta em um programa de seleção recorrente para mofo branco é de grande importância, uma vez que o porte ereto e a porosidade do dossel são caracteres que estão diretamente relacionados a mecanismos de escape da planta ao fungo *S. sclerotiorum*. Estes fenótipos proporcionam condições desfavoráveis para o desenvolvimento do patógeno (Ando et al., 2007; Kolkman e Kelly, 2002; Kolkman e Kelly, 2003). Vários estudos de identificação de QTLs para a resistência ao mofo branco mencionam a presença daqueles responsáveis pelos mecanismos de escape, como arquitetura, localizados juntamente aos QTLs que conferem resistência ao mofo branco em feijão (Soule et al. 2011; Miklas et al., 2013). Desta forma, nota-se que a seleção para porte pode contribuir para resistência ao mofo branco, juntamente com a resistência fisiológica identificada por meio do *Straw test*.

Tabela 14. Médias das progênies obtidas em cada ciclo de seleção, média das testemunhas, desvio genético (DG) e progresso genético (PG) para os caracteres, porte e tipo de grãos.

Ciclo	Porte			Tipo de grãos		
	Media Progênes	Corujinha/ CNFC9506	DG	Media Progênes	CNFC9506	DG
CIII	6,283	6,685	0,402	2,803	2,188	-0,616
CIV	6,644	7,188	0,544	2,760	2,375	-0,385
CV	6,516	6,313	-0,204	2,691	2,125	-0,566
CVI	6,284	5,863	-0,422	2,765	2,188	-0,577
b0			0,885			-0,519
b1			-0,322			-0,066
PG(%)			-5,127			-2,4
R <sup>2</sup>			0,795			0,007

Nota-se, portanto, que é de suma importância à seleção de progênies resistentes, mas não basta que a progênie seja resistente. Para que uma linhagem tenha a chance de ser adotada por agricultores, ela deve integrar ao seu fenótipo grãos de padrão comercial, produtividade satisfatória e porte adequado. Neste trabalho obteve-se um importante passo na obtenção de uma linhagem com estes caracteres desejáveis.

## CONCLUSÃO

A seleção recorrente é eficiente para obtenção de progênies com alto nível de resistência ao mofo branco com grãos do tipo carioca e porte ereto.

Há progênies selecionadas de feijão mesoamericanas com níveis de resistência fisiológica ao mofo branco semelhantes às fontes não adaptadas, porte arbustivo e grão tipo carioca.

Além disso, há possibilidade de se obter ganhos adicionais com a seleção para a resistência ao mofo branco, porte e tipo de grãos, devido à presença da variabilidade genética.

## REFERÊNCIAS

Antônio RP (2011) Identificação de QTLs de resistência ao mofo branco e mecanismos bioquímicos envolvidos na resposta de defesa em feijoeiro. Thesis, Universidade Federal de Lavras

Antonio RP, Santos JB, Souza TP, Carneiro FF (2008) Genetic control of the resistance of common beans to white mold using the reaction to oxalic acid, *Genetics and Molecular Research*, 7: 3: 733-740.

Ando K, Grumet R, Terpstra K., Kelly J D. (2007) Manipulation of plant architecture to enhance crop disease control. *CAB Reviews: perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition, and Natural Resources* 2:1-8

Arantes LO , Abreu AFB , Ramalho MAP (2010) Eight cycles of recurrent selection for resistance to angular leaf spot in common bean *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 10: 232-237

Amaro GB, Abreu AFB , Ramalho MAP, Silva FB (2007) 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* 30: 584-588

Basset MJ (2004) List of genes-*Phaseolus vulgaris* L. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative 47:1-24

Bernardo R. (2010) Breeding for quantitative traits in plants. 2nd ed. Minnesota: Stemma, 2010. 400 p.

Bianchini A, Marigoni AC, Carneiro SMTPG(2005) Doenças do feijoeiro, In: Kimati H, Amorim L, Bergamin Filho A, Camargo LEA (Eds) Manual de fitopatologia, 4,Ed,São Paulo, Agronômica Ceres, pp,333-350

Carneiro FF, Santos JB dos; Gonçalves PRC, Antonio RP; Souza TP (2011) Genetics of common bean resistance to white mold. Crop Breeding and Applied Biotechnology, 11:165-173. [doi.org/10.1590/S1984-70332011000200009](https://doi.org/10.1590/S1984-70332011000200009)

Carneiro FF (2013) Estratégias visando à seleção de linhagens de feijão resistentes ao mofo branco / Flávia Fernandes Carneiro. Thesis,Universidade Federal de Lavras.

Cunha WG, Ramalho MAP and Abreu ÁFB (2005) Selection aiming at upright growth habit common bean with carioca type grains. Crop Breeding and Applied Biotechnology 5:379-386.

Ender M, Kelly JD (2005) Identification of QTL associated with white mold resistance in common bean. Crop Sci 45:2482–2490.  
[doi:10.2135/cropsci2005.0064](https://doi.org/10.2135/cropsci2005.0064)

Ender, M, Terpstra K, Kelly JD. (2008). Marker-assisted selection for white mold resistance in common bean. Mol. Breed. 21:149–157. [doi:10.1007/s11032-007-9115-9](https://doi.org/10.1007/s11032-007-9115-9)

Gonçalves PRC, Santos JB dos (2010) Physiological resistance of common bean cultivars and Lines to white mold based on oxalic acid reaction. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative, New York, 53: 236-237

Griffiths PD, Jahn MM, Dickson MH (2004). Cornell 501: A white mold tolerant snap bean breeding line. HortScience, Alexandria v.39:1507–1508.

Kolkman JM, Kelly JD (2002) Agronomic traits affecting resistance to white mold in common bean. Crop Sci. 40:281–285. doi:10.2135/cropsci2000.401281x

Kolkman JM, Kelly JD (2003) QTL conferring resistance and avoidance to white mold in common bean. Crop Sci 43:539–548. doi:10.2135/cropsci2003.0539

Lara LAC, Santos JB, dos, Veloso JS, Balestre M, Alves FC, Leite ME (2013) Identification of QTLs for Resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in Carioca Common Bean by the *Moving Away* Method

Lyon ME, Dickson MH, Hunter JE (1987) Recurrent selection for resistance to white mold in Phaseolus species. J AmSoc Hortic Sci 112:149–152

Mendes FF, Ramalho MAP, Abreu ÂFB (2009) Índice de seleção para escolha de populações segregantes de feijoeiro-comum Pesq, agropec, bras 44:10:1312-1318

Mendes FF, Ramalho MAP, Abreu ÂFB (2011) Eficiência do sistema de nove covas na seleção de progênies de feijoeiro tipo carioca para arquitetura ereta. Pesq, agropec, bras 46:1029-1034

Menezes Júnior J A N, Ramalho MAP, Abreu AFB (2008) Seleção recorrente para três caracteres do feijoeiro *Bragantia* 67:833-838

Miklas PN, Delorme R, Johnson WC, Gepts P. (2001). QTL conditioning physiological resistance and avoidance to white mold in dry bean. *Crop Sci.* 41:309–315. doi:10.2135/cropsci2001.412309x

Miklas PN, Delorme R, Riley R. (2003). Identification of QTL conditioning resistance to white mold in snap bean. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 128:564–570.

Miklas PN, Grafton KF, Hauf DC, Kelly JD (2006) Registration of partial white mold resistant pinto bean germplasm line USPT-WM-1. *Crop Sci* 46:2339. doi:10.2135/cropsci2006.04.0248

Miklas PN, Larsen KM, Terpstra K, Hauf DC, Grafton KF, Kelly JD (2007). QTL analysis of ICA Bunsí-derived resistance to white mold in a pinto × navy bean cross. *Crop Sci.* 47:174–179. doi:10.2135/cropsci2006.06.0410

Miklas P N, Porter LD, Kelly JD, Myers JR (2013) Characterization of white mold disease avoidance in common bean. *Eur J Plant Pathol* 135:525–543. doi 10.1007/s10658-012-0153-8

Oliveira SHF (2005) Manejo do mofo branco, *Revista DBO Agrotecnologia*, 2:8-13 <http://www.jcofertilizantes.com.br/pesquisa/pesquisa2-manejo-do-mofo-branco.pdf>. Accessed 26 June 2013

Park SO, Coyne DP, Steadman JR, Skroch PW (2001) Mapping of QTL for resistance to white mold disease in common bean. *Crop Sci.* 41:1253–1262. doi:10.2135/cropsci2001.4141253x

Petzold R, Dickson H (1996) Straw test for resistance to white mold in beans. *Annu Rep Bean Improv Coop* 39:142–143

Pires LP (2013) Seleção Recorrente Massal para Porte ereto em feijão do tipo carioca. Thesis Universidade Federal de Lavras

Ramalho MAP, Pirola LH, Abreu AFB (1998) Alternativas na seleção de plantas de feijoeiro com porte ereto e grão tipo carioca. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 33:1989-1994

Ramalho MAP, Abreu AFB, Santos JB, Nunes JAR (2012) Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas. Lavras: UFLA

Resende MDV, Duarte JB (2007) Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. *Pesq Agropec Trop* 37:182-194

Saharan GS, Mehta N(2008) *Sclerotinia Diseases of Crop Plants: Biology, Ecology and Disease Management*, LXII, Springer-Verlag GmbH, Heidelberg,

SAS Institute (2013) *The SAS system for windows. Version 9.1.3.* SAS Inst., Cay, NC

Schwartz HF, Singh SP, Teran H (2013) Breeding Common Bean for Resistanceto White Mold: A Review. *Crop Science*, 53:1832-1844.



Silva MGM, Santos J B, Abreu AFB (2006) Seleção de famílias de feijoeiro com resistência a antracnose e mancha angular. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41:1499-1506

Singh, SP., Terán H, Lema M, Schwartz HF, Miklas. PN. 2007a. Registration of white mold resistant dry beangermplasm line A 195. *J. Plant Reg.* 1:62–63. doi:10.3198/jpr2006.10.0643crg

Singh S P, Terán H, Schwartz HF, Otto K, Lema M (2009a) Development of white mold resistant interspecific common bean germplasm lines VCW 54 and VCW 5. *J Plant Regist* 3:191-197

Singh S P, Terán H, Schwartz HF, Otto K, Lema M (2009b) Introgressing white mold resistance from *Phaseolus* species of the secondary gene pool into common bean *Crop Science* 49:1629-1637

Singh SP Diagramatic scale for white mold. Disponível em: <http://www.css.msu.edu/bic/> (consultado em 08/2013).

Soule M, Porter L, Medina J, Santana GP, Blair MW, Miklas PN.(2011) Comparative QTL map for white mold resistance in common bean, and characterization of partial resistance in dry bean lines VA19 and 19365–31. *Crop Sci.* 51:123–139. doi:10.2135/cropsci2010.06.0356

Terán H, Singh PS (2008) One cycle of recurrent selection for physiological resistance to white mold in dry bean *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 51: 42-43

Terán H, and Singh SP (2009) Gamete selection for improving physiological resistance to white mold in common bean. *Euphytica* 167:271–280. doi:10.1007/s10681-009-9885-8

Terán H, Singh SP (2010a) Recurrent selection for physiological resistance to white mold in dry bean. *Plant Breed.* 129:327–333. doi:10.1111/j.1439-0523.2009.01679.x

Terán H, Singh SP (2010b). Gamete and recurrent selection for improving physiological resistance to white mold in common bean. *Can. J. Plant Sci.* 90:153–162. doi:10.4141/CJPS09128

**ARTIGO 2****RESPOSTAS BIOQUÍMICAS ASSOCIADAS À DEFESA DO FEIJOEIRO  
CONTRA *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM***

Artigo redigido conforme as normas da revista European Journal of Plant  
Pathology

**RESUMO** - Este estudo objetivou investigar alterações em compostos de defesa de cultivares de feijoeiro com diferentes níveis de resistência ao fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, determinar a relação destes na resistência ao patógeno e verificar se estes têm potencial de uso como marcadores biológicos. As linhagens foram inoculadas com o patógeno e avaliadas quanto à atividade das enzimas relacionadas à defesa, peroxidases (POX), polifenoloxidases (PPO), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e ascorbato peroxidase (APX) e aos teores de fenóis solúveis totais e lignina, também relacionados à defesa de plantas a patógenos. Para as análises bioquímicas, foram coletadas amostras de tecido caulinar em duas regiões da planta, no primeiro local (Posição um) foi coletado 5 cm do caule a partir do ponto da lesão e no segundo (Posição dois) foi coletado 5 cm do caule a partir do primeiro local nos tempos de 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a inoculação (HAI). A presença do patógeno induziu a atividade destas enzimas em pelo menos um dos tempos e uma das posições avaliadas. Maiores teores de lignina e fenóis solúveis totais e maior indução da atividade da POX e SOD em plantas inoculadas na região próxima à inoculação (Posição um) indicam ativação local com posterior sinalização para ativação de mecanismos de defesa em outras regiões da planta. O genótipo com maior nível de resistência foi superior ao suscetível quanto à produção de lignina e as atividades das enzimas de defesa POX, APX e SOD. Estes resultados sugerem que uma combinação destas respostas de defesa no feijoeiro pode contribuir para maior resistência da planta ao patógeno e que estas enzimas possuem potencial para uso na seleção de genótipos de feijoeiro.

Palavras chave: Mofo branco, *Phaseolus vulgaris*, Mecanismos de defesa, Compostos fenólicos

**ABSTRACT** - The aim of this study was to investigate changes in defense compounds of common bean cultivars with different levels of resistance to the fungus *Sclerotinia sclerotiorum* and to determine the relation of the compounds to pathogen resistance. The lines were inoculated with the pathogen and assessed for enzymatic and non-enzymatic compounds related to plant defense, peroxidases (POX), polyphenol oxidases (PPO),

catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX), total soluble phenol and lignin contents. Stem tissue samples were collected from two regions of the plant for biochemical analyses. In the position one, 5 cm of the stem was collected from the lesion, and in the position two, 5 cm of the stem was collected from the first location at the times of 12, 24, 48, 72, 96 and 120 hours after inoculation (HAI). Greater lignin and total soluble phenol contents and greater induction of POX and SOD activity in inoculated plants in the region near the inoculation (position one) indicate local activation with later signaling for activation of defense mechanisms in other regions of the plant. The genotype with a greater level of resistance was superior to the susceptible one in regard to lignin production and the activities of POX, APX and SOD defense enzymes. These results suggest that a combination of these defense responses in common bean may contribute to greater plant resistance to the pathogen and that these enzymes have potential use in selection of common bean resistant genotypes.

Keywords: White mold. *Phaseolus vulgaris*. Defense mechanisms. Phenolic compounds

## Introdução

O mofo branco, causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, é um patógeno de grande importância mundial com ampla gama de hospedeiros, atacando mais de 500 espécies de plantas, incluindo campos cultivados, fruteiras, plantas ornamentais, árvores, arbustos e inúmeras plantas daninhas (SAHARAN; MEHTA, 2008). O ataque deste fungo leva a grandes perdas em diversas culturas, incluindo o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Em condições de clima favorável para o desenvolvimento do patógeno, alta umidade e temperaturas amenas, entre 15 e 20°C, uma lavoura de feijão pode sofrer perdas de 30% ou mais, podendo chegar a 100% em períodos chuvosos, quando medidas preventivas não são tomadas (OLIVEIRA, 2005).

O controle deste patógeno é dificultado pela ampla gama de hospedeiros e também pela alta capacidade do patógeno de sobreviver no solo por vários anos na forma de escleródios (BOLAND; HALL, 1994). Práticas culturais, como a rotação de culturas com gramíneas e controle da irrigação, aplicação de fungicidas, controle biológico e plantio de cultivares resistentes podem reduzir a severidade da doença (DUNCAN, 2003).

A resistência fisiológica de cultivares é a maneira mais eficiente de controle do mofo branco, sendo a resistência completa inexistente no feijoeiro. Contudo, algumas linhagens apresentam certo nível de resistência tanto em feijões mesoamericanos, quanto em feijões andinos (MIKLAS et al. 2006; GONÇALVES; SANTOS, 2010). Altos níveis de resistência foram observados em espécies de *Phaseolus* em pool gênicos secundários como em *P. coccineus* e *P. costaricensis* (SINGH et al., 2009; MIKLAS et al., 2006), Miklas et al. (2006) transferiram níveis moderados de resistência ao mofo branco de *P. coccineus*, Singh et al. (2009) também introgridiram resistência de *P. coccineus* e de *P. costaricensis* para linhagens melhoradas utilizando retrocruzamentos. Linhas

interespecíficas melhoradas apresentaram níveis altos e intermediários de resistência ao mofo branco. Contudo, poucas são as linhagens comerciais, desenvolvidas por melhoramento tradicional que possuem resistência parcial ao mofo branco (MIKLAS et al., 2006).

O controle genético da resistência ao mofo branco é complexo, com participação da resistência fisiológica e do hábito de crescimento mais arbustivo, que permite maior penetração de luz na copa (ENDER; KELLY, 2005; ANTÔNIO et al., 2008; SOULE et al., 2011). Segundo Yang et al. (2007), mais de 300 genes alteraram sua expressão na presença do patógeno, portanto, vários genes controlam a resistência fisiológica.

Plantas com maiores níveis de resistência podem apresentar diversos mecanismos que as permitam se defender das agressões deste inimigo natural. A planta se defende impedindo, restringindo ou retardando a penetração do patógeno em seus tecidos, diminuindo os danos potenciais, enquanto que o patógeno atua no sentido de anular estes mecanismos de defesa do hospedeiro.

A patogenicidade de *S. sclerotiorum* está relacionada à produção de enzimas líticas e à produção de ácido oxálico. As enzimas líticas tais como endo e exopectinases, celulases, hemicelulases, glicosidases, xilanases e proteases, atuam facilitando a colonização da célula hospedeira através da degradação da parede celular e o ácido oxálico causa redução do pH nos tecidos do hospedeiro, inibindo enzimas atuantes no sistema de defesa do hospedeiro e aumentando a atividade de enzimas que degradam a parede celular do hospedeiro (RIOU et al., 1991).

O sistema de defesa das plantas consiste em mecanismos pré e pós-formados. Os pré-formados, também denominados barreiras constitutivas estão presentes na planta mesmo antes da infecção e são estruturas como ceras, cutículas, parede celular espessa, tricomas, adaptações em estômatos e fibras vasculares; e também os compostos químicos como: fenóis, alcaloides, lactonas insaturadas, glicosídeos cianogênicos, fototoxinas, inibidores proteicos e enzimas hidrolíticas

(STANGARLIN et al. 2011). Os mecanismos pós-formados são aqueles que se manifestam após a infecção, conhecidos como induzíveis ou pós-formados, envolvem a formação de papilas, halos, lignificação, formação de camadas de cortiça, tiloses e deposição de gomas, além da liberação de compostos como fitoalexinas, proteínas relacionadas à patogênese (Proteínas-RP) e enzimas antioxidantes (AGRIOS, 2005). As respostas de defesa podem atuar de forma diferente nos tecidos da planta, dependendo da proximidade da região de entrada do patógeno, dos compostos formados e podem inclusive atuar como sinalizadores para produção de novas enzimas (CARVALHO, 2012). A presença de um ou do somatório de alguns destes compostos de defesa podem determinar o sucesso da resistência da planta contra o ataque do fitopatógeno, evitando ou minimizando o estabelecimento da doença (STINTZI et al., 1993).

Vários estudos têm comprovado que esses mecanismos de defesa podem aumentar a resistência à *S. sclerotiorum*. Yang et al. (2007), em seu estudo com canola, mostram que genes codificadores de enzimas como peroxidase, ascorbato peroxidase, glutathione peroxidase e outros relacionados com o metabolismo de espécies reativas de oxigênio e alteração da estrutura e função da parede celular alteraram sua expressão na presença de *S. sclerotiorum*. O metabolismo de espécies reativas de oxigênio conferindo resistência à *S. sclerotiorum*, foi também observado em soja (MALENCIC et al., 2010), canola (RIETZ et al. 2012), alface (RODRIGUES et al., 2007) e melão (BUZI et al., 2004). Todos estes trabalhos mostram que há genes que podem ligar importantes rotas de resposta de defesa da planta a infecção do patógeno.

Diante do exposto, este estudo objetivou investigar alterações em compostos de defesa de cultivares de feijoeiro com diferentes níveis de resistência ao fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, determinar se estes compostos são importantes na resistência ao patógeno e se estes têm potencial de uso como marcadores biológicos.

## Material e métodos

### Material genético

Foram utilizados quatro genótipos de feijoeiro: CNFC9506, BRSMG - talismã, CNFRJ10564 e CNFP10773. Estes genótipos foram selecionados a partir de um grupo de linhagens avaliadas quanto a resistência ao mofo branco pelo método do ácido oxálico por Gonçalves e Santos (2010) e pelo método do *Straw test*. A linhagem CNFC9506 do tipo carioca é moderadamente resistente à mancha angular, com porte ereto, baixo grau de acamamento (ABREU et al., 2011), moderadamente resistente ao mofo branco quando avaliada pelo método do *Straw test*, mas suscetível ao ácido oxálico. A cultivar BRSMG - talismã, do tipo carioca é resistente ao vírus do mosaico comum e às raças 65 e 89 de *C. lindemuthianum*, em campo possui reação intermediária à mancha angular, arquitetura semi-prostrada a prostrada e hábito de crescimento tipo III (ABREU et al., 2004), sendo suscetível ao mofo branco em avaliações pelo método do *Straw test* e parcialmente resistente ao ácido oxálico (GONÇALVES; SANTOS, 2010). A linhagem CNFRJ10564 possui grãos beges com estrias vermelhas e hábito de crescimento do tipo I e tem se mostrado parcialmente resistente ao mofo branco quando avaliada pelos métodos do *Straw test* e do ácido oxálico. A linhagem CNFP10773 é uma linhagem de grãos pretos, com resistência moderada a mancha angular, arquitetura ereta (ABREU et al., 2011) e tem se mostrado altamente suscetível ao mofo branco quando avaliada utilizando ambos os métodos.

Cinco sementes de feijoeiro, dos respectivos genótipos, foram semeadas em vasos plásticos de 3,5 litros, contendo a mistura terra:areia:esterco bovino (3:1:1). As plantas foram mantidas em casa de vegetação, sendo irrigadas periodicamente e adubadas conforme recomendação para a cultura. Após a emergência, cada vaso foi mantido com três plantas de feijoeiro.



### **Inoculação e coleta das amostras**

As plantas foram inoculadas 28 dias após a emergência e o inóculo utilizado foi obtido de escleródios de *S. sclerotiorum* coletados em área plantada com feijão proveniente de Goiânia-GO, identificado como mais agressivo no estudo de Carneiro et al. (2011). Os escleródios foram desinfestados superficialmente pela imersão consecutiva em etanol a 70 % por 1 minuto, solução de hipoclorito de sódio 1% por 3 minutos e três vezes em água destilada e esterilizada. Posteriormente, o fungo foi repicado para placas de Petri contendo meio de batata dextrose e ágar (BDA) com cloranfenicol ( $1 \mu\text{L.mL}^{-1}$  de meio BDA) e incubado a  $22^{\circ}\text{C}$ , por três dias e fotoperíodo de 12 horas.

As inoculações foram realizadas utilizando-se o método do *Straw test* (PETZOLDT; DICKSON, 1996; SINGH; TERÁN, 2008). O método consiste no corte do ápice caulinar, onde se encaixa uma ponteira de micropipeta, com disco de meio de cultura BDA contendo o micélio de *S. sclerotiorum*. As plantas controles, não inoculadas, sofreram o mesmo processo da inoculação, entretanto, foi utilizado apenas o meio BDA sem o micélio de *S. sclerotiorum*.

Para as análises bioquímicas foram coletadas amostras de caule de feijoeiro em dois locais das plantas. O primeiro local (Posição um) foi coletado 5 cm do caule a partir da lesão e o segundo local (Posição dois) foi coletado 5 cm do caule a partir do primeiro local.

Amostras de tecidos dos genótipos foram coletadas, tanto de plantas inoculadas quanto de plantas não inoculadas. As amostras foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer -  $80^{\circ}\text{C}$  até o momento das análises.

As coletas para análise das enzimas de defesa foram realizadas às 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a inoculação (HAI). A análise de lignina e de fenóis solúveis totais foi realizada ao final do experimento, às 120 HAI. No total, foram

avaliados 96 tratamentos, constituídos de quatro genótipos, plantas inoculadas e não inoculadas, seis tempos de avaliação e duas posições dentro de cada planta, com três repetições em um total de 288 parcelas.

### **Análises Enzimáticas**

Foram avaliadas as atividades das enzimas: peroxidases de guaiacol (POX), polifenoloxidasas (PPO), superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT).

Para a obtenção do extrato enzimático, 1 g do tecido caulinar de cada amostra foi macerado com nitrogênio líquido para obtenção de um pó fino que foi acrescido de polivinilpirolidona (PVP) 2% e homogeneizado em 6mL de um tampão acetato de sódio 50mM pH 5,2. O material homogeneizado foi centrifugado a 12000g por 15min a 4°C e o sobrenadante foi usado como fonte enzimática. Todas as análises enzimáticas foram realizadas em triplicatas.

A concentração de proteínas solúveis totais foi aferida com a utilização de uma curva padrão de albumina sérica bovina (BSA) conforme ensaio de Bradford (1976).

A atividade de peroxidases de guaiacol (POX; EC 1,11,1,7) foi determinada pela adição de 10 $\mu$ L do extrato enzimático ajustado para 200 $\mu$ L de solução contendo acetato de sódio 50 mM pH 5,2, 20mM de guaiacol e 60mM de peróxido de hidrogênio. Após incubação a 30°C, por 10 minutos, a absorbância foi medida em espectrofotômetro a 480nm (URBANEK; KUZNIAK-GEBAROWSKA; HERKA, 1991) e a atividade da enzima foi calculada usando o coeficiente de extinção molar de 2,47 mM<sup>-1</sup>,cm<sup>-1</sup> e expressa em mmol de tetraguaiacol formado por miligrama de proteína por minuto.

A atividade de polifenoloxidasas (PPO; EC 1,10,3,2) foi determinada pela adição de 50 $\mu$ L do extrato enzimático ajustado para 200 $\mu$ L de uma solução

contendo 50 mM de tampão fosfato de potássio pH 6,5 e catecol a 25 mM. Após 10 min a 30°C, foi obtido o acréscimo da absorbância a 410 nm (GAUILLARD; RICHARD-FORGET; NICOLAS, 1993). A atividade de PPO foi expressa como mmol de quinona produzida por miligrama de proteína por minuto.

A atividade da superóxido dismutase (SOD; EC 1,15,1,1) foi determinada a partir da capacidade de redução fotoquímica do azul de nitrotetrazólio (NBT) (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). Foi adicionado 20µL do extrato enzimático ajustado para 200µL de uma solução com fosfato de potássio 50mM e pH 7,8; 120 mM de L-metionina; EDTA a 1mM; NBT (azul de nitrotetrazólio) a 750µM e riboflavina a 20µM. Após a incubação, por 10 minutos à temperatura ambiente em câmara iluminada por lâmpada fluorescente de 30 W, foi realizada a leitura a 560nm, A atividade da enzima foi obtida através da capacidade de inibir a formação da cor. Uma unidade da atividade da SOD foi definida como a quantidade de enzima requerida para causar 50% da inibição na taxa de fotorredução do NBT.

A atividade da ascorbato peroxidase (APX; EC 1,11,1,1) foi determinada de acordo com Nakano e Asada (1981), utilizando-se ácido ascórbico como substrato. Na avaliação foi obtida uma mistura de reação de 200µL contendo fosfato de potássio 50mM pH 7,0, ácido ascórbico a 5mM e peróxido de hidrogênio a 1mM, e 20 µL do extrato enzimático. As misturas foram incubadas a 28°C, Foram realizadas leituras em espectrofotômetro a 290nm e a oxidação do ascorbato foi monitorada durante três minutos. Na estimativa da atividade específica foi utilizado o coeficiente de extinção molar  $2,8\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . A atividade de APX foi expressa como mmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxidado por miligrama de proteína por minuto.

A atividade da catalase (CAT; EC 1,11,1,6) foi obtida de acordo com o método descrito por Aebi (1984). Foram utilizadas misturas de reações de 200 µL contendo fosfato de potássio a 50 mM e pH 7,0, peróxido de hidrogênio a 125mM

e 20  $\mu\text{L}$  da amostra. Estas misturas foram incubadas a  $28^\circ\text{C}$ . A redução do  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi monitorada pela leitura de absorbância a 240nm por três minutos. Na estimativa da atividade específica foi utilizado o coeficiente de extinção molar de  $0,036\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . A atividade de CAT foi expressa como mmol de  $\text{H}_2\text{O}_2$  oxidado por miligrama de proteína por minuto.

#### **Análise de fenóis solúveis totais e lignina**

Tecidos vegetais caulinares foram triturados em nitrogênio líquido, em almofariz e pistilo até a obtenção de um pó fino. As amostras foram liofilizadas e uma alíquota de 30mg foi transferida para micro tubo de 2mL, homogeneizada com 1,5mL de metanol a 80% e mantida sob agitação, por 15 horas, em agitador rotativo, protegido da luz à temperatura ambiente, para a extração dos fenóis solúveis e despigmentação do tecido. Após esse período, a suspensão foi centrifugada a 12,000g por 5 minutos. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo para a determinação de fenóis solúveis e o precipitado utilizado para a determinação da lignina.

Para determinação da concentração de fenóis solúveis totais foi utilizado o método desenvolvido por Spanos e Wrolstad (1990) com algumas modificações. A suspensão foi centrifugada a 12,000g por 5 minutos e, uma alíquota de 150 $\mu\text{L}$  do sobrenadante (extrato metanólico) foi misturada a 150 $\mu\text{L}$  do reagente de Folin-Ciocalteau 0,25N, por 5 minutos. Posteriormente, a mistura foi homogeneizada com 150 $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1M, por 10 minutos e diluídas com 1 mL de água destilada, à temperatura ambiente, por uma hora. Os valores de absorbância desta reação foram determinados, a 725nm, em espectrofotômetro e calculados com base em curva de catecol. Os compostos fenólicos totais foram expressos em equivalente  $\mu\text{g}$  de catecol por miligrama de massa seca.

Para determinação dos teores de lignina foi adicionado 1,5mL de água destilada ao resíduo sólido, a solução foi homogeneizada e centrifugada a 12,000g

por 5 minutos, a 4°C e o sobrenadante foi descartado. O resíduo foi seco em estufa a 65°C, por 15 horas. Posteriormente, foi acrescentado 1,5mL de solução de ácido tioglicólico:HCl 2N (1:10). Em seguida, os microtubos foram agitados suavemente, para hidratar o resíduo e estes foram colocados em banho-maria em fervura por 4 horas. Posteriormente, os microtubos foram centrifugados, a 12,000g, por 10 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado com 1,5mL de água destilada e novamente centrifugado, à 12,000g, por 10 minutos a 4°C. A seguir, o sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspense em 1,5 mL de NaOH 0,5M e mantido em agitador rotativo, por 15 horas, à temperatura ambiente. A mistura foi centrifugada a 12,000g, por 10 minutos, a 4°C e o sobrenadante transferido para novo microtubo, ao qual foi adicionado 200 µL de HCl concentrado. A suspensão obtida foi mantida em câmara fria (4°C), por 4 horas, para permitir a precipitação da lignina ligada ao ácido tioglicólico. A seguir, a mistura foi centrifugada a 12,000g, por 10 minutos, a 4°C, o sobrenadante foi descartado e o precipitado dissolvido em 2mL de NaOH 0,5M. A absorbância desta solução foi determinada em espectrofotômetro a 280nm e os valores calculados com base na curva de lignina e expressos em µg de lignina solúvel por miligrama de massa seca (DOSTER; BOSTOCK, 1988).

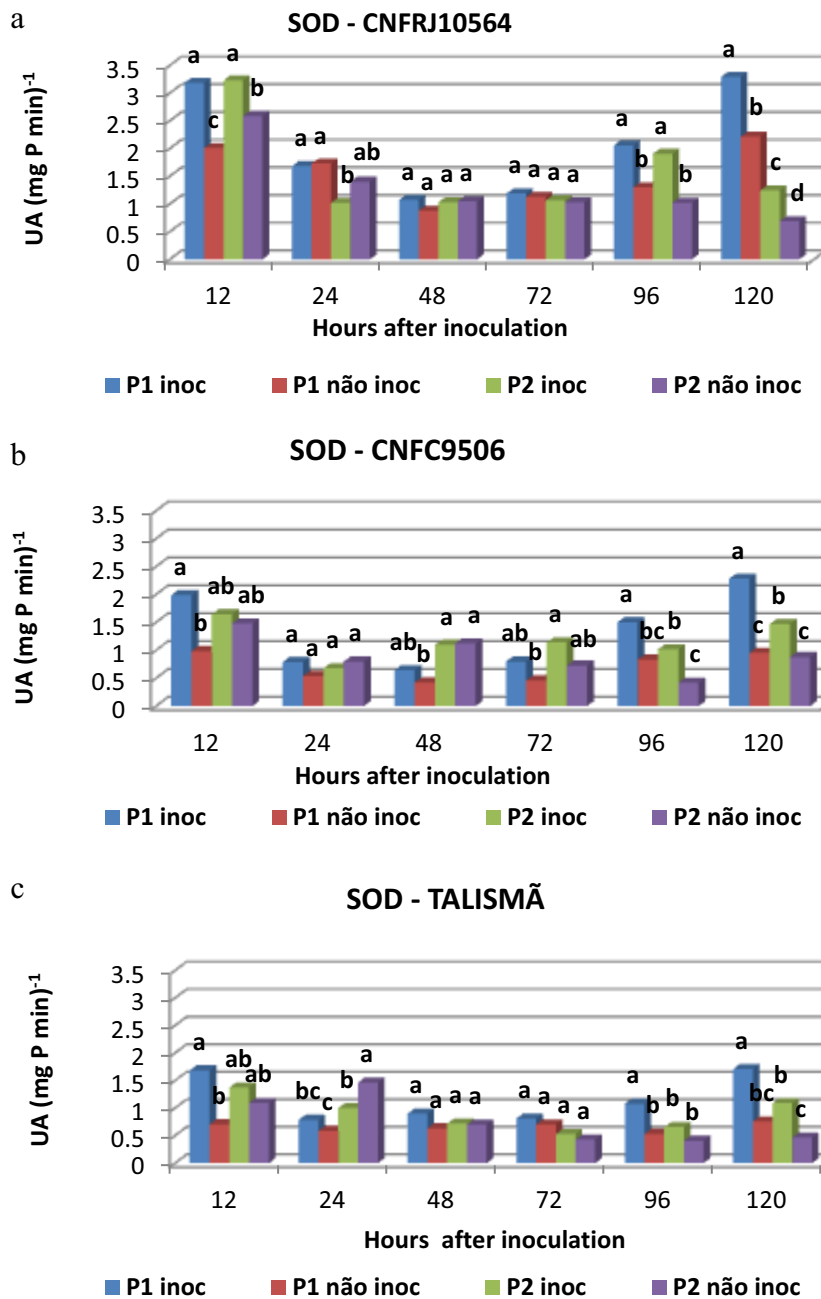
### **Delineamento experimental e análise dos dados**

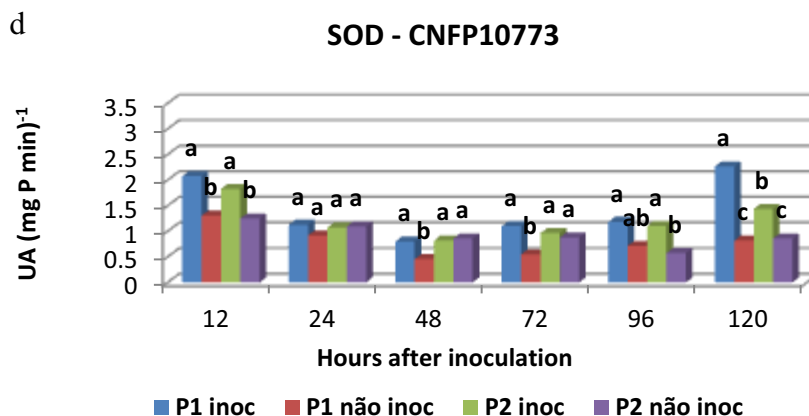
O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados com três repetições e cada vaso contendo três plantas representou uma parcela em cada época de coleta. Os dados médios por parcela foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e ao teste de médias de Duncan com 1% de probabilidade, com o auxílio do Programa SAS (STATISTICAL ANALYSIS SOFTWARE INSTITUTE, SAS SYSTEM, 2013).

## **Resultados**

### **Superóxido dismutase (SOD)**

Para a superóxido dismutase observou-se que houve diferença significativa para os efeitos de inoculação, tempo de avaliação, genótipos dentro de tempo e posição dentro de linhagens dentro de tempo, com coeficiente de determinação de  $R^2 = 0.79$  ( $P < 0,01$ ). Na maioria dos tempos avaliados, as linhagens inoculadas apresentaram maior atividade enzimática do que aquelas não inoculadas e os picos de atividade para todas as linhagens ocorreram nos mesmos tempos de avaliação, às 12 e 120 horas após a inoculação (HAI). Quanto ao efeito de posição de coleta em relação ao local de infecção, nota-se que próximo ao local de infecção (posição um), a atividade da SOD foi mais intensa na maioria dos tempos de avaliação do que no local mais distante da inoculação (posição dois). Para o efeito de genótipos, nota-se que a linhagem com maior nível de resistência nas avaliações pelos métodos do Straw test e ao ácido oxálico, a CNFRJ10565, apresentou maior atividade da superóxido dismutase do que as demais linhagens avaliadas em todos os tempos de avaliação. A atividade desta enzima nesta linhagem foi maior que a atividade da linhagem suscetível CNFP10773, nos picos de atividade em 61% às 12 HAI e 65% às 120 HAI (Figura 1).





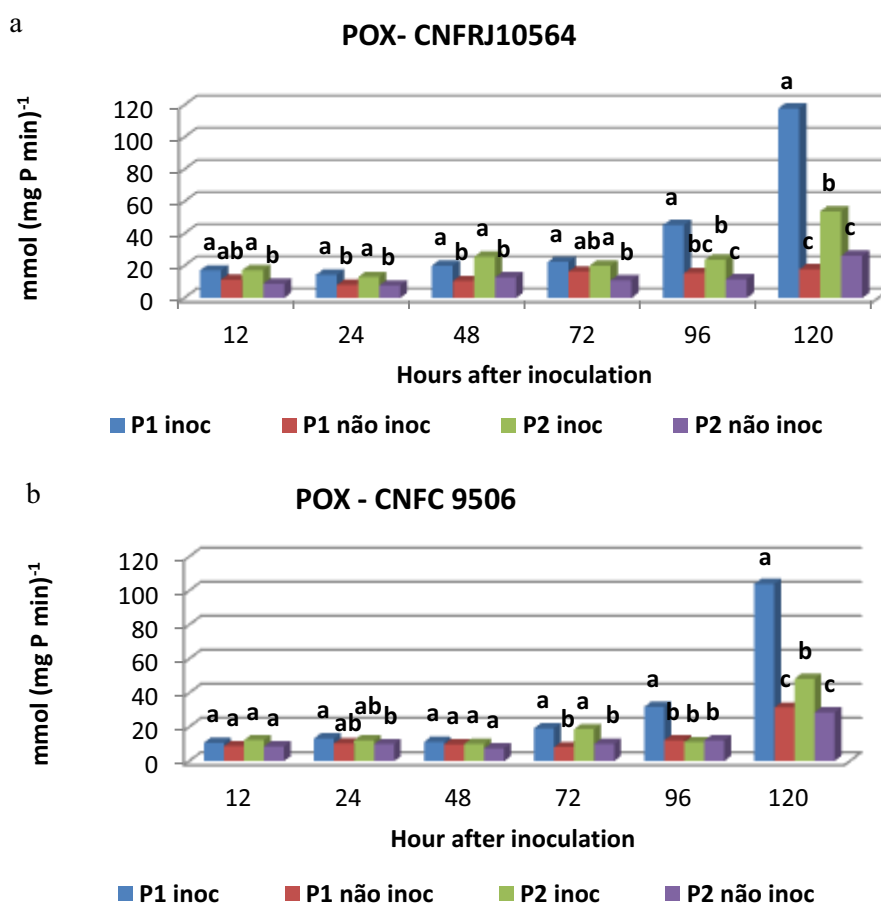
**FIGURA 1.** Atividade da superóxido dismutase (SOD) para as linhagens CNFRJ10564, CNFC9506, BRSMG - talismã e CNFP10773 (a, b, c e d) em amostras de hastes do feijoeiro às 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a inoculação com *S. sclerotiorum*. As amostras foram coletadas na posição um, cinco centímetros de haste a partir da lesão e na posição dois, próximos cinco centímetros a partir da posição um. Os valores identificados com a mesma letra na mesma época de coleta não diferem significativamente pelo teste de Duncan ( $P < 0,01$ ).

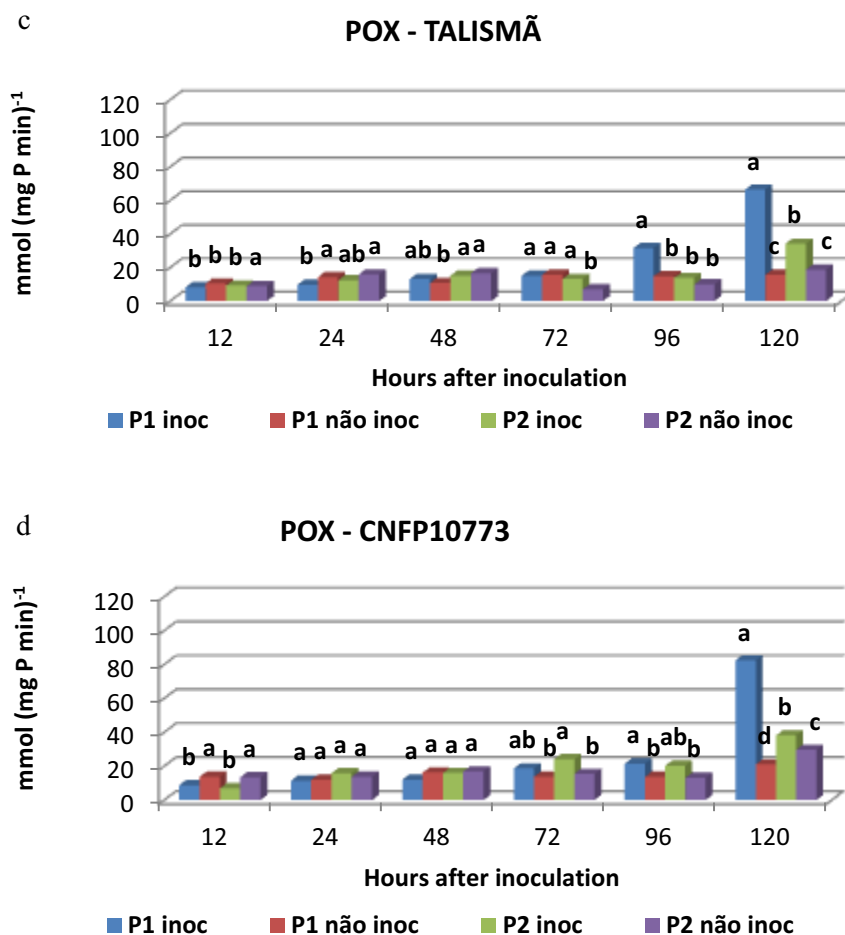
### Peroxidase (POX)

Para a guaiacol peroxidase, as análises de variância indicaram diferença significativa para os efeitos de inoculação, tempos, genótipos dentro de tempos e posição de coleta dentro de linhagens dentro de tempo com coeficiente de determinação igual a  $R^2 = 0.89$  ( $P < 0.01$ ). As quatro linhagens apresentaram comportamento semelhante, com aumento do primeiro ao último tempo avaliado. A atividade desta enzima foi mais intensa no tempo de 120 HAI, que corresponde ao pico de atividade da POX para todas as linhagens. Na posição um, a região caulinar mais próxima à inoculação, apresentou as maiores atividades da POX na maioria dos tempos avaliados para todas as linhagens em relação à posição dois. A linhagem com maior nível de resistência, CNFRJ10564, apresentou as maiores



atividades desta enzima, especialmente nos tempos em que a sua atividade foi mais intensa, às 96 e 120 HAI. A linhagem CNFC9506, com resistência parcial no método do *Straw test* também apresentou atividade da POX inferior a CNFRJ10564, mas superior às demais. Já a linhagem BRSMG - talismã, que apresenta tolerância ao ácido oxálico, apresentou atividade desta enzima inferior a da linhagem suscetível, CNFP10773

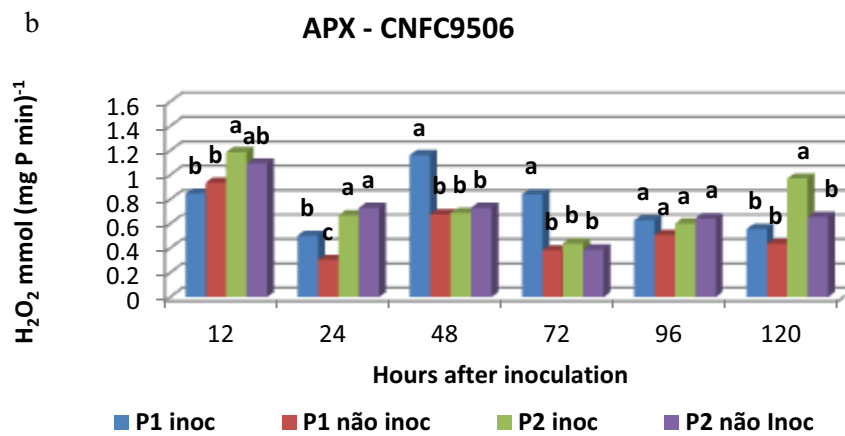
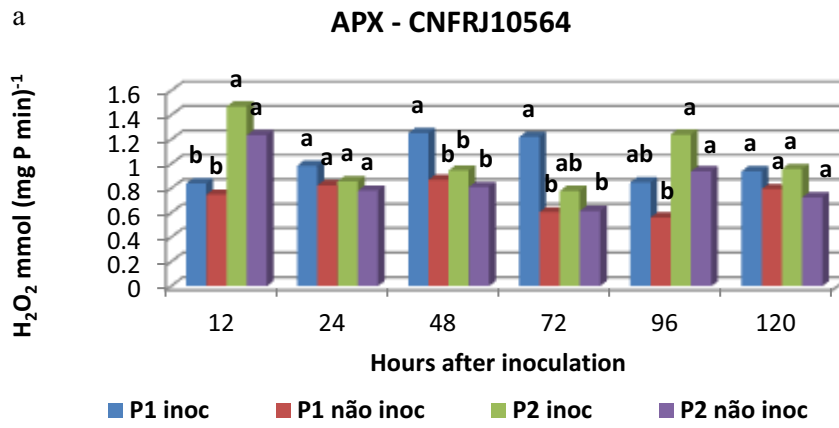


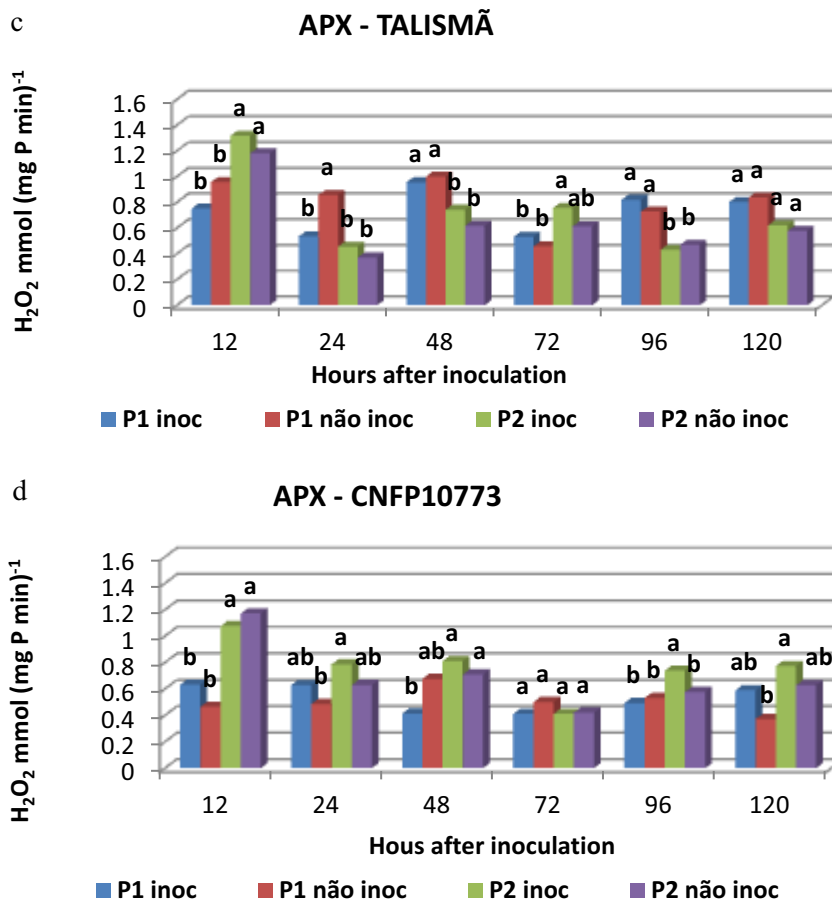


**FIGURA 2.** Atividade da guaiacol peroxidase (POX) para as linhagens CNFRJ10564, CNFC9506, BRSMG - talismã e CNFP10773 (a, b, c e d) em amostras de hastes do feijoeiro as 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a inoculação com *S. sclerotiorum*. As amostras foram coletadas na posição um, cinco centímetros de haste a partir da lesão e na posição dois, próximos cinco centímetros a partir da posição um. Os valores identificados com a mesma letra na mesma época de coleta não diferem significativamente pelo teste de Duncan ( $P < 0.01$ ).

#### Ascorbato peroxidase (APX)

Para a ascorbato peroxidase, também foi observado que houve diferença significativa para os efeitos de inoculação, tempo, linhagens dentro de tempo e posição de coleta dentro de linhagens dentro de tempo, com coeficiente de determinação de  $R^2=0.86$  ( $P<0.01$ ). Para o efeito de inoculação, nota-se que na maioria dos tempos avaliados para as linhagens CNFRJ10564 e CNFC9506 as plantas inoculadas apresentaram atividades maiores que as plantas não inoculadas, nos demais genótipos houve uma variação havendo indução em alguns tempos e não em outros. Para esta enzima, não se observa superioridade de uma posição de coleta em relação a outra como observado para SOD e POX. Para a ascorbato peroxidase em alguns tempos de coleta, a posição um apresentou maior atividade, enquanto que em outros a posição dois foi superior. Para o efeito de linhagens dentro de tempo, nota-se que a linhagem CNFRJ10564 apresentou as maiores atividades desta enzima em quase todos os tempos de coleta avaliados e nas duas posições de coleta, estando inoculada ou não. Foi observado também, para as linhagens CNFC9506 e BRSMG - talismã, que em alguns tempos de avaliação as atividades foram maiores que as atividades desta enzima na linhagem suscetível (Figura 3).

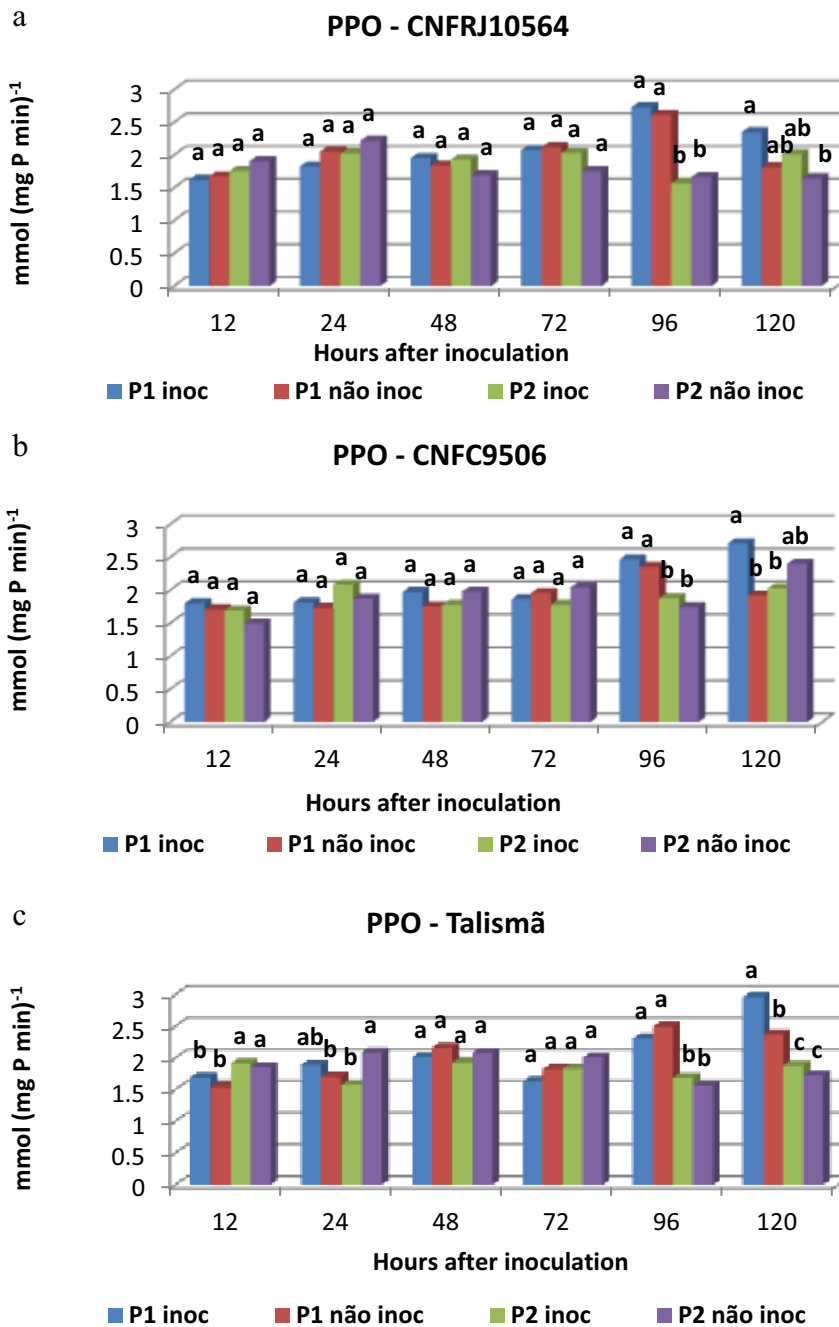


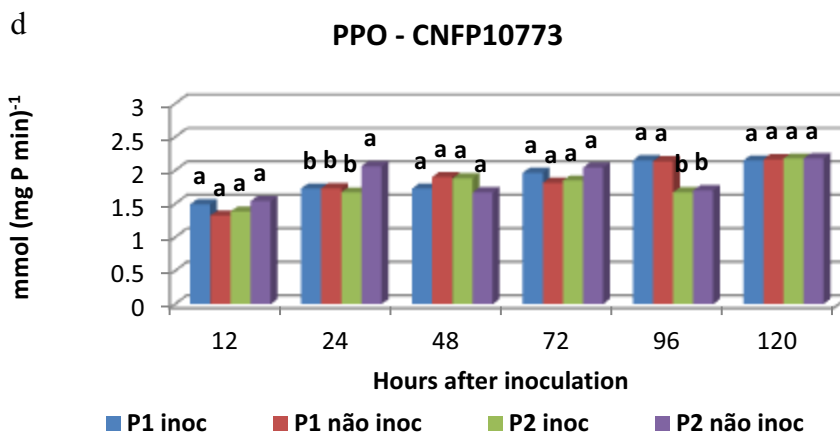


**FIGURA 3.** Atividade ascorbato peroxidase (APX) para as linhagens CNFRJ10564, CNFC9506, BRSMG - talismã e CNFP10773 (a, b, c e d) em amostras de hastes do feijoeiro as 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a inoculação com *S. sclerotiorum*. As amostras foram coletadas na posição um, cinco centímetros de haste a partir da lesão e na posição dois, próximos cinco centímetros a partir da posição um. Os valores identificados com a mesma letra na mesma época de coleta não diferem significativamente pelo teste de Duncan ( $P < 0.01$ )

### **Polifenoloxidase (PPO)**

A atividade da polifenoloxidase se manteve praticamente inalterada com relação ao efeito de inoculação em todos os genótipos avaliados. A atividade desta enzima nas plantas inoculadas foram semelhantes a de plantas não inoculadas na mesma linhagem e mesma posição. Contudo, no tempo de 120 HAI foi observado aumento significativo na sua atividade, para três das linhagens, CNFRJ10564, CNFC9506 e BRSMG - talismã. Observou-se também que o efeito de posição de coleta foi significativo apenas para alguns tempos de avaliação, especialmente às 96 e 120 HAI e, nestes casos, verificou-se que a posição mais próxima à inoculação (posição um) apresentou maior atividade desta enzima. As três linhagens com algum nível de resistência apresentaram atividades superiores à linhagem suscetível CNFP10773 (Figura 4).





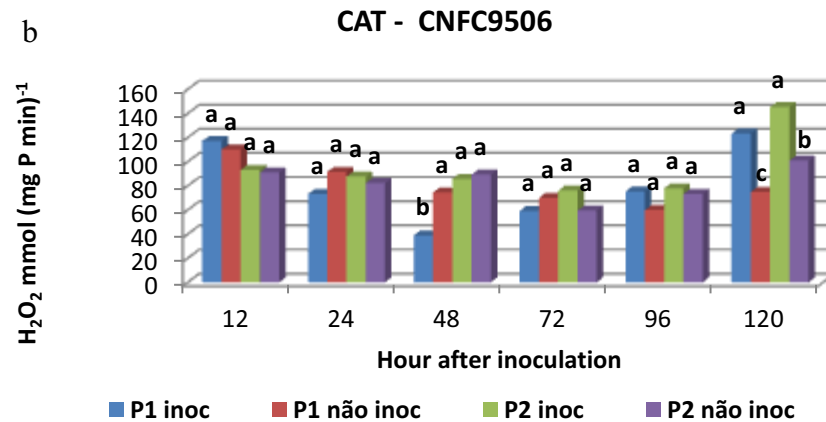
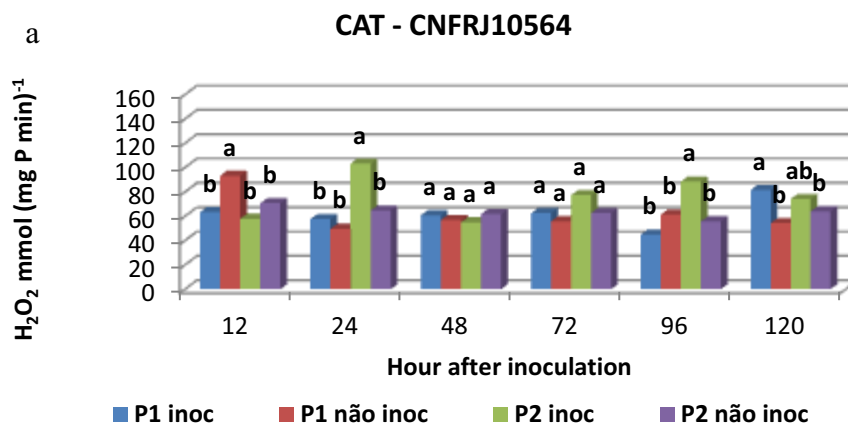
**FIGURA 4.** Atividade da polifenoloxidase (PPO) para as linhagens CNFRJ10564, CNFC9506, BRSMG - talismã e CNFP10773 (a, b, c e d) em amostras de hastes do feijoeiro as 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a inoculação com *S. sclerotiorum*. As amostras foram coletadas na posição um, cinco centímetros de haste a partir da lesão e na posição dois, próximos cinco centímetros a partir da posição um. Os valores identificados com a mesma letra na mesma época de coleta não diferem significativamente pelo teste de Duncan ( $P < 0,01$ ).

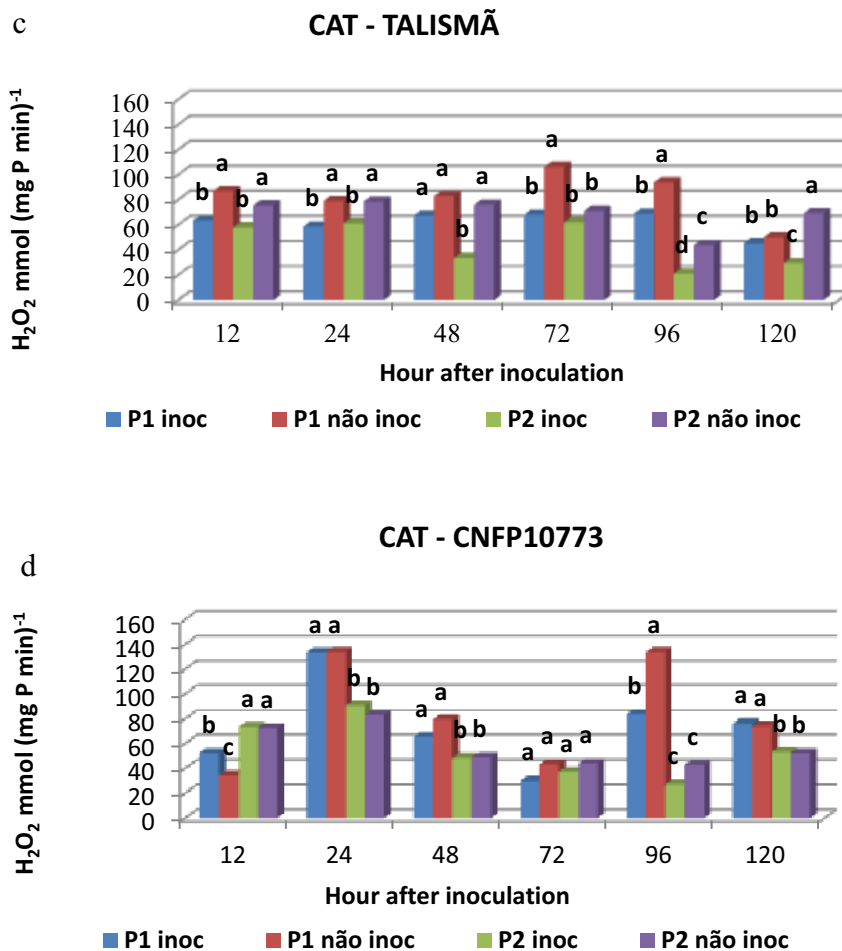
### Catalase (CAT)

A atividade da catalase também apresentou efeito significativo de linhagens dentro de tempos e posições dentro de linhagem dentro de tempo, com  $R^2 = 0.79$  ( $P < 0,01$ ). Verificou-se que esta enzima não apresentou aumento relacionado à presença do patógeno em grande parte dos tempos avaliados para as quatro linhagens. Foi observado também, que especialmente nas linhagens suscetíveis ao mofo branco em avaliações pelo método do *straw test* apresentaram atividade da catalase em planta não inoculada superior a da planta inoculada, o que indica que nestes genótipos a atividade desta enzima foi inibida pela presença do patógeno. Nas linhagens resistentes avaliadas neste método, foi observado indução na atividade desta enzima às 96 e 120 HAI. Em geral, a atividade da catalase na



linhagem CNFRJ10564 apresentou-se variável, sendo inclusive inferior à atividade na linhagem suscetível em vários tempos de avaliação (Figura 5).





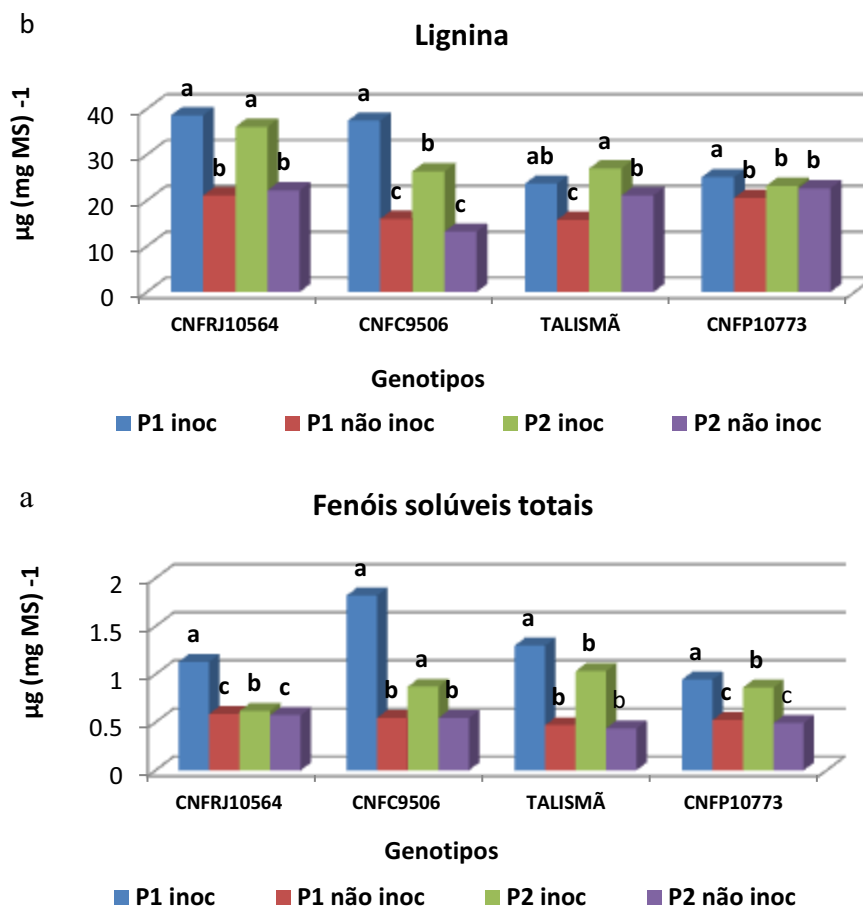
**FIGURA 5.** Atividade da catalase (CAT) para as linhagens CNFRJ10564, CNFC9506, BRSMG - talismã e CNFP10773 (a, b, c e d) em amostras de hastes do feijoeiro as 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a inoculação com *S. sclerotiorum*. As amostras foram coletadas na posição um, cinco centímetros de haste a partir da lesão e na posição dois, próximos cinco centímetros a partir da posição um. Os valores identificados com a mesma letra na mesma época de coleta não diferem significativamente pelo teste de Duncan ( $P < 0,01$ ).

### **Fenóis solúveis totais e lignina**

Para os teores de fenóis solúveis totais houve diferença significativa entre as linhagens nas duas posições de coleta avaliadas (posição um e dois) e entre plantas inoculadas e não inoculadas ( $P < 0,01$ ), sendo que as plantas inoculadas apresentaram maiores teores, tanto na posição um quanto na posição dois. As amostras coletadas na posição um apresentaram maiores teores de fenóis solúveis totais que na posição dois para as quatro linhagens.

As linhagens CNFC9506 e BRSMG - talismã apresentaram os maiores teores de fenóis solúveis e os maiores acréscimos após a inoculação, de 246% e 190% na posição um. Os teores destes compostos na linhagem CNFRJ10564 foram similares aos da linhagem suscetível CNFP10773 (Figura 6).

Para teores de lignina, foi verificada diferença significativa para os efeitos de linhagens avaliadas nas duas posições de coleta ( $P < 0,01$ ) (Figura 6). Plantas inoculadas apresentaram os maiores teores de lignina que aquelas não inoculadas. A linhagem CNFP10773 apresentou a menor produção deste composto após a inoculação e na posição um, os teores de lignina foram maiores que na posição dois. Observou-se também que a linhagem CNFRJ10564 apresentou os maiores teores de lignina nas duas posições, antes e após a inoculação, seguida pela linhagem CNFC9506, que apresenta nível intermediário de resistência em avaliações pelo método do *Straw test*.



**FIGURA 6.** Teores de lignina (a) e fenóis solúveis totais (b) extraídos de hastes de plantas de feijão às 120 horas após a inoculação com *S. sclerotiorum*. As amostras foram coletadas na posição um, cinco centímetros de haste a partir da lesão (colunas azuis) e na posição dois, próximos cinco centímetros a partir da região um (colunas vermelhas). Os valores identificados com a mesma letra na mesma linhagem não diferem significativamente pelo teste de Duncan ( $P < 0,01$ ).

## DISCUSSÃO

Os resultados deste trabalho nos permite maior conhecimento dos aspectos bioquímicos envolvidos na resistência do feijoeiro ao patógeno *S. sclerotiorum*

bem como compreender as diferenças de atividade destes compostos quando próximos e distantes a região de entrada do patógeno.

Entre os mecanismos de defesa das plantas contra patógenos, as enzimas SOD, CAT, APX, POX e PPO e os compostos fenólicos solúveis e a lignina têm recebido destaque em vários estudos (LANUBILE et al., 2012, QI et al., 2004, MALENCIC et al., 2010, POLANCO et al., 2012) pois estes compostos podem atuar minimizando os danos causados pelo patógeno, ou ainda restringindo o avanço do mesmo (STINTZI et al., 1993). Estes compostos podem atuar de forma diferente em diferentes patossistemas e, neste trabalho, observou-se que para a produção de enzimas como a POX e SOD e para os fenóis solúveis e lignina há um efeito claro de posição na planta em relação ao patógeno. A produção destes foi mais intensa nos tecidos próximos ao local de inoculação com *S. sclerotiorum*, induzida pelo reconhecimento das plantas, visando evitar que o patógeno avance principalmente nos genótipos mais resistentes. Em seguida, por meio da transmissão de sinais bioquímicos, outras partes da planta são induzidas a produzir essas substâncias de defesa (CARVALHO, 2012). Alguns autores destacam a POX como parte geral da ativação do metabolismo da planta e sua atividade representa estímulo do metabolismo das células vizinhas, estabelecendo um sistema de defesa em direção ao ferimento (SOUZA et al., 2001).

As SODs representam a primeira linha de defesa contra espécies reativas, sendo estas enzimas responsáveis pela remoção do ânion superóxido das células convertendo-o em  $H_2O_2$  e  $O_2$ . A indução da atividade da SOD pela presença do *S. sclerotiorum* têm sido observada por vários autores (MALENCIC et al. 2010, MALENCIC et al. 2004, FENG et al. 2005, XIONG et al., 1998) assim como neste trabalho. Feng et al. (1998, 2013), Xiong et al.(1998) e Rietz et al. (2012) trabalhando com *Brassica napus* observaram que a atividade da SOD foi maior em cultivar resistente à *S. sclerotiorum* que em linhagens suscetíveis, assim como observado neste trabalho. Observou-se também maior nível desta enzima antes da

inoculação, o que indica que tal enzima pode participar da resistência basal da cultivar contra o patógeno, assim como observado por Lanubile et al. (2012), trabalhando com cultivar de milho resistente e suscetível a *Fusarium*. Contudo, Malencic et al. (2010) trabalhando com mofo branco em soja observaram que linhagens com alta produção de ROS também apresentaram alta atividade da SOD, entretanto, mesmo com a atividade desta enzima não foi suficiente para prevenir o dano oxidativo.

As POXs são enzimas envolvidas em vários processos metabólicos, elas estão envolvidas no metabolismo de auxinas, formação de compostos que funcionam como barreiras contra patógenos, como a lignina e suberina que reforçam a parede celular, participam na ligação cruzada de componentes da parede celular, síntese de fitoalexinas que são tóxicas para certos patógenos e participam do metabolismo das ROS, utilizando o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como substrato (ALMAGRO et al., 2009). Mudanças na atividade das peroxidases têm sido frequentemente correlacionadas à resposta de resistência ou suscetibilidade em diferentes patossistemas (YANG et al., 2007; LANUBILE et al., 2012). Na maioria dos casos o aumento na atividade está diretamente relacionado à redução da severidade da doença.

A linhagem com maior nível de resistência, CNFRJ10564, destacou-se com as maiores atividades da POX, o que é indício da participação desta enzima na resistência deste genótipo. Vários trabalhos têm comprovado a efetividade desta enzima na resistência ao mofo branco em outras espécies de plantas. Yang et al. (2007), em seu estudo com *Brassica napus*, mostraram um aumento na expressão da POX quando as plantas foram infectadas com o fungo *S. sclerotiorum*. O trabalho de Rodrigues et al. (2007), também mostrou que o aumento da POX em alface, induzida pelo tratamento com um indutor de resistência biótico, está relacionado à redução da intensidade do mofo branco. Fan et al. (2013), trabalhando com transformação de plantas para o gene (LTP) que codifica

proteínas de transferência de lipídios com atividade antibacteriana e antifúngica em canola, notaram que plantas transgênicas apresentavam maior resistência ao ácido oxálico e os autores atribuíram esta resistência ao aumento nos conteúdos de POX e SOD. Zhao et al. (1998) e Xiong et al., (1998) verificaram maiores atividades de POX e SOD em cultivares de canola resistentes a *S. sclerotiorum* do que em suscetíveis.

Neste trabalho, apesar de as linhagens com maior resistência em avaliações pelo método do *Straw test* apresentarem maior atividade da POX, a cultivar BRSMG - talismã que apresenta maior tolerância ao ácido oxálico, apresentou níveis desta enzima semelhante à linhagem suscetível. Deve-se considerar que utilizamos o método direto de inoculação *straw test* e esta linhagem foi suscetível neste método, tendo apresentado lesão semelhante ao da linhagem suscetível, de forma que a atividade da POX foi baixa, sendo insuficiente para reduzir o estresse oxidativo.

APX é considerada uma das peroxidases mais importantes na detoxificação do peróxido de hidrogênio, ela cataliza a redução do  $H_2O_2$  por meio do poder redutor do ascorbato, o que a torna alvo de vários estudos de resistência a estresse abiótico e biótico (ASADA, 1992, SHIGEOKA et al., 2002). Neste trabalho, verificou-se que esta enzima também foi induzida pela presença do patógeno e que maiores atividades em linhagens com maior nível de resistência ao mofo branco ocorreram desde o início da infecção. Isto indica uma atuação mais precoce e mais constante desta enzima, o que nos permite dizer que a APX pode ter contribuído na resistência ao mofo branco, reduzindo os efeitos danosos deste patógeno nestes genótipos. A APX também têm sido relacionada à resistência de plantas a diferentes patógenos. Yang et al. (2007), em seu estudo com *Brassica napus* observaram que a expressão do gene da APX foi aumentada após a infecção com o fungo *S. sclerotiorum* e Lanubile et al. (2012), trabalhando com genótipos de milho com níveis contrastantes de resistência a *F. verticillioides* mostraram que o

genótipo resistente apresentou maiores atividades da APX que a suscetível, podendo esta enzima estar relacionada à prevenção da formação OH<sup>-</sup> e efeitos tóxicos da super acumulação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Assim como a APX e a POX, a CAT também apresenta como função a detoxicação da célula, convertendo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em H<sub>2</sub>O e O<sub>2</sub> e também, tem sido relacionada à resistência a doenças em plantas (EL-AWADY et al., 2008, LANUBILE et al., 2012). Segundo El-Awady et al. (2008) plantas de canola transgênicas para superexpressão do gene de uma CAT são mais resistentes à infecção aos patógenos biotróficos *Peronospora parasitica* e *Erysiphe polygoni* do que plantas da linhagem selvagem. Já no trabalho de Lanubile et al. (2012) com cultivares resistente e suscetível a *Fusarium* em milho, observaram que a atividade da catalase foi superior na cultivar suscetível antes e após a inoculação. Neste trabalho, foi observado que o patógeno inibiu a atividade da CAT especialmente nas linhagens suscetíveis em avaliações pelo método do *straw test* e que os genótipos resistentes apresentaram certa indução. Contudo, a atividade desta enzima nos genótipos avaliados foi variável, sendo que a atividade da CAT na linhagem com maior nível de resistência ao patógeno foi inferior à suscetível em alguns momentos. Estes resultados não nos permite afirmar que tal enzima apresenta participação efetiva na resistência a este patógeno e devemos considerar que a menor eficiência desta enzima pode estar relacionada a maior eficiência de outras enzimas no processo como a APX e POX que realizam função semelhante.

A enzima PPO está envolvida na oxidação de polifenóis em quinonas, compostos antimicrobianos mais tóxicos que o próprio fenol, na lignificação de células vegetais durante a invasão microbiana e ainda participa de forma direta das respostas de defesa e hipersensibilidade por induzir a resistência da planta contra fungos (MAYER, 2006). Neste trabalho observamos um comportamento bem semelhante das quatro linhagens avaliadas sem grandes destaques em nenhuma das linhagens, apenas uma pequena indução pelo patógeno no último tempo de



avaliação. Qi et al. (2004), observaram maior número de picos de atividade em cultivares resistente a *S. sclerotiorum* em canola não só da PPO, como também da SOD, POX, e fenilalanina amônia-liase (PAL). Feng et al. (1998) relataram que a resistência a este mesmo patógeno está relacionada a atividade da SOD e POX em plantas mais novas e a SOD, PPO e PAL em plantas mais velhas. Em feijoeiro também foi observado grande incremento da PPO e da POX em cultivares resistentes à antracnose, três dias após a infecção com o fungo *C. lindemuthianum*. Desta forma, esses autores relacionaram estas enzimas à resposta sistêmica da planta a infecção pelo patógeno.

Compostos fenólicos são conhecidos como substâncias fungitóxicas, antibacterianas e antiviróticas (LO; NICHOLSON, 2008). Alguns trabalhos comprovaram a eficiência destes compostos na defesa das plantas contra patógenos. De acordo com Lopes (1993), o sorgo produz fitoalexinas, um composto fenólico, que inibem o crescimento de fungos fitopatogênicos. Abdel-Fattah et al. (2011), relataram que os compostos fenólicos podem estar envolvidos na resistência do feijoeiro ao fungo *Rhizoctonia*. Contudo, os resultados deste trabalho indicam que o patógeno induziu a produção de fenóis solúveis totais, mas não se pôde observar relação com os níveis de resistência dos genótipos estudados, já que a linhagem com maior nível de resistência apresentou menores teores de compostos fenólicos. Considerando que os compostos fenólicos são substratos para a síntese de lignina pela ação da POX e de outras enzimas e que a atividade da POX e os teores de lignina foram mais elevados na linhagem resistente, boa parte dos compostos fenólicos produzidos podem ter sido utilizados para a produção de lignina que pode ser mais eficiente na defesa contra o *S. sclerotiorum*. No trabalho de Polanco et al. (2012), a rota de compostos fenólicos totais também não pareceu estar ligada a resistência de plantas de feijão à antracnose, e segundo os autores, isto pode ter ocorrido devido ao aumento da produção de precursores de lignina,

lignina polimerizada e produtos finais da rota de fenilpropanoides que podem ser mais importantes na resistência contra *C. lindemuthianum*.

Em leguminosas uma maior proporção de lignina pode significar maior capacidade de defesa contra patógenos, uma vez que a lignina confinada no xilema e tecidos traqueais confere maior rigidez e resistência a estes tecidos, funcionando como uma barreira à penetração mecânica e ainda restringe a difusão de água e nutrientes do hospedeiro para o agente agressor (STANGARLIN et al., 2011). A relação entre lignificação e resistência a doenças tem sido demonstrada em uma série de experimentos. Segundo Nicholson e Hammerschmidt (1992) e Walter (1992), plantas mais resistentes possuem maior deposição de lignina e/ou acumulam lignina mais rapidamente quando comparadas com plantas suscetíveis. Rodrigues et al. (2005), observaram uma forte indução dos transcritos da POX após infecção com *Magnaporthe grisea*, que correspondeu a um aumento na concentração dos derivados de lignina. Neste sentido, Polanco et al. (2012) estudando a indução de resistência para *C. lindemuthianum*, agente causal da antracnose no feijoeiro, mostraram um aumento na concentração da lignina em plantas crescidas com solução nutriente contendo silício, sugerindo que o aumento da lignina pode ter auxiliado no aumento da resistência.

Deve-se salientar que os quatro genótipos avaliados, embora bem caracterizados quanto a diferenças de suscetibilidade ao mofo branco, são apenas uma pequena amostra do feijoeiro cultivado. Desta forma, os compostos de defesa que foram determinantes para a linhagem resistente necessitam ser estudados em um número maior de genótipos para que se possa fazer uma correlação entre resistência e compostos de defesa. Apesar disso, a possibilidade de seleção de genótipos resistentes por meio de descritores bioquímicos abre perspectiva para auxiliar nos processos de seleção em programas de melhoramento, que tem sido baseado basicamente em descritores fenotípicos e marcadores de DNA.

## CONCLUSÕES

Este estudo demonstrou que houve maior indução na produção de compostos de defesa pela presença do patógeno em cultivares de feijoeiro mais resistentes do que em suscetível. A atividade das enzimas SOD e POX e os teores de lignina e fenóis solúveis são mais intensos quanto mais próximos à região de entrada do patógeno e ainda, que a maior resistência da cultivar CNFRJ10564 pode estar relacionada a maiores atividades das enzimas SOD, POX e APX e também aos maiores teores de lignina. Desta forma nota-se que estes compostos são potenciais para serem utilizados como descritores bioquímicos de resistência ao mofo branco em feijoeiro.

## REFERÊNCIAS

- Abdel-Fattah, G. M., El-Haddad, S. A., Hafez, E. E., & Rashad, Y. M. (2011) Induction of defense responses in common bean plants by arbuscular mycorrhizal fungi. *Microbiological Research*, 166(4), 268–281.
- Abreu, A. F.B., Ramalho, M.A.P., Carneiro, J.E.S., Goncalves, F.M.A., Santos, J.B., Peloso, M.J., Faria, L.C. De, Carneiro, G.E.S., & Pereira Filho, I.A. (2004) ‘BRSMG Talismã’: common bean cultivar with Carioca grain type. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 4, 372-374.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105,121 –126.
- Agrios, G. N.(2005) *Plant Pathology*. 5. ed. New York: Academic Press.
- Almagro, L, Ros, L. V. G., Belchi-Navarro, S., Bru, R., Barcelo´, A. R., & Pedreño, M. A. (2009) Class III peroxidases in plant defence reactions. *Journal of Experimental Botany*, 60(2), 377–390.
- Antonio, R.P., Santos, J.B. Dos. Souza, T.P., & Carneiro, F.F. (2008) Genetic control of the resistance of common beans to white mold using the reaction to oxalic acid. *Genetics and Molecular Research*, 7(3), 733-740.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(2), 248-254.
- Buzi, A., Chilosi, G., De Sillo, D., & Magro, P. (2004) Induction of resistance in melon to *Didymella bryoniae* and *Sclerotinia sclerotiorum* by seed treatments with acibenzolar-S-methyl and methyl jasmonate but not with salicylic acid. *Journal of Phytopathology*, 152, 34-42.

Carneiro, F.F.C., Santos, J.B. Dos, Leite, M.E., Carvalho, R.S.B. & Lima, A.I. (2011) Assessment of the aggressiveness of isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* and of the Resistance of common beans. Annual Report of the Bean improvement cooperative. 54, 132-133.

Carvalho, N. L. (2012) Resistência genética induzida em plantas cultivadas. Rev, Elet, em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental. 7(7), 1379-1390,

Davar R., Darvishzadeh R. & Majd A (2013) Changes in antioxidant systems in sunflower partial resistant and susceptible lines as affected by *Sclerotinia sclerotiorum*. Biologia, 68(5), 821-829.

Doster, M. A., & Bostock, R. M. (1988) Quantification of lignin formation in almond bark in response to wounding and infection by *Phytophthora* species. Phytopathology, 78(4), 473-477.

El-Awady, M., Moghaieb, R.E.A., Haggag, W., Youssef, S.S., & El-Sharkawy, E.M. (2008) transgenic canola plants over-expressing bacterial catalase exhibit enhanced resistance to *Peronospora parasitica* and *Erysiphe polygoni*. Arab Journal of biotechnology, 11(1), 71-84.

Ender, M., & Kelly, J.D. (2005) Identification of QTL associated with white mold resistance in common bean. Crop Science, 45(6), 2482-2489.

Fan, Y, Du, K., Gao, Y, Kong, Y., Chu, C., Sokolovc, V., & Wang, Y. (2013) Transformation of LTP Gene into Brassica napus to Enhance Its Resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. Russian Journal of Genetics, 49(4), 380-387.

Feng, S.Q., Zhang, Y., Xu, J.W., et al. (2005) Activities of Some Defense Enzymes in Brassica napus L. and Their Relations with Resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. Journal of Huazhong Agricultural University, 24, 231-235.

- Gaillard, F., Richard-Forget, F., & Nicolas, J. (1993) New spectrophotometric assay for polyphenol oxidase activity. *Analytical Biochemistry*, 215(1), 59-65.
- Giannopolitis, C.N., & Ries S.K. (1977) Superoxide dismutases occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59, 309-314.
- Gonçalves P.R.C. & Santos J.B. (2010) Physiological resistance of common bean cultivars and Lines to white mold based on oxalic acid reaction. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative*, 53, 236-237.
- Jain A, Singh A, Singh S., & Singh H.B. (2013) Microbial Consortium-Induced Changes in Oxidative Stress Markers in Pea Plants Challenged with *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32 (2), 388-398.
- Lanubile, A., Bernardi, J., Marocco, A., Logrieco, A., & Paciolla, C. (2012) Differential activation of defense genes and enzymes in maize genotypes with contrasting levels of resistance to *Fusarium verticillioides*. *Environmental and Experimental Botany*, 78, 39-46.
- Lo, C.S.C., & Nicholson, R.L. (2008) Phenolic compounds and their importance in plant disease, In: Leite, B., Pascholati, S.F., Stangarlin, J.R., & Cia, P., *Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology of Plant-Pathogen Interactions* (pp.285-303). FEALQ: Sao Paulo.
- Lobo Jr., M., & Nasser, L.C.B. (2007) Mofo branco pode limitar o agronegócio da soja, feijão e girassol em áreas infestadas. *Informativo Agromen*, 20(4), 6-8.
- Lopes, A. M. Q. (1993) Fitoalexinas em sorgo- papel na interação com fungos fitopatogênicos. *Summa Phytopathologica*, São Paulo, 19(1), 59-61.
- Malencic, D.J., Vasic, D., Popovic, M., & Devic, D. (2004) Antioxidant systems in sunflower as affected by oxalic acid. *Biologia Plantarum*, 48, 243- 247.
- Malencic, D.J., Kiprovaki, B., Popovic, M., Prvulovi, D., Miladinovic, J., & Djordjevi, V.(2010) Changes in antioxidant systems in soybean as affected by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 903-908.

Mayer, A.M.(2006) Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? A review. *Phytochemistry*, 6,72318-2331.

Miklas, P.N., Grafton, K.F., Hauf, D.C., & Kelly, J.D. (2006) Registration of partial white mold resistant pinto bean germplasm line USPT-WM-1. *Crop Science*, 46(5), 2339-2344.

Miklas, P. N., Porter, L.D., Kelly J. D., & Myers J. R.(2013) Characterization of white mold disease avoidance in common bean. *European Journal of Plant Pathology*. 135,525-543.

Nakano, Y., & Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*, 22, 867-880.

Nicholson, R.L., & Hammerschmidt, R.(1992) Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 30, 369-389.

Oliveira, S.H.F. (2005) Manejo do mofo branco. *Revista DBO Agrotecnologia*, <http://www.revistadbo.com.br/agrotecnologia>. Acesso in: 10 april, 2013.

Petzoldt, R., & Dickson, M. H.(1996) *Straw test* for resistance to white mold in beans. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative*, 39(39), 142-143.

Polanco L.R., Rodrigues F.A., Nascimento K.J.T., Shulman P., Silva L.C., Neves F.W., & Vale, F.X.R. (2012) Biochemical aspects of bean resistance to anthracnose mediated by silicon. *Annals of Applied Biology*, 161, 140-150.

Qi, S.W., Guan, C.Y., & Liu, C. L. (2004) Relationship between Some Enzyme Activity and Resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* of Rapeseed Cultivars. *Acta Agronomica Sinica*.30(03),270-273.

Rietz, S., Bernsdorff, F.E.M., & Cai, D. (2012) Members of the germin-like protein family in *Brassica napus* are candidates for the initiation of an oxidative burst that impedes pathogenesis of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Experimental Botany*, 63(15), 5507–5519.

Riou, C., Freyssinet, G., & Fèvre, M. (1992) Purification and characterization of extracellular pectinolytic enzymes produced by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Applied Environmental Microbiology*, 58, 578- 583.

Rodrigues, F.A., Jurick, W.M., Datnoff L.E., Jones J.B., & Rollins J.A.(2005) Silicon influences cytological and molecular events in compatible rice–*Magnaporthe grisea* interactions. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 66, 144–159.

Rodrigues, E., Schwan-Estrada, K.R.F., Fiori-Tutida, A.C.G., Stangarlin, J.R & Cruz, M.E.S. (2007) Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de alface em sistema de cultivo orgânico contra *Sclerotinia sclerotiorum* pelo extrato de gengibre. *Summa Phytopathologica*, 33(2), 124-128.

Saharan, G.S., & Mehta N.(2008) *Sclerotinia* Diseases of Crop Plants: Biology, Ecology and Disease Management. LXII. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg.

Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y., & Yoshimura, K. (2002) Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal of Experimental Botany*. 53, 1305–1319.

Singh, P.S., & Terán, H. (2008) Evolution of screening methods for detection of physiological resistance to white mold in common bean. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative*. 51, 40-41.

Singh, S. P., Terán, H., Schwartz, H. F., Otto, K. & Lema, M.(2009). Introgressing white mold resistance from *Phaseolus* species of the secondary gene pool into common bean. *Crop Science*, 49, 1629-1637.

Soule, M., Porter, L., Medina, J., Santana, G. P., Blair, M. W., & Miklas, P. N. (2011) Comparative QTL map for white mold resistance in common bean, and characterization of partial resistance in dry bean lines VA19 and I9365-3. *Crop Science*, 51, 123 –139.



Souza, M.V., Torres, F.A.G., Ricart, C.A., Fontes, W. & Santos, M.A.(2001) Gestão da vida: genoma e pós-genoma, Brasília:UnB.

Spanos, G. A., & Wrolstad, R. E. (1990) Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 38(7), 1565-1571.

Stangarlin, J.R., Kuhn, O. J., Toledo, M. V., Portz, R. L., Schwan-Estrada, K. R. F., & Pascholati, S. F. (2011) A defesa vegetal contra fitopatógenos. *Scientia Agraria Paranaensis*, 10(1), 18-46.

Statistical Analysis Software Institute (2013). *Sas system, Software*.

Stintzi, A. Heitz, T., Prasad, V., Wiedemann-Merdinoglu, S., Kauffmann, S., Geoffroy, P., Legrand, M., Fritig, B.(1993) Plant ‘pathogenesis-related’ proteins and their role in defense against pathogens. *Biochimie*, 75(8), 687-706.

Urbanek, H., Kuzniak-Gebarowska & E., Herka, H. (1991) Elicitation of defence responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polygalacturonase. *Acta Physiologiae Plantarum*, Varsóvia, 13(1), 43–50.

Vieira, R. F., Paula Júnior, T.J., Peres, A. P., Machado, J. C.(2001) Fungicidas aplicados via água de irrigação no controle do mofo-branco no feijoeiro e incidência do patógeno na semente. *Fitopatologia Brasileira*, 26(4), 770-773.

Walter, M. H. (1992) Regulation of lignification in defense. In Boller, T.& Meins, F. eds, *Plant Gene Research: Genes Involved in Plant Defense*. (pp 327-352), Springer-Verlag.

Xiong, Q.F., Liu, S.Y., & Li, H.S., (1998) The Response of Some Enzyme Activities to Oxalic Acid Treatment in Resistant and Susceptible *Sclerotinia sclerotiorum* Rapeseed Varieties (*Brassica napus*). *Journal of Huazhong Agricultural University*, 17, 10–13.

Yang, B., Srivastava, S., Deyholos, M. K., & Kav, N. N. V. (2007) Transcriptional profiling of canola (*Brassica napus* L.) responses to the fungal pathogen *Sclerotinia Sclerotiorum*. *Plant Science*, 173, 156–171.

Zhao, J.W., Xiao, L., He, F.X., et al. (1998) Relationship between Some Enzyme Activity and Resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* of New Strain Selected by Intergeneric Hybridization in *Brassica napus*. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 1998, 20, 38–41.

## ANEXOS

Tabela 1A. Resumo das análises de variância para o caráter nota de severidade do mofo branco e tipo de grãos das progênies das gerações  $S_{0:1}$ ,  $S_{0:2}$  e  $S_{0:3}$  dos ciclos CIII, CIV, CV e CVI de seleção recorrente.

Ciclo	Geração	Resistência média				Tipo de grãos			
		Progênies		Erro		Progênie		Erro	
		GL	QM	GL	QM	GL	QM	GL	QM
CIII	$S_{0:1}$	118	0,758**	100	0,315	118	0,753**	93	0,159
	$S_{0:2}$	46	0,737**	78	0,178	46	0,177**	78	0,046
	$S_{0:3}$	22	0,218*	36	0,0928	22	0,085*	36	0,037
CIV	$S_{0:1}$	193	0,726**	167	0,287	193	0,301**	162	0,094
	$S_{0:2}$	97	0,370**	171	0,087	97	0,315**	171	0,110
	$S_{0:3}$	46	0,532**	78	0,189	46	0,225**	76	0,091
CV	$S_{0:1}$	222	0,277**	196	0,155	222	0,356**	194	0,076
	$S_{0:2}$	97	0,363**	171	0,138	97	0,165**	171	0,074
	$S_{0:3}$	46	0,618**	77	0,054	46	0,192**	78	0,078
CVI	$S_{0:1}$	222	0,474**	195	0,182	222	0,408**	185	0,105
	$S_{0:2}$	78	0,587**	131	0,116	78	0,176*	125	0,113
	$S_{0:3}$	46	0,501*	78	0,326	46	0,095 <sup>NS</sup>	76	0,073

\*, \*\*, <sup>NS</sup>: significativo a 5% e a 1% de probabilidade; <sup>NS</sup> não significativo, respectivamente, pelo teste F.

Tabela 2A. Resumo das análises de variância para o caráter porte nas gerações S<sub>0:1</sub> e S<sub>0:2</sub> dos ciclos CIII, CIV, CV e CVI de seleção recorrente em Lavras e S<sub>0:3</sub> em Lavras e/ou Lambari e para produção de grãos na geração S<sub>0:3</sub> em Lavras e / ou Lambari.

Ciclo	Geração	Porte				Produção			
		Progênie		Erro		Progênie		Erro	
		GL	QM	GL	QM	GL	QM	GL	QM
CIII	S <sub>0:1</sub>	118	1,281**	100	0,781	-	-	-	-
	S <sub>0:2</sub>	46	0,637 <sup>NS</sup>	78	0,594	-	-	-	-
	S <sub>0:3</sub> (Lavras)	22	0,759*	36	0,364	22	32643**	36	11286
CIV	S <sub>0:1</sub>	196	0,804*	169	0,609	-	-	-	-
	S <sub>0:2</sub>	97	1,079**	171	0,689	-	-	-	-
	S <sub>0:3</sub> (Lavras)	46	0,437 <sup>NS</sup>	78	0,349	46	11726 <sup>NS</sup>	76	8021
	S <sub>0:3</sub> (Lambari)	46	1,112**	78	0,379	46	14752**	77	5860
CV	S <sub>0:1</sub>	222	0,981**	196	0,657	-	-	-	-
	S <sub>0:2</sub>	97	0,518**	171	0,271	-	-	-	-
	S <sub>0:3</sub> (Lavras)	46	1,221**	78	0,579	46	44662**	78	20895
	S <sub>0:3</sub> (Lambari)	-	-	-	-	46	23492**	78	8234
CVI	S <sub>0:1</sub>	222	0,569**	195	0,396	-	-	-	-
	S <sub>0:2</sub>	78	1,493**	131	0,671	-	-	-	-
	S <sub>0:3</sub> (Lavras)	46	0,590*	78	0,348	-	-	-	-
	S <sub>0:3</sub> (Lambari)	-	-	-	-	46	22234**	77	7345,554

\*, \*\*, <sup>NS</sup>: significativo a 5% e a 1% de probabilidade; <sup>NS</sup> não significativo, respectivamente, pelo teste F.

Tabela 3A. Análise conjunta nos locais Lavras e Lambari, para o caráter porte e produtividade de grãos na geração S<sub>0,3</sub>, com as média das progênes, variância genética ( $\sigma^2_G$ ) variância da interação progênes x locais ( $\sigma^2_{G \times L}$ ), os valores da acurácia seletiva, e herdabilidade ( $h^2$ ).

FV	PORTE				PRODUTIVIDADE			
	CIV		CV		CIV		CV	
	GL	QM	GL	QM	GL	QM	GL	QM
Local	1	1,583*	1	1,228 <sup>NS</sup>	1	6798 <sup>NS</sup>	1	339184**
Rep(local)	4	2,082**	4	6,830**	4	8832 <sup>NS</sup>	4	53935**
Bloco(local*Rep)	36	0,440 <sup>NS</sup>	36	0,501 <sup>NS</sup>	36	16490**	36	18224 <sup>NS</sup>
Prog	48	1,151**	48	2,104**	48	18488**	48	61883**
testemunha vs prog	1	0,056 <sup>NS</sup>	1	0,251 <sup>NS</sup>	1	13829 <sup>NS</sup>	1	541308**
TC	1	0,103 <sup>NS</sup>	1	0,405 <sup>NS</sup>	1	1175 <sup>NS</sup>	1	13595 <sup>NS</sup>
TR	46	1,197**	46	2,182**	46	18805**	46	52511**
local*Prog	48	0,320 <sup>NS</sup>	48	0,414 <sup>NS</sup>	48	8579 <sup>NS</sup>	48	15496 <sup>NS</sup>
Error	152	0,317	156	0,474	139	6839	156	14565
Média		6,89		6,10		406		435
$h^2$		72,5		77,5		63,28		76,46
$\sigma^2_G$		0,42		0,54		388		15772
$\sigma^2_{G \times L}$		0,0011		-0,02		579		310
Acurácia		84,95		89,61		73,20		86,57
CV		8,170		11,29		20,35		27,75

Tabela 4A. Análises de variância para o caráter nota de severidade do mofo branco das progênies selecionadas dos ciclos, C0, C1, C2, C3, C4, C5, C6 e CVI de seleção recorrente nos experimentos em casa de vegetação e em campo.

Source	Casa de vegetação			Campo – sem ciclo C0		
	DF	QM	$r\hat{g}\%$	DF	QM	$r\hat{g}\%$
Rep	2	2,599*		2	0,630 <sup>NS</sup>	
Tratamentos	65	1,966**		56	0,914**	
Tratamentos(grupos)	58	1,510**	0,696	50	0,642*	0,636
Prog dentro de C0	6	1,509 <sup>NS</sup>		-	-	
Prog dentro de C1	7	2,576**		7	1,019*	
Prog dentro de C2	7	1,763*		7	0,513 <sup>NS</sup>	
Prog dentro de C3	7	1,447 <sup>NS</sup>		7	0,873*	
Prog dentro de C4	9	1,348 <sup>NS</sup>		9	0,256 <sup>NS</sup>	
Prog dentro de C5	9	1,715*		9	0,419 <sup>NS</sup>	
Prog dentro de C6	9	0,856 <sup>NS</sup>		9	0,788*	
Testemunhas	4	1,867*		2	1,500*	
Grupos	7	5,749**		6	3,178**	
GTeste vs ciclos	1	0,475 <sup>NS</sup>		1	8,762**	
entre ciclos	6	6,577**		5	1,940**	
Error	130	0,779		110	0,383	

\*, \*\*, <sup>NS</sup>: significativo a 5% e a 1% de probabilidade; <sup>NS</sup> não significativo, respectivamente, pelo teste F.

Tabela 5A. Análises de variância para os caracteres tipo de grãos e porte das progênes selecionadas dos ciclos, C0, C1, CII, CIII, CIV, CV e CVI de seleção recorrente nos experimentos em casa de vegetação e em campo.

Fator de variação	Tipo de Grãos			Porte		
	GL	QM	$r\hat{g}g\%$	GL	QM	$r\hat{g}g\%$
Rep	2	0,452 <sup>NS</sup>		2	0,039 <sup>NS</sup>	
Blocos(rep)	21	0,510 <sup>NS</sup>		21	0,293 <sup>NS</sup>	
Tratamentos	63	0,577 <sup>NS</sup>	0,454	63	0,378*	0,572
Tratamentos(grupos)	56	0,608 <sup>NS</sup>		56	0,314 <sup>NS</sup>	
Prog dentro de C0	6	0,077 <sup>NS</sup>		6	0,130 <sup>NS</sup>	
Prog dentro de C1	7	0,054 <sup>NS</sup>		7	0,312 <sup>NS</sup>	
Prog dentro de C2	7	0,094 <sup>NS</sup>		7	0,531 <sup>NS</sup>	
Prog dentro de C3	7	1,860**		7	0,309 <sup>NS</sup>	
Prog dentro de C4	9	0,967*		9	0,323 <sup>NS</sup>	
Prog dentro de C5	9	0,917 <sup>NS</sup>		9	0,118 <sup>NS</sup>	
Prog dentro de C6	9	0,278 <sup>NS</sup>		9	0,453 <sup>NS</sup>	
Testemunhas	2	0,027 <sup>NS</sup>		2	0,450 <sup>NS</sup>	
Grupos	7	0,329 <sup>NS</sup>		7	0,650*	
GTeste vs ciclos	1	0,369 <sup>NS</sup>		1	0,160 <sup>NS</sup>	
entre ciclos	6	0,322 <sup>NS</sup>		6	1,023**	
Error	101	0,458		100	0,254	

\*, \*\*, <sup>NS</sup>: significativo a 5% e a 1% de probabilidade; <sup>NS</sup> não significativo, respectivamente, pelo teste F,

Tabela 6A. Estimativas das variâncias fenotípicas ( $\sigma^2_F$ ), variâncias genéticas ( $\sigma^2_G$ ), herdabilidade ( $h^2$ ) e limites inferiores e superiores da herdabilidade das progênies avaliadas nas gerações  $S_{0:1}$ ,  $S_{0:2}$  e  $S_{0:3}$  nos ciclos CIII, CIV, CV e CVI para o caráter severidade do patógeno.

Ciclo	Geração	$\sigma^2_F$	$\sigma^2_G$	$h^2$	LI	LS
Ciclo III	$S_{0:1}$	0,379	0,222	58,443	39,490	71,631
	$S_{0:2}$	0,246	0,186	75,848	58,625	85,395
	$S_{0:3}$	0,073	0,042	57,431	5,042	79,506
Ciclo IV	$S_{0:1}$	0,363	0,220	60,468	47,047	70,581
	$S_{0:2}$	0,123	0,094	76,486	66,203	83,352
	$S_{0:3}$	0,177	0,114	64,474	39,140	78,516
Ciclo V	$S_{0:1}$	0,139	0,061	44,043	26,607	57,437
	$S_{0:2}$	0,121	0,075	61,983	45,357	73,084
	$S_{0:3}$	0,206	0,188	91,262	85,017	94,724
Ciclo VI	$S_{0:1}$	0,237	0,146	61,603	49,623	70,806
	$S_{0:2}$	0,196	0,157	80,239	70,251	86,602
	$S_{0:3}$	0,169	0,060	43,676	3,511	65,940



Tabela 7A. Estimativas das variâncias fenotípicas ( $\sigma^2_F$ ), variâncias genéticas ( $\sigma^2_G$ ), herdabilidade ( $h^2$ ) e limites inferiores e superiores da herdabilidade das progênieis avaliadas nas gerações  $S_{0:1}$ ,  $S_{0:2}$  e  $S_{0:3}$  nos ciclos CIII, CIV, CV e CVI nas cidades de Lavras e Lambari para o caráter porte.

Ciclo	Geração	$\sigma^2_F$	$\sigma^2_G$	$h^2$	LI	LS
CIII	$S_{0:1}$	0,622	0,262	42,156	15,77	60,51
	$S_{0:2}$	0,225	0,056	25,037	-28,42	54,67
	$S_{0:3}$ (Lavras)	0,253	0,132	52,042	-6,98	76,91
CIV	$S_{0:1}$	0,402	0,098	24,254	-1,26	43,52
	$S_{0:2}$	0,360	0,130	36,168	8,25	54,81
	$S_{0:3}$ (Lavras)	0,146	0,029	20,137	-36,81	51,71
	$S_{0:3}$ (Lambari)	0,556	0,366	65,911	41,60	79,39
CV	$S_{0:1}$	0,327	0,108	33,028	12,16	49,06
	$S_{0:2}$	0,173	0,082	47,683	24,80	62,96
	$S_{0:3}$ (Lavras)	0,611	0,321	52,566	18,74	71,32
	$S_{0:3}$ (Lambari)	0,461	0,338	73,316	54,29	83,86
CVI	$S_{0:1}$	0,190	0,058	30,404	8,69	47,08
	$S_{0:2}$	0,747	0,411	55,057	32,34	69,53
	$S_{0:3}$ (Lavras)	0,197	0,081	41,017	-1,04	64,33

Tabela 8A. Estimativas das variâncias fenotípicas ( $\sigma^2_F$ ), variâncias genéticas ( $\sigma^2_G$ ), herdabilidade ( $h^2$ ) e limites inferiores e superiores da herdabilidade das progênes avaliadas nas gerações  $S_{0:1}$ ,  $S_{0:2}$  e  $S_{0:3}$  nos ciclos CIII, CIV, CV e CVI para o caráter tipo de grãos.

Ciclo	Geração	$\sigma^2_F$	$\sigma^2_G$	$h^2$	LI	LS
Ciclo III	$S_{0:1}$	0,377	0,297	78,931	69,130	85,749
	$S_{0:2}$	0,059	0,044	74,124	55,672	84,352
	$S_{0:3}$	0,028	0,016	56,471	2,899	79,044
Ciclo IV	$S_{0:1}$	0,151	0,104	68,804	58,126	76,849
	$S_{0:2}$	0,105	0,068	65,079	49,807	75,276
	$S_{0:3}$	0,075	0,045	59,556	30,583	75,621
Ciclo V	$S_{0:1}$	0,178	0,140	78,652	71,981	83,775
	$S_{0:2}$	0,055	0,030	55,152	35,537	68,247
	$S_{0:3}$	0,064	0,038	59,375	30,405	75,433
Ciclo VI	$S_{0:1}$	0,204	0,152	74,265	66,120	80,520
	$S_{0:2}$	0,059	0,021	35,795	3,070	56,658
	$S_{0:3}$	0,032	0,007	23,158	-31,889	53,682

Tabela 9 A. Estimativas das variâncias fenotípicas ( $\sigma^2_F$ ), variâncias genéticas ( $\sigma^2_G$ ), herdabilidade ( $h^2$ ) e limites inferiores e superiores da herdabilidade das progênes da geração  $S_{0:3}$  nos ciclos CIII, CIV, CV e CVI nas cidades de Lavras e Lambari para produtividade de grãos.

Ciclo	Local	$\sigma^2_F$	$\sigma^2_G$	$h^2$	LI	LS	Média	Corujinha/ CNFC9506
CIII	Lavras	10881	7119	65,42	22,87	83,35	585(297-803)	608 / 763
CIV	Lavras	3909	1235	31,59	-17,41	58,77	413(267-548)	412 / 532
CIV	Lambari	7376	4446	60,28	31,88	76,02	400(258-623)	469 / 327
CV	Lavras	22331	11883	53,21	19,85	71,71	468(261-842)	654 / 811
CV	Lambari	7831	5086	64,95	39,95	78,80	400(180-621)	592 / 606
CVI	Lambari	7411	4963	67,01	43,42	80,05	508(276-720)	594/720