



DANUZA ARAÚJO DE SOUZA

**EFEITO DA SELEÇÃO RECORRENTE PARA
RESISTÊNCIA À MANCHA ANGULAR NA
REAÇÃO AO MOFO BRANCO E EM ALELOS
SSR DE PROGÊNIES DE FEIJÃO**

LAVRAS - MG

2012

DANUZA ARAÚJO DE SOUZA

**EFEITO DA SELEÇÃO RECORRENTE PARA RESISTÊNCIA À
MANCHA ANGULAR NA REAÇÃO AO MOFO BRANCO E EM
ALELOS SSR DE PROGÊNIES DE FEIJÃO**

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

Orientador

Dr. João Bosco dos Santos

LAVRAS - MG

2012

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

Souza, Danuza Araújo de.

Efeito da seleção recorrente para resistência à mancha angular na
reação ao mofo branco e em alelos SSR de progênies de feijão /
Danuza Araújo de Souza. – Lavras : UFLA, 2012.

98 p. : il.

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

Orientador: João Bosco dos Santos.

Bibliografia.

1. *Phaseolus vulgaris*. 2. Marcadores SSR. 3. Mofo branco. 4.
Doença fúngica. 5. Patógenos. I. Universidade Federal de Lavras. II.
Título.

CDD – 631.523

DANUZA ARAÚJO DE SOUZA

**EFEITO DA SELEÇÃO RECORRENTE PARA RESISTÊNCIA À
MANCHA ANGULAR NA REAÇÃO AO MOFO BRANCO E EM
ALELOS SSR DE PROGÊNIES DE FEIJÃO**

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

APROVADA em 27 de fevereiro de 2012.

Dra. Ângela de Fátima Barbosa Abreu EMBRAPA

Dra. Dulcineia de Carvalho UFLA

Dr. João Bosco dos Santos
Orientador

LAVRAS - MG

2012

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter sempre ouvido minhas preces e orações. Graças a Ele nunca estive desamparada e nunca me deparei com algum problema que não pudesse resolver.

Aos meus queridos pais, Júlia e Claudemiro, e minhas irmãs, Keu, Má e Ju, por todo amor, carinho, confiança e por estarem sempre dispostos a me apoiar, em tudo que precisei.

Ao Nilton, pela compreensão, paciência, companheirismo, carinho e incentivo durante a minha trajetória de vida e trajetória profissional.

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pelo conhecimento e formação e ao CNPq, pelo apoio financeiro e concessão de bolsa de estudos.

Ao professor João Bosco, pela orientação, incentivo, confiança, disponibilidade e pela atenção dispensada e conhecimento compartilhado durante todo o curso.

À doutora Ângela, por conceder o material para a realização desta pesquisa e à professora Dulcinéia de Carvalho, pela disponibilidade e sugestões apresentadas para a melhoria desse trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela valiosa contribuição na minha formação.

Aos amigos do Laboratório de Genética Molecular da UFLA, Paulinho, Ju (Agro), Filipe, Fernanda, Baiano, Camila, Monik, Letícia, Luiz, Flávia, Igor, Dyana, Ju (Bio) e Clésio, pela ótima convivência, por toda ajuda e amizade e pelos momentos alegres nas árduas tarefas. Em especial, ao Lamartine, pelos agradáveis momentos de convivência e auxílio, quando solicitado.

Aos colegas do GEN, pelo companheirismo, amizade e ajuda.

Aos funcionários do Departamento de Biologia: Heloíza, Zélia, Rafaela, Irondina e Du, pela prazerosa convivência e disponibilidade.

A todos que, direta ou indiretamente, auxiliaram no desenvolvimento e na conclusão deste trabalho.

OBRIGADA!

RESUMO

Este estudo foi realizado com os objetivos de verificar a resistência ao mofo branco de progênies de feijão provenientes de seleção recorrente para resistência à mancha angular e também verificar se a seleção afeta a frequência dos alelos SSR de forma específica. O material vegetal utilizado foi obtido de um programa de seleção recorrente, iniciado com o intercruzamento entre sete linhagens com grãos tipo carioca (Carioca MG, CI-140, CI-128, ANPAT 8.12, IAPAR 81, ESAL 693 e Pérola) e dez fontes de resistência à mancha angular (*P. griseola*) (AN 512561, AND 277, Ouro Negro, Compuesto Negro Chimaltenango, CAL 143, MAR 2, MAR 1, G 5686, MA 4.137 e Jalo), incluindo diversos tipos de grãos. Para a reação ao mofo branco, esses 17 genitores mais as 35 progênies obtidas foram inoculados com micélio do patógeno (*straw test*), em campo. Foi verificada também a reação desses genótipos ao ácido oxálico. As duas progênies mais favoráveis para esses dois mecanismos de avaliação da resistência são MAII-16 do ciclo II e a MAIII-17.179 do ciclo III. Foi encontrada baixa correlação entre a reação das progênies ao mofo branco e as notas de severidade a mancha angular, indicando que há baixa associação entre essas variáveis e, por isso, há possibilidade de se selecionar para uma dessas variáveis e obter insucesso em outra. Foi extraído o DNA dos 52 genótipos e selecionados 37 pares de *primers* polimórficos nos genitores. O SCAR *Phs* não foi útil em selecionar progênies resistentes ao mofo branco selecionadas para resistência à mancha angular. Dos 37 locos polimórficos obtidos, 28 (75,6%) sofreram efeito da seleção ($P \leq 0,05$ ou $P \leq 0,01$) em, pelo menos, um dos sete ciclos. A intensidade da seleção e os ciclos em que ela ocorreu foram particulares para cada loco. Os marcadores ATA7, BM202, ATA27 e PVctt002, que tiveram maiores alterações de frequências alélicas nas progênies, podem estar associados à resistência à mancha angular.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*. Marcadores SSR. Mofo branco.

ABSTRACT

The objectives of this study were to verify the reaction of common bean progenies to white mold, derived from recurrent selection for angular leaf spot resistance and also check if the selection affects the frequency of SSR alleles in a specific way. The plant material was obtained from a recurrent selection program started with the intercross between seven lines with carioca grain types (CariocaMG, CI-140, CI-128, ANPAT 8.12, IAPAR 81, ESAL 693 and Pérola) and ten resistance sources of angular leaf spot (*P. griseola*) (AN 512561, AND 277, Ouro Negro, Compuesto Negro Chimaltenango, CAL 143, MAR 2, MAR 1, G5686, MA 4137 and Jalo), of different grain types. For the reaction to white mold, the 17 parents and the 35 progenies were inoculated with mycelium of the pathogen (Straw test) in the field. There was also verified the reaction of these genotypes to oxalic acid. The two progenies more favorable for these two evaluation mechanisms of resistance are MAII-16 of the cycle II and MAIII -179 of the cycle III. Low correlation was found between the reaction of the progenies to white mold and the notes of the severity of angular leaf spot, indicating a low correlation between these variables and therefore, there is no possibility of selecting for one variable, and have succeed in another. However, it is possible to obtain progenies resistant to both disease. DNA was extracted from 52 genotypes and selected 37 pairs of polymorphic primers in the parents. The SCAR *Phs* was not helpful in selecting resistant progenies to white mold. Out of the 37 polymorphic loci, 28(75.6%) were affected by the recurrent selection ($P \leq 0.05$ or $P \leq 0.01$) in at least one of seven cycles. The intensity of selection and the cycles that it occurred were specific for each locus. The markers ATA7, BM202, ATA27 and PVctt002 showed greater alterations in allele frequencies in progenies and may be associated with resistance to angular leaf spot.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*. SSR markers. White mold.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1	Importância do feijoeiro (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	13
2.2	Melhoramento genético do feijoeiro	14
2.3	Mancha angular (<i>Pseudocercospora griseola</i>)	15
2.4	Mofa branco (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (LIB.) de Bary)	18
2.5	O mofo branco em feijoeiro	19
2.6	Mecanismos de infecção de <i>S. sclerotiorum</i>	21
2.7	Procedimentos para avaliação da reação do feijoeiro ao mofo branco	22
2.7.1	Reação do feijoeiro ao ácido oxálico	24
2.7.2	Teste do canudo (<i>straw test</i>)	27
2.8	Seleção recorrente em feijoeiro	29
2.9	Marcadores moleculares no melhoramento de plantas	31
2.10	Identificação de qtls em feijoeiro	34
3	MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1	Local	37
3.2	Linhagens utilizadas	37
3.3	Avaliação indireta das progênes por meio da reação ao ácido oxálico	38
3.4	<i>Straw test</i> ou teste do canudo	39
3.5	Extração de DNA	40
3.6	Processo de amplificação de dna e eletroforese	41
3.7	Análise dos dados	42
3.8	Teste da alteração das frequências genotípicas nos sete ciclos de seleção recorrente	44
3.9	Estimativas dos coeficientes de adaptabilidade relativa acumulados médios	46
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4.1	Reação ao mofo branco pelo <i>straw test</i>	48
4.2	Reação ao ácido oxálico	53
4.3	Correlação entre os caracteres avaliados	57
4.4	Validação do SCAR <i>phs</i>	58
4.5	Alteração das frequências alélicas de microssatélites	58
4.6	Estimativas dos coeficientes de adaptabilidade relativa	79
5	CONCLUSÕES	83
	REFERÊNCIAS	84

1 INTRODUÇÃO

A ocorrência de doenças, de modo geral, contribui para baixa produtividade, instabilidade na produção e alto risco de implantação da cultura do feijão. Entre as doenças que mais têm limitado a obtenção de alta produtividade no feijoeiro, destacam-se o mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) e a mancha angular (*Pseudocercospora griseola*). O controle a essas doenças pode ser realizado pela integração de práticas culturais e pelo emprego de fungicidas, tanto no tratamento da semente como em aplicação na parte aérea. Aliado a essas medidas, o uso de cultivares geneticamente resistentes é o melhor método para reduzir o risco de epidemias.

Para mancha angular, a resistência tem sido atribuída a um, dois, três ou mais genes independentes, em alguns casos dominantes, em outros recessivos, alguns com formas alélicas e que podem ser encontrados em diversas cultivares. No entanto, quase todas as cultivares plantadas no país são, em maior ou menor grau, suscetíveis à mancha angular (CAIXETA et al., 2002), sugerindo também a existência de resistência horizontal. Em situações como essa, uma das alternativas para acumular os vários alelos de resistência é a seleção recorrente (RAMALHO; ABREU; SANTOS, 2001), um sistema cíclico e dinâmico que visa aumentar gradativamente a frequência de alelos favoráveis para uma característica quantitativa, por meio de repetidos ciclos de seleção, avaliação e recombinação (GERALDI, 2005). No caso de plantas autógamas, já existem vários resultados que comprovam a sua eficiência (AMARO et al., 2007; ARANTES; ABREU; RAMALHO, 2010; RAMALHO; ABREU; SANTOS, 2005; WIERSMA et al., 2001).

Em relação ao mofo branco, sabe-se que os danos são maiores, especialmente no inverno e em cultivos sob irrigação. O mofo branco afeta gravemente o feijoeiro e as cultivares em uso no Brasil não têm nível adequado

de resistência (GONÇALVES; SANTOS, 2010). Um procedimento utilizado na identificação de fontes de resistência a essa doença é o método indireto, por meio da reação ao ácido oxálico. Testes conduzidos em casa de vegetação e em campo evidenciaram que os genótipos mais tolerantes ao ácido oxálico são também os mais resistentes ao mofo branco. Isso se deve ao fato de que o ácido oxálico é considerado fator primário de patogenicidade do fungo (KOLKMAN; KELLY, 2000). Há ainda o *straw test*, outra metodologia adotada para avaliação da resistência fisiológica, que consiste em um método simples e eficiente para auxiliar na identificação, na caracterização e na seleção de genótipos resistentes ao mofo branco, sendo o mais utilizado nos programas de melhoramento (SINGH; TÉRAN, 2008).

Agregar, em uma única planta, resistência à mancha angular e ao mofo branco seria fato de extrema importância na obtenção de uma nova cultivar e também para o aumento da produtividade do feijoeiro. Assim, é vantajoso aproveitar programas de seleção recorrente para resistência a uma destas doenças e avaliar se as progênies selecionadas também possuem resistência para a outra doença. Dessa forma, se forem encontradas progênies resistentes às duas doenças, elas se tornariam mais promissoras para serem indicadas como novas cultivares.

Após alguns ciclos de seleção é possível também verificar se a frequência alélica de alelos de microssatélite foi alterada nas populações conduzidas durante os vários ciclos de seleção recorrente. Da mesma forma, é possível identificar alelos que possam estar associados aos fenótipos favoráveis considerados no programa e, assim, auxiliar em futuras seleções.

O presente trabalho foi realizado com os objetivos de verificar a resistência ao mofo branco de progênies provenientes de seleção recorrente para resistência à mancha angular e também verificar se a seleção afeta a frequência

dos alelos de microssatélite de forma específica, visando identificar aqueles que podem auxiliar na seleção.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)

O feijão é um dos mais importantes constituintes da dieta do brasileiro, por ser reconhecidamente uma excelente fonte proteica, além de possuir bom conteúdo de carboidratos e de ser rico em ferro. Cultivado por pequenos e grandes produtores, em diversificados sistemas de produção e em todas as regiões brasileiras, o feijoeiro comum reveste-se de grande importância econômica e social.

Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB (2011), a estimativa de área plantada, na safra 2010/2011, no Brasil, era de 4.009.2000 de hectares e a produção estimada em 3.787.100 de toneladas. Considerando as três safras, estima-se, para a safra 2011/2012, que a área total de feijão possa chegar de 3,89 até 3,94 milhões de hectares.

Ainda assim, a produção de feijão é considerada baixa. Várias razões explicam a baixa produtividade da cultura no Brasil e em outros países da América Latina e África. Nestas regiões, o feijão é uma cultura praticada principalmente por pequenos agricultores com pouco ou nenhum uso de tecnologia devido à falta de recursos (VIEIRA, 2004). Doenças, insetos e condições edafoclimáticas adversas também contribuem para perdas severas (SHELLIE; BLISS, 1991). Estes autores relataram mais de 40 doenças que podem afetar o feijoeiro comum no Brasil e reduzir a produtividade e a qualidade de vagens e sementes. Antracnose, ferrugem, mancha angular e mofo branco incitadas por *Colletotrichum lindemuthianum*, *Uromyces appendiculatus*, *Pseudocercospora griseola* e *Sclerotinia sclerotiorum*, respectivamente, estão entre as principais doenças fúngicas que afetam o feijoeiro.

2.2 Melhoramento genético do feijoeiro

Vários caracteres são avaliados em programas de melhoramento do feijoeiro, mas o principal foi sempre a produtividade de grãos. Esse caráter é um índice que envolve praticamente todos os outros. Assim, as linhagens mais produtivas certamente apresentam fenótipos de interesse para outros caracteres, especialmente resistência a patógenos. Esse fato pode ser constatado com o exemplo da linhagem que originou a cultivar BRSMG Talismã. Durante o processo seletivo, ela não foi avaliada especificamente para nenhum patógeno. Contudo, tem sido constatado que ela apresenta resistência a várias raças de *C. lindemuthianum*, *P. griseola* e *U.appendiculatus* (SOUZA et al., 2005). Evidencia-se, assim, que as linhagens mais produtivas, em uma grande amplitude de ambientes, são aquelas que possuem, na sua constituição, alelos que conferem maior adaptação às condições de estresses abióticos e bióticos. No caso dos fatores bióticos, maior tolerância aos patógenos que ocorrem na cultura. Esse fato já foi comprovado com a resistência a *C. lindemuthianum* no feijoeiro comum (ABREU et al., 2003). Estes autores realizaram a seleção apenas com base na produtividade de grãos, na expectativa de se obter ganhos também quanto à resistência à antracnose. Eles observaram a existência de correlação entre produtividade de grãos em feijão e resistência a doenças, ou seja, constatou-se que, mesmo não sendo efetuada seleção específica para resistência à doença, indiretamente era o que acontecia. Deve-se ressaltar que para que isso de fato ocorra, é necessário que haja incidência da doença no campo.

Como, na maioria das avaliações de produção, não se observa a incidência das doenças mais importantes, nem sempre os genótipos selecionados mais produtivos serão também resistentes. Por essa razão, grande atenção tem

sido dada à resistência aos principais patógenos como um atributo auxiliar na seleção.

No início, os programas de melhoramento dispensavam grande atenção ao vírus do mosaico comum. Posteriormente, como as linhagens 'Carioca' são resistentes a esse vírus, praticamente não houve mais relatos da sua ocorrência. O contrário ocorreu com a mancha angular, que não tinha grande importância até meados de 1980. Porém, com a prática da cultura durante todo o ano, a obtenção de resistência a esse patógeno tornou-se prioritária. Outras doenças, como mofo branco e antracnose, também têm recebido significativa atenção, nos últimos anos, de pesquisadores (CARRIJO et al., 2003).

2.3 Mancha angular (*Pseudocercospora griseola*)

A mancha angular do feijoeiro está entre as doenças consideradas de maior importância nacional. Até o final da década de 1980, era considerada de pequena importância econômica, tendo em vista que não causava grandes perdas de produtividade em Minas Gerais, porque sua incidência ocorre, principalmente, no final do ciclo da cultura (VIEIRA, 1983). Porém, alguns fatores a tornaram um problema sério na cultura do feijoeiro, como semeadura no outono-inverno, quando as temperaturas são favoráveis à doença; presença de plantas de feijoeiro ou restos de cultura contaminados no campo durante todo o ano; emprego de irrigação por aspersão, a qual propicia condições favoráveis de umidade; emprego de cultivares suscetíveis à doença e possíveis alterações das raças do patógeno ao longo dos anos (PAULA JÚNIOR; VIEIRA; ZAMBOLIM, 2004).

Nos últimos anos, a mancha angular do feijoeiro se tornou uma das mais importantes doenças no Brasil, ocasionando perdas superiores a 80% na

produção, dependendo da suscetibilidade das cultivares, das condições ambientais e do estágio de desenvolvimento da cultura (SARTORATO, 2004).

P. griseola pode afetar toda a parte aérea da planta. Causa lesões no caule, ramos, folhas e vagens, e promove a queda prematura das folhas em alta severidade. Nas folhas primárias, as lesões são mais ou menos circulares, com halos concêntricos, de cor castanho-escuro. Nas folhas trifoliadas as lesões têm formato angular, característica que deu o nome à doença. Nos caules e ramos as lesões são alongadas, de coloração castanho-escuro. Nas vagens as lesões são inicialmente superficiais, quase circulares, castanho-avermelhadas e com bordos escuros (BIANCHINI et al., 2005).

De acordo com Cardona-Alvarez e Walker (1956), a infecção e o desenvolvimento da doença podem ocorrer em temperaturas desde 16 °C a 28 °C, sendo a ótima em torno de 24 °C. Períodos de alta umidade relativa, suficientemente longos (24 a 48 horas), alternados por períodos de baixa umidade e ação de ventos, são também importantes para o desenvolvimento de epidemias.

O método ideal para o controle da mancha angular do feijoeiro é o uso de cultivares resistentes, porém, poucas cultivares comerciais apresentam essa característica. O fato de uma cultivar considerada resistente numa região comportar-se como suscetível em outra caracteriza a presença de diferentes raças fisiológicas do patógeno. A ocorrência da variabilidade fisiológica do patógeno é o fator que torna mais difícil o controle da doença nas diferentes regiões produtoras de feijão.

Evidências de variabilidade entre isolados de *P. griseola* têm sido relatadas desde o início da década de 1950 (BROCK, 1951). Desde então, vários estudos utilizando cultivares diferenciadoras têm sido realizados para comprová-las (NIETSCHKE et al., 2001; PASTOR-CORRALES; JARA, 1995; SILVA et al., 2008).

Estudando a variabilidade fisiológica de *P. griseola* em cinco estados brasileiros, Goiás, Minas Gerais, Paraíba, Paraná e Santa Catarina, Sartorato (2002) encontrou sete raças num grupo de 51 isolados do patógeno.

Nietsche et al. (2001) confirmaram a grande variabilidade fisiológica de *P. griseola* no Brasil. Os autores identificaram 26 raças de *P. griseola* em 71 isolados oriundos dos estados de Alagoas, Bahia, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais, Paraíba, Pernambuco, Santa Catarina e um isolado da Colômbia.

O principal meio de controle da mancha angular é o uso de cultivares resistentes. Porém, é muito difícil obter linhagens com resistência duradoura a essa ampla diversidade de raças de *P. griseola*. Diante disso, uma forma de acumular vários alelos de resistência é por meio da seleção recorrente, que já tem sido utilizada com bastante sucesso em autógamas (RAMALHO; ABREU; SANTOS, 2001). As cultivares mais plantadas no estado de Minas Gerais são do tipo carioca, as quais são altamente suscetíveis a diferentes raças. Por outro lado, o feijoeiro do tipo Jalo tem demonstrado boa resistência à doença. Já as cultivares do tipo Carioca recomendadas para o estado de Minas Gerais, Pérola e Rudá, têm demonstrado boa tolerância em condições de campo.

Quase todas as cultivares recomendadas para o estado de Minas Gerais e, conseqüentemente, os patótipos do agente causal da doença, são do tipo mesoamericano. Assim, os programas de melhoramento do feijoeiro comum do estado vêm introgridindo alelos de resistência presentes também em genótipos andinos, para aumentar a base genética das cultivares a serem recomendadas (PAULA JÚNIOR; VIEIRA; ZAMBOLIM, 2004).

2.4 Mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary)

Uma das doenças que mais afetam o feijoeiro é o mofo branco. Esta doença é altamente preocupante, especialmente no inverno e em cultivos sob irrigação, utilizando pivô central.

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary é um dos mais devastadores patógenos de plantas. O fungo pertence à família Sclerotiniaceae, a qual inclui espécies que produzem ascos de cor marrom, apotécios que surgem a partir de um estroma e escleródios associados a uma planta hospedeira (BOLTON et al., 2006). O fungo *S. sclerotiorum* apresenta ampla gama de hospedeiros, que compreendem plantas de 75 famílias, 278 gêneros e 408 espécies. Entre eles, destacam-se soja, girassol, canola, ervilha, feijão, alfafa, fumo, tomate e batata (LEITE, 2005).

Um agravante para a ocorrência de epidemias de mofo branco é o fato desse patógeno formar estruturas de resistência, conhecidas como escleródios, que permanecem viáveis por vários anos no solo mesmo em ambientes desfavoráveis (OLIVEIRA, 2005). São vários os fatores que influenciam a germinação dos escleródios desse fungo, tais como nutrientes do substrato no qual o escleródio é formado; idade dos escleródios; fatores ambientais, como umidade, temperatura, luz, pH do solo e aeração; profundidade na qual o escleródio se encontra enterrado no solo e o tipo de solo (PHILIPS, 1987).

Os escleródios podem germinar de forma miceliogênica ou carpogênica. Na forma miceliogênica há a produção de micélio hialino e septado; na forma carpogênica, o escleródio pode produzir um ou mais apotécios. A germinação carpogênica é estimulada por períodos de umidade contínua do solo. Apotécios que são formados na superfície do solo produzem os ascósporos que são liberados no ar. A infecção da maioria das culturas se dá, principalmente, pelos ascósporos (LUMSDEN, 1979).

O solo não cultivado apresenta características supressivas evidenciadas pelo retardamento do aparecimento de estipes e formação mais lenta dos apotécios, em relação ao solo cultivado (COSTA; COSTA, 2006).

Em solos infestados, com médio a elevado número de escleródios, são recomendadas medidas integradas de controle, principalmente a rotação de culturas, devido à rapidez de desenvolvimento da doença nas condições favoráveis de ambientes, uma vez que medidas isoladas não são eficientes (OLIVEIRA, 2005).

2.5 O mofo branco em feijoeiro

As doenças conhecidas como mofo branco ou podridão branca recebem esses nomes em função dos sintomas e sinais expressos na planta doente: presença de lesões encharcadas nos órgãos afetados, de coloração parda e consistência mole, com micélio branco, de aspecto cotonoso, cobrindo porções dos tecidos (LEITE, 2005). As condições de clima favoráveis para seu desenvolvimento são alta umidade e temperaturas amenas. Nessa situação, uma lavoura de feijão pode sofrer, em média, perdas de 30% ou mais, podendo chegar a 100% em períodos chuvosos e quando medidas preventivas não são tomadas (OLIVEIRA, 2005).

Os sintomas de mofo branco em feijoeiro incluem murcha, lesões esbranquiçadas nos caules, presença de escleródios no tecido infectado e morte da planta (KOLKMAN; KELLY, 2002). A alta suscetibilidade das cultivares disponíveis, o ambiente favorável e a sobrevivência do patógeno no solo por vários anos dificultam o controle da doença e, nos casos mais drásticos, levam ao abandono de áreas infestadas. O controle do mofo branco envolve a integração de uma série de medidas, como cobertura do solo com palhada, manejo adequado da irrigação e controle químico, entre outras.

Uma medida fundamental para prevenir a ocorrência do mofo branco é reduzir ao máximo os períodos de alta umidade e baixa temperatura na cultura. Para isso, a escolha da época de semeadura é fundamental. Outras práticas culturais são importantes para minimizar os problemas causados por *S. sclerotiorum*. Em lavouras irrigadas por pivô central, deve-se diminuir ao máximo o número de irrigações durante a floração, que é a fase de maior suscetibilidade da planta à infecção. É conveniente escolher menores densidades de semeadura (VIEIRA; PAULA JÚNIOR; TEIXEIRA, 2010) e espaçamentos maiores, de modo a permitir uma adequada aeração das plantas e diminuir as chances de contato de plantas doentes com plantas adjacentes. De acordo com Soule et al. (2011), essas práticas culturais reduzem a severidade da doença, no entanto, podem contribuir para menor rendimento quando a doença não estiver presente em alto nível de agressividade.

Devem-se evitar adubações excessivas de nitrogênio, o que pode tornar os tecidos mais suscetíveis ao fungo (LEITE, 2005).

Poucos estudos têm sido realizados para identificar o controle genético da resistência ao mofo branco, especialmente em feijão. Miklas et al. (2001) observaram que a herdabilidade da resistência do feijoeiro ao mofo branco, quando estimada em casa de vegetação pelo método do *straw test*, foi mais baixa (0,65) do que quando estimada no campo (0,78). Isto se deve ao fato de a resistência fisiológica, detectada pelo *straw test*, ser um dos principais componentes da resistência no campo, ou seja, tanto a resistência fisiológica quanto os mecanismos de escape contribuem para a resistência no campo.

Segundo Antônio et al. (2008), que avaliaram pelo método do ácido oxálico a reação de progênies $F_{2,3}$ do RC1 do cruzamento (G122 e VC3) e Carneiro et al. (2011), que avaliaram progênies $F_{2,3}$ do RC1 (G122 x M20) por meio do *straw test*, há predominância da variância aditiva no controle da expressão da reação de resistência parcial (fisiológica) do feijoeiro ao mofo

branco. Ambas as autoras concluíram que as estimativas das herdabilidades no sentido amplo obtidas (0,47 e 0,53) indicam que a seleção é mais eficiente com base na média de progênies e com inoculações múltiplas.

2.6 Mecanismos de infecção de *S. sclerotiorum*

A infecção do tecido saudável depende da formação de um apressório, que pode ser simples ou complexo na estrutura, dependendo da superfície de acolhimento. Na maioria dos casos, a penetração é direta através da cutícula e não pelos estômatos (TARIQ; JEFFRIES, 1986).

Apressórios são desenvolvidos a partir de ramificações dicotômicas terminais de hifas na superfície do hospedeiro e consistem em multi-hifas septadas, curtas e orientadas perpendicularmente à superfície do hospedeiro ao qual estão ligados. Embora em trabalhos anteriores tenha sido considerado que a penetração da cutícula deva ser um processo puramente mecânico (ABAWI, 1975; BOYLE, 1921), a partir de estudos ultraestruturais há evidências de que a digestão enzimática da cutícula também desempenha um papel no processo de penetração (TARIQ; JEFFRIES, 1984).

Pouco se sabe sobre a atividade de cutinases de *S. sclerotiorum*. A vesícula grande, formada na ponta de apressórios antes da penetração, parece ser lançada na cutícula do hospedeiro, durante a penetração. Após a penetração da cutícula, forma-se uma vesícula subcuticular, a partir da qual hifas grandes vão crescendo e dissolvendo a parede subcuticular da epiderme (HEGEDUS; RIMMER, 2006).

O envolvimento do ácido oxálico na patogenicidade de alguns fungos necrotróficos já é bem conhecido (DUTTON; EVANS, 1996), no entanto, apesar de sua estrutura simples e interações químicas limitadas, o ácido oxálico desempenha funções complexas e diversificadas no processo de infecção, por

isso é considerado um fator de patogenicidade primário. Godoy et al. (1990) demonstraram que mutantes com deficiência na produção desse ácido eram não patogênicos. As provas para esse relacionamento são baseadas na recuperação de concentrações milimolares de ácido oxálico em tecidos infectados (GODOY et al., 1990; MARCIANO; DI LENNA; MAGRO, 1983), derivados da injeção manual de ácido oxálico ou de cultura filtrada contendo oxalato, em plantas (NOYES; HANCOCK, 1981).

A hipótese de Bateman e Beer (1965) é de que o ácido oxálico exerce um efeito tóxico direto através da acidificação do ambiente no interior da lamela média, sequestrando o cálcio na forma de cristais insolúveis de oxalato e atuando na degradação da parede celular e na máxima atividade de enzimas que comprometem a integridade da parede. O ácido oxálico foi relatado também como agente na melhora direta da atividade de endopoligalacturonases em valores de pH muito baixos (FAVARON et al., 2004). A expressão das poligalacturonases aumenta drasticamente quando o pH do ambiente é inferior a 3,8 (COTTON et al., 2003; ROLLINS; DICKMAN, 2001).

Guimarães e Stotz (2004) demonstraram que o ácido oxálico também interfere nos processos de abertura e de fechamento dos estômatos, estimulando o acúmulo de potássio e a hidrólise do amido em células-guarda. O ácido oxálico também foi indicado como supressor da explosão oxidativa, desativando um dos mecanismos mais importantes de resistência das plantas, por meio da liberação de oxigênio e peróxido de hidrogênio (CESSNA et al., 2000). A explosão oxidativa é necessária para várias respostas de defesa pós-induzidas.

2.7 Procedimentos para avaliação da reação do feijoeiro ao mofo branco

Duas formas de resistência ao mofo branco em feijoeiro são o escape à doença e a resistência fisiológica. Mecanismos de escape incluem arquitetura de

planta mais ereta, dossel mais poroso e maturidade precoce para fugir da infecção na safrinha (MAXWELL et al., 2007). O caráter morfológico afeta as condições microclimáticas (umidade, luminosidade, aeração, deposição de água), influenciando o estabelecimento e o desenvolvimento do fungo (KOLKMAN; KELLY, 2003).

Já a resistência fisiológica é controlada por fatores genéticos do hospedeiro que podem inibir a infecção ou a disseminação do patógeno no tecido hospedeiro. Juntos, prevenção pelo escape e resistência fisiológica são os métodos de controle mais econômicos e eficazes para reduzir a perda de rendimento e da qualidade das sementes (MIKLAS et al., 2001).

Kolkman e Kelly (2002) acreditam que o aparecimento de infecção pelo mofo branco pode ser devido à arquitetura desfavorável da planta e também à ausência de práticas adequadas de manejo. O progresso no melhoramento genético para resistência ao mofo branco em feijoeiro é dificultado pelas condições ambientais e fatores morfológicos que confundem a expressão e a detecção de mecanismos de resistência fisiológica.

Apesar de a verdadeira resistência ser a fisiológica, a resistência completa é inexistente no feijoeiro, embora progênies com certos níveis de resistência fisiológica tenham sido identificadas por meio do método indireto do ácido oxálico (GONÇALVES; SANTOS, 2008). A maior dificuldade para desenvolver progênies resistentes a *S. sclerotiorum* deve-se ao fato de a resistência fisiológica ser quantitativa, com moderada a baixa herdabilidade, e da imprecisão na sua avaliação (ANTONIO et al., 2008; CARNEIRO et al., 2011; MIKLAS et al., 2004).

Quando se tem germoplasma com fontes de resistência, o melhoramento para a resistência é considerado a melhor forma de controle de doenças em plantas. Porém, as principais fontes de resistência são feijões de grãos brancos vindos do Canadá e em algumas linhagens de origem andina que, embora

tenham potencial uso nos programas de melhoramento, não são adaptadas e não apresentam boa aceitação pelo consumidor brasileiro. Dessa forma, os produtores de feijão não encontram no mercado material resistente ao mofo branco e com características agronômicas desejáveis (ANTONIO et al., 2008; OLIVEIRA, 2005). Entretanto, há considerável variação de resistência, mesmo entre as cultivares em uso e entre as linhagens elites, todas adaptadas às principais condições de cultivo brasileiras (GONÇALVES; SANTOS, 2008; LIMA et al., 2011).

Há diversas metodologias para se avaliar a resistência do feijoeiro ao mofo branco. Alguns melhoristas preferem avaliar a doença no campo. Entretanto, as dificuldades dessa avaliação são a disponibilidade de áreas uniformemente infectadas e as condições favoráveis para o desenvolvimento da doença (LEHNER et al., 2008). Além disso, quando se avaliam cultivares de porte diferente, as mais arbustivas podem escapar da doença, mesmo sendo suscetíveis (MIKLAS et al., 2001).

2.7.1 Reação do feijoeiro ao ácido oxálico

Como a seleção no campo para resistência fisiológica é bastante confusa, é difícil selecionar linhas exclusivamente para a resistência fisiológica. Assim, os métodos artificiais de inoculação foram desenvolvidos para identificar a resistência fisiológica, independentemente dos mecanismos de evasão, em casa de vegetação e laboratório.

A evidência de que *S. sclerotiorum* usa o ácido oxálico para invadir o feijoeiro levou ao desenvolvimento de um método de avaliação indireta da resistência baseado na reação da planta, quando colocada em solução de ácido oxálico, sem raiz. Uma vantagem deste processo é a identificação da resistência fisiológica sem a interferência de outros mecanismos de resistência.

Kolkman e Kelly (2000) discutem sobre as várias vantagens de se utilizar esse teste. Entre elas destacam-se: a) determinação da resistência fisiológica em experimentos em casa de vegetação; b) germoplasmas fotossensíveis não adaptados podem ser testados para a resistência fisiológica, já que as plantas são testadas ainda na fase de plântula (segundo trifólio emergido) e, portanto, não são influenciadas por caracteres reprodutivos (florescimento); c) um grande número de linhas pode ser avaliado em um período relativamente curto; d) a imersão das mudas cortadas em uma solução comum de oxalato reduz a variabilidade que pode ser observada quando se usa micélio de *S. sclerotiorum*; e) a variabilidade inerente ao uso de um único isolado para o teste é reduzida.

O tempo entre a imersão das mudas na solução e a avaliação da resposta ao oxalato é muito curto (15-20 horas), reduzindo, dessa forma, a influência e a variabilidade das condições ambientais que podem ocorrer em uma estufa durante um período mais longo de tempo. A escala de classificação no teste de oxalato foi projetada para quantificar o grau de dano em um genótipo por meio de uma rápida estimativa visual.

Kolkman e Kelly (2000) propuseram a seguinte chave descritiva de notas: 1: ausência de folhas murchas; 2: uma folha trifoliolada ou duas unifolioladas murcha; 3: duas folhas murchas; 4: mais de duas folhas murchas; 5: folhas e pecíolos murchos e 6: planta completamente murcha. Temperaturas extremas podem limitar a capacidade de selecionar de forma eficaz, usando o fungo. No teste de oxalato, em temperaturas de até 40 °C, houve correlação entre os resultados em casa de vegetação e campo. A resposta diferencial de genótipos de feijão expostos a uma solução de oxalato tem, portanto, correlação significativa com a correspondente classificação da reação das plantas ao mofo branco em campo. Para chegar a essas conclusões, eles realizaram um estudo para determinar se o oxalato, considerado um fator de patogenicidade primária

de *S. sclerotiorum*, poderia ser usado indiretamente para verificar a resistência fisiológica ao mofo branco em feijoeiro. Para isso, utilizaram plântulas de feijão com 21 dias, cujas raízes haviam sido cortadas e imersas em uma solução de oxalato 20 mM, na estufa. Os genótipos foram avaliados com base nas diferenças de resposta ao murchamento. As respostas ao oxalato de 27 genótipos foram correlacionadas com resultados de avaliações em campo e a correlação foi feita com índice de severidade da doença ($r=0,58^{**}$) e incidência da doença ($r=0,57^{**}$). Houve correlação negativa com o rendimento ($r=-50^{**}$). Assim, os autores concluíram que o teste de oxalato, indiretamente, permite identificar os genótipos que possuem resistência fisiológica ao mofo branco por meio da expressão de resistência ao oxalato, evitando a necessidade de testes de campo, nos quais a detecção da resistência fisiológica é confundida pelos mecanismos de defesa da planta.

Algumas evidências demonstram que o oxalato pode aumentar a agressividade de *S. sclerotiorum*. Várias enzimas fúngicas secretadas durante a invasão de tecidos vegetais, como, por exemplo, as poligalacturonase, têm máxima atividade em baixo pH (4,0). Esse exsudado de oxalato poderia ajudar *S. sclerotiorum* pela passagem do pH apoplástico a um valor ótimo para as funções das enzimas degradantes das paredes celulares em plantas (BATEMAN; BEER, 1965; MARCIANO; DI LENNA; MAGRO, 1983). O oxalato pode ser diretamente tóxico para plantas hospedeiras, presumivelmente devido à sua acidez. Portanto, a secreção de oxalato pode enfraquecer a planta, facilitando a invasão (NOYES; HANCOCK, 1981). Por último, a quelação da parede celular por ânions de oxalato pode comprometer a função do Ca^{2+} , dependendo das respostas de defesa e enfraquecer a parede celular vegetal (BATEMAN; BEER, 1965).

Os testes realizados em casa de vegetação têm se mostrado eficientes, de fácil condução, confiáveis, reprodutíveis, além de permitirem testar um grande

número de genótipos, sem, contudo, contaminar o campo (ANTONIO et al., 2008; SINGH; TÉRAN, 2008).

Souza (2009) realizou um trabalho visando identificar práticas experimentais adequadas quando se usa solução de ácido oxálico como método para discriminar genótipos com resistência fisiológica do feijoeiro ao mofo branco. Este autor detectou que o tamanho ótimo da parcela é de oito plantas e o número ideal de repetições é de, pelo menos, quatro.

2.7.2 Teste do canudo (*straw test*)

Existem diversas metodologias de avaliação por meio da inoculação artificial do patógeno (TOLÊDO-SOUZA; COSTA, 2003). A maioria desses testes depende do micélio nas avaliações e são influenciadas pela variabilidade dos isolados e pela sensibilidade do patógeno a altas temperaturas. Quando se utiliza micéliom é importante avaliar se há variação na agressividade do isolado, após sucessivas repicagens, para assegurar uma correta avaliação do nível de resistência dos genótipos. Muitos problemas relacionados à avaliação e ao melhoramento para resistência a doenças podem ser, em parte, causados pela desconsideração da variabilidade na agressividade do patógeno (SOUZA, 2009).

O *straw test*, ou teste do canudo, é o método mais simples de avaliação da resistência fisiológica dentro do tecido do caule principal. Este método é eficiente para auxiliar na identificação, na caracterização e na seleção de genótipos resistentes ao mofo branco, sendo o mais utilizado em programas de melhoramento (SINGH; TÉRAN, 2008). Por ser um método não destrutivo, permite o avanço de programas de melhoramento para a obtenção de progênies resistentes. O *straw test* foi descrito por Petzoldt e Dickson (1996). As plantas são inoculadas três a cinco semanas após a semeadura. O inóculo do patógeno é crescido em meio de batata-dextrose-ágar (BDA) adicionado de cloranfenicol,

na proporção 1 gota do antibiótico/100 mL de meio, à temperatura de 20 ± 3 °C, permitindo um crescimento uniforme. Para se obter ativo crescimento, é necessário multiplicar o fungo duas vezes e a inoculação deve ser realizada três dias após a segunda multiplicação. Nessa fase, a cultura apresenta-se com aspecto cotonoso. Ponteiras tipo Eppendorf são usadas para cortar e retirar o disco de ágar da placa, de modo que o micélio fique em contato com o ápice cortado da haste planta. Seis a oito dias após a inoculação são realizadas as avaliações de acordo com a seguinte chave descritiva de notas: 1 - plantas sem sintomas; 2 - invasão do fungo além do sítio de inoculação; 3 - invasão do fungo até próximo ao primeiro nó; 4 - quando o fungo atinge o primeiro nó; 5 - invasão do fungo além do primeiro nó; 6 - invasão do fungo até próximo ao segundo nó; 7 - quando o fungo atinge o segundo nó; 8 - invasão do fungo além do segundo nó e 9 - morte da planta (TÉLAN et al., 2006).

De acordo com Milkas et al. (2001), a resistência fisiológica detectada pelo *straw test* é um dos componentes da resistência no campo. Assim, resistência fisiológica e mecanismos de escape das plantas contribuem para resistência no campo. Combinar resistência fisiológica com mecanismos de escape da planta é uma estratégia moderna de melhoramento da cultura, visando minimizar as perdas na produção causadas pelo mofo branco.

Os locais de coleta dos isolados podem também influenciar sua agressividade. Em trabalhos com isolados coletados em uma mesma área e em diferentes áreas foram observadas diferenças na agressividade (KULL et al., 2004). Para se produzir inóculo suficiente, geralmente, realizam-se uma a duas repicagens a partir do micélio originado do escleródio em meio BDA. Esse processo demanda grande quantidade de escleródios e seria simplificado, se maior número de repicagens pudessem ser realizadas, sem alterar a agressividade do inóculo. Entretanto, a existência de variação na agressividade em um mesmo isolado derivado de sucessivas repicagens *in vitro* é informação

relevante quando se necessita fazer a avaliação de genótipos por meio da inoculação de micélio, como no procedimento do *straw test* (PETZOLDT; DICSON, 1996; SOUZA, 2009). Souza (2009) recomenda até duas repicagens do isolado *S. sclerotiorum* em meio BDA. Em relação aos procedimentos experimentais em campo, pelo menos oito plantas por parcela e três repetições são consideradas eficientes para a discriminação de genótipos utilizando o *straw test* (CARNEIRO et al., 2011).

2.8 Seleção recorrente em feijoeiro

A produtividade, o tipo de grãos e a arquitetura das plantas do feijoeiro, no Brasil, estão entre os caracteres mais importantes para a aceitação de uma nova cultivar pelos agricultores. As informações sobre o controle genético desses caracteres no feijoeiro indicam que está envolvido grande número de genes (BASSET, 2004; TEIXEIRA; RAMALHO; ABREU, 1999). Assim, quando se pretende realizar o melhoramento para um ou mais caracteres, controlados por vários genes, é impossível se obter sucesso em um único ciclo seletivo. A principal alternativa é o emprego da seleção recorrente (HALLAUER, 1992).

A seleção recorrente é um processo sistemático de seleção de indivíduos dentro de uma população geneticamente heterogênea, seguido da recombinação dos indivíduos selecionados para formar uma nova população; esta, por sua vez, é utilizada para iniciar novo ciclo de seleção. Portanto, a seleção recorrente é um processo dinâmico e contínuo, que envolve a obtenção de progênies, a avaliação e o intercruzamento das melhores, visando, desse modo, aumentar a frequência de alelos favoráveis e, por consequência, melhorar a expressão fenotípica do caráter sob seleção (CORDEIRO; MEDEIROS, 2010; GERALDI, 1997; RAMALHO; SANTOS; ZIMMERMANN, 1993).

A escolha dos genitores que originarão a população base é um aspecto fundamental no estabelecimento de um programa de seleção recorrente. É necessário, primeiramente, estabelecer as características desejadas, as quais estão relacionadas aos aspectos sócio-econômico, tecnológicos e às condições de ambiente da região em que a variedade está destinada a ser cultivada. O número de genitores a ser utilizado é também muito importante. Se utilizado um número muito grande, a probabilidade de encontrar todos os genitores com boa expressão para o caráter é pequena e maior é o número de ciclos de seleção e recombinação exigidos para concentrar o máximo de alelos favoráveis em genótipos únicos. Se o número de genitores for muito pequeno, a chance de associar a maioria dos alelos favoráveis, para o caráter em questão, é também pequena. De 10 a 20 genitores é um número satisfatório (FERREIRA et al., 2000; RAMALHO; ABREU; SANTOS, 2001).

Paralelamente, progênies podem ser extraídas no decorrer de cada ciclo de seleção recorrente e ser conduzidas por métodos tradicionais de melhoramento visando à obtenção de linhagens.

A seleção recorrente é estratégia importantíssima para a recomendação de variedades melhoradas com os consequentes aumentos das frequências de alelos favoráveis. O processo de seleção é contínuo e só termina quando as progênies obtidas alcançam o desempenho almejado (CARGNIN, 2007).

Na seleção recorrente, pode-se realizar a seleção fenotípica, que é aquela realizada no indivíduo, e seleção de progênies, a qual utiliza uma população estruturada em famílias S_1 , S_2 , etc. (CARGNIN, 2007).

O sucesso da seleção recorrente está fundamentado na eficiência em promover o incremento da frequência de alelos favoráveis para a característica sob seleção.

Comparativamente aos métodos tradicionalmente utilizados para o melhoramento de espécies autógamas, o métodos de seleção recorrente é muito

eficiente, e portanto recomendável, para características quantitativas, devido às seguintes propriedades: maior capacidade de geração e de manutenção de variabilidade ao longo dos diferentes ciclos, por possibilitar o cruzamento entre um grande número de genitores e por garantir maior oportunidade de recombinação em função dos cruzamentos sucessivos; maior eficácia no aumento da frequência de alelos favoráveis devido ao processo seleção repetida e cumulativa e maior facilidade para incorporar germoplasma exótico na população (GERALDI, 1997).

Diante das propriedades da seleção recorrente, ela vem sendo utilizada para aumentar os níveis de resistência horizontal do feijão a algumas doenças. Isso vem ocorrendo devido à ineficiência do uso da resistência vertical, como, por exemplo, para mancha angular, e ao fato da resistência ao mofo branco ser essencialmente do tipo horizontal.

Utilizando a seleção recorrente fenotípica para a resistência à mancha angular no feijoeiro, Amaro et al. (2007) obtiveram resultados satisfatórios.

Em relação ao mofo branco, Carneiro et al. (2011) constataram que progênies derivadas do primeiro ciclo de seleção possuem ampla variação de resistência.

A seleção recorrente fenotípica também se mostrou efetiva em reduzir o número de dias para o florescimento, a qual contou com um progresso com a seleção de 2,2% ao ano (SILVA; RAMALHO; ABREU, 2007).

2.9 Marcadores moleculares no melhoramento de plantas

Várias técnicas que permitem revelar variabilidade em DNA estão disponíveis. Fragmentos de DNA que diferenciam dois ou mais indivíduos e são herdados geneticamente são conhecidos como marcadores moleculares, os quais são ferramentas úteis para detectar variações no genoma, aumentando o poder da

análise genética em plantas. Atualmente, existe grande variedade de marcadores moleculares disponíveis para diferentes espécies. Neste contexto, a tecnologia dos marcadores de DNA pode contribuir significativamente para o conhecimento básico da cultura e do caráter estudado, bem como para a geração e o desenvolvimento de produtos melhorados (BORÉM; CAIXETA, 2006).

O uso das técnicas moleculares possibilita uma análise mais detalhada dos genótipos e por isso tem sido defendido em alguns casos.

Na década de 1990 a 2000, os marcadores de maior utilização foram o *random amplified polymorphic DNA* (RAPD), o *restriction fragment length polymorphism* (RFLP), o *amplified fragment length polymorphisms* (AFLP) e os microssatélites ou *simple sequence repeat* (SSRs) (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1995). A partir do ano 2000 até o presente, o SSR e o AFLP continuam sendo muito utilizados, acrescido do *single nucleotide polymorphisms* (SNP), esse último, principalmente, por grandes empresas.

O genoma dos eucariotos contém sequências repetitivas que podem ser utilizadas como marcadores de DNA. As sequências simples repetidas (SSR), ou microssatélites, são um dos marcadores mais polimórficos encontrados hoje nos genomas de animais e plantas. Marcadores SSR são caracterizados por uma sequência de 1 a 6 nucleotídeos de comprimento, que pode estar repetida em tandem. O polimorfismo alélico ocorre em um loco SSR, devido a mudanças no número de repetições (SALLES et al., 2003).

Os SSRs possuem inúmeras vantagens porque podem ser amplificados por PCR, são codominantes e estão distribuídos por todo o genoma. Juntas, essas características fazem do locus microssatélite um dos melhores marcadores genéticos para fins de mapeamento (OLIVEIRA et al., 2006).

A detecção de sequências de microssatélites amplificadas é feita em gel de poliacrilamida ou agarose de alta resolução e separadas por eletroforese e/ou sequenciadores.

Entre as classes de marcadores existentes, o SSR é o que mais se aproxima do marcador ideal para o estudo de genética de populações (RAFALSKI; TINGEY; WILLIAMS, 1991).

Com o advento dos marcadores moleculares, há a possibilidade de identificar alguns que estejam ligados às regiões genômicas onde ocorrem os alelos de interesse (ALLARD, 1999). Especialmente em população sob efeito de seleção, marcadores moleculares codominantes, como os microsatélites, são importantes na verificação das mudanças nos parâmetros genéticos das populações ao longo dos ciclos de seleção, já que identificam alterações e perdas alélicas em cada loco individualmente (OLIVEIRA et al., 2005).

Quando um alelo está sujeito à seleção, sua frequência nos descendentes não é a mesma encontrada nos genitores, porque eles contribuem desigualmente com alelos para a próxima geração. Desse modo, a seleção causa uma mudança na frequência alélica e, conseqüentemente, na frequência genotípica (FALCONER; MACHAY, 1996). Esse tipo de marcador tem sido utilizado com sucesso nos estudos dos efeitos da seleção recorrente na estrutura genética das populações sob seleção (PINTO et al., 2003). Isso permite, por exemplo, selecionar marcadores associados à resistência à mancha angular a partir da alteração das frequências alélicas ao longo dos ciclos de seleção recorrente, visando identificar aqueles que podem auxiliar na seleção.

Leite (2010), ao verificar se a seleção natural alterou a frequência de alelos de microsatélites do feijão em populações conduzidas em diferentes níveis de N, concluiu que a seleção atua em vários locos microsatélites que podem estar associados a regiões genômicas específicas para maior eficiência do uso de N.

A fim de determinar o efeito da seleção natural sobre os genótipos de uma população autógama, Allard e Hansche (1964), Allard, Jain e Workman (1968), Allard e Workman (1963) e Hedrick (1999) propuseram a determinação

dos coeficientes de adaptabilidade relativa (ω) sobre cada genótipo de um dado gene. Foi verificado que esses coeficientes fluuavam ao longo das gerações de autofecundação e que a variabilidade nos coeficientes de seleção é devido a mudanças na composição genotípica das populações.

2.10 Identificação de QTLs em feijoeiro

A maioria dos caracteres de importância econômica apresenta herança poligênica. Para estes caracteres, a variação entre indivíduos é resultante da variação de múltiplos locos, da interação entre eles e dos efeitos ambientais envolvidos na determinação dos fenótipos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1995; VARSHNEY; TUBEROSA, 2008). Cada loco que controla esses caracteres quantitativos, e que é identificado por um ou mais marcadores, recebe a designação de *quantitative trait loci*, ou QTL. A detecção de ligação entre um QTL e marcadores genéticos é uma importante ferramenta para o estudo da arquitetura das características quantitativas (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1995; HALLEY; ANDERSON, 2002).

O mapeamento genético é uma poderosa ferramenta para o geneticista. Em 1961, foi publicado por Lamprecht o primeiro mapa de ligação para *P. vulgaris*, baseado em marcadores morfológicos, apresentando oito grupos de ligação. Nas décadas seguintes, vários pesquisadores se dedicaram a gerar outros marcadores morfológicos e bioquímicos. Utilizando o conjunto de dados disponíveis até então, Basset (1991) publicou um mapa de feijão revisado, contendo 13 grupos de ligação. Com o advento dos marcadores de DNA, vários mapas de ligação foram publicados para *P. vulgaris*, construídos a partir de diferentes populações e marcadores, como RAPD, RFLP e SSR.

Tais mapas de ligação foram utilizados por Freyre et al. (1998) para a construção do mapa consenso da espécie, a partir de uma população oriunda do

cruzamento entre ‘Bat 93’ e ‘Jalo EEP558’. O mapa consenso apresentou 563 marcadores, distribuídos em 11 grupos de ligação e seu comprimento total foi de 1226 cM. Esse mapa é tido como referência para *P. vulgaris* e novos marcadores moleculares continuam sendo mapeados (BLAIR et al., 2003; HANAI et al., 2009; SOULE et al., 2011).

Os mapas de ligação são importantes por constituírem uma informação básica, necessária para a realização de estudos mais avançados, como o mapeamento de genes de interesse associados a características qualitativas ou quantitativas, bem como estudos comparativos de homologia genômica. Pode auxiliar, ainda, no estabelecimento de programas de melhoramento com maior grau de previsibilidade dos resultados.

Embora o mapeamento de marcadores seja o procedimento mais usado para identificação de QTLs, ele demanda tempo e trabalho com a geração e a avaliação da população segregante. Além disso, os resultados nem sempre são úteis para auxiliar na seleção de todos os genótipos. Assim, a identificação da alteração na frequência alélica de marcadores, em populações segregantes sob seleção, também pode auxiliar na identificação de alguns marcadores de QTLs (ALLARD, 1999; LEITE et al., 2011; RODRIGUES; SANTOS, 2006).

Um grande número de caracteres quantitativos já teve vários QTLs identificados por marcadores. Para a maioria dos caracteres, o número de QTLs é grande, de pequeno efeito e com fortes interações com o ambiente. Neste caso, raramente são utilizados na seleção assistida (TORGA, 2008).

Apesar do pouco sucesso obtido com a seleção assistida em caracteres quantitativos, há relatos de que o QTL *Phs*, identificado por Miklas (2005), tem grande efeito para explicar a variação fenotípica (MIKLAS, 2007; MIKLAS et al., 2001). A banda amplificada pelo par de *primers* do SCAR *Phs* (5’AGCATATTCTAGAGGCCTCC3’ e 5’GCTCAGTTCCTCAATCTGTT3’) é derivada do genitor resistente G122 e tem cerca de 285 pb. Esse *primer*

amplifica parte do alelo para faseolina T presente em feijão de origem andina (KAMI et al., 1995). O alelo da faseolina T está mapeado no grupo de ligação B7 de *P. vulgaris* (FREYRE et al., 1998).

Miklas et al. (2001) observaram que o QTL *Phs* explicou 38% da variação fenotípica da reação ao mofo branco, quando avaliada pelo método do *straw test* e 26% quando avaliada no campo. Miklas (2006), ao avaliar duas populações de feijão, constatou que este mesmo QTL explicou de 42% a 64% da variação fenotípica da resistência ao mofo branco, quando avaliada pelo método *straw test* e apresentou menor efeito no campo, 17% e 12%.

Antônio (2011) identificou os marcadores BM175, SSR-IAC159, ATA7 E ATA9 como potenciais para seleção indireta, visando resistência ao mofo branco, e mapeou quatro QTLs estáveis: WM2.1, WM2.2, WM2.3 e WM2.4.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

O experimento para verificar a reação das linhagens ao ácido oxálico foi conduzido em casa de vegetação; o experimento de campo (*straw test*), na área experimental e as análises com SSR e SCAR *Phs*, no Laboratório de Genética Molecular, todos no Departamento de Biologia (DBI) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). O município de Lavras situa-se na região sul do estado de Minas Gerais, a 918 metros de altitude, nas coordenadas 21°58' de latitude Sul e 42°22' de longitude Oeste.

3.2 Linhagens utilizadas

O material vegetal utilizado foi obtido de um programa de seleção recorrente iniciado com o intercruzamento, no esquema dialélico parcial, entre sete linhagens com grãos tipo carioca (Carioca MG, CI-140, CI-128, ANPAT 8.12, IAPAR 81, ESAL 693 e Pérola) e dez fontes de resistência à mancha angular (*P. griseola*) (AN 512561, AND 277, Ouro Negro, Compuesto Negro Chimaltenango, CAL 143, MAR 2, MAR 1, G 5686, MA 4.137 e Jalo), incluindo diversos tipos de grãos. Todo o procedimento utilizado na obtenção das 35 progênies (cinco progênies selecionadas por sete ciclo de seleção recorrente) que foram utilizadas está descrito em Amaro (2006).

Foram utilizadas ainda uma testemunha suscetível (IPR-Corujinha) e uma resistente (G-122). Segundo dados do Instituto Agrônomo do Paraná - IAPAR (2011), a cultivar Corujinha pertence ao grupo comercial rajado e recebeu esse nome devido à aparência peculiar de seus grãos: um mosaico formado por listas e pontuações nas cores marrom e bege, bastante semelhante à plumagem das corujas. Apresenta porte ereto, favorecendo a colheita mecânica e

ciclo médio de 87 dias. Essa cultivar tem apresentado alta suscetibilidade ao mofo branco. A cultivar G122 tem hábito de crescimento determinado (tipo I) (SINGH, 1982), é de origem andina, sementes grandes, tipo rajada de fundo bege e rajas vinho. Essa cultivar tem apresentado resistência de campo ao mofo branco (STEADMAN et al., 1999) que, provavelmente, resulta da resistência fisiológica (MIKLAS et al., 2001).

3.3 Avaliação indireta das progênes por meio da reação ao ácido oxálico

Foram semeadas 60 sementes de cada um dos 54 genótipos (35 progênes de feijão-comum, 17 genitores, testemunha suscetível e testemunha resistente), em bandejas de isopor contendo substrato comercial Plantmax®, para a obtenção de plantas de feijão. Semeou-se uma semente por célula da bandeja. Após o surgimento da segunda folha trifoliolada, por volta de 20 dias após a semeadura, selecionaram-se as 30 plantas mais uniformes.

Devido à limitação de espaço no laboratório, foram conduzidos cinco experimentos. Em 4 destes foram avaliados 11 genótipos por vez e no quinto, foram avaliados os 8 genótipos restantes. Além dos 52 genótipos, utilizou-se a cultivar suscetível Corujinha como testemunha comum em cada experimento. Implantou-se cada experimento utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado com três repetições, sendo cada parcela representada por 10 plantas.

Foram utilizadas plantas com 20 a 21 dias de idade (com a folha trifoliolada emitida). Estas foram cortadas na base do caule, à tarde e a parte inferior do caule (2 cm) foi imersa em solução de ácido oxálico 20 mM, mantida em recipiente plástico, por um período de 15 a 20 horas durante a noite em ambiente protegido. A solução teve o pH ajustado para 4 com hidróxido de sódio (NaOH). O controle (tratamento sem ácido oxálico) consistiu em recipiente com água destilada (pH 4), no qual foi colocada imersa a testemunha.

A reação de cada planta foi determinada por meio da chave descritiva proposta Kolkman e Kelly (2000): 1. ausência de folhas murchas; 2. uma folha trifoliolada ou as duas unifolioladas murchas; 3. duas folhas murchas; 4. mais de duas folhas murchas; 5. folhas e pecíolos murchos e 6. planta completamente murcha. Foi atribuída uma nota por planta. Os sintomas de murcha abrangem desde o enrolamento da ponta da folha até a perda total de turgidez da folha inteira.

3.4 *Straw test* ou teste do canudo

No campo, os experimentos foram instalados em blocos casualizados com 3 repetições, tendo cada parcela sido representada por uma linha de 1 m com 10 plantas inoculadas com *S. sclerotiorum*.

A semeadura foi realizada na safra de outono-inverno, com espaçamento entre linhas de 0,60 m e a densidade de semeadura de quinze sementes por metro linear. A adubação ocorreu na semeadura, com 300 kg/ha da fórmula 8-28-16 (N-P₂O₅-K₂O) com posterior aplicação de 150 kg/ha de sulfato de amônio em cobertura, aproximadamente vinte dias após a emergência. A irrigação foi realizada normalmente por aspersão sempre que necessário.

O inóculo de *S. sclerotiorum* foi obtido a partir de escleródios de um isolado agressivo derivado do estado de Goiás. O inóculo foi multiplicado duas vezes, a fim de obter maior uniformidade em meio BDA a 20±3 °C, em BOD, por três dias e fotoperíodo de 12 horas. Três dias após a segunda multiplicação, utilizaram-se ponteiros Eppendorf com disco de ágar contendo micélio para inocular plantas com, aproximadamente, 28 dias de idade. Para a inoculação, o ápice do caule principal da planta foi seccionado e a ponteira com o disco de meio e micélio foi encaixada. Oito dias após a inoculação, foi realizada a avaliação de cada planta quanto à reação ao mofo branco, por meio de uma

escala diagramática proposta por Téran et al. (2006), cuja descrição é: 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 - morte da planta.

3.5 Extração de DNA

O DNA das 35 progênies e dos 17 genitores foi extraído de acordo com o procedimento usado por Pereira et al. (2007).

Foram utilizadas amostras de cerca de 2 g de folhas jovens de cada planta, trituradas com 10 mL de tampão de extração e 20 μ L de β -mercaptoetanol, em almofariz com nitrogênio líquido. O tampão de extração é constituído de 2% de CTAB, 100 mM de TRIS (pH 8,0), 1,4 M de NaCl e 1% de polivinilpirrolidona (PVP). O material triturado permaneceu incubado, por 30 minutos, em tubos de centrífuga, em banho-maria, a 65°C, sob agitação leve. Após o banho-maria, os ácidos nucleicos foram extraídos com 10 mL da solução clorofórmio: álcool isoamil (24:1) e, depois de centrifugados para separar a fase orgânica da aquosa, o sobrenadante, que contém os ácidos nucleicos, foi coletado. Estes foram precipitados pela adição de 30 mL da mistura de etanol 95%:acetato de amônio 7,5M (6:1) e mantidos em um freezer, a -20 °C, por uma noite. Após a precipitação, os ácidos nucleicos foram transferidos para tubos de microcentrífuga Eppendorf, centrifugados e secos. Em seguida, os ácidos nucleicos foram reidratados em tampão TE (1 mM de TRIS e 0,1 mM de EDTA). Foi realizada a segunda extração com clorofórmio:fenol:isoamílico (24:25:1) e os ácidos nucleicos do sobrenadante foram novamente precipitados pela adição de, pelo menos, três volumes de uma mistura de acetato de sódio

3M: etanol 95% (1:20). Os ácidos nucleicos precipitados foram reidratados em tampão TE. Alíquotas de DNA obtidas de cada linhagem foram quantificadas em gel de agarose 1%, ao lado de um padrão de concentração de DNA, construído a partir de DNA de fago λ , nas concentrações de 100, 200 e 300 ng/ μ L. Mediante comparação visual da intensidade das bandas do DNA das amostras e dos padrões, a concentração de cada amostra foi estimada e, posteriormente, diluída para a concentração de, aproximadamente, 10 ng/ μ L, utilizada nas reações.

3.6 Processo de amplificação de DNA e eletroforese

Cada reação foi preparada em um volume de 12 μ L, misturando-se os seguintes reagentes com as respectivas concentrações (PEREIRA et al., 2007): 20 ng de DNA genômico; 100 μ M de cada um dos desoxirribonucleotídeos (dATP, dGTP, dCTP e dTTP); uma unidade da enzima Taq DNA polimerase; 2,25 μ L do par de *primers*; 2,0 μ M de tampão de reação (50 mM tris pH 8,3; 2,0 mM MgCl₂; 20 mM de KCl; 10 μ g de BSA; 0,25% de ficoll 400; 10 mM de tartrazine) e água bidestilada, até totalizar 12 μ L. As amplificações foram realizadas em tubos de 0,2 mL, em termociclador modelo Mastercycler Eppendorf, por meio do seguinte programa: uma etapa de dois minutos, a 94 °C (desnaturação inicial), seguida de 40 ciclos, sendo cada um de 15 segundos (desnaturação), a 94 °C; 30 segundos (anelamento dos *primers*) em temperatura variável de 55 °C a 60 °C e 30 segundos (extensão) a 72 °C. Finalmente, uma etapa de dois minutos, a 72 °C (extensão final). Os produtos da amplificação foram separados por eletroforese, em gel de poliacrilamida 6%, em tampão TBE (0,045 M tris-borato e 0,001 M EDTA), a 80V, por três horas e meia. Posteriormente, foram corados em nitrato de prata e fotografados em câmera digital.

Foram utilizados *primers* SSR, cujas sequências estão disponíveis em Bean Improvement Cooperative - BIC (2007). Além dos SSR, utilizou-se também o SCAR Phs, que identifica um QTL importante para a resistência ao mofo branco, segundo Miklas (2005).

3.7 Análise dos dados

Inicialmente, foi obtida a média por parcela. Os dados de notas médias por parcela foram submetidos à análise da variância (Tabela 1). No experimento com ácido oxálico foi realizada a análise agrupada dos cinco experimentos. Os resultados foram obtidos com a execução do procedimento PROC GLM do programa SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS INSTITUTE, 2000). Posteriormente, as médias ajustadas dos diferentes genótipos foram agrupadas, pelo teste de Scott e Knott (1974), a 5% de probabilidade. Foi calculado, ainda, o coeficiente de correlação de Spearman das médias para resistência ao mofo branco, com as médias de severidade de mancha angular obtidas por Rezende, Abreu e Ramalho (2010), para essas mesmas progênies. Para isto utilizou-se o software GENES (CRUZ, 2006).

Foram estimadas as herdabilidades e seus intervalos de confiança segundo a expressão de Knapp, Stoup e Ross (1985). Os estudos de herdabilidade têm sido utilizados em populações nas quais os indivíduos constituem uma amostra aleatória. Quando aplicados a conjunto de materiais genéticos pré-selecionados, é normal utilizar a expressão coeficiente de determinação genotípico que, analogamente à herdabilidade, expressa a quantidade da variação fenotípica observada, que é devido a causas genéticas, no grupo particular de progênies avaliado. Essa estimativa será referida como herdabilidade (h^2).

Tabela 1 Esquema das análises de variância para os experimentos em ácido oxálico e *straw test*

Fontes de variação	Ácido oxálico	
	QM	F
Experimento		
Genótipos	Q1	Q2/Q6
Entre progênes	Q2	Q3/Q6
Entre genitores*	Q3	Q4/Q6
Progênes vs genitores	Q4	Q5/Q6
Tratamento regular vs tratamento comum	Q5	Q6/Q6
Erro	Q6	
	<i>Straw test</i>	
Bloco	Q1	
Genótipos	Q2	Q2/Q6
Entre progênes	Q3	Q3/Q6
Entre genitores**	Q4	Q4/Q6
Progênes vs genitores	Q5	Q5/Q6
Erro	Q6	

* Nesta fonte de variação foi incluída a testemunha resistente G122, para fins de comparação

** Nesta fonte de variação estão inclusas as duas testemunhas (Corujinha e G122), para fins de comparação

As estimativas de herdabilidade foram obtidas por meio das expressões:

$$h^2 = (Q2 - Q6)/Q2$$

As expressões para a estimativa dos intervalos de confiança foram as seguintes:

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

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

em que:

$\alpha = 5\%$ de probabilidade

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

$F_{\alpha/2} = F_{0,025}$ = quantil inferior;

Para cada experimento foram calculadas as estatísticas coeficiente de variação experimental (CVe) e acurácia seletiva (r_{gg}) (RESENDE; DUARTE, 2007), pela expressão:

$$r_{gg} = (1-1/F)^{1/2}$$

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

3.8 Teste da alteração das frequências genóticas nos sete ciclos de seleção recorrente

Primeiramente, foi verificada a existência de polimorfismo entre os genitores, com aproximadamente 400 pares de *primers* amplificadores de regiões microssatélites (SSR) aleatórias de *P. vulgaris*, cujas sequências estão disponíveis em BIC (2007). Posteriormente, os *primers* polimórficos identificados foram avaliados nos parentais e nas progênes de cada ciclo. Foram utilizados também os SSRs identificadores de alguns QTLs para resistência ao mofo branco (ANTÔNIO, 2011).

A identificação dos fragmentos de DNA amplificados por marcadores microssatélites foi efetuada realizando-se uma análise visual, gerando uma matriz de 0, 1 e 2 que corresponde ao homozigoto $A_i^1A_i^1$, ao homozigoto $A_i^2A_i^2$ e ao heterozigoto $A_i^1A_i^2$, respectivamente, em que A_i^1 e A_i^2 correspondem aos alelos 1 e 2 do i -ésimo marcador microssatélite. Quando presentes em um loco mais de dois alelos, foram computados os genótipos identificados por $A_i^jA_i^j$, em

que j é o j -ésimo alelo do i -ésimo loco. O genótipo com valores diferentes de j corresponde ao heterozigoto.

Para comparar as proporções genóticas das linhagens parentais e das progênies de cada ciclo e para cada loco, foi realizado o teste estatístico qui-quadrado (χ^2), que permite verificar se as frequências se desviam casualmente ou não das esperadas. A expressão geral é representada por $\chi^2 = \Sigma(FO - FE)^2 / FE$, em que FO é a frequência observada de um dado genótipo nas progênies de cada um dos sete ciclos de seleção recorrente selecionadas e FE, a frequência esperada do mesmo genótipo. Para isso, foi considerada como frequência genotípica esperada a mesma observada nos genitores. Deve-se ressaltar que foi realizada uma “correção” nas frequências esperadas dos genitores, de acordo com sua participação nos cruzamentos realizados no início do programa de seleção recorrente que originou as progênies avaliadas nesse trabalho. Isto foi necessário devido à incompatibilidade presente nas cultivares utilizadas (andinas e mesoamericanas) que resultou em perda de algumas combinações. Dessa forma, considerou-se a participação efetiva de cada genitor, já que nem todos contribuíram com a mesma proporção de alelos.

A fim de obter uma melhor aproximação da distribuição de χ^2 , foi realizada a correção de Yates, que consiste em subtrair 0,5 dos desvios. Steel e Torrie (1980) recomendam que essa prática seja aplicada sempre que o grau de liberdade das classes avaliadas for um. Assim, a expressão do χ^2 passa a ser:

$$\chi^2 = \sum \left\{ \frac{(FO - FE - 1/2)^2}{FE} \right\}$$

3.9 Estimativas dos coeficientes de adaptabilidade relativa acumulados médios

Considerando que a estimativa da taxa de cruzamento natural do feijão na região é de, aproximadamente, $T = 0,005$ (MARQUES JÚNIOR; RAMALHO, 1995; PEREIRA FILHO; CAVARIANI, 1994) e a taxa correspondente de autofecundação $S = 1-T = 0,995$, foram estimadas as frequências genótípicas para cada par de *primer* (loco) nas progênes de cada ciclo. Para esse estudo foram considerados apenas alguns pares de *primers* com dois alelos.

Considerando “A¹” e “A²” as frequências alélicas em cada loco, as frequências genótípicas estimadas nas gerações n e $n+1$ são fornecidas pelas expressões (ALLARD; JAIN; WORKMAN, 1968; RODRIGUES; SANTOS, 2006):

$$\text{Freq}(A^1A^1) = f_1^{(n+1)} = S[f_1^{(n)} + 0,25f_2^{(n)}] + T[f_1^{(n)} + 0,5f_2^{(n)}]^2$$

$$\text{Freq}(A^1A^2) = f_2^{(n+1)} = S[0,5f_2^{(n)}] + 2T[f_1^{(n)} + 0,5f_2^{(n)}][f_3^{(n)} + 0,5f_2^{(n)}]$$

$$\text{Freq}(A^2A^2) = f_3^{(n+1)} = S[f_3^{(n)} + 0,25f_2^{(n)}] + T[f_3^{(n)} + 0,5f_2^{(n)}]^2$$

Deve-se ressaltar que, neste trabalho, a geração n considerada corresponde à geração S_0 do intercruzamento dos genitores no esquema do programa de seleção recorrente.

Considerando o coeficiente de adaptabilidade relativa sobre o genótipo A^1A^1 como ω_1 , sobre o genótipo A^2A^2 como ω_3 e sobre o genótipo A^1A^2 como $\omega_2=1,0$, foram estimados os coeficientes médios de adaptabilidade relativa

acumulada para os locos com dois alelos para as cinco progênies de cada ciclo, por meio das expressões (ALLARD; HANSCHKE, 1964; HEDRICK, 1999):

$$\omega_1 = \frac{O_1 \cdot [(0,5SH + 2T(P+0,5H)(R + 0,5H)]}{O_2 \cdot [S(P + 0,25H) + T(P + 0,5H)^2]}$$

$$\omega_3 = \frac{O_3 \cdot [(0,5SH + 2T(P+0,5H)(R + 0,5H)]}{O_2 \cdot [S(R + 0,25H) + T(R + 0,5H)^2]}$$

em que P e O₁: proporções de A¹A¹ nas gerações n e n+1, respectivamente; H e O₂: proporções de A¹A² nas gerações n e n+1; R e O₃: proporções de A²A² nas gerações n e n+1. A geração n corresponde à última geração de avaliação e seleção de progênies S_{0,4}, admitindo-se ausência do efeito da seleção recorrente, isto é, as proporções genótípicas esperadas em S₀. A geração n+1 corresponde às frequências genótípicas observadas nas progênies em S_{0,5}.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Reação ao mofo branco pelo *straw test*

Pela análise de variância (Tabela 2), pode-se observar que houve diferença significativa ($P < 0,01$) entre os genótipos avaliados, o que indica que os diferentes genótipos possuem níveis diferentes de resistência ao mofo branco. Dessa forma, possuem também diferentes alelos de resistência. Isso evidencia a existência de variabilidade genética entre os genitores e progênes, condição essa favorável para o sucesso com a seleção. Resultados semelhantes foram observados em outros trabalhos de avaliação de resistência em feijoeiro por esse mesmo método (ANTÔNIO et al., 2011; CARNEIRO et al., 2010; CARVALHO et al., 2010; LIMA, 2010; LIMA et al., 2011).

O experimento foi conduzido com alto grau de precisão experimental. Isso pode ser observado pelo elevado valor de acurácia seletiva ($r_{gg}\%$), observado na Tabela 1. A estimativa da h^2 foi elevada (66,09%) e seu limite inferior positivo indica que a estimativa obtida, com 95% de probabilidade, deve ser diferente de zero. Estes resultados indicam que a seleção pode ser efetuada com eficiência.

Tabela 2 Análise de variância da reação ao mofo branco das 35 progênes, 17 genitores e 2 testemunhas, aos 28 dias após a semeadura, pelo *straw test* em feijoeiro

FV	GL	QM
Bloco	2	11,94
Genótipos	53	1,16*
Entre progênes	34	1,47*
Entre genitores	18	1,02*
Progênes vs genitores	1	0,007
Erro	106	0,39
Total	161	
CV(%)		14,13
Média		4,45
h ² (%)		66,09
h ² _{LI}		44,7
h ² _{LS}		78,41
r _{gg}		81,29

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

Dos 17 genitores utilizados para a obtenção da população base do programa de seleção recorrente para resistência a mancha angular, 9 apresentaram-se no grupo dos resistentes ao mofo branco, conforme os teste de Scott e Knott (1974), com nota média inferior a 4,36 (Tabela 3). Destes, cinco pertencem ao grupo carioca e destaca-se a cultivar CI 128, que apresentou menor média (2,88). Esta cultivar apresenta grão tipo grande, bege com estrias marrons e hábito de crescimento indeterminado – II. Os quatro genitores restantes do primeiro agrupamento, CAL 143, AND 277, Jalo e Ouro Negro, são fontes de resistência a várias raças de *P. griseola*.

A ampla variabilidade observada nos genitores indica que alguns possuem alelos de resistência ao mofo branco. Assim, há possibilidade de associação desses alelos no programa de seleção recorrente e obtenção de progênes com níveis superiores de resistência.

Tabela 3 Média das notas de reação ao mofo branco, pelo *straw test* dos 17 genitores utilizados no início do programa de seleção recorrente para resistência à mancha angular e testemunhas

Genitores	Média*	Genitores	Média
CI 128	2,88 a	G 5686	4,40 b
G-122**	3,74 a	MA 4. 137	4,55 b
CAL 143	3,80 a	AN51	4,65 b
Pérola	4,03 a	Mar 1	4,68 b
ESAL 693	4,04 a	Comp. Negro	4,91 b
AND 277	4,06 a	Carioca-MG	5,04 b
CI 140	4,15 a	Mar 2	5,44 c
Jalo	4,16 a	IAPAR 81	5,48 c
ANPAT 8.12	4,20 a	Corujinha**	5,86 c
Ouro Negro	4,36 a		

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

** Testemunha resistente: G-122, testemunha suscetível: Corujinha

O nível de resistência das progênies avaliadas pode ser considerado bom, haja vista que foi possível identificar 15 progênies com notas médias abaixo de 4,45 (média das progênies). A testemunha suscetível (Corujinha) alcançou nota 5,86.

Entre as 35 progênies avaliadas, sete apresentaram nota média inferior a 4,0 (Tabela 4), sendo MA I - 2.5 do ciclo I; MAII - 16 do ciclo II; MAIII - 17.179, MAIII - 9.91 e MAIII - 16.159 do ciclo III e MAVII - 127 e MAVII - 129 do ciclo VII. Deve-se destacar que, mesmo em ciclos iniciais, algumas progênies apresentaram nota média de reação ao mofo branco semelhante à da cultivar G-122, que foi utilizada como testemunha e que apresenta bom nível de resistência a *S. sclerotiorum*. Assim, pode-se inferir que o nível de resistência da população original era considerado alto. Arantes, Abreu e Ramalho (2010) observaram o mesmo em relação às notas de severidade à mancha angular, para as mesma, progênies.

O que se se percebe é que, até o C-III, a tendência foi de redução na média das progênies, ou seja, expressaram maior resistência. Contudo, principalmente em C-IV e C-V, houve elevação nas médias, indicando menor resistência nestes ciclos. No C-VI e C-VII, ocorre, novamente, redução nas médias. De acordo com esses resultados, a seleção foi mais eficiente até o terceiro ciclo de seleção recorrente e menos eficiente, principalmente em C-IV e C-V. Deve-se ressaltar que três linhagens (UTF 0029, UTF 0037 e CNFC 9484) foram introduzidas na recombinação para a obtenção do C-IV. Dessa forma, as progênies obtidas após essa recombinação apresentaram o nível de resistência reduzido. No entanto, após novos ciclos de seleção e recombinação, percebe-se uma leve melhoria no desempenho das progênies, o que significa que a resistência está sendo recuperada. Contudo, é importante salientar que a seleção recorrente foi praticada visando resistência à mancha angular. Além disso, durante a avaliação das progênies, na maioria das vezes, o mofo branco não esteve presente na área. Por essa razão é que o nível de resistência ao mofo branco se manteve semelhante ao dos genitores. É também válido notar que todas as progênies selecionadas são do tipo carioca. A comparação por meio do contraste entre progênies e genitores indica que não houve diferença significativa entre os níveis de resistência médios entre eles. O fato de as progênies, no geral, preservarem os níveis de resistência dos genitores implica na não associação entre tipo de grãos e reação ao mofo branco, o que é um aspecto favorável.

Tabela 4 Média das notas de reação ao mofo branco por meio do *straw test* das 35 progênes de feijoeiro provenientes de sete ciclos de seleção recorrente

Ciclo	Progênes	Média*	Ciclo	Progênes	Média
I	MA I - 2,5	3,79 a	V	MAV - 14.206	4,05 a
	MA I - 2,10	4,14 a		MAV - 1.7	4,51 b
	MA I - 8,9	4,26 a		MAV - 3.36	4,72 b
	MA I - 18,13	4,51 b		MAV - 5.60	5,01 b
	MA I - 6,10	5,60 c		MAV - 7.85	5,02 b
Média do C-I		4,46	Média do C-V		4,66
II	MAII - 16	3,37 a	VI	MAVI - 60	4,04 a
	MA II - 22	4,41 b		MAVI - 39	4,44 b
	MAII - 10	4,50 b		MAVI - 21	4,62 b
	MAII - 8	4,68 b		MAVI - 20	4,88 b
	MAII - 2	4,98 b		MAVI - 24	4,99 b
Média do C-II		4,39	Média do C-VI		4,59
III	MAIII - 17.179	3,36 a	VII	MAVII - 127	3,77 a
	MAIII - 9.91	3,61 a		MAVII - 129	3,86 a
	MAIII - 16.159	3,91 a		MAVII - 92	4,58 b
	MAIII - 17.185	4,14 a		MAVII - 34	4,50 b
	MAIII - 16.155	4,49 b		MAVII - 244	4,83 b
Média do C-III		3,90	Média do C-VII		4,31
IV	MAIV - 15.204	4,26 a			
	MAIV - 18.259	4,47 b			
	MAIV - 15.203	4,56 b			
	MAIV - 8.102	4,93 b			
	MAIV - 18.524	6,22 c			
Média do C-IV		4,89			

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

4.2 Reação ao ácido oxálico

O resumo da análise de variância das notas dadas quanto à avaliação da reação do feijoeiro ao mofo branco pelo método da absorção do ácido oxálico está apresentado na Tabela 5.

Diferenças genotípicas significativas ($P < 0,01$) foram encontradas entre os genótipos avaliados, assim como observado em outros trabalhos em que foi utilizada a mesma metodologia em feijoeiro (ANTÔNIO, 2008; GONÇALVES; SANTOS, 2010). A significância entre genitores e progênies indica a existência de variabilidade genética entre eles, condição essa favorável para se obter sucesso com a seleção. Não foi observado sintoma de murcha nas plantas utilizadas no controle, assim como em Kolkman e Kelly (2000). Isso indica que a murcha das plantas imersas em solução foi devido à reação ao ácido oxálico. O experimento foi conduzido com alta precisão experimental, como indicam o CV (12,43%) e r_{gg} (95,38%).

Tabela 5 Resumo da análise de variância agrupada para reação de genótipos de feijoeiro ao mofo branco, pelo método do ácido oxálico

FV	GL	QM
Experimento	4	0,79**
Genótipos	53	1,33**
Entre progênies	34	1,30**
Entre genitores	17	1,79**
Progênies vs genitores	1	2,05**
Tratamento regular vs tratamento comum	1	4,83**
Erro	116	0,12
Total	173	
CV(%)		12,43
Média		2,56
h ² (%)		90,98
h ² _{LI}		85,36
h ² _{LS}		94,21
r _{gg}		95,38

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

A principal função da herdabilidade é seu papel preditivo, que expressa a confiabilidade do valor fenotípico como estimador do valor genotípico, de tal forma que quanto maior a herdabilidade, maior o ganho genético por seleção (RAMALHO; SANTOS; ZIMMERMANN, 1993). Assim, as progênies e genitores avaliados neste experimento apresentaram ampla variabilidade de reação ao ácido oxálico ($h^2=90,98\%$), indicando grande chance de sucesso, caso a seleção seja realizada.

Entre os genitores utilizados (Tabela 6), seis agruparam-se no primeiro grupo com nota média inferior a 1,53 (Grupo A). Destes, o AND 277 apresentou menor média (0,83). Essa é uma cultivar de origem andina e possui alelos de resistência à antracnose (*Co-1⁴*) e à mancha angular do feijoeiro (*Phg-1*, *Phg-2²*, *Phg-3²*, *Phg-4²*). Há grandes chances, ainda, de essa cultivar possuir também alelo de resistência ao mofo branco, pois, de acordo com a nota média obtida, o sintoma de murchamento que caracteriza suscetibilidade a doença não se manifestou.

Tabela 6 Média das notas de reação ao mofo branco por meio da reação ao ácido oxálico dos 17 genitores utilizados no início do programa de seleção recorrente para resistência à mancha angular e testemunhas

Genitores	Média*		Genitores	Média	
AND 277	0,83	a	Mar2	2,27	b
G122**	1,10	a	PÉROLA	2,50	c
CARIOCA-MG	1,10	a	IAPAR 81	2,60	c
CAL 143	1,20	a	G 5686	2,67	
MA 4.137	1,27	a	OURO NEGRO	2,90	d
CI 128	1,37	a	CI 140	3,03	d
COMP.NEGRO	1,53	a	CORUJINHA**	3,10	d
ANPAT 8.12	1,67	b	ESAL 693	3,67	e
Mar1	1,87	b			
JALO	1,87	b			

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

** Testemunha resistente: G-122, testemunha suscetível: Corujinha

As progênies foram separadas em sete grupos distintos, conforme dados da Tabela 7. As progênies que apresentaram maior resistência ao murchamento, se caracterizando como mais resistentes, foram MAV-1.7 e MAV-3.36, que pertencem ao quinto ciclo de seleção e as progênies MAVI-21 e MAVI-60, do sexto ciclo. Assim como ocorreu com o *straw test*, além das progênies dos ciclos cinco e seis, outras de ciclos iniciais também apresentaram notas médias próximas à da cultivar G-122 (1,10), a qual é utilizada como fonte de resistência ao mofo branco em programas de melhoramento. Isso leva a inferir que a população original utilizada já possuía algum nível de resistência fisiológica para o mecanismo de reação à absorção ao ácido oxálico, visto que a nota média (1,98) de reação ao ácido oxálico dos genitores utilizados no início do programa de seleção recorrente para resistência à mancha angular foi baixa. O comportamento da cultivar G-122 relatado neste trabalho é compatível com os de outros estudos (ANTÔNIO et al., 2008; GONÇALVES; SANTOS, 2010; KOLKMAN; KELLY, 2000).

Tabela 7 Média das notas de reação ao mofo branco, por meio da reação ao ácido oxálico, das 35 progênes de feijoeiro provenientes de sete ciclos de seleção recorrente

Ciclo	Progênes	Média		Ciclo	Progênes	Média	
I	MA I – 18.13	2,00	b	V	MAV – 1.7	0,82	a
	MA I - 8.9	2,30	b		MAV – 3.36	1,20	a
	MA I – 6.10	3,07	d		MAV – 14.206	2,53	c
	MA I – 2.10	3,23	d		MAV – 5.60	2,90	d
	MA I – 2.5	3,33	d		MAV – 7.85	3,00	d
Média do C-I		2,79		Média do C-V		2,09	
II	MA II - 22	1,87	b	VI	MAVI - 21	0,97	a
	MAII - 10	2,20	b		MAVI - 24	1,87	b
	MAII - 16	2,67	c		MAVI - 39	1,60	b
	MAII - 2	2,97	d		MAVI - 60	1,00	a
	MAII - 8	3,23	d		MAVI - 20	3,03	d
Média do C-II		2,59		Média do C-VI		1,69	
III	MAIII – 17.179	2,20	b	VII	MAVII - 34	3,07	d
	MAIII – 17.185	3,00	d		MAVII - 92	3,17	d
	MAIII – 9.91	3,40	d		MAVII - 129	3,87	e
	MAIII – 16.159	3,77	e		MAVII - 127	4,10	f
	MAIII – 16.155	4,37	f		MAVII – 244	4,10	f
Média do C-III		3,35		Média do C-VII		3,66	
IV	MAIV – 15.203	2,57	c				
	MAIV – 8.102	3,00	d				
	MAIV – 18.524	3,20	d				
	MAIV – 15.204	3,37	d				
	MAIV – 18.259	4,3	f				
Média do C-IV		3,29					

No geral, a variação e os níveis de resistência das progênes foram similares aos dos genitores (Tabelas 6 e 7). O fato de os genitores mais resistentes serem tipos diferentes do carioca sugere leve ganho com a seleção das progênes, em razão de elas serem todas do tipo carioca. Entretanto, esse ganho, caso tenha ocorrido, resultou, de forma indireta, da seleção praticada para

resistência à mancha angular. Nesse caso, a participação do ácido oxálico nas vias de indução de resistência a ambas as doenças deve ter alguns caminhos comuns (CESSNA et al., 2000). Outro ponto favorável é a não associação da resistência com o tipo de grão.

4.3 Correlação entre os caracteres avaliados

A ausência de correlação (-0,16) entre as notas médias de reação ao mofo branco pela absorção do ácido oxálico e o teste em campo (*straw test*) sugere que esses resultados podem estar associados a diferentes componentes da resistência ao mofo branco. Outro fator que também deve ser levado em conta é a variação ambiental que ocorre no campo. Tais resultados já haviam sido observados por outros autores (CARVALHO, 2011; CHUNG; SASS; NIENHUIS, 2007). Dessa forma, a seleção baseada na resistência ao ácido oxálico pode não resultar em resposta correlacionada esperada para resistência em campo. A grande vantagem seria obter progênies com alta resistência, isto é, que associe os dois componentes da resistência ao mofo branco. As duas progênies mais favoráveis para esses dois mecanismos de avaliação da resistência (reação ao ácido oxálico e *straw test*) são MAII-16, do ciclo II e a MAIII-17.179, do ciclo III.

Foi estimado o coeficiente de correlação de *Spearman* entre as notas das avaliações de resistência ao mofo branco (reação das progênies ao ácido oxálico e *straw test*) e notas de severidade à mancha angular, encontradas por Rezende, Abreu e Ramalho (2010). O coeficiente de *Spearman* mede a intensidade da relação entre variáveis ordinais e utiliza, em vez do valor observado, apenas a ordem das observações. Desse modo, este coeficiente não é sensível a assimetrias na distribuição, não exigindo, portanto, que os dados provenham de duas populações normais. A baixa correlação encontrada (Tabela 7) indica que

há uma baixíssima associação entre essas variáveis e, por isso, há possibilidade de se selecionar para uma dessas variáveis e obter insucesso em outra.

Tabela 7 Correlações entre caracteres de interesse agrônomico, dois a dois, em feijão

Caráter I	Caráter II	Correlação
Reação ao ácido	<i>Straw test</i>	-0,1586
Reação ao ácido	Severidade de m. angular	-0,3863
<i>Straw test</i>	Severidade de m. angular	0,1249

4.4 Validação do SCAR *Phs*

Não foi observada a presença do SCAR *Phs* que confere resistência ao mofo branco, em condições temperadas, nos 17 genitores avaliados. Assim, as progênies consideradas mais resistentes ao ácido oxálico e também no campo também não apresentam o SCAR, tornando-o pouco útil para o controle da doença. Ainda que tivesse sido verificada a presença deste marcador nos genitores, já era esperado não encontrá-lo nas progênies, pois o fragmento de DNA correspondente a esse marcador é parte do alelo da proteína do grão da faseolina T, que é característica de feijões de origem andina. E as progênies avaliadas foram selecionadas para tipo de grão carioca, que é característica de feijões mesoamericanos, que possuem a faseolina S. Daí a ausência desse QTL. Um resultado similar foi obtido por Carneiro, Santos e Leite (2010), na avaliação de progênies tipo carioca derivadas de retrocruzamento, em que o genitor doador foi a linhagem G122, portadora do respectivo SCAR.

4.5 Alteração das frequências alélicas de microssatélites

Foram identificados 37 pares de *primers* polimórficos nos parentais, do total de aproximadamente 400 pares de *primers* testados. Na Figura 1 está

ilustrada a pré-seleção dos pares de *primers* SSR. Nela pode-se diferenciar as bandas dos 17 genitores utilizados nos testes de polimorfismo.

Nesse exemplo, nota-se o polimorfismo encontrado para o *primer* PVct002A. Para esse padrão de bandas, foram atribuídas notas 0 (A_1A_1), 1 (A_1A_2) e 2 (A_2A_2). Na Figura 2 está apresentado o padrão de bandas para o *primer* ATA150, que caracteriza a ocorrência de mais de dois alelos. Neste caso, foram atribuídas notas 0 (ausência de banda) e 1 (presença de banda).

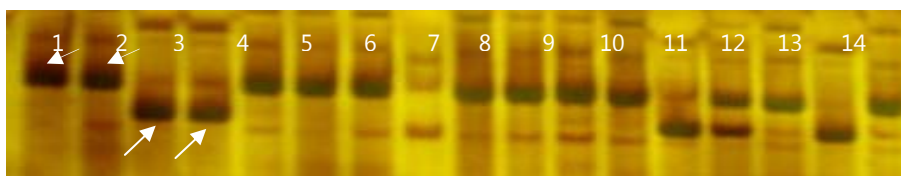


Figura 1 Padrão de bandas dos 17 genitores para o *primer* PVCT002A. 1- Iapar 81; 2- Esal 693; 3- Jalo; 4- AND 277, 5- CI 140; 6- ANPAT 8.12; 7 MA4.137; 8- CI 128; 9- Ouro Negro; 10- Compuesto negro Chimaltenango; 11- Pérola; 12- AN512561; 13- G5686; 14- MAR1; 15- MAR2; 16- CAL 143; 17- Carioca-MG. As setas indicam alelos polimórficos

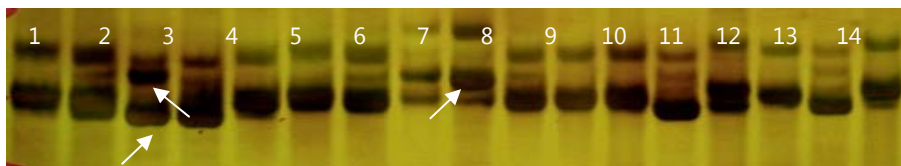


Figura 2 Padrão de bandas dos 17 genitores para o *primer* ATA150. 1- Iapar 81; 2- Esal 693; 3- Jalo; 4- AND 277, 5- CI 140; 6- ANPAT 8.12; 7 MA4.137; 8- CI 128; 9- Ouro Negro; 10- Compuesto negro Chimaltenango; 11- Pérola; 12- AN512561; 13- G5686; 14- MAR1; 15- MAR2; 16- CAL 143; 17- Carioca-MG. As setas indicam alelos polimórficos.

Dos 37 *primers* polimórficos encontrados, 13 possuem posição conhecida nos cromossomos. Assim, verificou-se que os fragmentos foram mapeados em oito cromossomos diferentes. Para os outros 24 *primers*, não se

conhece a posição no genoma ou esta ainda não foi publicada. Entretanto, é provável que os 37 *primers* ocorram em todos os cromossomos e para alguns, em diferentes locos. Dessa forma, há a probabilidade de que algum desses locos seja afetado pela seleção e esteja relacionado à resistência à mancha angular.

Os valores das frequências genótípicas foram submetidos ao teste χ^2 , para verificar se houve diferença significativa dos valores esperados. Esse teste foi realizado por loco e para cada ciclo estudado (Tabela 9), o que possibilitou uma melhor comparação de um mesmo loco em diferentes ciclos.

Tabela 9 Teste de χ^2 por loco e para cada ciclo de seleção, das 35 progênies de feijoeiro

POP	LOCO	GL	χ^2	POP	LOCO	GL	χ^2
CI		1	0,28 ^{ns}	CI		1	20,32**
CII		1	0,28 ^{ns}	CII		1	20,32**
CIII		1	0,28 ^{ns}	CIII		1	20,32**
CIV	X60000	1	0,28 ^{ns}	CIV	SSR-IAC 127	1	20,32**
CV		1	0,28 ^{ns}	CV		1	20,32**
CVI		1	0,28 ^{ns}	CVI		1	20,32**
CVII		1	0,28 ^{ns}	CVII		1	20,32**
CI		2	15,41**	CI		1	0,98 ^{ns}
CII		1	2,17 ^{ns}	CII		1	3,42 ^{ns}
CIII		2	29,51**	CIII		1	3,51 ^{ns}
CIV	LBM154	1	10,24**	CIV	SSR-IAC148	1	4,91*
CV		1	30,59**	CV		1	3,42 ^{ns}
CVI		2	14,01**	CVI		1	3,17 ^{ns}
CVII		1	7,89*	CVII		1	1,73 ^{ns}
CI		1	0,48 ^{ns}	CI		1	∞
CII		1	0,48 ^{ns}	CII		1	0,93 ^{ns}
CIII		1	0,48 ^{ns}	CIII		1	3,75 ^{ns}
CIV	LBM157	1	0,48 ^{ns}	CIV	SSR-IAC 165	1	0,97 ^{ns}
CV		1	0,48 ^{ns}	CV		1	0,93 ^{ns}
CVI		1	0,48 ^{ns}	CVI		1	0,000130 ^{ns}
CVII		1	0,48 ^{ns}	CVII		1	0,000130 ^{ns}
CI		1	0,32 ^{ns}	CI		1	0,07 ^{ns}
CII	LBM164	1	0,32 ^{ns}	CII	SSR-IAC 208	1	1,34 ^{ns}
CIII		1	0,32 ^{ns}	CIII		1	4,24*
CIV		1	0,32 ^{ns}	CIV		1	0,07 ^{ns}
CV		1	0,32 ^{ns}	CV		1	1,34 ^{ns}
CVI		1	0,32 ^{ns}	CVI		1	0,07 ^{ns}
CVII		1	0,32 ^{ns}	CVII		1	1,34 ^{ns}

Tabela 9, continuação

POP	LOCO	GL	χ^2	POP	LOCO	GL	χ^2
CI		1	0,14 ^{ns}	CI		3	∞
CII		1	0,14 ^{ns}	CII		1	35,12**
CIII		1	0,14 ^{ns}	CIII		1	67,05**
CIV	LBM175	1	0,14 ^{ns}	CIV	ATA7	1	∞
CV		1	0,14 ^{ns}	CV		1	∞
CVI		1	0,14 ^{ns}	CVI		1	∞
CVII		1	0,14 ^{ns}	CVII		1	∞
CI		1	141,58**	CI		1	814,45**
CII		1	14,61**	CII		1	362,55**
CIII		1	254,28**	CIII		1	361,48**
CIV	LBM181	1	61,69**	CIV	ATA9	1	362,55**
CV		1	14,61**	CV		1	2,91 ^{ns}
CVI		1	0,35 ^{ns}	CVI		1	∞
CVII		1	0,35 ^{ns}	CVII		2	∞
CI		1	4,46*	CI		1	4,87*
CII		1	3,31 ^{ns}	CII		1	6,01*
CIII		1	0,37 ^{ns}	CIII		1	5,58*
CIV	LBM184	1	9,80**	CIV	ATA16	2	74,31**
CV		1	0,37 ^{ns}	CV		2	3,26 ^{ns}
CVI		1	0,99 ^{ns}	CVI		2	73,36**
CVII		1	0,37 ^{ns}	CVII		1	2,57 ^{ns}
CI		1	55,95**	CI		1	139,09**
CII	LBM189	1	0,95 ns	CII	ATA27	1	139,09**
CIII		1	0,35 ns	CIII		1	139,09**
CIV		1	0,95 ns	CIV		1	139,09**
CV		1	0,95 ns	CV		1	139,09**

Tabela 9, continuação

POP	LOCO	GL	χ^2	POP	LOCO	GL	χ^2
CVI		1	5,47*	CVI		1	139,09**
CVII		1	0,95 ^{ns}	CVII		1	139,09**
CI		1	∞	CI		1	0,54 ^{ns}
CII		1	4,56*	CII		1	0,54 ^{ns}
CIII		1	4,56*	CIII		1	0,54 ^{ns}
CIV	LBM202	1	4,56*	CIV	ATA32	1	0,54 ^{ns}
CV		1	∞	CV		1	0,54 ^{ns}
CVI		1	4,56*	CVI		1	0,54 ^{ns}
CVII		1	4,56*	CVII		1	0,54 ^{ns}
CI		1	2,02 ^{ns}	CI		1	1,12 ^{ns}
CII		1	5,23*	CII		1	1,13 ^{ns}
CIII		1	0,41 ^{ns}	CIII		1	1,13 ^{ns}
CIV	LBM210	1	0,39 ^{ns}	CIV	ATA74	1	5,98*
CV		1	0,41 ^{ns}	CV		1	1,13 ^{ns}
CVI		1	5,23*	CVI		1	1,13 ^{ns}
CVII		1	2,02 ^{ns}	CVII		1	1,12 ^{ns}
CI		1	1214,51**	CI		1	1,74 ^{ns}
CII		1	1214,51**	CII		1	1,15 ^{ns}
CIII		1	1214,51**	CIII		1	3,43 ^{ns}
CIV	PVTTC002A	1	1214,51**	CIV	ATA76	1	1,15 ^{ns}
CV		1	1214,51**	CV		1	3,75 ^{ns}
CVI		1	1214,51**	CVI		1	1,15 ^{ns}
CVII		1	1214,51**	CVII		2	1,85 ^{ns}

Tabela 9, continuação

POP	LOCO	GL	χ^2	POP	LOCO	GL	χ^2
CI		1	9,0732**	CI		1	0,71 ^{ns}
CII		1	9,0732**	CII		1	0,71 ^{ns}
CIII		1	9,0732**	CIII		1	0,71 ^{ns}
CIV	PVCT002A	1	9,0732**	CIV	ATA143	1	34,24**
CV		1	9,0732**	CV		1	0,71 ^{ns}
CVI		1	9,0732**	CVI		1	0,71 ^{ns}
CVII		1	9,0732**	CVII		1	∞
CI		1	0,22 ^{ns}	CI		1	0,19 ^{ns}
CII		1	0,22 ^{ns}	CII		1	118,80**
CIII		1	2,12 ^{ns}	CIII		1	0,19 ^{ns}
CIV	PVM13B	1	0,22 ^{ns}	CIV	ATA145	1	0,19 ^{ns}
CV		1	2,12 ^{ns}	CV		1	0,19 ^{ns}
CVI		1	0,22 ^{ns}	CVI		1	0,19 ^{ns}
CVII		1	0,22 ^{ns}	CVII		1	0,19 ^{ns}
CI		1	0,46 ^{ns}	CI		1	∞
CII		1	∞	CII		1	0,29 ^{ns}
CIII		1	0,46 ^{ns}	CIII		1	0,29 ^{ns}
CIV	PVM21	1	0,46 ^{ns}	CIV	ATA150	1	0,29 ^{ns}
CV		1	0,46 ^{ns}	CV		1	0,29 ^{ns}
CVI		1	2,48 ^{ns}	CVI		1	9,02**
CVII		1	2,48 ^{ns}	CVII		1	39,46**
CI		4	0,54 ^{ns}	CI		1	1795,81**
CII		1	0,54 ^{ns}	CII		1	0,10 ^{ns}
CIII		1	0,62 ^{ns}	CIII		1	198,27**
CIV	PVM33	1	0,54 ^{ns}	CIV	ATA247	1	3195,20**
CV		1	0,54 ^{ns}	CV		1	1795,81**
CVI		1	0,54 ^{ns}	CVI		1	0,10 ^{ns}
CVII		1	0,62 ^{ns}	CVII		1	796,84**

Tabela 9, conclusão

POP	LOCO	GL	χ^2	POP	LOCO	GL	χ^2
CI		1	0,53 ^{ns}	CI		2	∞
CII		1	0,53 ^{ns}	CII		1	∞
CIII		1	0,53 ^{ns}	CIII		1	∞
CIV	GATS11B	1	0,53 ^{ns}	CIV	ATA248	2	∞
CV		1	0,53 ^{ns}	CV		1	1,57 ^{ns}
CVI		1	0,53 ^{ns}	CVI		1	∞
CVII		1	0,53 ^{ns}	CVII		2	∞
CI		1	0,27 ^{ns}	CI		2	4,70 ^{ns}
CII		1	120,54**	CII		1	4,66*
CIII		1	274,05**	CIII		1	1,67 ^{ns}
CIV	GATS91	1	14,56**	CIV	ATA289	1	6,37*
CV		1	0,27 ^{ns}	CV		2	6,75*
CVI		1	2,79 ^{ns}	CVI		2	∞
CVII		1	14,56**	CVII		1	4,02*
CI		1	0,66 ^{ns}	CI		1	278,45**
CII		1	0,66 ^{ns}	CII		1	101,04**
CIII		1	0,66 ^{ns}	CIII		1	5,00*
CIV	K03289	1	0,66 ^{ns}	CIV	BN	1	7,20**
CV		1	0,89 ^{ns}	CV		1	78,13**
CVI		1	6,11*	CVI		1	180,60**
CVII		1	0,89 ^{ns}	CVII		1	180,60**
CI		1	1,53 ^{ns}	CVI		2	22,55**
CII	PVESTBR204	1	1,53 ^{ns}	CVII		1	∞
CIII		1	5,47 ^{ns}				
CIV		2	∞				
CV		1	∞				

O teste χ^2 permitiu observar alterações nas frequências genotípicas observadas nos genitores em relação às observadas nas progênies. Dos 37 locos polimórficos obtidos, 28 (75,6%) sofreram efeito da seleção ($P \leq 0,05$ ou $P \leq 0,01$) em pelo menos um dos sete ciclos. Dos 28 locos afetados pela seleção, 15 (40,5%) tiveram 4 ou mais ciclos afetados. Resultados semelhantes também foram observados por Leite et al. (2011) e Rodrigues e Santos (2006), que estudaram o efeito da seleção natural em alelos de SSR e concluíram que a maioria dos locos foi também afetada pela seleção.

Quando se considera a composição genotípica de uma população segregante autógama, avaliada em gerações sucessivas, as proporções genotípicas se alteram devido à autofecundação. Na ausência de outros mecanismos que alterem as proporções alélicas e genotípicas, elas deveriam ser semelhantes nos genitores e nas progênies. A alteração na maioria dos locos SSR implica que as populações sofreram o efeito dos mecanismos que alteram as frequências alélicas e genotípicas, com destaque para seleção fenotípica para resistência à mancha angular.

Pode-se questionar o fato de terem sido utilizadas somente cinco progênies selecionadas por ciclo. Entretanto, nos diferentes ciclos, foram avaliadas de 192 a 492, em $S_{0,1}$; de 80 a 223, em $S_{0,2}$; de 34 a 79, em $S_{0,3}$; de 14 a 23; em $S_{0,4}$ e foram mantidas as cinco mais resistentes em $S_{0,5}$ (AMARO et al., 2007). Conseqüentemente, constata-se que desvios aleatórios podem ter ocorrido, porém, devem ter sido pouco significativos.

Durante a seleção das progênies, foram mantidas as mais resistentes à mancha angular e também com os tipos de grão carioca semelhante ao de melhor aceitação comercial, isto é, de cor de fundo bege e listra marrom, o mais claro possível, com peso de 100 grãos entre 23 e 25 g (RAMALHO; ABREU, 2006). Essa, talvez, seja a razão porque foram notadas alterações na frequências genotípicas na maioria dos locos SSR, indicando alterações em ampla porção do

genoma do feijão. É importante lembrar que somente afetando a cor do grão há próximo de duas dezenas de genes distribuídos em vários cromossomos (BASSET, 1991).

Como se observa na Tabela 9, alguns valores de qui-quadrados chegaram a ser de magnitude infinita. Isso ocorreu sempre que alguma frequência genotípica observada nas progênes não estava presente em nenhum dos genitores.

Alguns dos locos influenciados pela seleção neste trabalho também foram alvos de seleção no trabalho de Rodrigues e Santos (2006). Dentre eles, observam-se BM154, BM210 e K03289. No loco BM154, todos os ciclos foram afetados pela seleção. Este marcador está ligado a QTLs que participam no sentido de reduzir a ocorrência de mancha angular e pode ter sido mantido como resultado da seleção recorrente.

O loco PVtcc002 também se mostrou alvo da seleção natural para produtividade, no trabalho de Leite et al. (2011). Os locos ATA7 e ATA9 foram identificados como potenciais para seleção indireta, visando resistência a mofo branco, por Antônio (2011).

Entre os *primers* que identificaram polimorfismo nos genitores, o K03289 faz parte de uma família de genes que codifica para a lectina ou phytohemaglutinina (PHA). Estas são glicoproteínas presentes nos cotilédones e endospermas das sementes (DÍAZ et al., 1999).

Para os locos GATS11, ATA32, ATA27, PVct002, X6000, BM157, BM164 e BM175, observou-se a fixação de alelos desde o primeiro ciclo de seleção (Tabela 10). A fixação ocorreu sempre em relação ao alelo que se encontrava com maior frequência nos genitores, exceto para o loco PVct002 e ATA27, em que o alelo fixado se encontrava com baixa frequência nos genitores. O marcador PVct002 foi identificado na safra das águas por Leite et al. (2011) e contribui para aumentar a produtividade.

Tabela 10 Estimativas das frequências alélicas nos genitores e nas progênies derivadas de sete ciclos de seleção de recorrente em feijoeiro

POP	Primer	A¹	A²	A³	A⁴	POP	Primer	A¹	A²	A³	A⁴
Genitores		0,0588	0,9412	0,00	0,00	Genitores		0,0022	0,9996	0,00	0,00
CI		0,00	1,00	0,00	0,00	CI		0,00	1,00	0,00	0,00
CII		0,00	1,00	0,00	0,00	CII		0,20	0,80	0,00	0,00
CIII	X60000	0,00	1,00	0,00	0,00	CIII	SSR- IAC127	0,00	1,00	0,00	0,00
CIV		0,00	1,00	0,00	0,00	CIV		0,00	1,00	0,00	0,00
CV		0,00	1,00	0,00	0,00	CV		0,00	1,00	0,00	0,00
CVI		0,00	1,00	0,00	0,00	CVI		0,20	0,80	0,00	0,00
CVII		0,00	1,00	0,00	0,00	CVII		0,20	0,80	0,00	0,00
Genitores		0,7006	0,2172	0,0823	0,00	Genitores		0,6313	0,3687	0,0000	0,00
CI		0,50	0,50	0,00	0,00	CI		0,60	0,40	0,00	0,00
CII		0,80	0,00	0,20	0,00	CII		0,50	0,50	0,00	0,00
CIII	BM154	0,70	0,20	0,10	0,00	CIII	SSR- IAC148	0,70	0,30	0,00	0,00
CIV		0,80	0,20	0,00	0,00	CIV		0,90	0,10	0,00	0,00
CV		0,90	0,00	0,10	0,00	CV		0,50	0,50	0,00	0,00
CVI		0,70	0,30	0,00	0,00	CVI		0,40	0,60	0,00	0,00
CVII		0,80	0,20	0,00	0,00	CVII		0,80	0,20	0,00	0,00

Tabela 10, continuação

POP	Primer	A ¹	A ²	A ³	A ⁴	POP	Primer	A ¹	A ²	A ³	A ⁴
Genitores		0,0807	0,9190	0,0000	0,00	Genitores		0,6979	0,3022	0,0000	0,00
CI		0,00	1,00	0,00	0,00	CI		0,70	0,30	0,00	0,00
CII		0,00	1,00	0,00	0,00	CII		0,40	0,60	0,00	0,00
CIII	BM157	0,00	1,00	0,00	0,00	CIII	SSR- IAC165	0,20	0,80	0,00	0,00
CIV		0,00	1,00	0,00	0,00	CIV		1,00	0,00	0,00	0,00
CV		0,00	1,00	0,00	0,00	CV		0,40	0,60	0,00	0,00
CVI		0,00	1,00	0,00	0,00	CVI		0,60	0,40	0,00	0,00
CVII		0,00	1,00	0,00	0,00	CVII		0,80	0,20	0,00	0,00
Genitores		0,0458	0,9542	0,0000	0,00	Genitores		0,4426	0,5573	0,0000	0,00
CI		0,00	1,00	0,00	0,00	CI		0,40	0,60	0,00	0,00
CII		0,00	1,00	0,00	0,00	CII		0,80	0,20	0,00	0,00
CIII	BM164	0,00	1,00	0,00	0,00	CIII	SSR- IAC208	1,00	0,00	0,00	0,00
CIV		0,00	1,00	0,00	0,00	CIV		0,60	0,40	0,00	0,00
CV		0,00	1,00	0,00	0,00	CV		0,80	0,20	0,00	0,00
CVI		0,00	1,00	0,00	0,00	CVI		0,60	0,40	0,00	0,00
CVII		0,00	1,00	0,00	0,00	CVII		0,80	0,20	0,00	0,00

Tabela 10, continuação

POP	Primer	A ¹	A ²	A ³	A ⁴	POP	Primer	A ¹	A ²	A ³	A ⁴
Genitores		0,0602	0,9397	0,0000	0,00	Genitores		0,4769	0,0461	0,2885	0,1884
CI		0,00	1,00	0,00	0,00	CI		0,10	0,50	0,30	0,10
CH		0,00	1,00	0,00	0,00	CH		0,00	0,50	0,00	0,50
CHH	BM175	0,00	1,00	0,00	0,00	CHH	ATA7	0,00	0,50	0,00	0,50
CIV		0,00	1,00	0,00	0,00	CIV		0,00	0,90	0,00	0,10
CV		0,00	1,00	0,00	0,00	CV		0,00	0,80	0,00	0,20
CVI		0,00	1,00	0,00	0,00	CVI		0,00	0,90	0,10	0,00
CVII		0,00	1,00	0,00	0,00	CVII		0,00	1,00	0,00	0,00
Genitores		0,0588	0,9412	0,0000	0,00	Genitores		0,0000	0,6329	0,3670	0,00
CI		0,30	0,70	0,00	0,00	CI		0,00	0,70	0,30	0,00
CH		0,10	0,90	0,00	0,00	CH		0,00	1,00	0,00	0,00
CHH	BM181	0,40	0,60	0,00	0,00	CHH	ATA9	0,00	0,80	0,20	0,00
CIV		0,20	0,80	0,00	0,00	CIV		0,00	0,80	0,20	0,00
CV		0,10	0,90	0,00	0,00	CV		0,00	1,00	0,00	0,00
CVI		0,00	1,00	0,00	0,00	CVI		0,00	0,60	0,40	0,00
CVII		0,00	1,00	0,00	0,00	CVII		0,00	0,60	0,20	0,00

Tabela 10, continuação

POP	Primer	A ¹	A ²	A ³	A ⁴	POP	Primer	A ¹	A ²	A ³	A ⁴
Genitores		0,9002	0,0998	0,0000	0,00	Genitores		0,3368	0,3782	0,1554	0,1295
CI		0,70	0,30	0,00	0,00	CI		0,00	0,80	0,20	0,00
CII		0,80	0,20	0,00	0,00	CII		0,00	0,60	0,00	0,40
CIII	BM184	0,90	0,10	0,00	0,00	CIII	ATA16	0,60	0,00	0,40	0,00
CIV		0,70	0,30	0,00	0,00	CIV		0,60	0,20	0,20	0,00
CV		0,90	0,10	0,00	0,00	CV		0,60	0,00	0,20	0,20
CVI		1,00	0,00	0,00	0,00	CVI		0,40	0,60	0,00	0,00
CVII		0,90	0,10	0,00	0,00	CVII		0,60	0,40	0,00	0,00
Genitores		0,1293	0,0303	0,8405	0,00	Genitores		0,0521	0,9131	0,0347	0,00
CI		0,00	0,60	0,40	0,00	CI		0,00	0,00	1,00	0,00
CII		0,00	0,00	1,00	0,00	CII		0,00	0,00	1,00	0,00
CIII	BM189	0,20	0,00	0,80	0,00	CIII	ATA27	0,00	0,00	1,00	0,00
CIV		0,00	0,00	1,00	0,00	CIV		0,00	0,00	1,00	0,00
CV		0,00	0,00	1,00	0,00	CV		0,00	0,00	1,00	0,00
CVI		0,00	0,20	0,80	0,00	CVI		0,00	0,00	1,00	0,00
CVII		0,00	0,00	1,00	0,00	CVII		0,00	0,00	1,00	0,00

Tabela 10, continuação

POP	Primer	A ¹	A ²	A ³	A ⁴	POP	Primer	A ¹	A ²	A ³	A ⁴
Genitores		0,4274	0,5726	0,0000	0,00	Genitores		0,0379	0,9621	0,0000	0,00
CI		0,80	0,20	0,00	0,00	CI		0,00	1,00	0,00	0,00
CII		1,00	0,00	0,00	0,00	CII		0,00	1,00	0,00	0,00
CIII	BM202	1,00	0,00	0,00	0,00	CIII	ATA32	0,00	1,00	0,00	0,00
CIV		1,00	0,00	0,00	0,00	CIV		0,00	1,00	0,00	0,00
CV		0,90	0,10	0,00	0,00	CV		0,00	1,00	0,00	0,00
CVI		1,00	0,00	0,00	0,00	CVI		0,00	1,00	0,00	0,00
CVII		1,00	0,00	0,00	0,00	CVII		0,00	1,00	0,00	0,00
Genitores		0,4988	0,5012	0,0000	0,00	Genitores		0,8613	0,1387	0,0000	0,00
CI		0,80	0,20	0,00	0,00	CI		0,90	0,10	0,00	0,00
CII		1,00	0,00	0,00	0,00	CII		1,00	0,00	0,00	0,00
CIII	BM210	0,60	0,40	0,00	0,00	CIII	ATA74	1,00	0,00	0,00	0,00
CIV		0,40	0,60	0,00	0,00	CIV		0,80	0,20	0,00	0,00
CV		0,60	0,40	0,00	0,00	CV		1,00	0,00	0,00	0,00
CVI		1,00	0,00	0,00	0,00	CVI		1,00	0,00	0,00	0,00
CVII		0,80	0,20	0,00	0,00	CVII		0,90	0,10	0,00	0,00

Tabela 10, continuação

POP	Primer	A ¹	A ²	A ³	A ⁴	POP	Primer	A ¹	A ²	A ³	A ⁴
Genitores		0,2366	0,7634	0,0000	0,00	Genitores		0,6030	0,3967	0,0000	0,00
CI		0,50	0,50	0,00	0,00	CI		0,50	0,50	0,00	0,00
CII		0,50	0,50	0,00	0,00	CII		0,80	0,20	0,00	0,00
CIII	PVTTC 002A	0,50	0,50	0,00	0,00	CIII	ATA76	0,30	0,70	0,00	0,00
CIV		0,50	0,50	0,00	0,00	CIV		0,80	0,20	0,00	0,00
CV		0,50	0,50	0,00	0,00	CV		1,00	0,00	0,00	0,00
CVI		0,50	0,50	0,00	0,00	CVI		0,80	0,20	0,00	0,00
CVII		0,50	0,50	0,00	0,00	CVII		0,70	0,30	0,00	0,00
Genitores		0,3669	0,6331	0,0000	0,00	Genitores		0,0331	0,9668	0,0000	0,00
CI		1,00	0,00	0,00	0,00	CI		0,00	1,00	0,00	0,00
CII		1,00	0,00	0,00	0,00	CII		0,00	1,00	0,00	0,00
CIII	PVCT 002A	1,00	0,00	0,00	0,00	CIII	ATA143	0,20	0,80	0,00	0,00
CIV		1,00	0,00	0,00	0,00	CIV		0,60	0,40	0,00	0,00
CV		1,00	0,00	0,00	0,00	CV		0,00	1,00	0,00	0,00
CVI		1,00	0,00	0,00	0,00	CVI		0,00	1,00	0,00	0,00
CVII		1,00	0,00	0,00	0,00	CVII		0,20	0,80	0,00	0,00

Tabela 10, continuação

POP	Primer	A ¹	A ²	A ³	A ⁴	POP	Primer	A ¹	A ²	A ³	A ⁴
Genitores		0,0969	0,9031	0,0000	0,00	Genitores		0,0248	0,0103	0,9650	0,00
CI		0,00	1,00	0,00	0,00	CI		0,00	0,00	1,00	0,00
CII		0,00	1,00	0,00	0,00	CII		0,30	0,00	0,70	0,00
CIII	PVM 13B	0,20	0,80	0,00	0,00	CIII	ATA145	0,00	0,00	1,00	0,00
CIV		0,00	1,00	0,00	0,00	CIV		0,00	0,00	1,00	0,00
CV		0,20	0,80	0,00	0,00	CV		0,00	0,00	1,00	0,00
CVI		0,00	1,00	0,00	0,00	CVI		0,00	0,00	1,00	0,00
CVII		0,00	1,00	0,00	0,00	CVII		0,00	0,00	1,00	0,00
Genitores		0,5493	0,4507	0,0000	0,00	Genitores		0,0136	0,0294	0,9453	0,0200
CI		0,80	0,20	0,00	0,00	CI		0,20	0,00	0,20	0,60
CII		0,60	0,40	0,00	0,00	CII		0,00	0,00	1,00	0,00
CIII	PVM21 TC449	0,80	0,20	0,00	0,00	CIII	ATA150	0,00	0,00	1,00	0,00
CIV		0,80	0,20	0,00	0,00	CIV		0,00	0,00	1,00	0,00
CV		0,80	0,20	0,00	0,00	CV		0,00	0,00	1,00	0,00
CVI		1,00	0,00	0,00	0,00	CVI		0,00	0,00	0,80	0,20
CVII		1,00	0,00	0,00	0,00	CVII		0,00	0,00	0,60	0,40

Tabela 10, continuação

POP	Primer	A ¹	A ²	A ³	A ⁴	POP	Primer	A ¹	A ²	A ³	A ⁴
Genitores		0,9621	0,0379	0,0000	0,00	Genitores		0,0203	0,9797	0,0000	0,00
CI		0,80	0,20	0,00	0,00	CI		0,30	0,70	0,00	0,00
CII		0,80	0,20	0,00	0,00	CII		0,00	1,00	0,00	0,00
CIII	PVM 33	1,00	0,00	0,00	0,00	CIII	ATA 247	0,10	0,90	0,00	0,00
CIV		0,80	0,20	0,00	0,00	CIV		0,40	0,60	0,00	0,00
CV		0,80	0,20	0,00	0,00	CV		0,30	0,70	0,00	0,00
CVI		0,80	0,20	0,00	0,00	CVI		0,00	1,00	0,00	0,00
CVII		1,00	0,00	0,00	0,00	CVII		0,20	0,80	0,00	0,00
Genitores		0,0379	0,9621	0,0000	0,00	Genitores		0,4991	0,0335	0,4673	0,00
CI		0,00	1,00	0,00	0,00	CI		0,60	0,10	0,30	0,00
CII		0,00	1,00	0,00	0,00	CII		0,60	0,00	0,40	0,00
CIII	GATS 11B	0,00	1,00	0,00	0,00	CIII	ATA 248	0,60	0,00	0,40	0,00
CIV		0,00	1,00	0,00	0,00	CIV		0,60	0,10	0,30	0,00
CV		0,00	1,00	0,00	0,00	CV		0,50	0,10	0,40	0,00
CVI		0,00	1,00	0,00	0,00	CVI		0,60	0,00	0,40	0,00
CVII		0,00	1,00	0,00	0,00	CVII		0,60	0,10	0,30	0,00

Tabela 10, continuação

POP	Primer	A ¹	A ²	A ³	A ⁴	POP	Primer	A ¹	A ²	A ³	A ⁴
Genitores		0,9512	0,0487	0,0000	0,00	Genitores		0,5373	0,3529	0,3785	0,00
CI		1,00	0,00	0,00	0,00	CI		0,00	0,80	0,20	0,00
CII		0,80	0,20	0,00	0,00	CII		0,40	0,00	0,60	0,00
CIII	GATS 91	0,70	0,30	0,00	0,00	CIII	ATA289	0,50	0,20	0,30	0,00
CIV		0,60	0,40	0,00	0,00	CIV		0,60	0,00	0,40	0,00
CV		1,00	0,00	0,00	0,00	CV		0,10	0,00	0,90	0,00
CVI		0,80	0,20	0,00	0,00	CVI		0,60	0,10	0,30	0,00
CVII		0,60	0,40	0,00	0,00	CVII		0,40	0,60	0,00	0,00
Genitores		0,9277	0,0723	0,0000	0,00	Genitores		0,0566	0,9434	0,0000	0,00
CI		1,00	0,00	0,00	0,00	CI		0,00	1,00	0,00	0,00
CII		1,00	0,00	0,00	0,00	CII		0,40	0,60	0,00	0,00
CIII	K03289	1,00	0,00	0,00	0,00	CIII	BN	1,00	0,00	0,00	0,00
CIV		1,00	0,00	0,00	0,00	CIV		0,90	0,10	0,00	0,00
CV		0,90	0,10	0,00	0,00	CV		0,30	0,70	0,00	0,00
CVI		0,80	0,20	0,00	0,00	CVI		0,10	0,90	0,00	0,00
CVII		0,90	0,10	0,00	0,00	CVII		0,10	0,90	0,00	0,00

Tabela 10, conclusão

POP	Primer	A ¹	A ²	A ³	A ⁴	POP	Primer	A ¹	A ²	A ³	A ⁴
Genitores		0,7713	0,1968	0,0319	0,00						
CI	PVEST BR204	1,00	0,00	0,00	0,00	CV		0,90	0,00	0,10	0,00
CII		1,00	0,00	0,00	0,00	CVI		0,70	0,10	0,20	0,00
CIII		0,80	0,00	0,20	0,00	CVII		0,30	0,00	0,70	0,00
CIV		0,50	0,00	0,50	0,00						

Como a população avaliada era proveniente do intercruzamento de vários genitores, não é possível determinar os alelos de qual genitor a seleção favoreceu. Entretanto, percebe-se que, para a maioria dos locos, mais de 70%, a seleção favoreceu os alelos A^1 e A^2 , pois estes se encontram em maior frequência nos genitores e também nas progênies. Estes alelos, portanto, podem estar associados à resistência à mancha angular, uma vez que suas frequências se mantiveram altas durante a maioria dos ciclos seletivos. Somente para três locos (BM189, ATA145, e ATA150) o alelo A^3 teve maior frequência que os demais.

O objetivo de um programa de seleção de recorrente é aumentar gradativamente a frequência de alelos favoráveis no decorrer dos ciclos seletivos. Assim, o que se espera do comportamento de determinado alelo submetido a este tipo de seleção é que, nos ciclos mais avançados, a sua frequência seja máxima. No entanto, o que se observou, neste trabalho, foram frequências bastante altas já desde o primeiro ciclo e algumas até fixadas. Como foi observado por Arantes, Abreu e Ramalho (2010), as progênies já apresentavam baixas notas de severidade à mancha angular nos primeiros ciclos, indicando que a população base já possuía um bom nível de resistência a esta doença. Isso pode explicar o porquê de altas frequências alélicas iniciais. Entretanto, é importante destacar os *primers* para os quais as frequências alélicas nos genitores tiveram maior alteração nas progênies: ATA7, BM202, ATA27 e PVct002. Há uma grande chance de os alelos que aumentaram de frequência estarem próximos de QTLs importantes para a resistência à mancha angular, nas condições em que foram realizadas as avaliações e seleção. Como comentado anteriormente, durante a condução do programa, foram selecionados apenas grãos do tipo carioca e, devido ao grande número de genes envolvidos na cor do tegumento, a frequência de alelos de alguns genitores com padrão de grãos diferentes pode ter sido reduzida.

4.6 Estimativas dos coeficientes de adaptabilidade relativa

Os coeficientes de adaptabilidade relativa (ω_i) foram estimados para os genótipos homocigóticos para cada ciclo de seleção para dois pares de *primers*, para se ter ideia da amplitude da intensidade da seleção recorrente. Para isso, foram escolhidos os locos em que estavam presente somente dois alelos e aqueles em que a seleção atuou de forma diferenciada, ou seja, locos com grande efeito da seleção e loco em que a frequência não se alterou de forma pronunciada. O loco SSR-IAC148F, por exemplo, não apresentou grande variação. Já o loco BN apresentou uma grande diferença entre as frequências alélicas dos genitores e das progênes em alguns ciclos. Assim, estes dois locos foram selecionados para comparações a respeito do coeficiente de adaptabilidade relativa.

Foram estimados o ω_1 para o A^1A^1 e o ω_3 para A^2A^2 . O coeficiente de adaptabilidade relativa do heterocigoto A^1A^2 , ω_2 , foi considerado igual a 1,0 (ALLARD; HANSCH, 1964; ALLARD; WOLKMAN, 1963). As expressões de Allard e Hansche (1964) e Hedrick (1999) são utilizadas para estimar os coeficientes de adaptabilidade, quando as populações sofrem seleção natural. Neste trabalho, a seleção praticada foi artificial e seu efeito para alterar frequências alélicas e genotípicas é similar ao da seleção natural. As estimativas de ω_1 e ω_3 iguais a 1,0 indicam que não ocorreu seleção desses genótipos, ou seja, eles apresentaram a mesma eficiência reprodutiva do heterocigoto (ALLARD; HANSCH, 1964). As estimativas de ω_1 e ω_3 menores do que 1,0 indicam que a seleção natural atuou, reduzindo a frequência desses genótipos em relação ao heterocigoto, o qual possui a maior adaptabilidade e, inversamente, estimativas maiores do que 1,0 indicam que a seleção aumentou a frequência dos homocigotos em relação ao heterocigoto, que é, neste caso, o de menor adaptabilidade (HEDRICK, 1999).

As estimativas dos coeficientes de adaptabilidade relativa acumulado variaram de 0 a 2,5339, para ω_1 . Para o ω_3 , foram encontradas estimativas de 0 a 0,3837 (Tabela 11).

Tabela 11 Estimativas, por loco, dos coeficientes de adaptabilidade relativa acumulados das populações de sete ciclos de seleção recorrente em feijoeiro

Pop	Primer	ω_1	ω_3
CI		-	-
CII		-	-
CIII		-	-
CIV	BN	2,5339	0
CV		0	0,0195
CVI		0	0,1172
CVII		0	0,3635
CI		0,0519	0
CII		0	0
CIII	SSR-IAC148	0,6226	0,3837
CIV		0,8300	0
CV		0	0
CVI		0	0,0959
CVII		0,3112	0

Esses coeficientes acumulados referem-se ao efeito da seleção sobre os indivíduos com locos em homozigose da geração S_0 a $S_{0:4}$, em cada um dos sete ciclos de seleção.

Nota-se uma grande variação sobre os valores de adaptabilidade de loco para loco, indicando que a intensidade de seleção para cada loco também foi particular. No geral, para os ciclos em que foi possível estimar, as estimativas de ω_1 foram sempre maiores que ω_3 . Isso indica que a ação da seleção foi mais intensa em manter indivíduos A^1A^1 que indivíduos A^2A^2 .

No loco BN, pode-se notar que, no C-IV, a estimativa de ω_1 foi maior que um (1,0). Deve-se destacar que, nesse loco, a frequência genotípica do A^1A^1 nos genitores era de 0,0478 e, para este ciclo, a frequência foi de 0,8000. Isso significa que a adaptabilidade do homozigoto A^1A^1 foi superior à do heterozigoto. Assim, o genótipo A^1A^1 nas progênies confere maior adaptação, refletindo, possivelmente, em maior resistência à mancha angular e em produtividade de grãos.

No loco SSR-IAC148, as variações nos coeficientes ω_1 e ω_3 não foram tão pronunciadas. A maior estimativa obtida foi de 0,83 no C-IV. Ao se observar a Tabela 9, é possível notar que, para este *primer*, o C-IV foi o único que obteve valor de χ^2 significativo. Assim, o coeficiente de adaptabilidade indica a presença de seleção mais intensa do genótipo A^1A^1 , para este ciclo neste loco.

Devido à ausência de indivíduos heterozigóticos, não foi possível estimar ω_1 e ω_3 acumulado para alguns ciclos, uma vez que o coeficiente de adaptabilidade relativa é calculado em comparação ao heterozigoto, cujo coeficiente (ω_2) é considerado um.

Algumas estimativas de ω_1 e ω_3 foram iguais a zero. Isso ocorreu quando alguns dos genótipos homozigotos não estiveram presentes. Nesse caso, o genótipo foi observado nos genitores, porém, não esteve presente nas progênies. Como se nota na Tabela 12.

Tabela 12 Frequências genotípicas dos genitores e progênies dos sete ciclos de seleção para o loco BN

POP	LOCO	A ¹ A ¹	A ¹ A ²	A ² A ²
Genitores		0,048	0,018	0,934
CI		0,00	0,00	1,00
CII		0,40	0,00	0,60
CIII	BN	1,00	0,00	0,00
CIV		0,80	0,20	0,0
CV		0,00	0,60	0,40
CVI		0,00	0,20	0,80
CVII		0,00	0,20	0,80

O que pode ter acontecido é que, nas progênies, tenham sido selecionados indivíduos heterozigotos para aquele loco. Para esse loco especificamente, o que se observa é redução na frequência de genótipos A²A², aumento na frequência de genótipos A¹A¹ e também uma elevação na frequência do genótipo A¹A².

5 CONCLUSÕES

É possível selecionar progênies que, além de selecionadas previamente para a resistência à mancha angular, apresentam resistência parcial ao mofo branco.

A seleção artificial afeta a maioria dos locos microssatélites e estes podem estar associados a regiões genômicas para maior resistência à mancha angular do feijoeiro. A intensidade da seleção e os ciclos em que ela ocorreu foram particulares para cada loco.

REFERÊNCIAS

- ABAWI, G. S. et al. Infection of bean by ascospores of *Whetzelinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 65, n. 6, p. 673-678, 1975.
- ABREU, A. F. B. et al. Utilização da produtividade de grãos na seleção para a resistência ao *Colletotrichum lindemuthianum*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 363-369, abr./jun. 2003.
- ALLARD, R. W. **Principles of plant breeding**. 2nd ed. Cali: CIAT, 1989. 254 p.
- ALLARD, R. W.; HANSCH, P. E. Some parameters of population variability and their implications in plant breeding. **Advances in Agronomy**, New York, v. 16, p. 281-325, 1964.
- ALLARD, R. W.; JAIN, S. K.; WORKMAN, P. L. The genetics of inbreeding populations. **Advance in Genetics**, New York, v. 14, p. 55-131, 1968.
- ALLARD, R. W.; WORKMAN, P. L. Population studies in predominantly selfpollinated species: IV seasonal fluctuations in estimated of genetic parameters in lima bean populations. **Evolution**, Washington, v. 17, n. 4, p. 470-480, 1963.
- AMARO, G. B. **Seleção recorrente fenotípica no feijoeiro visando à resistência a *Phaeoisariopsis griseola***. 2006. 90 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.
- AMARO, G. B. et al. Phenotypic recurrent selection in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) with carioca-type grains for resistance to the fungi *Phaeoisariopsis griseola*. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 30, n. 3, p. 584-588, Sept. 2007.

ANTÔNIO, R. P. **Identificação de QTLs de resistência ao mofo branco e mecanismos bioquímicos envolvidos na resposta de defesa em feijoeiro.** 2011. 97 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

ANTÔNIO, R. P. et al. Genetic control of the resistance of common beans to white mold using the reaction to oxalic acid. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 7, n. 3, p. 733-740, June 2008.

_____. Identificação de QTLs do feijoeiro de resistência ao mofo branco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 6., 2011, Búzios. **Anais...** Seropédica: UFRRJ, 2011. 1 CD-ROM.

ARANTES, L. de O.; ABREU, A. de F. B.; RAMALHO, M. A. P. Eight cycles of recurrent selection for resistance to angular leaf spot in common bean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 10, n. 3, p. 232-237, Sept. 2010.

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

_____. Revised linkage map of common bean. **HortScience**, Alexandria, v. 26, n. 7, p. 834-836, July 1991.

BATEMAN, D. F.; BEER, S. V. Simultaneous production and synergistic action of oxalic acid and polygalacturonase using pathogenesis by *Sclerotinia rolfii*. **Phytopathology**. Saint Paul, v. 55, n. 2, p. 204-211, Feb. 1965.

BEAN IMPROVEMENT COOPERATIVE. **Genetics: bean SSR primers.** Washington, 2007. Disponível em:
<http://www.css.msu.edu/bic/PDF/Bean_SSR_Primer_2007.pdf>. Acesso em: 20 dez. 2011.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, cap. 37.

BLAIR, M. W. et al. Development of a genome-wide anchored microsatellite map for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 107, n. 8, p. 1362-1374, Nov. 2003.

BOLTON, M. D. et al. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, London, v. 7, n. 1, p. 1-16, Jan. 2006.

BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. Viçosa, MG: UFV, 2006. 374 p.

BOYLE, C. Studies in the physiology of parasitism: VI., infection by *Sclerotinia libertiana*. **Annals of Botany**, London, v. 35, p. 337-347, 1921.

BROCK, R. D. Resistance to angular leafspot among varieties of beans. **Journal Australian Institute Agricultural Science**, Melbourne, v. 17, n. 1, p. 25-30, 1951.

CAIXETA, E. T. et al. Teste de Alelismo para genes do feijoeiro que conferem resistência ao fungo *Phaeoisariopsis griseola*. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 21., 2002, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa: UFV, 2002. p. 201-284.

CARDONA-ALVAREZ, C.; WALKER, J. C. Angular leaf spot of bean. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 49, p. 610-615, 1956.

CARGNIN, A. **Seleção recorrente no melhoramento genético de plantas autógamas**. Planaltina: EMBRAPA-Cerrados, 2007. 24 p. (Comunicado Técnico, 76).

CARNEIRO, F. F. et al. Genetics of common bean resistance to white mold. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 1, n. 2, p. 165-173, 2011.

_____. Número mínimo de plantas por parcela para avaliação da resistência ao mofo branco em feijão. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA, 29., 2010, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2010. 1 CD-ROM.

CARNEIRO, F. F.; SANTOS, J. B.; LEITE, M. E. Marker-assisted backcrossing using microsatellites and validation of SCAR *Phs* marker for resistance to white mold in common bean. **Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaíso, v. 13, n. 1, p. 6-8, 2010.

CARRIJO, F. R. F. et al. Common bean lines reaction to the anthracnose pathogen. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 3, n. 4, p. 297-300, Dec. 2003.

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

CARVALHO, R. S. B. et al. Reação de progênies de feijoeiro ao mofo branco avaliadas em duas épocas após inoculação. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA, 29., 2010, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2010. 1 CD-ROM.

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

CHUNG, Y. S.; SASS, M. E.; NIENHUIS, J. Correlations of white mold resistance in snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) among field evaluations, oxalic acid test, and straw test. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 50, p. 129-130, 2007.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Custos de produção:** safra 2011/ 2012. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_11_09_15_03_02_boletim_2o_levantamento_safra_2011_12.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2011.

CORDEIRO, A. C. C.; MEDEIROS, R. D. de. Desempenho produtivo de genótipos de arroz oriundos de hibridação interespecífica entre *Oryza sativa* e *Oryza glumaepatula*, em várzea de Roraima. **Amazônia: Ciência & Desenvolvimento**, Belém, v. 5, n. 10, p. 7-15, jan./jun. 2010.

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

COTTON, C. et al. Ambient pH controls the expression of endopolygalacturonase genes in the necrotrophic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 227, n. 1, p. 163-169, Feb. 2003.

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

DÍAZ, P. H. et al. Aplicaciones de las lectinas. **Revista Cubana de Hematología Inmunología y Hemoterapia**, Habana, v. 15, n. 2, p. 91-95, 1999.

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

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. 4th ed. Essex: Longman, 1996. 464 p.

FAVARON, F. et al. Relationships among endo-polygalacturonase, oxalate, pH, and plant polygalacturonase-inhibiting protein (PGIP) in the interaction between *Sclerotinia sclerotiorum* and soybean. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, Saint Paul, v. 17, n. 12, p. 1402-1409, Dec. 2004.

FERREIRA, M. E. et al. Caracterización y uso de marcadores RAPD y microssatélites (SSR) em el monitoreo del programa de mejoramiento poblacional em arroz. In: GUIMARÃES, E. P. (Ed.). **Avances em el mejoramiento poblacional em arroz**. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA Arroz e Feijão, 2000. p. 300-311.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. Brasília: EMBRAPA, 1995. 220 p.

FREYRE, R. et al. Towards an integrated linkage map of common bean: 4., development of a core linkage map and alignment of RFLP maps. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 97, n. 5/6, p. 847-856, Oct. 1998.

GERALDI, I. O. Por que realizar seleção recorrente? In: SIMPÓSIO DE ATUALIZAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 18., 2005, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2005. p. 1-8.

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

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

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

_____. Uso de ácido oxálico na identificação da resistência fisiológica de cultivares/linhagens ao mofo branco. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 85., 2008, Campinas. **Anais...** Campinas: IAC, 2008. p. 95-98.

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

HALLAUER, A. R. Recurrent selection in maize. **Plant Breeding Reviews**, New York, v. 9, n. 1, p. 115-179, Apr. 1992.

HALLEY, C. S.; ANDERSSON, L. Linkage mapping of quantitative trait loci in plants and animals. In: DEAR, P. H. (Ed.). **Genome mapping**. New York: Oxford University, 2002. p. 49-70.

HANAI, L. et al. Extension of the core map of common bean with EST-SSR, RGA, AFLP, and putative functional markers. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 25, n. 1, p. 25-45, July 2009.

HEDRICK, P. W. **Genetics of populations**. 2nd ed. Sudbury: Jones and Bartlett, 1999. 553 p.

HEGEDUS, D. D.; RIMMEER, S. R. *Sclerotinia sclerotiorum*: when “to be or not to be” a pathogen? **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 251, n. 2, p. 177-184, Jan. 2006.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. **Principais características das cultivares de feijão com sementes disponíveis no mercado**. Disponível em: <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=1363>>. Acesso em: 10 nov. 2011.

KAMI, J. et al. Identification of presumed ancestral DNA of phaseolin in *Phaseolus vulgaris*. **Proceedings National Academy Science USA**, Washington, v. 92, n. 4, p. 1101-1104, Feb. 1995.

KNAPP, S. J.; STOUP, W. W.; ROSS, W. M. Exact confidence intervals for heritability on a progeny mean basis. **Crop Science**, Madison, v. 25, n. 1, p. 192-194, Jan./Feb. 1985.

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

_____. An indirect test using oxalate to determine physiological resistance to white mold in common bean. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 1, p. 281-285, Jan./Feb. 2000.

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

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

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

LEITE, M. E. **Seleção natural em populações de feijoeiro, conduzidas em diferentes níveis de nitrogênio, utilizando a produtividade de grãos e alelos de microssatélites**. 2010. 146 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

LEITE, M. E. et al. Natural selection in common bean microsatellite alleles and identification of QTLs for grain yield. **Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaíso, v. 14, n. 1, 2011. Disponível em: <<http://www.ejbiotechnology.info/index.php/ejbiotechnology/article/view/v14n1-7/1260>>. Acesso em: 15 nov. 2011.

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

LIMA, I. A. **Seleção de progenies de feijoeiro tipo carioca em populações de retrocruzamento para resistência ao mofo branco, antracnose e mancha angular**. 2010. 56 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

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

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.

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

MARQUES JÚNIOR, O. G.; RAMALHO, M. A. P. Determinação da taxa de fecundação cruzada do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) nas diferentes épocas de semeadura em Lavras, MG. **Ciência e Prática**, Lavras, v. 19, n. 3, p. 339-341, jul./set. 1995.

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

MIKLAS, P. N. DNA markers (SCARS) linked with disease resistance traits in bean (*Phaseolus vulgaris*). **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, East Lansing, v. 8, n. 48, p. 1-13, Mar. 2005.

_____. 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/June 2007.

_____. Potential marker-assisted selection for resistance to white mold in pinto and great northern bean. **National Sclerotinia Initiative Annual Meeting**, Minneapolis, v. 5, p. 5-8, Jan. 2006.

MIKLAS, P. N. et al. Inheritance of ICA bunsu-derived resistance to white mold in a navy X pinto bean cross. **Crop Science**, Madison, v. 44, n. 5, p. 1584-1588, Sept./Oct. 2004.

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

NIETSCHKE, S. et al. Genetic diversity of *phaeoisariopsis griseola* in the state of Minas Gerais, Brazil. **Euphytica**, Wageningen, v. 117, n. 1, p. 77-84, Jan. 2001.

NOYES, R. D.; HANCOCK, J. G. Role of oxalic acid in the *Sclerotinia* wilt of sunflower. **Physiology plant Pathology**, London, v. 18, n. 2, p. 123-132, 1981.

OLIVEIRA, E. J. de et al. Development and characterization of microsatellite markers from the yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v. 5, n. 2, p. 331-333, June 2005.

_____. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 29, n. 2, p. 294-307, 2006.

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

PASTOR-CORRALES, M. A.; JARA, C. E. La evolucion de *Phaeoisariopsis griseola* com el frijol comum em América Latina. **Fitopatologia Colombiana**, Bogotá, v. 19, p. 15-22, 1995.

PAULA JÚNIOR, T. J. de; VIEIRA, R. F.; ZAMBOLIM, L. Manejo integrado de doenças do feijoeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 25, n. 223, p. 99-112, jul. 2004.

PEREIRA, H. S. et al. Informações fenotípicas e marcadores microssatélites de QTL na escolha de populações segregantes de feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 5, p. 707-713, maio 2007.

PEREIRA FILHO, T. A.; CAVARIANI, C. Taxa de hibridação natural do feijoeiro comum em Patos de Minas, Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 9, p. 1181-1183, set. 1994.

PETZOLDT, R.; DIXKSON, D. M. H. Straw test for white mold in beans. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 39, p. 142-143, 1996.

PHILIPS, A. J. L. Carpogeiic germination of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytophylactica**, Pretoria, v. 19, n. 3, p. 279-283, 1987.

PINTO, L. R. et al. Reciprocal recurrent selection effects on the genetic structure of tropical maize populations assessed at microsatellite loci. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 26, n. 2, p. 355-364, Apr. 2003.

RAFALSKI, J.; TINGEY, S. V.; WILLIAMS, J. G. K. RAPD markers: a new technology for genetic mapping and plant breeding. **AgBlotech Newa and Information**, Oxon, v. 3, n. 4, p. 645-548, 1991.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Cultivares. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BOREM, A. (Ed.). **Feijão**. 2. ed. Viçosa, MG: 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.

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

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

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

REZENDE, B. A.; ABREU, A. F. B.; RAMALHO, M. A. P. Progresso genético após sete ciclos de seleção recorrente visando resistência à mancha angular no feijoeiro. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA, 29., 2010, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2010. 1 CD-ROM.

RODRIGUES, T. B.; SANTOS, J. B. Effect of natural selection on common bean (*Phaseolus vulgaris*) microsatellite alleles. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 29, n. 2, p. 345-352, Apr. 2006.

ROLLINS, J. A.; DICKMAN, M. B. pH signaling in *Sclerotinia sclerotiorum*: identification of a pacC/RIM1 homolog. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, n. 1, p. 75-81, 2001.

SALLES, G. **Protocolo para desenvolvimento de marcadores microssatélites**. São Paulo: EDUSP, 2003. 11 p.

SARTORATO, A. Identification of *phaeoisariopsis griseola* pathotypes from five states of Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 78-81, jan. 2002.

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

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

SHELLIE-DESSERT, K. C.; BLISS, F. A. Genetic improvement of food quality factors. In: SCHOONHOVEN, A. van; VOYSEST, O. (Ed.). **Common beans: research for crop improvement**. Wallingford: CAB International, 1991. p. 649-679.

SILVA, F. B.; 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, out. 2007.

SILVA, K. J. D. et al. Pathogenic variability of Isolates of *Pseudocercospora griseola*, the cause of common bean angular leaf spot, and its implications for resistance breeding. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 156, n. 10, p. 602-606, Oct. 2008.

SINGH, S. P. A key for identification of different growth habits of *Phaseolus vulgaris* L. **Annual Reports Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 25, p. 92-95, 1982.

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

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 19365-31. **Crop Science**, Madison, v. 51, n. 1, p. 123-139, Jan. 2011.

SOUZA, T. L. P. O. de et al. Phenotypic and molecular characterization of cultivar BRSMG Talismã regarding the principal common bean pathogens. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 5, n. 2, p. 247-252, June 2005.

SOUZA, T. P. **Procedimentos experimentais para a avaliação da reação feijoeiro ao mofo branco**. 2009. 25 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS/STATS user's guide**. Version 8. Cary, 2000. 842 p.

STEADMAN, J. R. et al. Bean white mold nursery. **Annual Reports Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 42, p. 49-50, 1999.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistics**. New York: McGraw-Hill, 1980. 481 p.

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

_____. Ultrastructure of penetration of phaseolus spp by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 64, n. 12, p. 2909-2915, Dec. 1986.

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, Aug. 1999.

TERÁN, H. et al. Modified petzoldt and dickson scale for white mold rating of Common bean. **Annual Reports Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 49, p. 115-116, 2006.

TOLÊDO-SOUZA, E. D. de; COSTA, J. L. da S. Métodos de inoculação de plântulas de feijoeiro para avaliação de germoplasma quanto à resistência a *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 33, n. 2, p. 57-63, jul./dez. 2003.

TORGA, P. P. **Seleção de famílias de feijoeiro baseada na produtividade e tipo de grãos e informações de QTLs**. 2008. 62 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

VARSHNEY, K. R.; TUBEROSA, R. **Genomics-assisted crop improvement**. Dordrech: Springer, 2008. 509 p.

VIEIRA, C. **Doenças e pragas do feijoeiro**. Viçosa, MG: UFV, 1983. 231 p.

_____. **Memórias de meio século de estudo sobre a cultura do feijão**. Viçosa, MG: UFV, 2004. 214 p.

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

WIERSMA, J. J. et al. Recurrent selection for kernel weight in spring wheat. **Crop Science**, Madison, v. 41, n. 4, p. 999-1005, July/Aug. 2001.